

# 放线菌分类的研究

## I. 不吸水放线菌类群的鉴定

閻遜初 盧运玉 邓宇秀 張国偉\*

(中国科学院微生物研究所)

### 一、总 論

#### (一) 前言

1. 放线菌属分类的目的性 放线菌属(*Actinomyces*)是放线菌綱或目中的最重要的一属<sup>[2]</sup>。一般认为这属菌产生抗菌素的潜力最大,因而各国对它所进行的研究越来越多。此外,在土壤微生物学中也十分重视放线菌在物质转化、腐植质的形成和分解以及对于其他微生物和高等植物的影响等方面所起的作用<sup>[10]</sup>。再者,其中也有人和动植物的致病菌,使水、食品和棉、毛、纸等制品变质的霉菌,也有一些产生重要维生素(如 B<sub>12</sub>)和酶制剂的菌种,因此可以说放线菌和人类的关系是多方面的,但它们的重要性主要表现在土壤微生物学的研究和尤其是抗菌素的筛选等工作中。我们的任务首先在于,确定从我国土壤中分离出来的各式各样的放线菌类型,以便使土壤放线菌区系的研究成为可能;然后对于拮抗性菌进行更为仔细的研究,找出分类单位和产生抗菌素的关系,以期有助于寻找已知和未知的抗菌素。此外,明确这类微生物的自然系统,阐明个体发育与系统发育的关系,也是进行分类的主要目的之一。

2. 放线菌属分类现状 我们前已屡次言及<sup>[1,2,4]</sup>在放线菌的属名方面还有争论。我们暂且认为放线菌属和链霉菌属(*Streptomyces*)是同义名。

目前,可用以进行放线菌鉴定的分类系统虽然已有几个<sup>[5,6,8,11]</sup>,但还远远不足以满足鉴定工作者的要求。至于阐明这类微生物的自然系统则更意见分歧。国际上差不多每年都有新的分类系统、都有几十个新种的描述出现<sup>[3]</sup>,这些事实足可说明放线菌分类学正处在蓬勃发展的阶段。我们将在这方面进行一系列的研究,希望对于这门比较新的学科有所贡献。

#### (二) 工作方法和菌种的彙集

从1958年后半年到1959年秋季,我们总共鉴定了不同类型放线菌1,500株和对于几种重要植病真菌拮抗作用比较强的放线菌1,500株。这3,000株菌一部分是我们历年积存下来的不同类型的培养,一部分是从1958年后半年与中国医学科学院抗菌素所合作分离得到的3万株放线菌中挑选出来的,土样来源南至广东海南岛、广西、福建,北至东北、内蒙古,所代表的地区是相当广阔的。

本文1960年6月2日收到。

\* 技术协助人员:张亚美、江树人、马汉卿。

1. 鑑定方法 我們的初步鑑定是在 6 种培养基上观察每株菌的培养特征和形态特征并做 6 种生理試驗以測定其生理活性。

我們观察培养和形态特征所用的 6 种培养基是:

(1) Красильников 合成 1 号琼胶<sup>[7]</sup>: 这是一个观察形态和培养特征比較好的合成培养基。我們之所以要用它,也主要是为了和克氏的描述做比較。

(2) Czapek-Dox 合成琼胶<sup>[10]</sup>: 这是 Waksman 和資本主义国家其他的放綫菌分类工作者經常用的培养基。我們用它来和这些人的描述比較。一般基內菌絲体和可溶色素的顏色比較鮮艳。

(3) Гаузе 合成 1 号琼胶<sup>[5]</sup>: 这是一个很好的培养基,絕大部分放綫菌生长得都很茂盛。最适于看孢子絲和孢子的顏色和形态,因此实际上已成为我們的主要培养基。結果是我們的培养和 Гаузе 的描述比較得也最为仔細。

(4) 葡萄糖天門冬素琼胶<sup>[10]</sup>: 这是一个久經考驗的比較好的培养基。大部放綫菌生长茂盛、孢子形成繁多,适于观察气生菌絲体和孢子絲的形态和顏色。但一般产生色素不多,不适于观察基內菌絲体和可溶色素的顏色。

(5) 馬鈴薯切块<sup>[10]</sup>: 这是無論苏联还是其他国家的放綫菌分类工作者所經常用的培养基。在薯块上面的培养特征很有代表性,而且当所用薯块相当大并装在特制的中細管内时可以长期保存放綫菌。我們的試驗証明可以保存 6 个月至 1 年之久,而在普通琼胶斜面上,3 个月就已干枯。这一培养基的缺点是由于各地所产馬鈴薯的成分有些差別,放綫菌培养的表现也不很一致。

