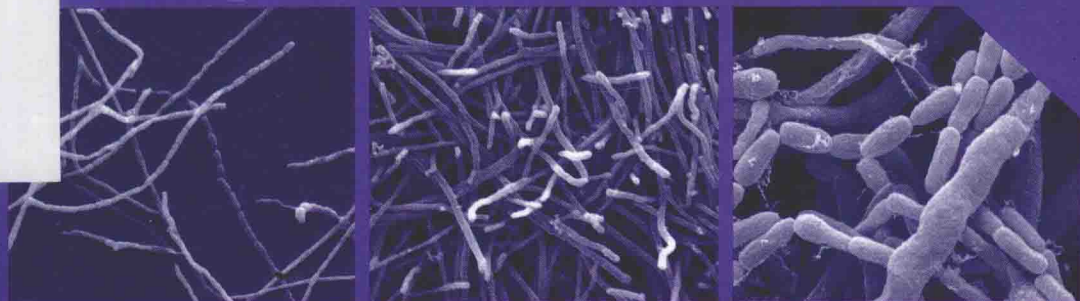


放线菌 系统分类技术

关统伟 张小平 等编著

Cassification
Technology of Actinomycetes



化学工业出版社

Cassification
Technology of Actinomycetes

放线菌 系统分类技术

关统伟 张小平 等编著



化学工业出版社

· 北京 ·

放线菌作为人类重要的伙伴以及生物活性物质的重要生产者,其资源开发与系统分类也显得尤其重要。本书描述了现代放线菌系统学与分类技术的发展,介绍了长期以来作者在分类技术中获得的部分经验,从新种的命名、登录号的获取、形态学、生理学、酶学、细胞化学、分子遗传学直至基因组学分类技术都做了较为全面的阐述。其中还特别加入了生物软件分类技术、网络在线分类技术和基因组学分类技术等。

本书是一本面向相关专业师生的教学参考用书,也是微生物资源分类及其开发利用的技术素材。

图书在版编目 (CIP) 数据

放线菌系统分类技术/关统伟等编著. —北京: 化学工业出版社, 2015. 10
ISBN 978-7-122-24951-7

I. ①放… II. ①关… III. ①放线菌-细菌分类
IV. ①Q939. 13

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 195189 号

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 张春娥

责任校对: 王素芹

装帧设计: 刘丽华

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市宇新装订厂

710mm×1000mm 1/16 印张 17 字数 325 千字 2016 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 85.00 元

版权所有 违者必究

编写人员名单

关统伟：西华大学

张小平：四川农业大学

Radhey S. Gupta: McMaster University, Canada (加拿大麦克马斯特大学)

高贝乐：中国科学院南海研究所

唐蜀昆：云南大学云南省微生物研究所

张玉琴：中国医学科学院医药生物技术研究所

秦 盛：江苏师范大学

刘松青：成都师范学院

陈祥贵：西华大学

赵 珂：四川农业大学

袁永俊：西华大学

杨玲玲：云南大学云南省微生物研究所

张芸娇：昆明医科大学海源分院

前言

自从2400年前亚里士多德提出物种的概念后，人们一直在追求着用自然分类的手段对物种进行分类。技术的进步以及分类概念的创新始终贯穿于原核生物分类体系的构建过程中。放线菌发现至今已有百余年的历史，而放线菌分类学的形成始于1961年Waksman出版的名著《放线菌属和种的分类、鉴定及描述》。从此，放线菌系统分类技术在漫长的岁月里逐步得到了提高和发展。近年来发展起来的“基因组系统发育学”让人们更加系统地理解和认识了放线菌类群的发生、演化，以及不同生境类群之间的相互关系。目前，已有超过910株放线菌的全基因组序列被完成。基于基因组学而创立的“基因组系统发育学”将成为重建放线菌“生命之树”的一场革命。这也标志着放线菌系统学已经进入基因组学研究时代。

为了顺应时代的发展和技术的进步，本书以突出实用为目标，阐述了放线菌分类学的最新进展以及现在分类技术的成果；详细介绍了分类生物软件和网络在线分类工具的使用。菌株保藏号的全程国际化获取途径以及放线菌新物种的命名、新的全细胞水解糖组分分析技术及其基因组分类技术等，深入地展现了放线菌分类学的魅力。全书内容丰富全面、叙述朴实、浅显易懂，避免了过于复杂的晦涩难懂的描述，操作步骤更加详尽清晰，从而更好地符合师生的阅读习惯和实际应用。

本书共分8章，从分类学的发展和基本的分类技术入手直至放线菌的基因组分类技术介绍，由浅入深，力求新颖；每个章节都有2~5位专业学者参与编写，做到内容精确到位、细节丰满有力。

本书的编写得到国家自然科学基金委（31060003）、教育部“春晖计划”（Z2012022）和西华大学重点项目（Z1220530）及青年学者计划的大力资助。对此，表示衷心的感谢！

