

## 云南高原湖泊放线菌区系及资源的研究

姜成林 徐丽华

(云南省微生物研究所,昆明)

1983—1987年从云南高原的滇池等12个湖泊采集底泥和水样,用不同方法从中分离了放线菌,同时筛选了产生纤维蛋白溶酶等的菌株,结果如下:

1. 放线菌的数量和组成与湖泊的理化特性有关。
2. 在12个湖泊的底泥样品中,小单孢菌占有明显优势。这是湖泊放线菌区系的一个显著特点。
3. 杞麓湖、异龙湖、大屯海的放线菌总数达  $2991—3542 \times 10^3/g$  干土。
4. 从这些湖泊分离到马杜拉放线菌,小多孢菌,小四孢菌,糖单孢菌,糖多孢菌。这在有关淡水湖泊放线菌的研究中还未报道过。还发现了以下新种:暗绿小单孢菌,云南糖单孢菌,黄玫瑰小四孢菌,程海马杜拉放线菌,绿黄马杜拉放线菌。
5. 放线菌在湖内甲壳素、纤维素及某些有毒物质的降解中起显著的作用。
6. 湖生放线菌是各种有用产品(如纤维蛋白溶酶等)的一个来源。

**关键词** 放线菌区系;放线菌资源;高原湖泊

云南高原地处我国西南边疆,面积  $394000 km^2$ 。在这片辽阔的高原上,分布着大小湖泊数十个,面积约  $1100 km^2$ 。它们像璀璨的明珠镶嵌在群山之中,其分布与云南弧构造密切相关,主要分布在云南弧的顶、两翼和脊柱部分的断带上,湖泊长轴方向与断裂构造方向一致。它们的形成深受断裂构造控制,主要由地壳裂陷而成,河流浸蚀作用、泥沙淤积等也起重要作用。十几个最大的湖泊分别属于金沙江水系(滇池、程海、泸沽湖)、澜沧江水系(洱海、剑湖、茈碧湖)、南盘江水系(抚仙湖、阳宗海、星云湖、杞麓湖、大屯海)及红河水系(异龙湖)。这些湖泊为云南的农业灌溉,水产养殖,航运,发电,工业用水,调节气候,发展旅游业等提供了良好的条件(表1)。

1983—1987年,我们对12个湖泊的放线菌区系及资源进行了研究。现报告如下。

## 材料和方法

### (一) 试样来源

按前文的方法<sup>[1]</sup>采集湖底泥和水样。

### (二) 放线菌分离、鉴定

按文献[1—4]的方法。

### (三) 有用菌株的筛选

经纯化的菌株用黄豆粉葡萄糖等2—3种培养基摇瓶发酵3—4天,用以下方法筛选有用物质产生菌:

1. 纤维蛋白溶酶活力测定:按叶智彰等人<sup>[2]</sup>使用的方法测定。

2. 凝乳酶活力测定:5ml脱脂牛奶加入0.01mol/L CaCl<sub>2</sub>,加发酵液0.5ml,37℃保温,测定凝固时间。在这种条件下1分钟凝固,其酶活

本文于1987年6月3日收到。

国家自然科学基金资助项目。

本课题承蒙阎初先生、阮继生先生指导,并审阅本文;谢桂兰同志参加部分工作,一并致谢。

表1系利用云南省水利勘测设计院规划队的资料,特此致谢。

表 1 云南高原 12 个湖泊的概况  
Table 1 General characteristics for twelve lakes on Yunnan plateau