(6) 肉汁蛋白胨琼胶<sup>[10]</sup>: 这也是通常都用的培养基,其主要作用在于說明某一株菌在含蛋白胨的培养基內是否产生黑褐色物质,即普通所謂产色。一般认为这时常是酪氨酸酶作用的緣故。

培养特征主要是記錄在以上 6 种培养基上气生菌絲体、基內菌絲体和可溶色素的顏色。要注意各部分的顏色在放綫菌发育过程中所发生的变化。形态特征主要是气絲的形态(粉状、絨状或毛状)孢子絲的排列方式和形态、以及孢子的形状。通常总要繪制孢子絲和孢子的綫图。特別值得重視的菌株,还要摄制显微照片。

此外,我們还做明胶液化、牛奶凝固与胨化、淀粉水解、蔗糖轉化、硝酸盐还原和纖維素上生长等 6 种生理試驗<sup>[5,6]</sup>,我們认为前 3 項和第 6 項比較重要。

2. 标准种的彙集 我們从上述 3,000 株菌选出至少 500 株不同类型的放綫菌。再加上几年来保存的已定名菌株,分羣进行研究,俟有一定結果后准备再送与有关单位,广泛征求意见,經过修改补充,組成我国第一批放綫菌标准种。估計这一批菌种对于国内各地分离出的放綫菌的鉴定会有一定的帮助;还可做为与国内外分类工作者商討的依据,从而对于一些放綫菌的种取得一致的認識,也将有助于抗菌素的篩选和土壤微生物的研究两方面任务的完成。

3. 进一步的研究 按照上述方法进行鑑定之后,我們觉得还不能說明: 1) 类型与类型之間的关系, 2) 分类单位与产生抗菌素的关系,所以必須做进一步的研究。作法是先按培养和形态特征把放綫菌分为类羣,再用以下方法鑑別类羣內或类羣間相近似的菌株:

(1) 抗菌譜的測定 我們所研究的菌株中只有一部分是篩选出来的所謂优良菌种,

即对稻瘟病菌 (*Piricularia oryzae*)、棉花枯萎病菌 (*Fusarium vasinfectum*)、黄萎病菌 (*Verticillium albo-atrum*) 和立枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) 以及后来加入的测定菌, 小麦赤霉 (*Fusarium graminearum*), 绵腐菌 (*Pythium* sp.), 白菜腐软细菌 (*Erwinia aroideae*) 作用比较强的放綫菌。还有少数是在小麦锈病和馬鈴薯晚疫病植株上测定过的; 更小的一部分具有中国医学科学院抗菌素研究所对于一些細菌主要是耐藥菌的测定資料。因此, 经过我們初步鑑定并加以选择保存的菌株的抗菌譜很不完全, 必須加以补充。我們所用的测定菌为: 枯草杆菌, 大腸杆菌, 热带假絲酵母 (*Candida tropicalis*), 黑麴霉 (*Aspergillus niger*) 和产金色青霉 (*Penicillium chrysogenum*)。我們通常用琼胶切块法测定拮抗作用。

(2) 碳、氮源利用 碳源利用, 是經常应用到放綫菌分类方面来的生理性能。我們按照 Pridham 和 Gottlieb 的方法进行。所用的碳源是: D-葡萄糖、D-甘露糖、D-果糖、D-半乳糖、D-木糖、L-阿拉伯糖、淀粉、菊糖、麦芽糖、乳糖、甘油、甘露醇、卫茅醇、山梨醇、醋酸鈉、檸檬酸鈉、延胡索酸鈉和葡萄糖酸鈣。

在氮源利用方面, 我們曾試用甘氨酸、天門冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、組氨酸、丙氨酸、色氨酸、纈氨酸、酪氨酸、胱氨酸、蛋白胨、胰蛋白和酪蛋白等。由于絕大部分放綫菌菌株都能利用这些氮源, 所以就不再做这项試驗。

(3) 相互拮抗 这是 Красильников 所建立的方法。它有两种应用方式: a) 相似菌株的相互拮抗。产生同一抗菌素的放綫菌一般无相互拮抗作用, 产生不同抗菌素的菌株时常有相互拮抗作用, 而且有时抑制作用只是单方面的; b) 对于已知种的拮抗作用。由于每株或种放綫菌对于其他种放綫菌說来都有其不同的抗菌譜, 所以使相近似的菌株对于一些已知种进行拮抗作用試驗, 从它們的反应也可測知这些菌株是否相近或相同。我們初期只做了相似菌株的相互拮抗作用, 所用的方法是克氏的琼胶块移植法。

