

# 一株新的力复霉素产生菌——力复霉素小单孢菌\*

上海医药工业研究院新抗菌素研究室

(上海)

本文报道了从桂林湖泥中分离得到的一株小单孢菌(实验室编号 S-190)的形态、培养特征和生理生化特性的研究结果,发现与已知的相近种都不相同,是一个新种。鉴于它产生力复霉素 S,定名为力复霉素小单孢菌 (*Micromonospora rifamycetican* sp.)。

在新抗菌素筛选过程中,我们从北京、桂林、成都等地湖泥、土壤中相继分离出小单孢菌 S-190、S-10、S-36、S-38、g-255 等菌株,在 32—35℃ 深层培养 3—4 天,都能产生一种抗革兰氏阳性细菌(包括各种耐药金黄色葡萄球菌)并与力复霉素有交叉耐药性的抗菌素。我们对从桂林湖泥中分离出的一株小单孢菌 S-190 及其产生的抗菌素作了深入的研究。根据其形态、培养特征及生理生化特性,并与国内外报道的已知小单孢菌作了比较,认为它是一个新种。本文报告小单孢菌 S-190 的分类研究结果。

## 材料和方法

### 一、菌株

菌株 S-190,自广西桂林湖泥中分离。

### 二、方法

#### (一) 形态观察

菌株培养于合成培养基,37℃ 培养 7—10 天,观察菌落的形成,并用挖槽培养法以光学显微镜观察菌丝形态,以电子显微镜观察孢子形状及表面结构。

#### (二) 培养特征

采用蔗糖察氏琼脂、高氏淀粉琼脂、葡萄糖天门冬素琼脂、克氏合成 1 号琼脂、甘油察氏琼脂、马铃薯块等 7 种培养基,37℃ 培养 4 周,进行培养特征的观察。以科学出版社 1957 年出版

的《色谱》作为颜色描述的标准。

#### (三) 生理特性

根据常规微生物学实验方法进行观察。

#### (四) 碳源利用

根据普、戈二氏法<sup>[1]</sup>进行试验。

## 试验结果

### 一、形态特征

S-190 菌株于合成培养基上形成直径 1.5—2.0 毫米的菌落,表面突起,中心凹陷,边缘不整齐(图 1),无气生菌丝,分生孢子丰富,黑色。

显微镜下观察,菌丝细长,无分隔,直径 0.5 微米左右。孢子球形和椭圆形,表面有疣(图 2),直径 1—1.5 微米,着生于细长的孢子柄上(图 3)。

### 二、培养特征

S-190 菌株培养特征见表 1。结果表明:该菌株在一般琼脂斜面上生长发育都较好,仅在察氏甘油琼脂斜面上不生长。

### 三、生理生化特性

S-190 菌株液化明胶能力强、迅速,能

本文 1974 年 12 月 2 日收到。

\* 本工作承中国科学院微生物研究所协助,特此致谢。

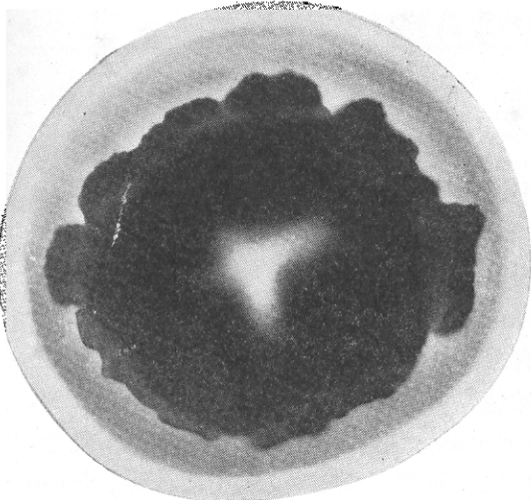


图1 S-190 的菌落 (×80)

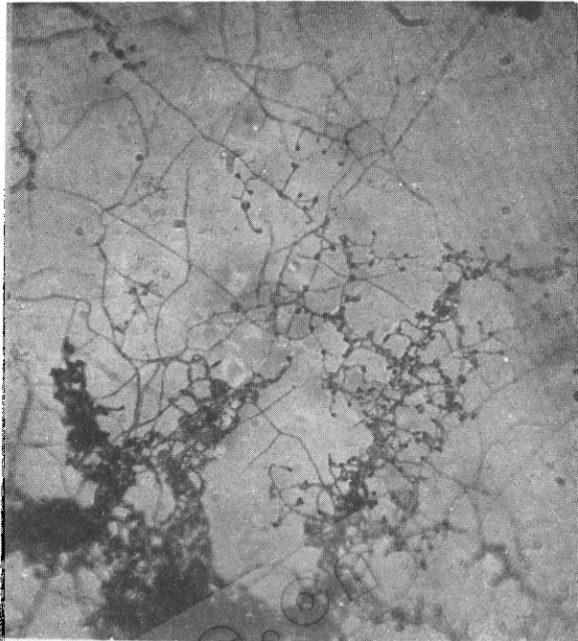


图3 S-190 的结实枝 (×720)



