

20 株生孢囊放线菌形态及化学分类的研究*

张利平

(河北大学生物系 保定 071002)

阮继生

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

陈文新

(北京农业大学生物学院 北京 100094)

摘要 经形态、细胞壁化学组分、甲基萘醌组分及磷酸类脂等项分类指征的分析,对从云南地区分离到的 20 株在气生菌丝上可形成孢囊的放线菌进行了分类鉴定。结果表明,在形态及细胞壁、甲基萘醌组分三个方面均与链孢囊菌属(*Streptosporangium*)相一致,但在磷酸类脂组分上有 4 株菌与此属存在一定的差异。

关键词 形态,化学分类,链孢囊菌属

链孢囊菌属(*Streptosporangium*)在《伯杰细菌鉴定手册》第八版^[1]中,曾隶属于游动放线菌科(Actinoplanaceae)的放线菌。在《伯杰氏系统细菌手册》^[2](1989)中,放线菌目取消了科的分等级,并且在分属的标准上更多地参照了化学分类的指征,此属则被列入马杜拉放线菌群(Actinomaduromycetes)。此属是一类具有重要经济价值的稀有放线菌,其中的不少成员具有很高的抗菌活性和抗肿瘤活性^[3]。链孢囊菌属在分类学上的主要特征是:(1)球形或近球形的孢囊着生在气生菌丝上,由气生菌丝的孢子丝盘卷而成;(2)孢囊孢子无鞭毛,不游动;(3)细胞壁Ⅲ型,含有 meso-DAP, B 型糖,含马杜拉糖;(4)甲基萘醌的组分为 MK-9, MK-9(H₂), (H₄);(5)磷酸类脂为 PIV 型,含有葡萄糖未知结构的磷酸类脂。

根据链孢囊菌属的主要特征,我们在云南地区分离到的 94 株供试菌中,经过形态、细胞壁化学组分的分析,从中挑出了 20 株可在气生菌丝上形成孢囊,细胞壁含有 meso-DAP 和马杜拉糖的放线菌,并进一步对其进行了甲基萘醌和磷酸类脂等化学分类指征的研究。本文报道对 20 株气生菌丝形成球形或近球形孢囊的放线菌的分属研究。

1 材料和方法

1.1 菌株

由云南省微生物研究所提供,系姜成林、徐丽华先生等自云南不同地区的土壤中分离。

1.2 形态观察

1.2.1 菌体形态特征的观察:采用燕麦粉琼脂和 HV 琼脂上平皿插片法^[4],光学显微镜观

* 国家自然科学基金重大科学基金资助项目。

河北大学生物系本科毕业生惠艳静、王华锋、高慧英、刘丽、韩涛、庞彦芳曾参加部分工作。

本文于 1994 年 12 月 28 日收到。

察其气生菌丝上是否具有孢囊、孢囊的形状,并测量其大小。采用单宁-结晶紫染色法^[5]观察孢囊壁的有无。

1.2.2 形态特征的电镜观察:采用 HV 琼脂平皿插片法^[4],待孢囊成熟后,选择生长密度适宜的培养物,分别经固定、脱水等处理(此方法另见详细报道),喷涂后采用 KYKY-AMRAY-1000 扫描电子显微镜观察孢囊的形态特征。

1.2.3 孢囊孢子的运动性的观察^[5]:将燕麦粉琼脂上形成成熟孢囊的培养物取一小块,放入 1~2ml 无菌水中,28℃ 温箱培养 2h,取上清液滴于电镜铜网上,采用 JEM-100SX 透射电子显微镜观察孢子有无鞭毛。