(4) 抗菌素紙型层离 发酵液中所含抗菌素的紙型层离是鑑別某一株放綫菌所产抗菌素的最簡易的方法。其作法与步骤如下:

a) 用琼胶移植法将带有放綫菌培养的琼胶块分別移植在已涂有枯草杆菌、大腸杆菌、热带假絲酵母、黑麴霉和产金色青霉的平碟內, 分別测定其抑制作用, 目的在于选择敏感菌以作为发酵液在紙型层离上的测定菌。

b) 做紙型层离之前, 先用杯碟法以测定菌测定发酵液的效价。如抑制圈直径小于 20 毫米在紙譜上不易显点, 必須进行減压濃縮然后再用。

c) 所用溶剂为: 3%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; 水饱和丁醇; 丙酮+水(1:1); 丁醇+甲醇+水(2:1:1); 丁醇+乙醇+水(1:1:2); 丁醇+甲醇+水+对甲基磺酸(40:10:20:1), 用上行法进行层离。

此外, 我們正在設法把遗传变异化学反应、噬菌体作用、血清反应和电子显微鏡观察等方法应用到放綫菌分类鑑定中来。

### (三) 保菌分类研究的步骤

根据形态和培养特征为主、生理生化特性为副的原则, 我們首先按照形态和培养特征把要研究的放綫菌分为类羣, 这并不是真正的分类单位而是研究材料的分組, 时常是一个种羣。然后再按照生理生化特性分为种、变种或菌系。我們要随时注意对于各种分类特征进行綜合的研究。必須了解它們之間的关系才能确定一个分类单位。

我們打算根据上面的一些看法,对于我国的放綫菌进行比較广泛的研究。希望先提出可对于鑑定工作者有所帮助的分类法。然后,经过比較深入的研究,再提出更可以說明自然发育史的分类系統。

## 二、放綫菌属各类羣的鑑定

### (一) 不吸水放綫菌 (*Actinomyces ahygroscopicus*) 类羣的鑑定

在寻找防治植物病害抗菌素的过程,我們选出了对于小麦銹病、稻瘟病、馬鈴薯晚疫病等病原真菌作用比較強的一种放綫菌,在形态和培养特征以及生理特性方面和吸水放綫菌 (*Act. hygroscopicus*) 很相近,无所谓吸水現象,故名为不吸水放綫菌 (*Actinomyces ahygroscopicus* n. sp.)。由于我們认为这是一个新种,在防治植物真菌病害方面希望也很大,因此将其近似菌株六十多个合并为一羣,首先进行比較仔細的研究。



图 1

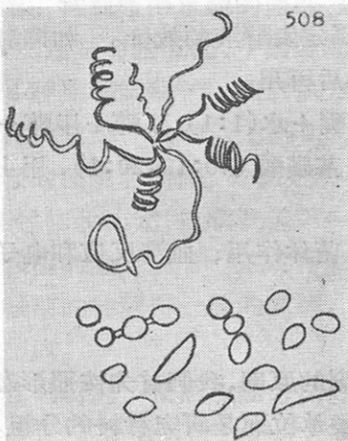


图 2

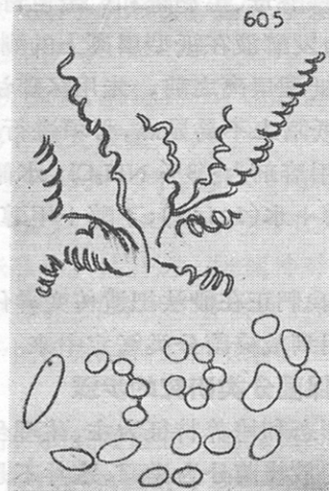


图 3

图 1,2,3. 不吸水放綫菌 (*Actinomyces ahygroscopicus* n. sp.)  
不同菌株孢子絲和孢子的形态

据初步統計,这类菌的典型种好象在我国分布很广,不过,虽然有少数菌株来自华北和东北,但絕大部分都是从广东所采的土样分离出来的。

### 1. 形态和培养特征

根据形态和培养特征的观察,可以将不吸水放綫菌类羣分为 3 个类型:

(1) 典型种。气生菌絲体在高氏合成琼胶、葡萄糖天門冬素琼胶,尤其是馬鈴薯块上生长丰茂,厚絨状,呈褐灰至灰褐色。孢子絲大部呈相当紧密的长螺旋形,3—12 圈,絕大部分 5—8 圈(图 1,2,3)。个别菌株螺旋有的很紧密,有的則很松弛,甚至仅为波曲。一般当孢子成熟后,部分螺旋有趋于松弛而变为比較不規則的傾向。孢子大部球形至椭圆形,少数呈瓜子或杏核形,0.6—1.0 × 0.6—1.5 微米;在孢子之間有少数梭形或半月形的大細胞,其长度可超过 2 微米。少数螺旋形孢子絲不分裂为孢子;有的分裂不完全形成不正常长的細胞,这些特征在某些吸水放綫菌中也可看到。不分裂的气生菌絲也发育得相当好,通常相当长,分枝稀疏。基内菌絲体的顏色随培养基而变化,由无色和乳脂色至淡黄和黄色。可溶色素时有时无。在經常用的 6 种培养基上的培养特征如表 1。

表 1 不吸水放綫菌类羣(*A. ahyscopicus*)不同类型在各种培养基上的特征

培养基	菌 型	典 型 种	褐 色 型	黄 色 型
克氏合成 1 号琼胶		气絲由白轉百灵鳥灰*。 基絲浅黄至黄色。 淡黄至黄色可溶色素。	气絲鉛灰色。 基絲咖啡至褐色。 无至淡褐、黄褐色可溶色素。	气絲微灰黄綠色。 基絲草黄至鮮黄色。 微黄綠至鮮黄色可溶色素。
察 氏 琼 胶		气絲薄,微灰色。 基絲薄,无色。 无可溶色素。	气絲中灰至浅褐灰色。 基絲污褐至污深棕褐色。 无至浅黄或褐色可溶色素。	气絲麦秆黄色。 基絲暗黄色。 暗黄色可溶色素。
高氏淀粉琼胶		气絲丰茂、絨粉状、褐灰至灰褐色。 基絲浅黄色。 日久浅黄可溶色素。	气絲淡紅灰至褐灰色。 基絲栗褐至暗褐色。 浅黄褐至褐色可溶色素。	气絲浅灰至褐灰色。 基絲污綠黄至浅黄或暗黄色。 浅黄綠至浅黄或黄色可溶色素。
天門冬素葡萄糖琼胶		气絲丰茂、絨粉状、褐灰至灰褐色。 基絲浅黄色。 无或浅黄色可溶色素。	气絲淡紅灰至褐灰色。 基絲黑栗褐至黑褐色。 浅栗褐或淡褐甚至无可溶色素。	气絲百灵鳥灰至褐灰色。 基絲污綠黄至褐黄色。 微綠黄至浅黄色可溶色素。
馬 鈴 薯 块		气絲丰茂由白到褐灰至灰褐色,很有特征性。有时有白色次生菌落。 基絲无色或微黄,薯块略变褐。 无或淡黄褐色可溶色素。	气絲淡紅灰至褐灰色。 基絲污栗褐至黑褐色。 薯块近菌落处变为黑褐色。 其余部分几不变色。 栗棕至浅褐可溶色素。	气絲白至浅灰色。 基絲浅黄至暗黄色。薯块不变色或变为褐色。 深栗褐至暗黄色可溶色素。
瓦氏內汁琼胶		生长貧乏,无气絲或少,呈白色。 基絲黄白膜状。 无可溶色素。	气絲少、微灰色。 基絲黄褐色或栗褐色。 黄褐或栗褐色可溶色素。	生长貧乏、膜状,无气絲。 基絲浅灰色。 无可溶色素。

\* “色譜”。科学出版社, 1958。

(2) 褐色型。气絲褐灰至灰褐色,絨状或粉状,一般不如典型种者丰茂,孢子絲为相当紧密的短螺旋,1—6 圈,大部 2—4 圈,局部有波曲或甚至直者(图 4,5)。不分裂气生菌絲也相当长。孢子球形至椭圆形,0.8—1.2 × 0.8—1.5 微米,相当整齐,只有很少較