在本书编写过程中，编著者们怀着严谨的科学精神、朴实的治学态度去学、去写、去做；但放线菌系统分类技术发展迅速，内容涉及广泛，其中难免有不尽如人意之处，乞望读者指正。

编者

2015年6月

第 1 章 放线菌系统分类学概论

1

1.1 放线菌分类学的发展	1
1.2 放线菌的多相分类	10
1.3 如何使用现代技术对放线菌分类	19
1.4 放线菌新种的命名	22
参考文献	33

第 2 章 放线菌的形态特征与现代分类基本技术

39

2.1 放线菌显微观察技术	39
2.2 放线菌菌种纯化技术	52
2.3 放线菌的培养技术	54
2.4 放线菌细胞大小的测定技术	55
2.5 放线菌的基本形态	58
2.6 放线菌的培养特征	62
2.7 放线菌性别判定技术	65
2.8 放线菌的分离技术	66
参考文献	68

第 3 章 放线菌生理生化特性分类技术

70

3.1 生理生化分类技术	70
3.2 API 细菌鉴定系统	82
3.3 Biolog 全自动微生物鉴定系统	89
参考文献	90

第 4 章 化学分类技术

91

4.1 细胞壁化学类型	91
4.2 全细胞水解糖分类技术	93
4.3 枝菌酸分类技术	97
4.4 醌组分分类技术	102
4.5 磷酸类脂分类技术	104
4.6 脂肪酸组分分类技术	108
4.7 肽聚糖型分类技术	112

参考文献	115
------------	-----

第 5 章 基因型分类技术	117
----------------------	------------

5.1 放线菌基因组 DNA 提取	117
5.2 PCR 反应与产物纯化技术	118
5.3 基因克隆	121
5.4 凝胶电泳技术	123
5.5 现代测序技术	126
5.6 16S rRNA 基因序列分析	130
5.7 DNA (G + C) 含量测定技术	130
5.8 DNA 杂交技术	137
5.9 引物设计与菌株的快速鉴别	141
5.10 多位点序列分析技术	152
参考文献	157

第 6 章 生物软件在放线菌分类中的应用技术	160
-------------------------------	------------

6.1 序列拼接技术	160
6.2 Clustal X 多序列比对技术	175
6.3 系统进化树构建技术	182
6.4 Sequin 软件提交序列技术	221
参考文献	227

第 7 章 放线菌基因组分类技术	228
-------------------------	------------

7.1 放线菌基因组的特点	228
7.2 基因组时代放线菌系统分类研究的现状	230
7.3 新型的用于系统发育分析的基因组特征序列	232
7.4 Signature Indels 和 Signature Proteins 在放线菌系统发育研究中的应用	233
7.5 放线菌基因组分类学的展望	238
参考文献	239

第 8 章 网络在线分类技术	242
-----------------------	------------

8.1 NCBI 及 BLAST 的使用	242
8.2 RDP 数据库使用介绍	247
8.3 EzBioCloud 数据库使用介绍	251
8.4 LPSN 网站介绍	257
8.5 WDCM 网站介绍	260
8.6 BankIt 在线提交核酸序列	261
参考文献	266

第1章

放线菌系统分类学概论

1.1 放线菌分类学的发展

1.1.1 放线菌分类学概念

微生物分类是按微生物亲缘关系把微生物归入各分类单元或分类群 (taxon), 以得到一个反映微生物进化的自然分类和符合逻辑命名的系统 (李阜棣, 2006; 沈萍, 2009)。微生物分类学是研究微生物分类理论和技术方法的学科, 其分类学包括“鉴定”(identification)、“命名”(nomenclature)和“分类”(taxonomy)。分类是根据一定的原则(特征的相似性、系统发育的相关性)对微生物进行分群归类, 根据相似性或相关性水平排列成系统, 并对各个分类群的特征进行描述, 以便于查考和对未分类的微生物进行鉴定。微生物分类等级在原核生物中有界(kingdom)、门(division/phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)、种(species)。人类要利用微生物资源, 首先要认识微生物, 并对其进行分类鉴定。它将为研究者查询微生物各成员相关信息和对某些未详细研究的微生物种类特征进行预测; 通常分类信息越精确, 所提供的信息就越丰富, 应用的价值也就越高。

放线菌是 DNA (G+C) 含量 $>55\%$ 的革兰阳性细菌, 具有细菌多种形态结构的放线菌群, 球状、杆状、分枝或有分枝的气生菌丝体和基内菌丝体等。放线菌分类学是根据某些性状识别自然界中的放线菌物种, 根据其相似性鉴定至不同分类单元或排列出不同分类等级, 探讨物种间亲缘关系及系统发育的一门基础学科 (阮继生, 2011)。目前放线菌分类学已从经典分类或表观分类 (phenotypic taxonomy) 发展到化学分类 (chemotaxonomy), 再由化学分类发展至分子分类 (molecular taxonomy) 以及当今生物系统进化的多相分类 (polyphasic taxonomy)。

