

链霉菌科分类的研究

II. 钦氏菌属的一个新种及其菌核的形成

张国伟 邢桂香 阎逊初

(中国科学院微生物研究所,北京)

从甘肃省西峰镇的土壤中分离到的 AS 4.385 菌株, 以前报道为褐色李黑链霉菌 (*Streptomyces pruiniger* var. *fuscus* Yan & Zhang, 1965)。经研究发现, 该菌株形成菌核, 对其菌核形成过程进行了初步研究, 同时把这株菌重新定名为李黑褐色钦氏菌 (*Chainia prunigrofusca* n. sp. Yan & Zhang)。

钦氏菌属最明显的特征在于菌核菌丝交织连结, 形成球形的菌核。Thirumalachar 1955^[1] 最先描述抗生钦氏菌 *Chainia antibiotica* Thirumalachar 1955^[2] (在“国际链霉菌计划”(ISP) 中被命名为菌核链霉菌 *Streptomyces sclerotialis* Pridham 1972^[3]), 从而建立了这个属。以后他又陆续报道了橄榄钦氏菌 *Chainia olivacea* Thirumalachar 1960^[2,4]、普恩钦氏菌 *Chainia poonensis* Thirumalachar 1960^[5,6] 等 10 个种和一个变种。其他学者也相继描述了一些种: 微紫钦氏菌 *Chainia violens* Kalakutskii & Krasilnikov 1960^[5,7]、赭色钦氏菌 *Chainia ochracea* Kusnezov 1962^[8] [在 ISP 中被命名为赭色菌核链霉菌 *Streptomyces ochraceiscleroticus* (Kusnezov) Pridham 1972^[9]]。迄今这个属已有 14 个种和一个变种, 但在 ISP 中仍把钦氏菌属中的一些种归为链霉菌属^[9], 国内尚未见到有关钦氏菌属的描述。

我们发现褐色李黑链霉菌 *Streptomyces pruiniger* var. *fuscus*^[10] 在几种培养基上形成明显的菌核, 从而对其菌核的形成进行了初步研究, 并将此菌株重新定名为李黑褐色钦氏菌 *Chainia prunigrofusca* n. sp.。

材料与方 法

(一) 菌株

AS 4.385 (原菌号 13-358) 菌株系由中国科学院西北水土保持研究所沈梅生同志分离, 惠赠。

(二) 方法

菌种鉴定采用一般常规方法^[11]。形态观察用盖片法、插片法和电子显微镜^[12]。培养特征观察采用《链霉菌鉴定手册》^[11]和 ISP^[13]中所推荐的培养基。由于 AS 4.385 菌株在含有常用的 9 种碳源的普戈二氏基础培养基上不生长或生长很差, 因此碳源利用试验在不含淀粉的高氏合成一号琼脂上进行, 碳源浓度为 1%, 用紫外线灭菌。采用“原位取材制样方法”, 制超薄切片。先用戊二醛固定, 再用 2% 锇酸固定, 用 Epon 812 液包埋, 用瑞典 LKB 公司 8800-III 型超薄切片机制超薄切片。用日立 H-500 型电镜观察。

结 果

(一) 菌核的形成

1. 形成的条件:

本文于 1980 年 8 月 22 日收到。

安徽省农业科学院植物保护室丁建成同志、广州市微生物研究所刘绍南同志参加部分试验工作; 超薄切片工作得到本院生物物理研究所薛吉年同志指导和本所谢家仪同志帮助; 本院生物物理研究所电镜组和本所电镜组摄制电镜照片; 试验菌株系由中国科学院西北水土保持研究所沈梅生同志分离, 惠赠, 在此一并致谢。

表 1 AS 4.385 菌株与相近已知种培养特征的比较
Table 1 Comparison of Cultural Characteristics of Strain AS 4.385 with Related Known Species

