

盐碱放线菌的分类研究*

王来福** 宋尚直 阮继生

(河北大学生物系,保定 071002) (中国科学院微生物研究所,北京 100080)

对分离自云南省盐碱土壤的 39 株嗜碱或耐碱放线菌进行了鉴定。根据形态学和化学分类特征(细胞壁化学组分、甲基萘醌组分和磷酸类脂组分),将它们分别归入拟诺卡氏菌属(*Nocardiopsis*)、糖丝菌属(*Saccharothrix*)、小单孢菌属(*Micromonospora*)和链霉菌属(*Streptomyces*)。再根据其形态特征和生理生化特性定为 12 个种 2 个亚种,为云南盐碱土壤中放线菌组成提供了资料。

关键词 盐碱放线菌;化学分类

嗜碱和耐碱放线菌作为抗生素和酶制剂资源日益受到重视,国外许多学者致力于这方面的研究,并从中找到了几种抗生素和酶制剂^[1,2],对嗜碱放线菌的细胞组分也作了系统分析^[3],命名了一新亚种:达松维尔拟诺卡氏菌葱绿亚种(*N. dassonvillei* subsp. *prasina*)^[4]。为了能更有效地开发利用这类极端环境放线菌,我们从云南省采集了 90 余份 pH9.0—11.0 的盐碱土样,同云南省微生物研究所一起分离挑选了 39 株能在 pH10.0、7% NaCl 中生长的放线菌。按形态与化学分类特征相结合定属,形态培养特征和生理特性定种的原则,进行了分类和鉴定。

材料和方法

(一) 菌种来源

39 株菌均从云南省祥云县的盐碱土样中分离得到,菌株编号见表 1。用 pH10.0 的甘油精氨酸琼脂、淀粉酪素琼脂和甘油天门冬素琼脂进行分离。培养基灭菌后,用灭菌的碳酸钠溶液调 pH 至 10.0,再加入灭菌的放线菌酮(50 μ g/ml)。

(二) 形态、培养特征观察和生理生化试验

按常规的放线菌鉴定方法,所不同的是在 pH10.0 的条件下进行培养观察。

(三) 细胞壁化学组分分析

用快速薄板层析法^[5]进行细胞壁和全细胞糖的组分分析。

(四) 甲基萘醌组分分析

采用 Collins 等的方法^[6]进行甲基萘醌的提取和纯化,用反相高效液相色谱分析组分。

本文于 1992 年 6 月 13 日收到。

* 国家重大科学基金项目资助课题。

** 现在河北省科学院微生物研究所工作。

(五) 磷酸类脂组分分析

按 Lechevalier 等的方法^[7]进行磷酸类脂的提取纯化与组分分析。

表 1 试验菌株的分类学特征

Table 1 Classification characteristics of test strains

菌号 Strains No.	属名 Name of genus	种名 Name of species	形态学特征 Morphological properties	化学分类特征 Chemotaxonomic characteristics
111, 115	拟诺卡氏菌属	生白拟诺卡氏菌	基内菌丝有膜, 部分断裂; 气生菌丝断裂为孢子	胞壁 III 型, 糖型 C, MK-10, P III 型磷酸类脂
13612, 13617, 13655, 1703, 13785, 13794, 13796, 13799, 13884		白色拟诺卡氏菌嗜碱亚种		
13782		白色拟诺卡氏菌葱绿亚种		
13644, 13722	糖丝菌属	黄色糖丝菌	基内菌丝和气生菌丝均断裂	胞壁 I 型, 糖型 C, MK-9(H ₄), P I 型磷酸类脂
13783		韦韦岩糖丝菌		
13769	小单孢菌属	青铜小单孢菌	基内菌丝着生单个孢子	胞壁 I 型, 糖型 D, MK-10(H ₄), P III 型磷酸类脂
102, 104, 107, 108, 113	链霉菌属	紫边链霉菌	基内菌丝分枝, 发达, 不断裂; 气生菌丝丰茂, 孢子丝直或钩环状、螺旋形	胞壁 I 型, 无特征性糖
105, 117		灰肉红链霉菌		
13847, 13856		黄杀菌素链霉菌		
13667, 13692, 13698, 13731, 13744, 13762		微白色链霉菌		
13645		白色链霉菌		
112, 13618, 13654, 13699		白长链霉菌		
114		唐德链霉菌		

结果和讨论

(一) 拟诺卡氏菌属(*Nocardiopsis*)