1.1.2 放线菌系统学的发展

放线菌发现至今已有百余年的历史, 放线菌系统分类学在这漫长的岁月里逐步得到了发展和提高。放线菌最早是由德国科学家 Cohn (1875 年) 从人的泪腺感染中分离到一株丝状病原菌——链丝菌 (*Streptothrix*) 而发现的, 并因其菌落呈现放射状而得名。而后 Harz (1877) 建立了放线菌属 (*Actinomyces*)。1916 年前

后, Waksman 在研究土壤微生物时, 首次把一些丝状细菌称之为“放线菌”(Actinomycetes), 并详细描述了这些微生物。1942 年, Waksman 及其同事们从放线菌的链霉菌中发现了链霉素, 并在 1952 年获得诺贝尔奖, 从而推动了放线菌研究在全世界的兴起。在 20 世纪五六十年代, 放线菌资源及抗生素的研究与开发达到高潮。随之放线菌分类也全面展开。1961 年, Waksman 出版了他的名著《放线菌, 属和种的分类, 鉴定及描述》, 从此放线菌分类学开始形成。这个时期的放线菌分类可以称之为依据以形态、培养和生理生化特征为主的经典分类。70 年代初, Lechevalier (Lechevalier, 1971; Lechevalier, 1980) 夫妇及其同事们推广了化学分类体系, 放线菌的化学分类系统也随之建立。1981 年, Stackebrandt 和 Woese 根据 16S rRNA 相似性、DNA-rRNA 杂交和 DNA-DNA 杂交的结果, 构建了放线菌与其他生物之间的系统发育树, 从此放线菌分类进入了分子分类时代。当前的分类系统主要是综合了表型、化学型和基因型的多相分类系统。

随着越来越多的以系统发育学为指导的基因组测序研究项目的开展, 如“细菌和古菌基因组百科全书 (Genomic Encyclopedia of Bacteria and Archaea, GEBA) 计划”的出现, 近年来发展起来的“基因组系统发育学”有助于让人们更加系统地理解放线菌类群的发生、演化, 以及不同生境类群之间的相互关系。大规模基因组测序技术的飞速发展, 使得当前超过 900 株放线菌的全基因组序列已经被完成。基于基因组学而创立的“基因组系统发育学”将成为重建放线菌“生命之树”的一场革命。这也标志着放线菌系统学进入了基因组学研究时代 (刘志恒, 2011)。

1.1.3 放线菌分类地位的演替

19 世纪以前, 由于放线菌具有发达的菌丝体, 人们曾将其归于真菌中; 1968 年, Murray 提出原核生物界 (Prokaryotae) 和真核生物界 (Eucaryotae) 之后, 放线菌被归于原核生物界; 1978 年, Gibbens 和 Murray 根据细胞壁的有无和细胞壁的性质建议放线菌包括在厚壁菌门。1987 年, Woese 通过对 500 多种生物的 16S rRNA 序列的系统发育学分析, 提出了著名的生命三域学说, 1990 年 Woese 等正式建立了三域分类系统 (图 1-1), 放线菌所属的厚壁菌门被归于细菌域。在 1989 年版的《伯杰氏系统细菌学手册》(Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) 中, 放线菌被划分子原核生物界, 厚壁菌门, 分枝菌纲 (Thallo-bacteria), 放线菌目 (Actinomycetales)。1992 年, Roller 等根据 23S rRNA 的插入序列是高 G+C 含量革兰阳性细菌区别于其他细菌的一个明显特征, 提出建立放线菌门, 但因所选取的实验菌株不能涵盖整个放线菌而没有得到国际认可。1997 年, Stackebrandt 等通过对 16SrRNA/rDNA 序列分析, 提出了放线菌纲 (Actinobacteria) 这一新的分类等级 (见图 1-2), 并将放线菌纲分为 5 个亚纲: 酸微菌亚纲 (Acidimicrobiales)、红色杆菌亚纲 (Rubrobacteriales)、科里杆菌亚纲 [红螺旋菌亚纲 (Coriobacteriales)]、球杆菌亚纲 (Sphaerobacteriales) 和放线菌亚纲 (Actinobacteriales), 并得到国际承认。2001 年出版的《伯杰氏细菌系统学手