海拔 Altitude (m)	滇池 Dianchi	洱海 Erhai	剑湖 Jian	武碧湖 Cibi	程海 Chenghai	抚仙湖 Fuxian	杞麓湖 Qilu	星云湖 Xingyun	异龙湖 Yilong	大屯海 Datun	阳宗海 Yangzong	泸沽湖 Lugu	长 Length (km)		宽 Width (km)		面积 Area (km <sup>2</sup> )	水深 Depth (m)	最大 Maximum	平均 Mean	蓄水量 Storage capacity (m <sup>3</sup> × 10 <sup>6</sup> )	水 pH	水生植物 Aquatic plant	样品数 Number of samples	底泥 Mud	水 Water			
													32	42	10.5	5.8											300.0	8.0	5.0
2700	1885	1970	2015	2150	1503	1721	1731	1723	1411	1280	1770	2700	20	32	6.7	3.1	3.8	42.0	42.0	7.0	7.0	0.34	6.0-6.5	少 poor	6	6	15	9	
9.4	10.5	4	20.0	15.0	79.0	211.0	42.0	39.0	13.8	7.8	12.7	9.4	4	6.7	3.1	3.8	42.0	42.0	7.0	7.0	1.3	6.0-7.0	极丰富 extreme rich	6	6	15	9		
5.2	300.0	250.0	20.0	15.0	79.0	211.0	42.0	39.0	42.0	12.0	31.0	49.0	79.0	211.0	42.0	39.0	42.0	42.0	7.0	2.7	20.0	6.0-6.5	少 poor	6	6	15	9		
49.0	8.0	20.7	7.0	21.0	37.0	155.0	15.0	12.0	7.0	2.7	30.0	93.6	37.0	155.0	15.0	12.0	42.0	42.0	7.0	2.7	30.0	6.0-7.0	极丰富 extreme rich	6	6	15	9		
93.6	5.0	10.2	3.5	5.0	15.0	82.6	4.0	9.0	3.5	1.3	20.0	40.6	15.0	82.6	4.0	9.0	42.0	42.0	7.0	1.3	20.0	6.0-7.0	极丰富 extreme rich	6	6	15	9		
40.6	157	254			270	180	1.9	2.3	1.2	0.34	6.0	19.5	270	180	1.9	2.3	42.0	42.0	7.0	0.34	6.0-6.5	6.0-7.0	少 poor	6	6	15	9		
19.5	5.5	6.0-6.7	6.4-7.0	6.4-6.7	9.0	7.0	6.5-7.0	6.0-6.8	6.8-7.0	6.0-7.0	6.0-6.5	7.0	9.0	7.0	6.5-7.0	6.0-6.8	42.0	42.0	7.0	6.0-7.0	6.0-6.5	6.0-7.0	少 poor	6	6	15	9		
7.0	中 moderate	中 moderate	丰富 rich	中 moderate	少 poor	少 poor	丰富 rich	少 poor	丰富 rich	极丰富 extreme rich	少 poor	少 poor	7.0	少 poor	丰富 rich	少 poor	6	6	6	6	6	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0
	30	42	6	6	70	41	6	6	6	6	6	15	70	41	6	6	6	6	6	6	6	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	
	30	42	6	6	30	29	6	6	6	6	6	9	30	29	6	6	6	6	6	6	6	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	6.0-7.0	

力为 400 单位。

3. 甘露聚糖酶活力测定: 按 Ohtsuki 等<sup>[4]</sup>的方法测定。

4. 溶菌酶活力测定: 按文献 [7] 的方法测定。

5. 抗真菌活性测定: 冻土毛霉作试验菌, 琼脂平板打孔法测定。

## 结 果

### (一) 中温放线菌区系分布

表 2 是 12 个湖泊中温菌的区系组成。这与 Johnson 等<sup>[8]</sup>研究英国 12 个湖的结果有些相似。但是云南这些湖泊的放线菌区系组成更为复杂。根据表中提供的资料, 我们将这 12 个湖泊分成 4 个群。

第 1 群: 这个群包括滇池、星云湖、洱海、茈碧湖及剑湖。这几个湖的平均水深 3.5—10.2m。剑湖的水生植物丰富, 其余均属中等(表 1)。这几个湖的放线菌总数在 324—1126.15 × 10<sup>3</sup>/g 干土(下同)之间, 平均为 683 × 10<sup>3</sup>。滇池和剑湖分离到 8 个属, 洱海、茈碧湖 5 个属, 星云湖 4 个属。链霉菌平均占放线菌总数的 24%, 小单孢菌占 66%, 诺卡氏菌占 6%。滇池、洱海分离到红球菌, 另外三个湖分离到糖多孢菌, 滇池、洱海、剑湖分离到双歧放线菌(McCarthy 等<sup>[9]</sup>认为这个属应放在高温单孢菌属)。仅在滇池分离到游动放线菌。在滇池旁的西山我们多次分离到这个属的菌株, 因此可以认为滇池的游动放线菌来自西山。