1.3 细胞壁化学组分的分析

采用 Lechevalier 纯细胞壁制备的方法及王平快速薄层分析法^[6]进行纯细胞壁氨基酸及全细胞糖型的分析。

1.4 甲基萘醌组分分析

采用 Collins 等人的方法^[7]进行甲基萘醌提取纯化,用反相高效液相色谱分析组分。

1.5 磷酸类脂组分分析

按 Lechevalier 等人的方法^[8],进行磷酸类脂提取纯化及组分分析。

2 结果和讨论

在 94 株供试菌株中,有 20 株可在气生菌丝上形成孢囊。孢囊为球形、椭球形,具有真正的孢囊壁,孢囊孢子无鞭毛,不游动(见表 1 及图版 I)。从形态上符合链孢囊菌属 (*Streptosporangium*) 的特征。

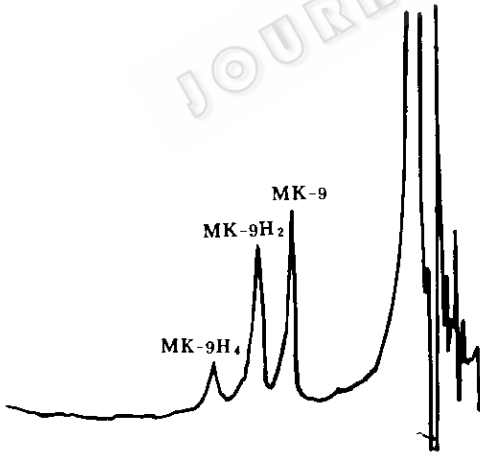


图 1 菌株 SP-22 甲基萘醌高压液相色谱图

Fig. 1 HPLC of menaquinone of strain SP-22

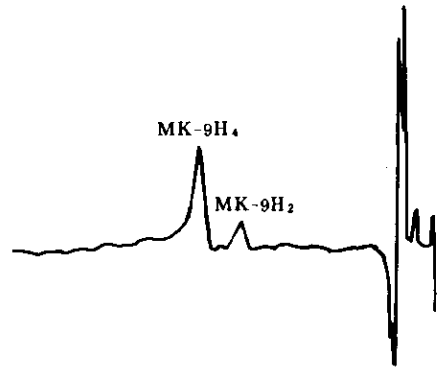


图 2 菌株 SP-13 甲基萘醌高压液相色谱图

Fig. 2 HPLC of menaquinone of strain SP-13

链孢囊菌属的细胞壁化学组分应属于 III/B 型。对 20 株气生菌丝可形成孢囊的供试菌株进行纯细胞壁氨基酸及全细胞壁糖型的分析,结果表明,这 20 株菌均含有 meso-DAP,不含有甘氨酸,全细胞糖型为 B 型,含有马杜拉糖(表 1)。

经甲基萘醌组分的分析, 20 株气生菌丝形成孢囊的放线菌 MK-组分均为 MK-9, MK-9(H₂), (H₄) (表 1 及图 1、2)。

磷酸类脂的分析结果表明, 20 株供试菌株在磷酸类脂的组分上有一定的差异(表 1)。

根据上述形态及化学分类特征的研究结果, 我们认为有 16 株放线菌与链孢囊菌属的特征相符, 应属于链孢囊菌属 (*Streptosporangium*)。另有四株 (SP-2, SP-4, SP-10, SP-19) 在形态、细胞壁化学组分及醌等三项鉴定结果与链孢囊菌属相同, 但磷酸类脂组分差异较大。因此认为这四株菌不列入链孢囊菌属为宜, 其分类地位有待于进一步研究。