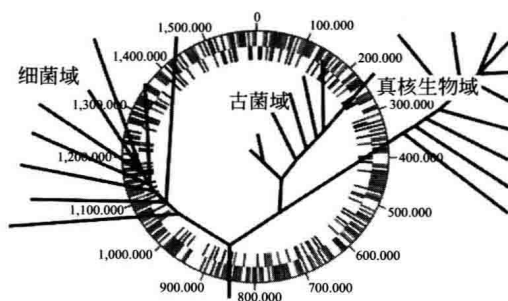


图 1-1 生命三域系统：古菌域（Archaea）、细菌域（Bacteria）和真核生物域（Eucarya）

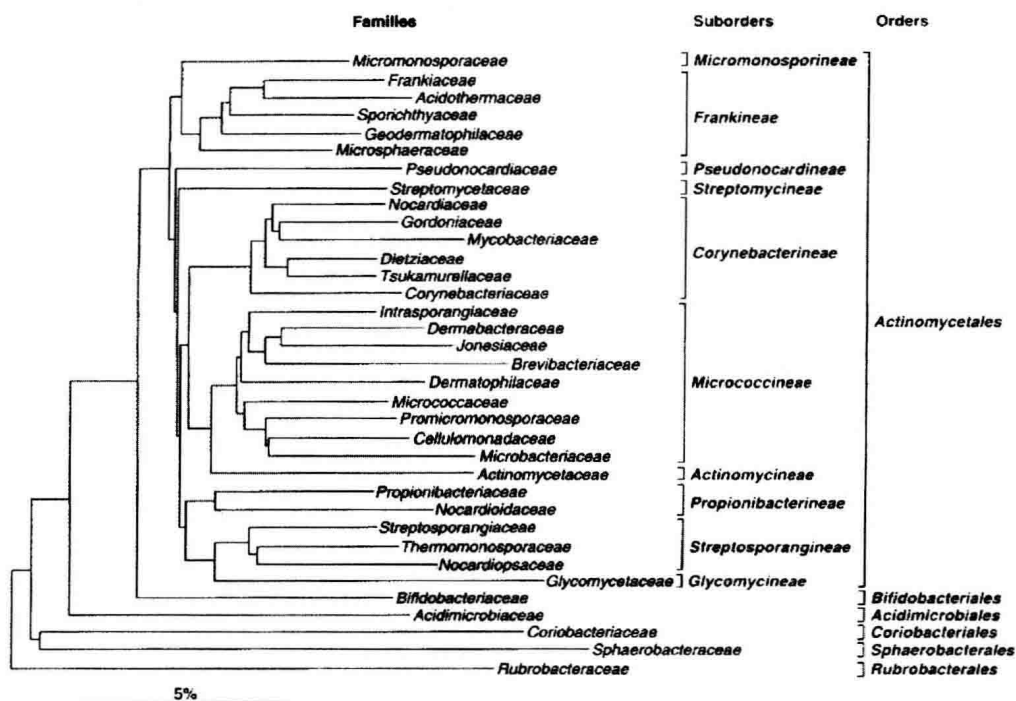


图 1-2 放线菌纲 16S rRNA 基因序列系统发育树 (Stackebrandt, *et al.*, 1997)

册》（第二版）将高 G+C 含量革兰阳性细菌确定为放线菌门 (Boone, 2001)。2005 年, Gao 等人 (2005) 研究发现细胞色素 c 氧化酶 1 亚基 (Cox1)、CTP 合成酶以及谷氨酰 tRNA 合成酶广泛分布于原核生物的蛋白质中, 存在着对放线菌高度特异的特征。这项研究结果为确定放线菌门的地位提供了更为有力的新证据, 并验证了 23S rRNA 插入序列在放线菌中的特异性, 提出放线菌门 (Phylum Actinobacteria) 是原核生物细菌域 (Domain) 中区别于厚壁菌门 (Firmicutes) 的新的独立分类单元。

随着分类学工作者的不懈努力和与时俱进的精神, 新的放线菌资源及其基因

序列不断被发现，放线菌纲在 2009 年被重新修订 (Zhi, 2009)，并整理出 2 个新亚目：放线多孢菌亚目 (Actinopolysporineae) 和动球菌亚目 (Kineococcineae) 及 4 个科。同时，Gundlapally 于 2009 年在红杆菌亚纲中建立了两个新目：土壤红杆菌目 (Solirubrobacterales; Reddy and Garcia-Pichel, 2009) 及嗜热油菌目 (Thermoleophilales; Reddy and Garcia-Pichel, 2009)。Sorokin 于 2009 年发表了脲基降解菌目 (Nitriliruptorales; Sorokin, 2009)。Kurahashi 于 2009 年发现了尤泽比氏菌目 (Euzebyales; Kurahashi, 2010)，并建立了脲基降解菌亚纲 (Nitriliruptoridae; Kurahashi, 2010) (图 1-3)；2012 年 5 月，《伯杰氏系统细菌学手册》(Goodfellow, 2012) 第 2 版第 5 卷 (放线菌专刊) 由 Springer 出版社正式出版。该手册第 5 卷对放线菌分类系统做出了重大调整，正式建立了放线菌门，包括 6 个纲 (放线菌纲, Actinobacteria; 酸微菌纲, Acidimicrobiia; 红杆菌纲, Coriobacteriia; 脲基降解菌纲, Nitriliruptoria; 红杆菌纲, Rubrobacteria; 嗜热油菌纲, Thermoleophilia)、23 个目 (含一个未确定目)、53 个科、222 个属、近 3000 个种，其分类阶元为细菌域、放线菌门，在门下为纲、目、科、属和种。