第 2 群: 这群包括杞麓湖、异龙湖和大屯海, 都是水深 4m 以下的浅水湖, 有机质含量高, 水生植物很丰富(表 1)。1981 年大旱曾一度部分或全部干涸过。这几个湖泊的特点是放线菌数量多(2991—3542 × 10<sup>3</sup>), 而组成比较单调, 只分离到 3—4 属。链霉菌占 24%, 小单孢菌占 69%, 诺

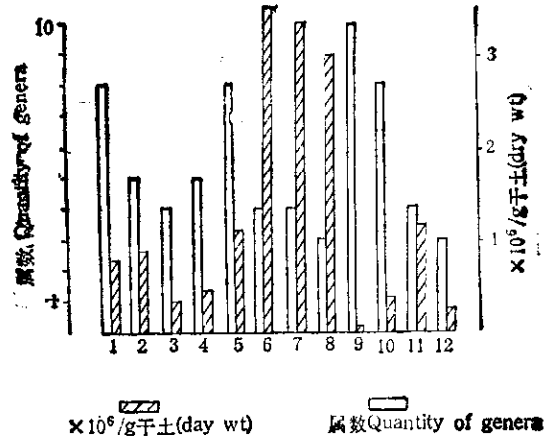


图 1 12 个湖泊放线菌的数量和组成

Fig. 1 Number and composition of actinomycetes in 12 lakes on the Yunnan Plateau

1. 滇池(Dianchi); 2. 洱海(Erhai); 3. 星云湖(Xingyun); 4. 茈碧湖(Cibi); 5. 剑湖(Jian); 6. 杞麓湖(Qilu); 7. 异龙湖(Yilong); 8. 大屯海(Datun); 9. 程海(Chenghai); 10. 抚仙湖(Fuxian); 11. 阳宗海(Yangzong); 12. 泸沽湖(Lugu).

卡氏菌占 2.7%, 糖多孢菌占 2.6%, 异龙湖分离到少量马杜拉放线菌。

第 3 群: 这群包括程海一个湖。该湖系金沙江水系, 由于周围森林遭受破坏, 水源不足, 1690 年起就无水流出, 到 1965 年水位下降了 37m, 逐渐变成了一个封闭湖。湖水逐渐碱化, pH 达 9, 已不宜饮用。

从程海分离的 251 株放线菌全都能在 pH 9 的培养基中良好生长, 有 45% 的菌株能在 pH 10.5 生长。分析了 30 株小单孢菌和 32 株链霉菌的细胞壁成份, 发现有 10 株小单孢菌含 L-二氨基庚二酸(L-DAP)<sup>[10]</sup>, 10 株链霉菌含 meso-DAP。对这些胞壁成份异常的“链霉菌”进行了数值分类, 发现它们与链霉菌的表观群相似性降低了。可见链霉菌在适应碱性环境的过程中, 胞壁成份和遗传特性都发生了变化。因此, 程海的链霉菌可能有两部分。一部分

表 2 12 个湖泊的放线菌区系  
Table 2 Actinomycetes in benthic samples from 12 lakes on the Yunnan plateau ( $10^3/g$ 干土 dry wt)