在《伯杰氏系统细菌学手册》中, 拟诺卡氏菌属包括 7 个种 2 个亚种^[8]。但近来 Grund 等^[9]、刘志恒等^[10]对这些种及亚种的化学分类和数值分类研究结果表明, 它们为明显的化学异源型类群, 不宜归于同一属内。Grund 等^[9]根据化学分类和数值分类研究结果, 将原拟诺卡氏菌属中的 MK-9、P I 或 P IV 型磷酸类脂的 5 个种转入糖丝菌属(*Saccharothrix*), 将原来的达松维尔拟诺卡氏菌的 2 个亚种分别命名为达松维尔拟诺卡氏菌、白色拟诺卡氏菌白色亚种(*N. albus* subsp. *albus*) 和白色拟诺卡氏菌葱绿亚种(*N. albus* subsp. *prasina*), 并将耐碱菌白浅红链霉菌(*S. alborubidus*) 转入该属而命名为白浅红拟诺卡氏菌(*N. alborubidus*)。我们参照上述文献, 对符合该属特征的 13612 等

12 株菌进行了分类鉴定。

1. 生白拟诺卡氏菌(新种)(*Nocardiopsis albofaciens* sp. nov.) : 菌株 111 和 115 的孢子丝为钩环状或松螺旋形(图版 1-1), 基内菌丝有隔, 孢子表面光滑(图版 1-2), 基内菌丝和气生菌丝均为乳白色(表 2)。能在 pH10.0, 7% NaCl 中生长, 为耐盐碱放线菌。其分类学特性和鉴别特征见表 1 和表 3。由于菌株 111 和 115 的孢子丝为钩环状或松螺旋形, 气生菌丝乳白色, 而已知的拟诺卡氏菌均为直形孢子丝、白色或灰黄色气生菌丝。并且生理特性也与已知的耐碱菌白浅红拟诺卡氏菌在利用蜜二糖、纤维二糖、阿拉伯糖、木糖、果糖、鼠李糖、蔗糖、糊精、山梨醇、柠檬酸钠、苯甲酸钠和降解腺嘌呤方面不同(表 3)。据此, 我们命名这两株菌为生白拟诺卡氏菌(*N. albofaciens* sp. nov.)。

表 2 试验菌株的培养特征*

Table 2 Cultural characteristics of test strains

菌号 Strains No.		111 115	13794**	13782	13644 13722	13783	13769
无机盐淀粉琼脂 Inorganic salt starch agar	气生菌丝	乳白	粉白	粉白	灰白	粉白	—
	基内菌丝	乳白	粉白	乳白	淡棕	粉白	淡棕
燕麦片琼脂 Oatmeal agar	气生菌丝	乳白	白	粉白	灰黄	粉白	—
	基内菌丝	乳白	粉白	乳白	浅黄	粉白	栗棕
甘油天门冬素琼脂 Glycerol aspergine agar	气生菌丝	乳白	白	白	乳白	白	—
	基内菌丝	乳白	粉白	乳白	橙黄	粉白	栗棕
葡萄糖天门冬素琼脂 Glucose aspergine agar	气生菌丝	乳白	粉白	粉白	白	粉白	—
	基内菌丝	乳白	粉白	乳白	乳白	粉白	栗棕
苯蔡特琼脂 Bennett agar	气生菌丝	乳白	粉白	粉白	粉白	粉白	—
	基内菌丝	黄棕	橙黄	乳白	豆汁黄	乳白	紫紫
麦芽膏酵母膏琼脂 Malt yeast ext. agar	气生菌丝	白	白	品黄	品黄	粉白	—
	基内菌丝	乳白	橙黄	橙黄	橙黄	浅黄	栗棕

* 所有菌株都不产生可溶性色素

** 典型菌株

2. 白色拟诺卡氏菌嗜碱亚种(新亚种)(*Nocardiopsis albus* subsp. *alkalophilis* subsp. nov.) : 菌株 13612、13617、13655、13703、13785、13794、13796、13799 和 13884 的形态和生理特征相近, 基内菌丝有隔并部分断裂(图版 1-3), 孢子丝直或稍弯曲(图版 1-4), 孢子表面光滑(图版 1-5), 生长 pH 为 7—13, 9—10 生长情况最好, 能耐 15% NaCl, 为嗜碱耐盐放线菌。其分类学特征和鉴别特征见表 1 和表 3。

由表 3 可见, 上述 9 株菌的形态培养特征和 MK 组分同白色拟诺卡氏菌^[9]相近, 与其它拟诺卡氏菌的差别较大。但它们的生理生化特性与已知的嗜碱菌白色拟诺卡氏菌葱绿亚种^[4,9]在利用蜜二糖、木糖、鼠李糖、乳糖、山梨醇、阿拉伯糖、果糖、糊精、甘露醇、降解明胶、淀粉、腺嘌呤和耐盐量等方面不同。与白色拟诺卡氏菌白色亚种在利用木糖、果糖、蜜