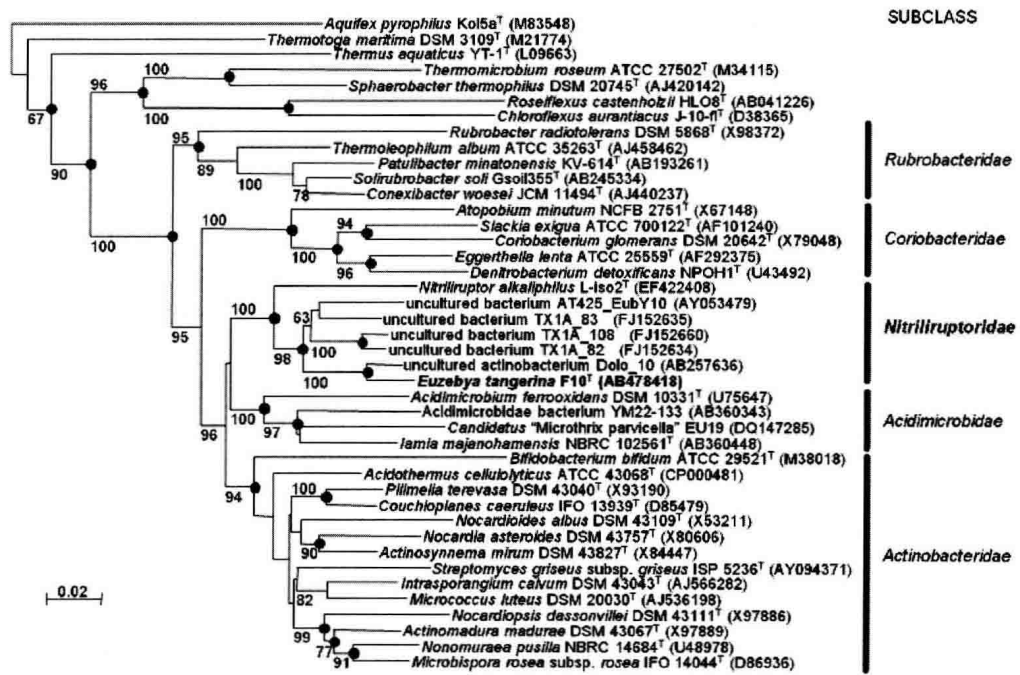


图 1-3 Nitriliruptoridae 亚纲的 16S rRNA 基因序列系统发育树 (Kurahashi *et al.*, 2010)

2014 年，Sen 等在放线菌纲中选取了 17 个目 35 个科下的 100 个全基因组序列，采用多种分析手段 (16S rRNA 分析、23S rRNA 分析、54 个保守蛋白、MLSA 等) 研究了放线菌纲的系统进化关系，将其研究结果发表在 IJSEM 上，其系统进化关系分析如图 1-4 和图 1-5 所示。根据分析结果，对整个放线菌纲重新建