培养特征 Cultural characteristics	菌株和菌名 Strain & Name	AS 4.385 菌株 Strain AS 4.385	产缙红软氏菌 <i>Chaetia purpurogena</i> Thirumalachar & Subapure 1964c, 193	产缙红软氏菌 SS-228 <i>Chaetia purpurogena</i> SS-228 Okazaki & Okami 1975 ^[11]
蔗糖硝酸盐琼脂 Sucrose nitrate agar	气生菌丝体 Aerial mycelium	无 none	少或无 slightly, or none	无 none
	基内菌丝体 Substrate mycelium	蚌肉白 Pale Pinkish Buff	红褐 Reddish Brown	好, 红褐 fair, Reddish Brown
	可溶性色素 Soluble pigment	无 none	暗红褐 Dark Reddish Brown	少, 淡红褐 slightly, Pale Reddish Brown
	气生菌丝体 Aerial mycelium	无 none	少, 白色 slightly, White	无 none
	基内菌丝体 Substrate mycelium	暗玉紫 Dark Vinaceous-Brown	红褐 Reddish Brown	浅褐 Light Brown
	可溶性色素 Soluble pigment	深褐色淡粉至暗角棕 Pale Cinnamon-Pink to Vinaceous-Cinnamon	无 none	少, 淡红褐 slightly, Pale Reddish Brown
甘油天门冬素琼脂 Glycerol-asparagine agar	气生菌丝体 Aerial mycelium	无 none	无 none	无 none
	基内菌丝体 Substrate mycelium	酪黄(132)*至暗玉紫(114, 75) Light Buff** to Dark Vinaceous-Brown	褐色或红褐 Brown or Reddish Brown	无色带淡红褐斑 Colorless with Pale Reddish Brown patches
	可溶性色素 Soluble pigment	淡褐色(121)至近于(142) Pale Pinkish Buff to nearly Pale Pinkish Cinnamon	有时微红或微黄 sometimes Reddish or Yellowish	少, 淡红褐 slightly, Pale reddish Brown
	气生菌丝体 Aerial mycelium	无 none	白色 White	无 none
无机盐淀粉琼脂 Inorganic salts-starch agar	基内菌丝体 Substrate mycelium	暗火岩棕(146S) Brick Red	灰黄 Grayish Yellow	好, 无色带淡黄褐斑 fair, Colorless with Pale Yellowish Brown patches

可溶性色素 Soluble pigment	乳白 (III')	有时微红或微黄 sometimes Reddish or Yellowish	无 none
燕麦粉琼脂 Oatmeal agar	气丝少, 局部有点灰白色 (IIa11') slightly, Pale Grayish Vinaceous	无 none	无 none
气生菌丝体 Aerial mycelium	暗玉素 (IIIa75')	褐色或红褐 Brown or Reddish Brown	贫乏, 无色至浅褐 poor, Colorless to Yellowish Brown
基内菌丝体 Substrate mycelium	Dark Vinaceous-Brown		
可溶性色素 Soluble pigment	鹿角棕 (Id34) 至软木黄 (Id46') Vinaceous-Cinnamon to Ochraceous-Salmon	有时微红或微黄 Reddish or Yellowish	无 none
气生菌丝体 Aerial mycelium	无 none		无 none
基内菌丝体 Substrate mycelium	褐红黑 (Plate Im 1, RED) 至栗色 (Plate Im 3, O. R.) Victoria Lake to Maroon		好, 无色至灰黄褐 fair, Colorless to Grayish Yellow-Brown
可溶性色素 Soluble pigment	杏仁黄 (II2) 至浅润叶棕 (Id35')		很少, 褐灰 very slightly, if any, Drownish Gray
气生菌丝体 Aerial mycelium	Pale Ochraceous-Salmon		
基内菌丝体 Substrate mycelium	浅暗紫红色 (IIa64')		
可溶性色素 Soluble pigment	浅红 (IIH5') 至 (IIIa66')		
气生菌丝体 Aerial mycelium	Japan Rose to Etruscan Red		
基内菌丝体 Substrate mycelium	褐红黑 (Plate Im 1, RED) 至栗色 (Plate Im 3, O. R.) Victoria Lake to Maroon		
可溶性色素 Soluble pigment	淡黄黄 (Ib14) 至炒米黄 (Ib24')		
气生菌丝体 Aerial mycelium	Pale Yellow-Orange to light Buff		
基内菌丝体 Substrate mycelium	黄色 (Ic36')		
可溶性色素 Soluble pigment	Cinnamon-Buffer		

* «色谱», 科学出版社, 北京, 1957. ** Ridgway, R.: Color Standards and Nomenclature, Washington, 1912.

表 2 AS 4.385 菌株与相近已知种的比较
Table 2 Comparison of Strain AS 4.385 with Related Known Species

特性 Properties	明胶 液化 Liquefaction of Gelatin	牛 奶 Milk		淀粉 水解 Hydrolysis of starch	纤维素 上生长 Growth on cellulose	硫化氢 产生 Production of H ₂ S	碳 源 Carbon utilization								拮 抗 性 Antagonistical properties		
		胨化 Peptonization	凝固 Coagulation				葡萄糖 Glucose	L-阿 拉伯糖 L-Arabiose	D-木 糖 D-Xylose	D-果 糖 D-Fructose	L-鼠 李糖 L-Rhamnose	蔗糖 Sucrose	棉子糖 Kaltinose	甘露醇 Mannitol		肌醇 Inositol	
AS 4.385 菌株 Strain AS 4.385	+	+	+	+	-	-	++	++	+	+	++	+	+	+	+	++	对枯草杆菌, 白色假丝酵母有时 有较弱的抑制作用 Faintly active if not against <i>Bac. subtilis</i> and <i>Candida</i> <i>albicans</i>
产绛红狄氏菌 <i>Chaetia purpurigena</i> Thirumalachar & Sukapur 1954 ⁽¹⁾	-	+	+	+	纤维素 玻璃上 生长少 slightly	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	抑制革兰氏阳性细菌 Active against Gram positive bacteria
产绛红狄氏菌 SS-228 <i>Chaetia purpurigena</i> SS-228 Okazaki & Okami 1975 ⁽¹⁾	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	产生抗菌素 SS-228Y, 抑制革兰氏阳性细菌 Produce antibiotics SS-228Y that inhibit growth of Gram positive bacteria