二糖、鼠李糖、蔗糖、乳糖、糊精、山梨醇、甘露醇、明胶、腺嘌呤、酪氨酸、淀粉水解,耐盐量和嗜碱性方面不同。据此,我们将这9株菌命名为白色拟诺卡氏菌嗜碱亚种(*N. albus* subsp. *alkalophilis* subsp. nov.)。

表3 拟诺卡氏菌的鉴别特征

Table 3 Classification characteristics of *Nocardiopsis* species

特征 Characteristics	达松维尔拟 诺卡氏菌 <i>N. dassonvillei</i>	白浅红拟 诺卡氏菌 <i>N. alborubida</i>	白色拟诺卡氏菌 白色亚种 <i>N. albus</i> subsp. <i>albus</i>	白色拟诺卡氏菌 菌葱绿亚种 <i>N. albus</i> subsp. <i>prasina</i>	13794*	13782	111 115
孢子丝	直形	直形	直形	直形	直形	直形	松螺旋
气生菌丝	黄灰色	白浅红色	白色	白色-浅黄色	白色	粉白色	乳白色
基内菌丝	黄褐色	无色	浅黄色	浅黄色	粉白色	粉白色	乳白色
MK 组分	MK-10(H ₄)	MK-10(H ₆)	MK-10(H ₄)	MK-10(H ₄)	MK-10 (H ₄)	MK-10 (H ₄)	MK-10 (H ₄)
利用							
阿拉伯糖	+	+	-	+	-	-	-
木糖	+	+	-	-	+	-	-
果糖	+	+	+	+	-	+	-
蜜二糖	-	-	-	-	+	-	+
纤维二糖	+	-	+	+	+	+	+
鼠李糖	+	+	-	-	+	-	-
蔗糖	+	+	+	-	-	-	-
乳糖	-	-	-	-	+	-	-
糊精	+	+	+	+	-	-	-
肌醇	-	+	-	-	-	-	+
山梨醇	-	+	-	-	+	-	-
甘露醇	-	-	-	-	+	-	-
柠檬酸盐	+	+	+	+	+	+	-
苯甲酸盐	-	+	-	-	-	-	-
腺嘌呤	+	+	+	+	-	+	-
酪氨酸	-	-	+	-	-	+	-
明胶液化	-	+	+	+	-	+	+
淀粉水解	+	+	+	+	-	+	+
生长 pH	5-9	5-10	5-9	7-11.5	7-12	7-12	5-10
耐盐量(%)	5	5	5	5	15	10	7

* 典型菌株

3. 白色拟诺卡氏菌葱绿亚种 (*Nocardiopsis albus* subsp. *prasina*): 菌株 13782 的孢子丝直形, 孢子表面光滑, 气生菌丝白色至粉白色, 基内菌丝为乳白色(表 2), 生长 pH 为

7-12, 耐盐量为 10% NaCl。从表 1 和表 3 可知, 该菌株的形态培养特征与白色拟诺卡氏菌相近, 生理生化特性与白色拟诺卡氏菌葱绿亚种相近, 因此, 将 13782 鉴定为白色拟诺卡氏菌葱绿亚种(*N. albus* subsp. *prasina*)。

(二) 糖丝菌属(*Saccharothrix*)

在《伯杰氏系统细菌学手册》中, 该属有 2 个种^[11], 其后 Labeda 等对糖丝菌属进行了补充描述, 将胞壁 III 型, 含半乳糖和鼠李糖, P I 或 P V 型磷酸类脂的放线菌定为糖丝菌, 并报道了 5 个新种^[12-13]。Grund 等也提出将 P I 或 P V 型磷酸类脂, MK-9 的拟诺卡氏菌转入糖丝菌属^[9]。菌株 13644、13722、13783 的基丝和气丝均断裂, 胞壁 III 型, P I 型磷酸类脂, 主要甲基萘醌组分为 MK-9(表 1), 符合上述文献对糖丝菌属的描述, 我们根据其形态和生理特性将它们定为 2 个种。

1. 黄色糖丝菌(*Saccharothrix flava*): 菌株 13644 和 13722 的孢子丝长直, 孢子表面光滑(图版 1-6), 气丝白色至粉白色, 基丝橙黄色(表 2)。主要甲基萘醌组分为 MK-9(H₁), 生长 pH 为 7-12, 耐盐量为 15% NaCl; 为嗜碱耐盐放线菌。由于这两株菌的形态培养特征和主要生理生化特性同黄色糖丝菌^[9]相近, 鉴定为黄色糖丝菌(*N. flava*)的近似种。