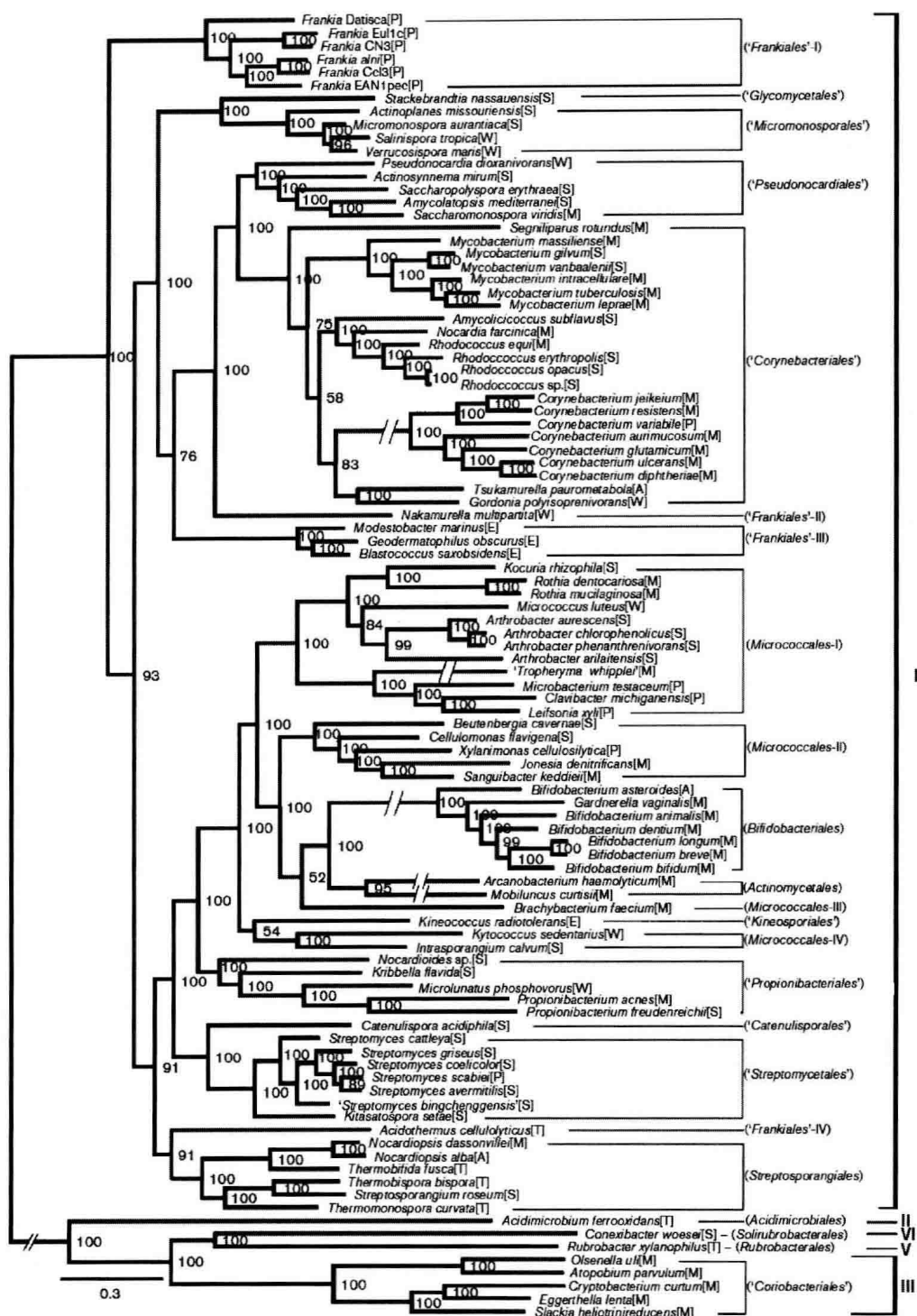


图 1-4 基于 54 个保守蛋白基因构建的系统发育树

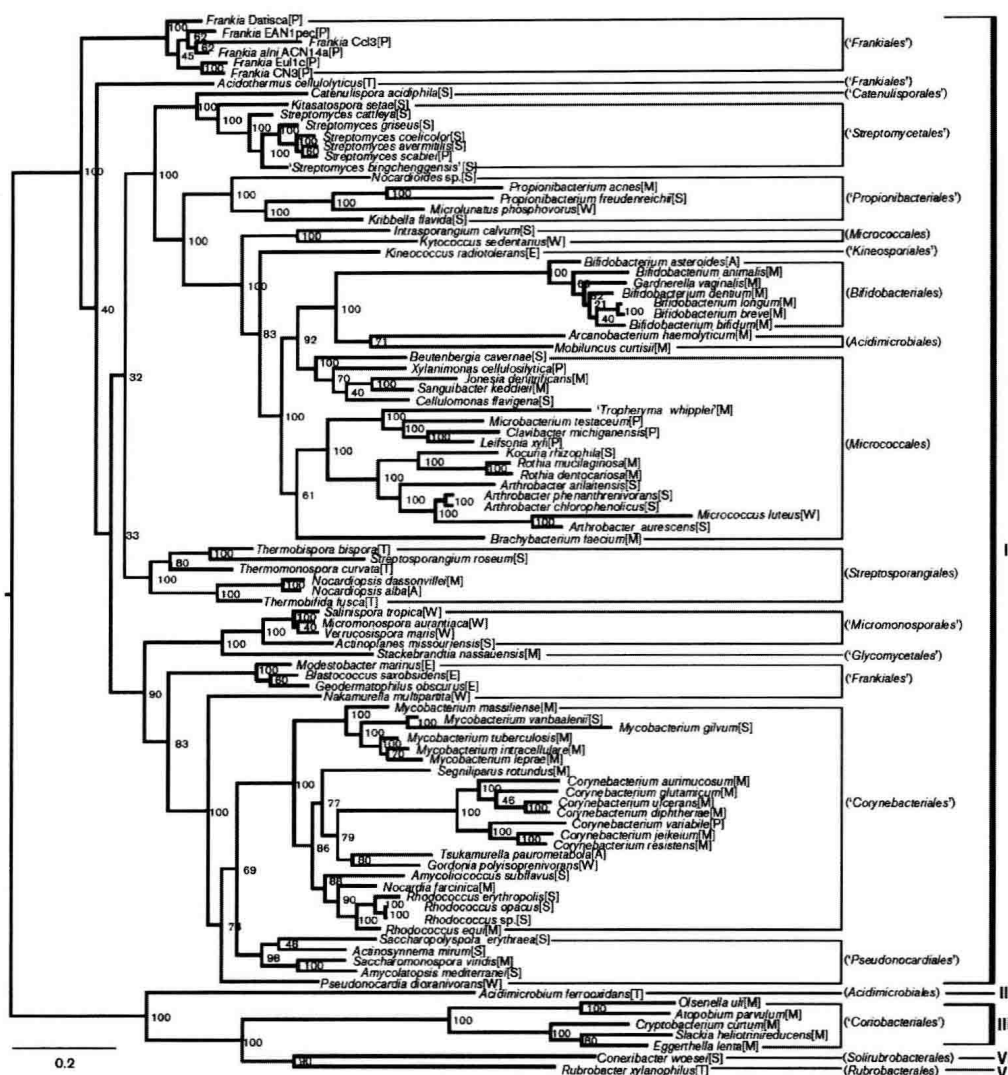


图 1-5 基于 MLSA 构建的系统发育树

立了若干目及其所包括的科或属，即 Frankiales ord. Nov. (Frankiaceae)、Geodermatophilales ord. nov. (Geodermatophilaceae)、Acidothermales ord. nov. (Acidothermaceae)、Nakamurellales ord. nov. (Nakamurellaceae)、Micrococcales (Kocuria、Rothia、Micrococcus、Arthrobacter、Tropheryma、Microbacterium、Leifsonia 和 Clavibacter)、Cellulomonales (Beutenbergia、Cellulomonas、Xylanimonas、Jonesia 和 Sanguibacter) 和 Brachybacteriales (Brachybacterium)。这与伯杰氏第二版第五卷所编写的放线菌纲的内容有所不同，因此，不可否认的是，这些技术方法或许在不久的将来会使原核生物分类学发生深刻的改变。

1.1.4 我国放线菌分类学的发展

在继承和发展阎逊初、阮继生、刘志恒、姜成林等老一辈放线菌系统学家开创的事业中,我国放线菌系统学经历了近20年的快速发展,取得了一定的成绩。在2012年《伯杰氏系统细菌学手册》(Goodfellow, 2012)第二版第五卷中我国有8位科学家(陶天申、刘志恒、黄英、陈文峰、李文钧、崔晓龙、唐蜀昆、职晓阳)参与了该卷放线菌专刊的编写工作,这也体现了我国科学家在放线菌分类学中做出的突出成就。但还有很多方面需要创新与提高,尤其是在放线菌系统学的技术性与结构性创新方面还需更富胆略的突破性进展。目前国内放线菌系统学研究者研究的内容大多停留在新物种的发掘层面,我国发表新物种的论文数量在国际同行中位居前列,这与系统学技术的原始性创新很不同步。如何提升我国放线菌分类技术方法和分类理论创新体系,促进我国放线菌系统学的理论和实践的全面进步,仍然任重而道远。