大的球形和柱形细胞,前者象是由普通孢子膨胀而成的,后者则时常在孢子丝的基部形成。基内菌丝体时常呈褐色,因而得名,产生可溶性黄色或褐色素(表1)。

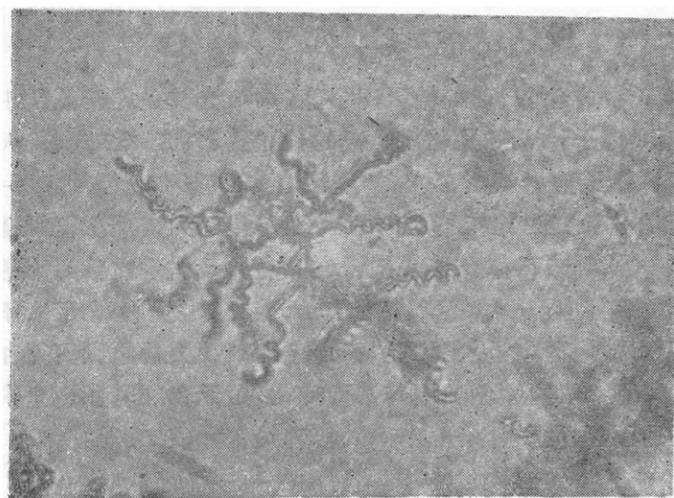


图 4

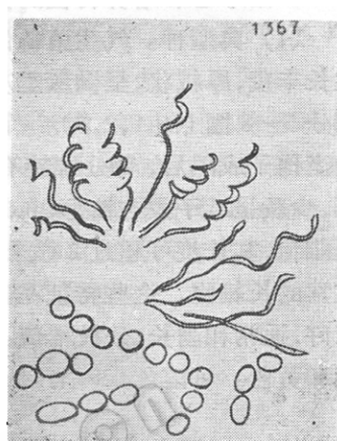


图 5

图 4,5 金色产色放线菌 (*Actinomyces aureochromogenes* n. sp.) 不同菌株孢子丝和孢子的形态

(3) 黄色型。气丝浅灰至褐灰色、绒状,孢子丝为 2—4 圈的螺旋,大部紧密,少数松散,孢子大部卵圆形,少数球形、椭圆形,相当大,  $0.9-1.3 \times 0.9-1.5$  微米,很整齐,有许多不分裂的长气生菌丝(图 6,7; 表 1)。



图 6

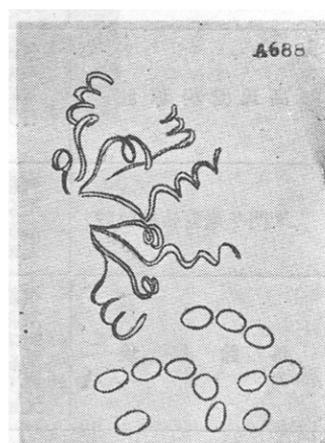


图 7

图 6,7 纤维素放线菌 (*Actinomyces cellulosa*) A688 号菌株孢子丝和孢子的形态

## 2. 生理特性

(1) 酶活性。上述 3 个类型酶活性的研究结果列为表 2。

从表 2 可以看出这些菌分解蛋白(液化明胶、胰化牛奶)和淀粉的活性都很强,其余酶活性都相当微弱,典型种和其他两型不同之点在于时常使牛奶凝固,不还原硝酸盐,也不在纤维素上生长。黄色型在这三方面的表现则相反。

表 2 不吸水放綫菌类群的几种酶活性的測定

菌 型	生理特性	明胶液化	牛 奶		淀粉水解	蔗糖轉化	硝酸盐还原	纤 维 素 上 生 长
			凝 固	胰 化				
典 型 种		++++	+	++++	++++	+	-	-
褐 色 型		++++	-	++++	++++	++	-	-
黄 色 型		+++	-	+++	++++	++	+	+

[++++]作用最强, [++++]較強, [+++]次之, [++]又次之, [+]作用弱, [-]无作用。

(2) 碳源利用: 3 个类型的碳源譜大致可归納如表 3。

表 3 不吸水放綫菌类群对不同碳源的利用

菌 型	糖 类	阿拉伯糖	菊 糖	乳 糖	甘 油	甘露醇	山梨醇	醋酸鈉	葡萄糖 酸 鈣	檸檬酸鈉
典 型 种		-	-	++	+	+++	++	+++	+++	+++
褐 色 型		++	-	++++	++++	++++	-	++	+++	++++
黄 色 型		+++	++	++++	++++	++++	+	+++	++++	+++

注: [++++.....+]表示利用强度, [-]...不利用。

表 4 不吸水放綫菌类群对各种菌的拮抗性(制菌圈以毫米表示)