2. 韦韦岩糖丝菌(*Saccharothrix waywayandensis*): 菌株 13783 的孢子丝直形, 孢子表面光滑(图版 1-7), 气丝粉白色, 基丝乳白色(表 2)。主要甲基萘醌组分为 MK-9(H₁) 和 MK-9(H₆)。能在 pH 10、10% NaCl 中生长, 为耐盐碱放线菌。由于该菌株的形态培养特征与 Labeda 等^[13]命名的韦韦岩糖丝菌相近, 仅耐盐碱性和个别生理生化特性不同。因此, 将它鉴定为韦韦岩糖丝菌(*S. waywayandensis*)的近似种。

(三) 小单孢菌属(*Micromonospora*)

菌株 13769 的基内菌丝发育良好, 其上着生单个孢子, 胞壁 I 型, 主要甲基萘醌组分为 MK-10(H₁), P I 型磷酸类脂, 应隶属于小单孢菌属。

菌株 13769 的基内菌丝栗棕色, 不产生可溶性色素(表 2)。能在 pH 10、7% NaCl 中生长。主要生理特性与《伯杰氏系统细菌学手册》中的青铜小单孢菌(*M. chalcea*)^[4]相同。因此, 该菌株鉴定为青铜小单孢菌(*Micromonospora chalcea*)。

(四) 链霉菌属(*Sereptomycetes*)

菌株 102、104、105、107、108、112、113、114、117、13618、13645、13654、13677、13692、13689、13698、13731、13744、13762、13847 和 13856 的基内菌丝不断裂, 气生菌丝丰茂, 孢子丝直、钩环状或螺旋形。胞壁 I 型, 无特征性糖, 应属于链霉菌属。

根据形态培养特征、生理特性和耐盐碱性, 将这 21 株菌鉴定为紫边链霉菌(*S. violaceolalus*)、灰肉红链霉菌(*S. griseoincarnatus*)、黄杀菌素链霉菌(*S. xanthocidicus*)、微白色链霉菌(*S. albidus*)、白色链霉菌(*S. albus*)、白长链霉菌(*S. albolongus*)和唐德链霉菌(*S. tendae*)(表 1)。

参 考 文 献

- [1] Mikami, Y. et al.; *Actinomycetes*, 19(3):176-191, 1985-1986.
[2] Sato, M. et al.; *Agr. Biol. Chem.*, 47(9):2019-2027, 1983.

- [3] Mikami, Y. et al. ; *J. Gen. Microbiol.* , **128**(8):1709-1712, 1982.
- [4] Miyashita, K. et al. ; *Int. J. Syst. Bacteriol.* , **34**(4):405-409, 1984.
- [5] 王 平:微生物学通报,**13**(5):226-231, 1986.
- [6] Collions, M. D. et al. ; *J. Gen. Microbiol.* , **100**:221-230, 1977.
- [7] Lechevalier, M. P. et al. ; *Actinomycetes*, Zbl. Bakt. Suppl. 11, (ed. Schael, K. & G. Pulverer), pp. 111-116, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. New York, 1981.
- [8] Meyer, J. ; *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (ed. Williams, S. et al.), pp. 2562-2568, Williams & Wilkins Co. , Baltimore, 1989.
- [9] Grund, E. et al. ; *Int. J. Syst. Bacteriol.* , **40**(1):5-11, 1990.
- [10] 刘志恒等:微生物学报,**30**(6):464-470, 1990.
- [11] Labeda, D. P. ; *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (ed. Williams, S. et al.), pp. 2730-2737, Williams & Wilkins Co. , Baltimore, 1989.
- [12] Labeda, D. P. and M. Lechevalier; *Int. J. Syst. Bacteriol.* , **39**(4):420-423, 1989.
- [13] Labeda, D. P. et al. ; *ibid.* , **39**(3):355-358, 1989.
- [14] Kawanoto, I. ; *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (ed. Williams, S. et al.), pp. 2442-2450, Williams & Wilkins Co. , Baltimore, 1989.

A STUDY ON CLASSIFICATION OF ACTINOMYCETES FROM SALINE-ALKALI SOILS

Wang Laifu Song Shangzhi

(Department of Biology, Hebei University, Baoding 071002)

Ruan Jisheng

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

In this paper 39 strains of alkalophilic actinomycetes or alkaline tolerant actinomycetes isolated from the saline-alkali soils in Yunnan were identified. On the basis of morphological characteristics and some chemotaxonomic properties (composition of cell wall, whole cell sugar, menaquinone and phospholipid), the test strains were classified into *Nocardiopsis*, *Saccharothrix*, *Micromonospora* and *Streptomyces*. Twelve species and two subspecies were defined on the basis of the morphology and physiology. This research also provides the basic materials for the actinomycetes composition in Yunnan saline-alkali soils.

Key words Saline alkali actinomycetes; Chemotaxonomy