我国的放线菌分类学始于20世纪50年代初,是以我国放线菌分类学的奠基人、中国科学院微生物研究所阎逊初院士为首的科学家开创的。阎逊初院士等人系统地开展了链霉菌属12个类群的分类研究,创建了《链霉菌属的分群指南》,翻译了《细菌和放线菌的鉴定》以及《放线菌及其抗生素鉴定指南》;1975年,阎逊初先生带领放线菌分类组组织编写了我国第一部分分类学著作《链霉菌鉴定手册》(1975),并编写了《放线菌的分类与鉴定》。这些研究成果及其专著奠定了我国放线菌分类学的重要基础,并培养了一批优秀的放线菌分类学人才。70年代以后,中科院微生物所开展了化学分类,阮继生先生及其同事为此做出了重要贡献。阮继生先生于1981年以博士后的身份到美国瓦克斯曼微生物研究所 Lechevalier 夫妇教授实验室进行合作研究,系统地掌握了化学分类的各项技术,如磷酸类脂、甲基萘醌、枝菌酸等的分析方法。20世纪80年代初,阮继生先生被美国邀请进行合作,发现了拟无枝菌酸菌属(*Amycolatopsis*)及无枝菌酸菌属(*Amycolata*,后被转入其他属),两个新属由美国、德国、中国3个国家的科研单位和科学家们联名发表,这也是我国首次在 IJSB (国际系统细菌学杂志)上发表新属(Lechevalier, 1986)。20世纪80年代末及90年代初期,国家自然科学基金委组建和资助了我国微生物学第一个重大项目“云南地区放线菌生态分布及其资源前期开发”(阮继生为项目负责人),姜成林所带领的团队由云南地区分离出万余株菌,发现了放线双孢菌新属(后并入假诺卡菌属)以及多个新种(Jiang, 1991)。在这个时期,我国的化学分类及其分子分类技术也得到了快速成长。1990年,阮继生先生编写出版了《放线菌研究及应用》一书;1992年,阎逊初出版了《放线菌的分类和鉴定》;1995年,姜成林、徐丽华与许宗雄合著的《放线菌分类学》(姜成林, 1995)是一本当时比较全面系统的放线菌分类学专著,其中阐述了分子分类的原理与方法。1997年,《放线菌的分类基础》问世(阮继生, 1997)。这些分类工具成为我国早期放线菌分类工作者必备的参考书之一。之后,越来越多的