	链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	担囊放线菌属 <i>Actinosporangium</i>	游动放线菌属 <i>Actinoplanes</i>	小单孢菌属 <i>Micromonospora</i>	双歧放线菌属 <i>Aemobitida</i>	小双孢菌属 <i>Microbispora</i>	小四孢菌属 <i>Microtrichaspora</i>	小多孢菌属 <i>Micropolyspora</i>	马杜拉放线菌属 <i>Actinodadua</i>	链孢囊菌属 <i>Streptosporangium</i>	单孢菌属 <i>Sacharomonospora</i>	多孢菌属 <i>Sacharopolyspora</i>	原小单孢菌属 <i>Promicromonospora</i>	诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>	红球菌属 <i>Rhodococcus</i>	分枝杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	未鉴定 Unidentified	总菌数 Total
滇池 Dianchi	40.4		26.3	549.3	5.1			4.4						88.5	4.4	4.4		722.8
洱海 Erhai	117.2			521.9	1.7									14.4	9.6		26.2	822.6
星云湖 Xingyun	41.0			273.0								6.0		4.0				324.0
茈碧湖 Zhibi	117.0			264.0					3.0					32.0			2.9	421.9
杞麓湖 Qilu	318.0			2742.0										260.0				3542.0
异龙湖 Yilong	1708.0			1538.0					20.0									3304.0
大屯海 Datun	421.0			2562.0										8.0				2991.0
剑湖 Jian	497.0			516.0	0.05		0.3		20.0					46.0			4.8	1126.15
程海 Chenghai	3.2	0.1		38.69			0.26	0.03	0.26					0.4	0.59		0.15	43.8
抚仙湖 Fuxina	154.2	3.4		177.5			0.4	0.05	2.6	0.5				0.9				340.0
阳宗海 Yangzong	735.0			477.0		0.05								9.0				1221.05
萨沽湖 Sagu	54.7			209.7										2.7			2.7	269.8

是适应了水生环境的水生菌。另一部分菌来自陆地,雨季数量增加<sup>[2]</sup>,在 pH9 以上生长不好。

程海的放线菌比第二群湖泊少了两个数量级,仅  $43.8 \times 10^3$ 。但区系组成却相当复杂,分离到 10 个属。小单孢菌占 88.3%,链霉菌占 7.3%,其余各属均少。还从程海发现了以下新种:

黄玫瑰小四孢菌 (*Microtetraspora flavorosea* Jiang et Xu, 1986);<sup>[11]</sup>

云南糖单孢菌 (*Saccharomonospora yunnanensis* Jiang et Xu, 1985);<sup>[12]</sup>

程海马杜拉放线菌 (*Actinomadura chenghaiensis* Jiang et Xu, 1986);<sup>[13]</sup>

绿黄马杜拉放线菌 (*Actinomadura viridoflava* Jiang et Xu, 1986)<sup>[13]</sup>。

第 4 群: 这群包括抚仙湖、阳宗海和泸沽湖。这三个湖泊的特点是贫营养,水生植物少,平均水深 20—90m,最深 155m,人为干扰少,基本保持自然状态。

这三个湖泊的放线菌数量为 269.8—1221  $\times 10^3$ 。抚仙湖分离到 8 个属,阳宗海 4 个属,泸沽湖仅 3 个属。链霉菌占

52%,小单孢菌占 47%,其余各属均少。分析过 16 株抚仙湖的链霉菌,它们的细胞壁都是 I 型。

## (二) 高温放线菌

9 个湖泊均广泛分布着高温放线菌,其中主要是链霉菌属和高温放线菌属。用高温菌分离方法分离的小单孢菌,最适生长在 45℃ 以上,52℃ 也能生长,因此也属于高温放线菌(表 3)。

## (三) 放线菌产生的各种有用物质(表 4)

从 12 个湖分离的 1561 株放线菌,有 23% 产生纤维蛋白溶酶,其中有 50% 的高温链霉菌、近 45% 的中温链霉菌、13% 的小单孢菌产生这种酶。这几个属都有几株高活力菌株,相当于 100ppm 链激酶对纤维蛋白的水解活力。

908 株放线菌有 27% 产生凝乳酶,有 74% 的高温链霉菌产生这种酶。2% 的菌株的酶活力为 100 单位/ml 左右,其中一株达 400 单位。

产生甘露聚糖酶的菌株占 12%,主要是中温链霉菌和小单孢菌,高温链霉菌的

表 3 9 个湖泊的高温放线菌

Table 3 Thermophilic actinomycetes in benthic samples from nine lakes (/g干土 dry wt)

	链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	小单孢菌属 <i>Micromonospora</i>	小双孢菌属 <i>Microbispora</i>	双歧放线菌属 <i>Actinohifida</i>	小四孢菌属 <i>Microtetraspora</i>	糖单孢菌属 <i>Saccharomonospora</i>	诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>	高温放线菌属 <i>Thermoactinomyces</i>	总 数 Total
星云湖 Xingyun	100							50	150
茈碧湖 Cibi	50							50	100
杞麓湖 Qilu	100	100					50	50	300
异龙湖 Yilong	3950	3400							7350
大屯海 Datun	50							150	200
剑湖 Jian	4150			50	300			350	4850
程海 Chenghai	17.5	0.7				0.6		35	53.8
抚仙湖 Fuxian	233	8						58	299
阳宗海 Yangzong	900	50	50				50	100	1150