菌 号	菌 名	大腸杆菌	热带假 絲酵母	枯草杆菌	立枯病菌	棉黄萎 病 菌	棉枯萎 病 菌	稻瘟病菌	黑霉菌	产金色 青 霉
典 型 种										
508		-	20	14	30	30	14	32	15	20
409		10	19	10	14	26	10	30	19	20
605		12	16	12	28	18	12	14	13	16
763		-	21	14	28	24	14	38	16	19
836				10	24	30	10	28	15	19
A530		20	21	14	22	24	16	16	30	32
1148		-	24	+	18	14	42	26	28	30
C295		-	22	15	-	-	-	-	27	30
A486		-	22	17	-	-	-	-	30	30
1654		-	22	17	26	24	36	26	28	29
1086		-	22	13	30	-	-	-	29	30
褐 色 型										
1367		-	-	20	+	16	+	12	12	19
C330		-	-	20	-	-	-	-	-	14
C410		-	-	+	-	-	-	-	-	14
B315		-	-	-	-	-	-	-	-	16
C320		-	-	-	-	-	-	-	-	-
黄 色 型										
A688		-	-	-	+	-	26	18	-	12
829		-	-	17	18	-	-	-	-	11
1485		-	-	-	-	-	+	16	-	-

从表 3 可以看出,典型种一般不利用阿拉伯糖,褐色型和黄色型则都能利用;典型种和褐色型都不利用菊糖,而黄色型则能利用;褐色型不利用山梨醇,而典型种和黄色型都能利用。

3. 拮抗性

上述 3 个类型各菌株的抗菌谱见表 4。

由表 4 可见,典型种的抗菌谱很广,而且抗菌力很强,但对格兰氏阴性菌一般都无效。褐色型和黄色型拮抗性都比较弱。

4. 讨论和分种

综上所述,不吸水放线菌的 3 个类型,无论在形态和培养特征,还是在生理生化特性方面,都有显著的区别。按照一般分类的原则<sup>[4]</sup>,这显然不是同一种的 3 个类型,而是 3 个不同的种。因此我们只称典型种为不吸水放线菌 (*Actinomyces alkyroscopicus* n. sp.),褐色型称为金色产色放线菌 (*Act. aureochromogenes* n. sp.),由于它在形态和培养特征以及酶活性方面很象产色放线菌 (*Act. chromogenes* Krassilnikov)<sup>[6]</sup>,但气丝(也就是成熟的孢子)呈褐灰色并且除产生褐色素外还有时产生黄色可溶色素,与产色放线菌有显著区别,至于黄色型我们认为是在纤维素上生长不很好的纤维素放线菌 (*Act. cellulosa* Krainsky)<sup>[6,11]</sup>。

5. 进一步的研究

由于不吸水放线菌是重点研究的一种,我们又做了下面一些试验,希望对不同的菌株进行更仔细的鉴别。

表 5 灰色吸水放线菌不同菌株对于碳源的利用

碳 源	409	508	605	763	822
D-葡萄糖	+++	+++	+++	+++	+++
D-甘露糖	+++	+++	+++	+++	+++
D-半乳糖	+++	+++	+++	+++	+++
D-果糖	+++	+++	++	++	++
D-木糖	-	±	-	±	±
L-阿拉伯糖	++	-	±	±	+
淀 粉	+++	+++	+++	+++	+++
菊 糖	-	±	-	±	-
麦芽糖	+++	+++	+++	+++	+++
乳 糖	-	±	±	-	-
甘 油	++	±	+	+	±
甘露醇	++	+++	+++	+++	+++
卫茅醇	-	-	-	-	-
山梨醇	++	+++	+++	++	++
醋酸钠	±	+	±	±	++
延胡索酸钠	-	-	-	-	-
檸檬酸钠	+	+	+	+	++
葡萄糖酸钙	+++	+++	+++	+++	+++
对 照	-	-	-	-	-

注: - 不生长, ± 生长可疑, + ++ +++ 显著生长至生长茂盛。



(1) 首先應該指出某些菌株在碳源利用方面虽然大体一致,但在阿拉伯糖、甘油和醋酸钠的利用上也还有一些差别。例如 409 和 508 表現就不大相同(表 5)。

(2) 相互拮抗。几株菌相互拮抗的結果(表 6) 証明,在抗菌素的产生方面,这种菌的

表 6 不吸水放綫菌相互拮抗作用

原 种 \ 对 抗 菌	508	409	605	763	836
508	—	+	+	+	+
409	—	—	—	+	—
605	—	—	—	+	—
763	+++	—	—	—	++
836	+	++	+	++	—

不同菌株还是很不一致的。其中只有 409 和 605 表現完全相同,可称为同型菌。

(3) 抗菌素紙型层离。表 7 表示几株不吸水放綫菌黄豆餅粉浸汁发酵滤液紙型层离时所表現的  $R_f$  值。图 8 是它們所产生抗菌素的图谱(热带假絲酵母为測定菌),所用方法为上行法。用 Whatman 1 号滤紙和下列 5 种溶剂:

I. 正丁醇、乙醇、水 (2:1:1);

II. 3% 氯化銨水溶液;

III. 正丁醇、甲醇、水 (2:1:1);

IV. 丙酮、水 (1:1);

V. 水飽和的正丁醇。

表 7 不吸水放綫菌發酵液紙層析結果 ( $R_f$  值以厘米計算)

菌 号 \ 溶 剂	I	II	III	IV	V
508	0.79, 0.94	0.81, 0.5	0.75, 0.9	0.7, 0.89	0.34
409	0.93	0.84	0.9	0.85	
605	0.92	0.85	0.9	0.85	0.61
257	0.92	0.83	0.89	0.84	0.63
623	0.73, 0.92	0.49, 0.78	0.69, 0.9	0.67, 0.85	0.33, 0.65

从表 7 和图 8 可以看出 409、605 在 5 种溶剂中都只显一点,其  $R_f$  值彼此也很相近似,508、763、822 在 II、III、IV 3 种溶剂中都显出两点,但在 I、V 中也只有一点。所有菌株都有共同的一点。

如結合表 6 的結果进行观察,就可了解 508 和 409、605 的區別在于,除了产生它們所产生的同一种抗菌素外,还产生另外一种抗菌素或同种抗菌素的另外一型,可能 508 对于 409 和 605 有抑制作用,而后两株菌对于 508 沒有作用的原因就在这里。

后来,我們又用正丁醇+甲醇+水+对甲基磺酸 (40:10:20:1) 对于 3351、3353、3376、4084 等菌株的发酵液进行紙型层离,都得到了 3 个抑制点如表 8。

从不吸水放綫菌不同菌株的抗菌譜、相互拮抗作用和抗菌素的紙型层离各方面的結果看来,这种菌所产生的抗菌素可能在 2—3 种以上,必須进一步深入的研究,才能达到

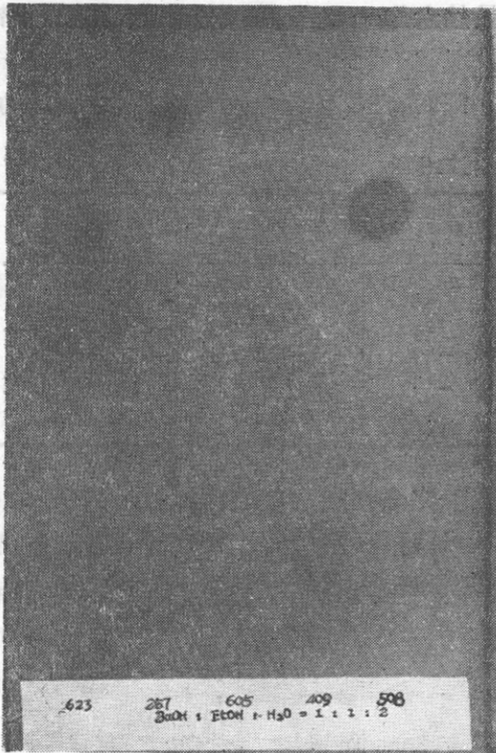


图8 5株不吸水放线菌所产抗菌素的纸谱

表8 另一些菌株的3个抑制点的Rf值(厘米)

菌 号	Rf 值	Rf <sub>1</sub>	Rf <sub>2</sub>	Rf <sub>3</sub>
3351		0.17	0.3	0.49
3353		0.15	0.27	0.47
3376		0.17	0.3	0.49
4084		0.16	0.3	0.47

阐明放线菌分类单位和所产生抗菌素的关系的首要目的。

但是, 根据各方面的资料已经看出 508 和 605、409 两个型之间有以下区别:

(1) 508 孢子丝比较短, 大部更为紧密, 少数则极为松弛、甚至波曲; 不分裂为孢子的螺旋形不孕孢子丝和大概是由于分裂不完全而产生的大型细胞都比较少。605、409 孢子丝比较长、螺旋密度也比较均匀, 不孕孢子丝和不规则大型细胞都比较多。

(2) 508 在纸谱上显两个点, 605、409 则只显一点。同时 508 对 605、409 表现拮抗作用, 而后两株菌对 508 则没有抑制作用。

(3) 这两型菌在碳源利用方面也有些不同(择自表 5):