图2 S-190 的孢子 (×55000)

凝固、胨化牛奶,能分解利用纤维素。还原硝酸盐能力微弱或无。试验结果如表 2。

四、碳源利用

碳源利用试验结果表明,该菌株能利用葡萄糖、蔗糖、乳糖、半乳糖、棉子糖、果糖

表 1 小单孢菌 S-190 的培养特征

| 培养基                      | 生长     | 孢子层颜色                                   | 基质菌丝  | 可溶性色素                              |
|--------------------------|--------|---|---|------------------------------------|
| 蔗糖察氏琼脂                   | 好      | 黑色                                      | 最初栗棕 IId77', 后转槟榔棕 IIa57', 最终呈栗棕 IId77'         | 最初无色,后转近似柞叶棕 IIb77', 最后呈落叶棕 IIa67' |
| 高氏合成 1 号琼脂               | 好      | 黑色                                      | 最初呈鹿棕 IIa47', 后转槟榔棕 IIa57', 最后呈栗棕 IId77'        | 最初无色, 后转近似柞叶棕 IIb77', 最后呈栗棕 IId77' |
| 葡萄糖天门冬素琼脂                | 好      | 开始无孢子, 后呈黑灰 Ib77', 最后呈黑灰近似河豚灰 (VIIc72') | 最初呈桂皮淡棕 Id55', 后转芒果棕 IIa67', 最后呈火岩棕 IId66'      | 无                                  |
| 克氏合成 1 号琼脂               | 好      | 开始带孢层不明显, 后呈黑色                          | 最初芒果棕 IIa67', 后转淡豆沙 IIb66', 最后呈柞叶棕 IId77'       | 无                                  |
| 甘油察氏琼脂                   | 不生长    |   |   |                                    |
| 马铃薯块 + CaCO <sub>3</sub> | 好      | 无                                       | 最初呈桔橙 IIa17', 后转成 IIa56', 近于槟榔棕 IIa57' 但色较浅, 起皱 | 无                                  |
| 马铃薯块                     | 仅有几个菌落 | 无                                       | 桔橙 IIa17'                                       | 无                                  |

表 2 S-190 菌的生理生化反应

| 培养基   | 反 应                 |
|-------|---------------------|
| 明 胶   | 液化 +++              |
| 牛 奶   | 胨化 +++, 凝固 +++      |
| 纤 维 素 | 利用                  |
| 淀 粉   | 透明环宽 3 毫米, 直径 12 毫米 |
| 硝 酸 盐 | ± 或 -               |

注: +++强; ++中等; +弱; ±可疑; -无反应。

等, 不利用 L(+)-阿拉伯糖、肌醇; 对卫矛醇、菊糖、D(-)-山梨醇的利用可疑(表 3)。

表 3 小单孢菌 S-190 的碳源利用

| 碳 源       | 生长情况 | 碳 源   | 生长情况 |
|-----------|------|-------|------|
| 葡萄糖       | ++   | 蔗 糖   | ++   |
| D(+)-木糖   | ++   | 半 乳 糖 | ++   |
| D(+)-蜜二糖  | ++   | 甘 露 醇 | ++   |
| 纤维二糖      | ++   | d-果 糖 | ++   |
| 棉子糖       | ++   | 乳 糖   | ++   |
| L(+)-阿拉伯糖 | -    | 肌 醇   | -    |
| 卫矛醇       | ±    | 菊 糖   | ±    |
| D(-)-山梨醇  | ±    | 对 照   | -    |