表 4 放线菌产生的各种有用物质

Table 4 Useful metabolites produced by actinomycete strains

	纤维蛋白溶酶 Fibrinolysin			凝乳酶 Rennin			甘露聚糖酶 Maanase			溶菌酶 Lysozyme		抗真菌活性 Antifungal activity	
	T	P	H	T	P	H	T	P	H	T	P	T	P
链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	363	123	2	182	29	3	182	51	5	219	21	344	11
链霉菌(高温株) Thermophilic <i>Streptomyces</i>	269	135	1	269	199	12	269	2		269		269	107
孢囊放线菌属 <i>Actinosporangium</i>	9									7		9	
小单孢菌属 <i>Micromonospora</i>	632	85	4	146	7		146	50	3	581	4	678	
小双孢菌属 <i>Microbispora</i>	3			1			1			3		3	
小四孢菌属 <i>Microtetraspora</i>	6			6			6			6		6	
小多孢菌属 <i>Micropolyspora</i>	1									1		2	
游动放线菌属 <i>Actinoplanes</i>	7									7		7	
马杜拉放线菌属 <i>Actinomadura</i>	276			264			264			273		276	
链孢囊菌属 <i>Streptosporangium</i>	5									10		6	
原小单孢菌属 <i>Promicromonospora</i>												1	
糖单孢菌属 <i>Saccharomonospora</i>	4	4		2	2		2			2	2	2	
糖多孢菌属 <i>Saccharopolyspora</i>	18	4		18	4		18	5		65		65	
诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>	22			6			6			21		24	
红球菌属 <i>Rhodococcus</i>	33									30		35	
高温放线菌属 <i>Thermoactinomyces</i>	14	1	1	14	1	1	14			14		14	
总 数 total	1561	352	8	908	242	16	908	108	8	1508	27	1741	118
%		23	5		27	2		12	1		2		7

注: T = 试验菌株数; P = 产生菌株数; H = 高活力菌株数。

产酶菌株很少。产生溶菌酶的菌株仅占 2%, 而且酶活力不到 10 单位。1741 株放线菌仅有 7% 产生抗毛霉活性, 主要是高温链霉菌, 活性都远不如土壤放线菌的高。

从这些水生放线菌中未找到凝血酶和  $\alpha$ -淀粉酶抑制剂的产生菌。

## 讨 论

云南高原的湖泊大多是断裂陷落湖。由于沧海桑田的变迁, 长期以来雨水的不断冲刷, 不断把陆生放线菌冲到湖内。在长期的自然选择过程中, 它们中的一部分保留了下来, 生息、繁衍、变化, 与其他生物组成了湖泊生态系统。我们的研究仅是这个历尽沧桑而又还在不断变化的动态过程的一个瞬间片段而已。根据这些初步的资料, 提出以下几点看法。

1. 云南高原湖泊放线菌区系的显著特点是小单孢菌占了很大优势, 从 39—88.8%, 这是与陆生放线菌区系的主要区别。我们曾经研究过云南昆明、西双版纳<sup>[4]</sup>、哀牢山<sup>[3]</sup>、元江等地的土壤放线菌区系, 是链霉菌占明显优势, 小单孢菌仅占 2% 左右。尽管异龙湖等三个湖曾一度部分或全部干涸过, 但水生环境始终占主要地位, 所以只增加了放线菌的数量, 却没有改变小单孢菌占优势这个事实。

2. 链霉菌是次优势菌, 它们的数量在雨季往往会增加, 这与雨水的冲刷有关。

3. 仅在滇池等三个湖的水样中分离到放线菌, 以诺卡氏菌和红球菌为主, 其余湖泊均未分离到放线菌。

4. 在这些湖泊中, 一共分离到 17 个属的放线菌, 其中马杜拉放线菌, 小多孢菌,

小四孢菌, 糖单孢菌, 糖多孢菌在国外有关的研究中还未发现过<sup>[45,16]</sup>。可见云南高原湖泊的放线菌区系的确很复杂。

5. 对 522 株放线菌进行研究的结果<sup>[4]</sup>表明, 93% 的菌株能分解甲壳素, 38% 的菌株能分解纤维素。有一半以上的菌株能在 5000ppm 的氟、3ppm 的汞和 5ppm 的酚中生长。可见它们在湖底动植物残体的分解和湖体的自净中起重要的作用。