碳 源	508	605	409
L-阿 拉 伯 糖	-	±	++
甘 油	±	+	++
醋 酸 钠	+	±	±

(4) 508 培养比较稳定, 605、409 等则比较易变, 即容易发生自然变异和抗菌活性减退等现象。

今后当再用我们渐能掌握的各种辅助鉴别方法<sup>[4]</sup>, 对于这两个型进行更为精细的区分。

## 6. 不吸水放线菌和近似种的比较

由于气生菌丝体灰色、孢子丝螺旋形、孢子球形或椭圆形、在察氏培养基上而且有时在高氏培养基上基内菌丝体无色, 不吸水放线菌和灰色放线菌(*Act. griseus* Krinsky sensu Gause) 有些相象, 但是, 由于孢子成堆时呈褐灰或甚至灰褐色而非灰色或深灰色、孢子丝螺旋紧密而非松散、在克氏合成 1 号、葡萄糖天门冬素和有时在高氏合成等琼胶培养基上基内菌丝体呈黄色且时常有可溶色素又与灰色放线菌大不相同。由于气丝褐灰色、孢子

絲緊密螺旋形、孢子球形有时呈瓜子或杏核形,并杂有梭形或半月形的大細胞,而且在許多培养基上都产生可溶黄色素,不吸水放綫菌很象吸水放綫菌(*Act. hygroscopicus* Jensen),但和后者主要区别在于没有吸水特征,即孢子成熟后不被液体涂为黑色斑片。此外,由于气絲灰色、孢子絲螺旋形,时常产生黄色可溶色素,灰色吸水放綫菌和浅黄放綫菌(*Act. fleveolus* Waksman)、纖維素放綫菌(*Act. cellulosa* Krainsky)等也有些相象,但气絲的褐灰色和孢子絲的緊密螺旋形就足以把它和后两种区别开来。通过以上的比較,我們認為我們所研究的典型种是一个新种,并且由于在形态和培养特征上很象吸水放綫菌,但无吸水現象,故名为不吸水放綫菌(*Actinomyces ahygroscopicus* n. sp.)。經過进一步的研究我們覺得这种菌和吸水放綫菌的关系比較密切,几乎可以称为不吸水的吸水放綫菌。

### 参 考 文 献

- [1] 閻遜初:放綫菌目的分类和鑑定。科学通报, 1: 75, 1956。
- [2] 閻遜初:放綫菌目的分类现状。微生物学通讯, 1: 117, 1959。
- [3] 閻遜初:最近外国文献中放綫菌新种的描述。微生物学通讯, 1: 124, 1959。
- [4] 閻遜初:放綫菌属分类的现状和展望。微生物, 2: 139, 1960。
- [5] Гаузе, Г. Ф. 等:拮抗性放綫菌的分类問題。科学出版社, 1959。
- [6] Красильников, Н. А.: 細菌和放綫菌的鑑定(放綫菌目)。科学出版社, 1957。
- [7] Красильников, Н. А., Коренько, А. И., Артамонова, О. И.: Распространение актиномицетов-антагонистов в почвах. Микробиол. 22: 3, 1953。
- [8] Ettlinger, L., Corbaz, R. und Hütter, R.: Zur Systematik der Actinomyceten. 4. Eine Arteinteilung der Gattung *Streptomyces* Waksman et Henrici. Arch. Mikrobiol. 31: 326, 1958。
- [9] Gottlieb, D.: Agenda for round table evaluation of criteria for taxonomy. Intern. Bull. Bact. Nomencl. Taxon. 9: 13—14, 1959。
- [10] Waksman, S. A.: 放綫菌。科学出版社, 1959。
- [11] Waksman, S. A. and Lechevalier, H. A.: 放綫菌及其抗菌素分类鑑定指南。科学出版社, 1958。

## STUDIES ON THE CLASSIFICATION OF ACTINOMYCES

### I. DETERMINATION OF ACTINOMYCES AHYGROSCOPICUS GROUP

YEN HSUN-CHU, LU YUN-YU, DENG YU-XIU AND ZHANG GUO-WEI

(Institute of Microbiology, Academia Sinica)

Morphological and cultural characters were used in this work as chief criteria for the identification of *Actinomyces*, while physiological and biochemical properties were considered as supplementary ones. Different methods of classification were discussed.

Many isolates from different soil samples from China belonging to *Actinomyces ahygroscopicus* n. sp. produced antibiotics effective for the control of wheat rust and certain other kinds of plant diseases, and appeared to be potentially useful. Further classification was therefore made within this species and it was found that there were probably two different forms of *Actinomyces ahygroscopicus*.

Two other species of this group, viz., *Actinomyces cellulosa* Krainsky and *Actinomyces aureochromogenes* n. sp. were described.