++生长好; +生长一般; ±生长可疑; -不生长。

## 五、生长温度

S-190 菌株的最适生长温度在 28—

37℃, 高于 45℃ 不生长。

## 讨 论

小单孢菌 S-190 的主要特征, 与文献报道相类似的小单孢菌 *M. chalybeata*<sup>[2]</sup>、*M. carbonacea*<sup>[3]</sup>、*M. fusca*<sup>[4]</sup> 等比较(表 4、表 5、表 6), 发现在葡萄糖-天门冬素琼脂上, 各菌株生长都好, 但基质菌丝和孢子层颜色有差异。在基质菌丝方面, S-190 为火岩棕色, *M. chalybeata* 为粉到深橙色, 而 *M. carbonacea* 为铜褐色, *M. fusca* 为深褐色, 后二者色调更深暗些。孢子层颜色, S-190 为黑灰色, *M. chalybeata* 为微褐至微绿黑, *M. fusca* 为微灰至微褐。它们的孢子都是球形和椭圆形, 但 S-190 的表面结构与其他几株也不一样, 它的孢子表面呈疣状突起, 而其他几株均为光滑或很少量的不规则。此外 S-190 菌株在某些生化反应上与其他几株也有所不同。在碳源利用方面, S-190 与其他几株的显著不同点在于: 前者不能利用 L-阿拉伯糖, 而其他几株却能很好的利用; 反之, S-190 能很好利用棉子糖, 而其它几株却不能利用。

表 4 小单孢菌 S-190 与其相近菌株培养特征的比较

| 形态培养特征<br>培养基 | 菌 株 | S-190                               | <i>M. carbonacea</i> | <i>M. chalybeata</i>           | <i>M. fusca</i>       |
|---------------|-----|-------------------------------------|----------------------|--------------------------------|-----------------------|
| 葡萄糖天门冬素琼脂     |     | 生长好, 初呈淡棕, 后呈火岩棕, 孢子层黑灰近河豚灰, 无可溶性色素 | 生长较好, 突起, 皱褶, 铜褐色    | 生长好, 淡粉至深橙, 带微褐至微绿黑孢子层, 无可溶性色素 | 生长茁壮, 橙至深褐, 孢子层微灰至微褐色 |

表 5 小单孢菌 S-190 与其相近菌株生理特性的比较

| 反 应<br>培养基 | 菌 株 | S-190                | <i>M. carbonacea</i>     | <i>M. chalybeata</i> | <i>M. fusca</i>            |
|------------|-----|----------------------|--------------------------|----------------------|----------------------------|
| 明胶液化       |     | 快, 强                 | 阳性                       | 弱                    | 弱                          |
| 牛 奶        |     | 胨化, 凝固               | 胨化                       | 胨化, 凝固               | 胨化, 凝固                     |
| 淀 粉        |     | 水解                   | 水解                       | 水解                   | 水解                         |
| 纤 维 素      |     | 分解                   |                          | 迅速分解                 | 轻分解                        |
| 硝酸盐还原      |     | 微或无                  | 还原                       | 还原                   | 阳性或阴性                      |
| 产生的抗菌素     |     | 力复霉素<br>(Rifamycins) | 煤地衣霉素<br>(Everninomycin) |                      | 小单孢菌素<br>(Micromonosporin) |

表 6 小单孢菌 S-190 与其相近菌株对各种碳源利用的比较

| 生长情况<br>碳源 | 菌 株 | S-190 | <i>M. carbonacea</i> | <i>M. chalybea</i> | <i>M. fusca</i> |
|------------|-----|-------|----------------------|--------------------|-----------------|
| L-阿拉伯糖     |     | —     | ++                   | ++                 | ++              |
| 葡萄糖        |     | ++    | ++                   | ++                 | ++              |
| 半乳糖        |     | ++    | ++                   | ++                 | ++              |
| 乳糖         |     | ++    | ++                   | +                  | ±               |
| 果糖         |     | ++    | ++                   | +                  | ±               |
| 甘露糖        |     | ++    | ++                   | ++                 | ++              |
| 棉子糖        |     | ++    | ±                    | ±                  | ±               |
| 淀粉         |     |       | ++                   | ++                 | ++              |
| 蔗糖         |     | ++    | ++                   | ++                 | ++              |
| 木糖         |     |       | ++                   | ++                 | ±               |
| 肌醇         |     | —     | ±                    | ±                  | ±               |
| 甘露醇        |     | ++    | ±                    | ±                  | ++              |
| 山梨醇        |     | ±     | ±                    | ±                  | ±               |
| 鼠李糖        |     | —     | ±                    | ±                  | ±               |