6. 放线菌不但对维持湖泊生态系统的平衡起着重要的作用, 它们也是各种有用物质的一个重要来源。从湖生放线菌筛选纤维蛋白溶酶、凝乳酶等蛋白酶类产生菌的可能性较大。

## 参 考 文 献

- [1] 姜成林等: 生态学报, 4: 316—320, 1984。
- [2] 姜成林等: 水生生物学报, 9: 389—391, 1985。
- [3] 姜成林等: 微生物学论文集, 科学出版社, 北京, pp. 53—57, 1985。
- [4] Jiang, C. et al.: *The Actinomycetes*, 19: 107—115, 1985—1986。
- [5] 叶智影等: 动物学研究, 2: 33—40, 1981。
- [6] Ohtsuki, T. et al.: *Bot. Mag. Tokyo*, 76: 446—454, 1963。
- [7] 中山大学生物系生化微生物教研室: 生化技术导论, 人民教育出版社, 北京, pp. 52—68, 1978。
- [8] Johnson, D. W. et al.: *Freshwater Biol.*, 6: 457—463, 1986。
- [9] McCarthy, A. J. et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 130: 5—25, 1984。
- [10] 徐丽华等: 微生物学报, 25: 204—206, 1985。
- [11] 姜成林等: 微生物学报, 26: 184—187, 1986。
- [12] 姜成林等: 微生物学报, 25: 358—360, 1985。
- [13] 姜成林等: 微生物学报, 26: 97—100, 1986。
- [14] 徐丽华等: 微生物学报, 27: 173—177, 1987。
- [15] Cross, T.: *J. Appl. Bacteriol.*, 50: 397—424, 1981。
- [16] Williams, S. T. et al.: In *The biology of the actinomycetes*, Goodfellow M. et al. (ed.), Academic Press, London, etc. pp. 481—528, 1984。

## STUDIES ON ACTINOMYCETE FLORA AND RESOURCES IN THE PLATEAU LAKES IN YUNNAN

Jiang Chenglin Xu Lihua

(Yunnan Institute of Microbiology, Kunming)

During the period of 1983 to 1987 mud and water samples were collected from 17 larger lakes on the Yunnan Plateau. The actinomycetes in both sediment and water samples were investigated. Strains producing metabolites were screened by various procedures. The results are as follow:

1. The number and composition of actinomycetes in a lake were found to have relation to the physical and chemical features of the water-body. On the basis of the number and generic diversity of actinomycetes, lakes were thus divided into four groups.

2. *Micromonospora* occupied a notable dominance in benthic samples taken from all 12 lakes. This is a conspicuous characteristics of actinomycete flora in these lakes.

3. The population of actinomycetes in Lakes Qilu, Yilong and Datun ranges from 2991 to  $3542 \times 10^3$ /g dry wt. of mud.

4. Strains of *Actinomadura*, *Microtetraspora*, *Micropolyspora*, *Saccharomonospora* and *Saccharopolyspora* were isolated. These genera were not previously reported in similar studies abroad. In addition, five species were

considered to be new to science:

*Micromonospora phaeovirida* Jiang et Xu, 1985

*Saccharomonospora yunnanensis* Jiang et Xu, 1985

*Microtetraspora flavorosea* Jiang et Xu, 1986

*Actinomadura chenghaiensis* Jiang et Xu, 1986

*Actinomadura viridoflava* Jiang et Xu, 1986

5. Studies indicate that actinomycetes possibly play an important role in the decomposition of chitin, cellulose and some toxic substances in lakes.

6. As freshwater resources, actinomycetes produce various useful metabolites such as fibrinolysine, and milk-clotting enzyme.

### Key words

Actinomycete flora; Actinomycete resources; Plateau lakes

The Project Supported by NSFC.