注: ++ 生长良好或反应强阳性; + 生长或反应阳性; - 不生长或反应阴性; ± 可疑。
Note: ++ good growth or strongly positive; + growth or positive; - no growth or negative; ± doubtful.

采用 10 种培养基,用盖片法和插片法在 28℃ 培养 7 天,镜检,观察菌核的形成。试验结果表明,该菌株在甘油苹果酸钙琼脂、葡萄糖天门冬素琼脂、高氏合成一号琼脂等培养基上菌核形成较好,而在燕麦粉琼脂、甘油天门冬素琼脂、酪氨酸琼脂、蔗糖察氏琼脂、无机盐淀粉琼脂、克氏合成一号琼脂、土豆浸汁琼脂培养基上很少形成或者几乎不形成菌核。

2. 形成的过程:

菌核由菌核菌丝形成,形成时菌丝出现横隔及纵隔(图版 I-1),细胞增生,使菌核菌丝膨大(图版 I-2),细胞纵横隔继续不断出现,分裂继续进行,从而菌核菌丝不断延长和增生(图版 I-3),交叉缠绕成团(图版 I-4, 5),最后形成菌核(图版 I-6)。

3. 菌核的形态:

球形、椭圆形和不规则形,大小不等,直径为 2.1—36 μm。

(二) 菌种鉴定

1. 形态特征:

气丝一般无或稀少,但在甘油苹果酸钙琼脂培养基上,气丝生长较好,一般宽度 0.96—1.2 μm。基丝无横隔,不断裂,宽度在 0.36—1.2 μm。孢子丝直,柔曲,钩状或松螺旋形 1—3 圈。该菌株并形成大小不等的菌核。

2. 培养特征:

过去用 6 种培养基(高氏合成一号琼脂、蔗糖察氏琼脂、克氏合成一号琼脂、葡萄糖天门冬素琼脂、马铃薯块、瓦氏肉汁琼脂)进行培养观察,结果已在前文报道,现在又增添 6 种培养基,其培养特征见表 1。

3. 生理生化特性:

明胶液化。牛奶凝固并胨化。淀粉水解。在纤维素上生长不明显,有时不生长或生长弱。不产生硫化氢。

4. 碳源利用:

利用葡萄糖、D-果糖、L-阿拉伯糖、肌醇;在 D-木糖、棉子糖上生长缓慢;在蔗糖上生长差或不生长。不利用 L-鼠李糖、甘露醇。

5. 抗菌谱:

对枯草杆菌、白色假丝酵母有时有较弱的抑制作用,有时无作用。对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、分枝杆菌 607、产金青霉无抑制作用。

6. 细胞壁组分^[14,15]:

全细胞水解物含 LL-二氨基庚二酸、甘氨酸,以及半乳糖、甘露糖、微量葡萄糖、阿拉伯糖、核糖。

AS 4.385 菌株与文献上报道的相近已知种的比较见表 1、表 2。

由表 1、表 2 可以看出 AS 4.385 菌株与已报道的钦氏菌属中最相近的两个种进行比较,也有较明显的区别。4.385 菌株在甘油苹果酸钙琼脂培养基上,孢子丝直、柔曲、钩状或松螺旋形 1—3 圈;在蔗糖硝酸盐琼脂培养基上无气生菌丝体,基内菌丝体蚌肉白,无可溶性色素,在无机盐淀粉琼脂上无气生菌丝体,基内菌丝体暗火岩棕,可溶性色素乳白色。明胶液化。利用葡萄糖、果糖、肌醇、阿拉伯糖,在 D-木糖、棉子糖琼脂培养基上生长缓慢,在蔗糖琼脂上生长差或不生长;不利用 L-鼠李糖、甘露醇。而产绛红钦氏菌的孢子丝松敞螺旋形达 7 圈;在蔗糖硝酸盐琼脂培养基上气生菌丝体少或无,基内菌丝体红褐,可溶性色素暗红褐;在无机盐淀粉琼脂培养基上气生菌丝体白色,基内菌丝体灰黄,可溶性色素有时微红或微黄;不液化明胶,利用 ISP 中的全部(9 种)碳源^[16]。产绛红钦氏菌 SS-228 的气生菌丝体无或稀疏。在蔗糖硝酸盐琼脂培养基上,基内菌丝体红褐,可溶性色素少,淡红褐色。在无机盐淀粉琼