同表 3 说明。

小单孢菌 S-190 与其它几株小单孢菌区别的另一个重要特性是能产生力复霉素类抗菌素。通过层析、旋光、紫外、红外及核磁共振等物理化学方法的分析，证明所产生的抗菌素为力复霉素 S (Rifamycin S)。用溶媒提取、石油醚沉淀及层析等精制方法得到的力复霉素 S 及其还原产物力复霉素 SV (Rifamycin SV) 并制成呋喃衍生物——甲呋力复霉素 (Rifampicin) 等，经抗菌性能及药理学研究<sup>[5]</sup>，进一步证实具有力复霉素的特性。

综上所述，小单孢菌 S-190 与已知的相近种都不相同，认为是一个新种。鉴于它产生力复霉素 S，定名为力复霉素小单孢菌 (*Micromonospora rifamycetica* n.sp.)。

力复霉素类抗菌素，是 1957 年意大利 Lepetit 公司从地中海链霉菌 (*Str. mediterranei* [*Nocardia mediterranei* (Margalith et Beretta)] Thiemann et al.) 首先提取得到的。该菌产生力复霉素 A, B, C, D, E 复合物，主要成分为力复霉素 B<sup>[5,6]</sup>。1964 和 1966 年日本又分别报道链霉菌 4107-A<sub>2</sub> (*Strep-*

*toomyces* var. 4107-A<sub>2</sub>) 及诺卡氏菌 C-521 (*Nocardia* C-521) 产生力复霉素 O<sup>[7,8]</sup>，此后意大利工作者还从地中海链霉菌变株分离得到力复霉素 Y、力复霉素 L 等<sup>[9,10,11]</sup>。1965 年及 1971 年又分别分离到产生力复霉素 SV 的地中海链霉菌变株 21271 (*Str. mediterranei* var. ATCC 21271)<sup>[12]</sup> 及产生颗粒霉素 (Tolypomycin) 和力复霉素 B 的颗粒链霉菌 (*Str. tolypophorus*)<sup>[13]</sup>；1972 年澳大利亚又报告了产生力复霉素 SV 的诺卡氏菌 NT19 (*Nocardia* NT19)<sup>[14]</sup> 等。但至今尚未见到小单孢菌属产生力复霉素类抗菌素及产生力复霉素 S 的产生菌的报道。

参 考 资 料

[1] Pridham, T. G. and Gottlieb, D.: *J. Bact.*, 56: 107—114, 1948.  
[2] 瓦克斯曼, S. A.: 1961 《放线菌》第 2 卷, 第 328 页, 科学出版社, 1974。  
[3] Luedemann et al.: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* p. 47—52, 1964.  
[4] 瓦克斯曼, S. A.: 1961, 《放线菌》第 2 卷, 第 329 页, 科学出版社, 1974。  
[5] Sensi, p. et al.: *Farmaco. Ed. Sci.*, 14: 146, 1959.  
[6] Sensi, P. et al.: *Antibiotics Ann.*, 262,

- 1959.
- [7] Suganeara, S. et al.: *J. Antibiot.*, Ser. A, 17: 29, 1964.
- [8] 梅泽纯夫: 日本特许公报, 昭 41-15518, 1966.
- [9] Leitich, J. et al.: *Experientia*, 23: 505, 1967.
- [10] Brufani, M. et al.: *Ibid*, 23: 508, 1967.
- [11] Lancini, G. et al.: *J. Antibiotics*, 22: 369, 1969.
- [12] Lancini, G. et al.: *Ibid.*, 22: 637, 1969.
- [13] Motoo Shibata et al.: *Ibid.*, 24: 810, 1971.
- [14] Birner, J. et al., *Ibid.*, 25: 356, 1972.

## MICROMONOSPORA RIFAMYCETICA N. SP., A NEW RIFAMYCIN-PRODUCING ORGANISM

NEW ANTIBIOTICS RESEARCH LABORATORY, SHANGHAI RESEARCH INSTITUTE OF THE  
PHARMACEUTICAL INDUSTRY  
(Shanghai)

In the course of screening for new antibiotics, a strain of *Micromonospora* (S-190) was isolated from a sample of lake mud collected in Kweilin, China, and was found to produce Rifamycin S.

*Micromonospora* strain S-190 grows well on most media. On synthetic agar, colonies are raised, substrate mycelium is brown in color and the spore layer black. Spores are spherical or oval-shaped with

warty surface.

This strain can be differentiated from known species of *Micromonospora* by the above-mentioned characteristics and its physiological and biochemical reactions, as well as its ability to produce the antibiotic Rifamycin S. It is, therefore, considered to be a new species and named *Micromonospora rifamycetica* n. sp.