表 1 供试菌株的分类学特征

Table 1 Classification characteristics of test strains

菌株 Strain	形态 Morphological 孢囊位置 Site	特征 Properties 孢囊形状 Shape	细胞壁型 Cell wall type	甲基萘醌 Menaquinones MK-9				磷酸类脂型 Phospholipids type
				H ₀	H ₂	H ₄	H ₆	
SP-1	气生菌丝体	球、椭球	III / B	+	++			IV
SP-2	气生菌丝体	球	III / B	+	++			II
SP-3	气生菌丝体	球	III / B		++	+++		IV
SP-4	气生菌丝体	球、椭球	III / B	++	+			II
SP-5	气生菌丝体	球、椭球	III / B	+	++			IV
SP-6	气生菌丝体	球	III / B	+	++	+		IV
SP-7	气生菌丝体	球	III / B	++	+			IV
SP-8	气生菌丝体	球	III / B		+	++		IV
SP-9	气生菌丝体	球、椭球	III / B	++	+++	+		IV
SP-10	气生菌丝体	球	III / B	+	++			I
SP-11	气生菌丝体	球、椭球	III / B	+	++			IV
SP-12	气生菌丝体	球	III / B		++	+		IV
SP-13	气生菌丝体	球、椭球	III / B		+	++		IV
SP-14	气生菌丝体	球	III / B	+	++	+		IV
SP-15	气生菌丝体	球	III / B	+	++			IV
SP-17	气生菌丝体	球、椭球	III / B	+	++	+		IV
SP-18	气生菌丝体	球、椭球	III / B	++	+++	+		IV
SP-19	气生菌丝体	球	III / B	+	++	+		I
SP-20	气生菌丝体	球	III / B	++	+++			IV
SP-22	气生菌丝体	球、椭球	III / B	+++	++	+		IV

致谢 磷酸类脂的分析曾得到刘志恒先生指导。

参 考 文 献

- [1] Hohn G H. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. Baltimore: The Willams & Wilkins Co, 1974. 266~267.
- [2] Hidoe N. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol 4*. Baltimore: The Willams & Wilkins Co, 1989. 2545~2551.
- [3] 阮继生, 张亚美, 姜朝瑞. 微生物学报, 1981, 21(1): 1~6.
- [4] 宋尚直, 费尚芬. 微生物学通报, 1983, 10(5): 227.
- [5] 阮继生. 放线菌分类基础. 北京: 科学出版社, 1977.80
- [6] 王平. 微生物学通报, 1986, 13(5): 226~231.
- [7] Collins M D. *Chemical Methods in Bacterial Systematic*. London: Academic Press, 1985. 267~285.
- [8] Lechevalier M P, Stern A E, Lechevalier H A. *Actinomycetes*. New York: Gustav Fischber Verlag, Stuttgart, 1981. 111~116.

THE STUDY OF MORPHOLOGY AND CHEMICAL TAXONOMIC OF TWENTY STRAINS OF SPORANGIA FORMING

Zhang Liping

(Department of Biology, Hebei University, Baoding 071002)

Ruan Jisheng

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

Chen Wenxin

(College of Biology, Beijing Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract Twenty strains of Actinomycetes were isolated from soil samples collected in Yunnan, China. Their aerial mycelia produce spherical sporangia producing sporangiospores without flagellum. Cell-wall composition of these strains is type III. Menaquinones is MK-9 (H_0), MK-9 (H_2), MK-9 (H_4). On the basis of morphological characteristics and cell-wall composition and menaquinones, they should be classified into *Streptosporangium*. But sixteen of them is phospholipids type IV and four strains is P I of P II.

Key words Morphology, Chemical taxonomy, *Streptosporangium*

图版说明

Explanation of plate

- 1, 2. 菌株 SP-22 的孢囊 (1. 400×; 2. 10000×); 3, 4. 菌株 SP-13 的孢囊 (3. 400×; 4. 4500×); 5, 6. 菌株 SP-19 的孢囊 (5. 400×; 6. 6000×); 7. 菌株 SP-22 的孢囊孢子 (2000×); 8. 菌株 SP-13 的孢囊孢子 (5000×); 9. 菌株 SP-19 的孢囊孢子 (2000×).
- 1, 2. Sporangia of strain SP-22; 3, 4. Sporangia of strain SP-13; 5, 6. Sporangia of strain SP-19; 7. Spore of strain SP-22; 8. Spore of strain SP-13; 9. Spore of strain SP-19.