脂培养基上基内菌丝体无色,带淡红褐斑,无可溶性色素。利用上述 9 种碳源。

上述比较说明, AS 4.385 与钦氏菌属中最相近的两个种在培养特征和生理生化特性方面均有明显区别,因此将 AS 4.385 菌株定为新种,命名为李黑褐色钦氏菌 *Chainia prunigrofusca* n. sp. Yan & Zhang。

讨 论

1. AS 4.385 菌株曾报道为褐色李黑链霉菌 *Streptomyces pruniger* var. *fuscus*, 后来深入研究该菌株时发现,它在甘油苹果酸钙琼脂、高氏合成一号琼脂等培养基上形成菌核,而且这个特征很稳定,即使经过多年的转接和保存,仍保持良好。具有菌核的形态特征,是建立钦氏菌属的依据。过去 Cross 1973 年曾报道^[18],"菌核"特征不稳定,随着转接和保存,菌核形成能力逐渐衰退,导致链霉菌属 *Streptomyces* 与钦氏菌属 *Chainia* 界限不清,因而钦氏菌属未被国际上大多数放线菌分类学者所承认。但在 AS 4.385 菌株的培养过程中所观察到的情况,与上述作者的结果相反。我们认为可把钦氏菌独立成属。因此把这株菌重新定名为李黑褐色钦氏菌 *Chainia prunigrofusca* n. sp. Yan & Zhang。

2. 从已经得到的图像看来,形成菌核的菌丝不是一般气丝或基丝,而是经过分化的菌核菌丝。当菌核开始形成时,菌核菌丝出现横隔和纵隔,使菌核菌丝膨大,随着菌核菌丝的继续分裂和扩大,交叉缠绕,最后形成菌核。关于菌核形成的具体细

节,如菌核菌丝如何从其他菌丝分化出来等问题,还待进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Thirumalachar, M. J.: *Nature London*, 176:934, 1955.
- [2] Thirumalachar, M. J. & R. S. Sukapure: *Hind. Antibiot. Bull.*, 6 157—166, 1964.
- [3] Shirling, E. B. & D. Gottlieb: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 22: 349—351, 1972.
- [4] Shirling, E. B. & D. Gottlieb: *idem*, 22: 331—333, 1972.
- [5] Калакуцкии, Л. В. и Н. А. Красильников: *Биология отдельных групп актиномицетов-продуцентов антибиотиков*, 45—55, Изд. АН СССР, Москва, 1960.
- [6] Shirling, E. B. & D. Gottlieb: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 22: 338—340, 1972.
- [7] Shirling, E. B. & D. Gottlieb: *idem*, 22: 366, 1972.
- [8] Kusnezov, V. D.: *Микробиология*, 31: 534—539, 1962.
- [9] Shirling, E. B. & D. Gottlieb: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 22: 329—331, 1972.
- [10] 阎逸初, 张国伟: *微生物学报*, 11(4): 582—599, 1965。
- [11] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组: *《链霉菌鉴定手册》*, 科学出版社, 北京, 1975。
- [12] 张国伟等: *微生物学报*, 19(2): 157—159, 1979。
- [13] Shirling, E. B. & D. Gottlieb: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 16(3): 313—340, 1966.
- [14] Becker, B. et al.: *Appl. Microbiol.*, 12: 421—423, 1964.
- [15] Becker, B. et al.: *idem*, 13(2): 236—243, 1965.
- [16] Shirling, E. B. & D. Gottlieb: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 22: 340—342, 1972.
- [17] Okazaki, T. et al.: *J. Antibiotics*, 28: 176—184, 1975.
- [18] Cross, T.: In *Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance*, pp. 66—67 (ed. Sykes, G. and F. A. Skinner), Academic Press, London, New York, 1973.

STUDIES ON CLASSIFICATION OF STREPTOMYCETACEAE

II. A NEW SPECIES OF *CHAINIA* AND OBSERVATION OF ITS SCLEROTIAL FORMATION

Zhang Guowei Xing Guixiang Yan Xunchu

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

A strain AS 4.385 was isolated from Xifengzhen, Gansu province of China. On further studies, it was found that the strain produce a lot of sclerotia and the

sclerotium was formed by involving of sclerotial hyphae. Therefore, this strain was renamed as ***Chainia prunigrofusca*** Yan et Zhang.