研究所、高校及其科研单位参与到放线菌分类学的研究当中，如中科院微生物研究所阮继生、黄英团队开展了稀有放线菌、链霉菌及其嗜酸放线菌的研究工作，云南大学的姜成林、徐丽华等分别开展了嗜热、嗜酸、嗜冷、嗜盐碱等极端环境放线菌分类学研究；河北大学的宋尚直、张利平等分别开展的嗜盐碱放线菌、弗兰克菌以及链孢囊放线菌分类研究，以及四川抗生素研究所、福建微生物研究所、中国科学院沈阳应用生态研究所、中国热带农科院热带生物技术所、塔里木大学、西北农林科技大学、中国科学院南海海洋研究所、北京大学、西华大学微生物研究所、江苏师范大学、河北大学、辽宁大学、大连轻工业学院、大连师范学院等也都相继开展了放线菌分类学的大量研究工作，并有效发表了大量新物种，这为我国放线菌资源的开发提供了重要的多样化的宝贵材料。2004年，刘志恒、姜成林等编著出版了《放线菌现代生物学与生物技术》；2007年，徐丽华、李文均等编著出版了《放线菌系统学：原理、方法及实践》。2007年10月7~10日在德国 Goslar 市召开的第十一届世界培养物保藏联盟大会上，WFCC 主席 D. Smith 博士将斯克爾曼獎 (Skerman, 分类学奖) 授予云南大学的李文均博士，以表彰他在极端环境放线菌系统学中做出的突出贡献。2011年，阮继生、黄英等编著出版了《放线菌快速鉴定与系统分类》。这些工作使得我国在放线菌系统学领域的发展和技术更趋完善。2011年5月19~23日，伯杰氏国际系统微生物学学会 (BISMIS) 成立大会在北京召开，世界著名的微生物分类学家汇集于中国共同解决当前微生物分类问题。在大会闭幕式上，伯杰氏基金会主席 Michael Goodfellow 教授宣布，我国著名放线菌系统分类学家、中国科学院微生物研究所阮继生教授和刘志恒教授获得了伯杰氏基金会颁发的“伯杰氏奖章”，以奖励他们对微生物系统学的卓越贡献。这些成果标志着我国微生物分类已经在国际舞台上发挥着越来越重要的作用，也是我国微生物分类自立于世界的重要象征。

我国的放线菌现代分类技术已经完全同世界接轨，并达到国际同等水平，但也应该看到还存在一定的差距。比如现代分类技术方面改进的多、创新的少。放线菌分类技术应与时俱进，不断创新技术方法，提高组学技术、新的可供应用于分类系统的生物大分子等方面的研究，从而更加全面系统地推进放线菌现代分类技术的发展和完美呈现放线菌的进化发育历史。

1.1.5 放线菌新分类单元的挖掘

迄今所发现的放线菌估计仅占实有数的1%，换言之，尚有99%的放线菌还没有被发现，或许更多。因此，国内外一些实验室一直把分离新的放线菌作为主要工作，不断改进、创新分离方法，并获得了可喜的成绩。1997年，放线菌仅有95个属，到了2009年已经快速上升到219个属。2012年5月第二版第五卷的放线菌专刊中放线菌记录为222个属，笔者统计了2012年5月以后在IJSEM上放线菌新属发表的情况，共有37个新属（表1-1），例如：*Jatrophihabitans* (Madhaiyan,

2013)、*Mumia* (Lee, 2014)、*Galbitalea* (Kim, 2014)、*Canibacter* (Aravena-Román, 2014)、*Allosalinactinospora* (Guo, 2015) 等。至今, 每天都有新的物种在不断被发现。

表 1-1 2012 年 5 月至 2015 年 3 月在 IJSEM 发表的放线菌新属统计

新属	作者	年份
<i>Allonocardiopsis opalescens</i> gen. nov.	Du <i>et al.</i>	2013
<i>Allosalinactinospora lopnorensis</i> gen. nov.	Guo <i>et al.</i>	2015
<i>Alpinimonas psychrophila</i> gen. nov.	Schumann <i>et al.</i>	2012
<i>Aquihabitans daechungensis</i> gen. nov.	Jin <i>et al.</i>	2013
<i>Barrientosiimonas humi</i> gen. nov.	Lee <i>et al.</i>	2013
<i>Canibacter oris</i> gen. nov.	Aravena-Román <i>et al.</i>	2014
<i>Compostimonas suwonensis</i> gen. nov.	Kim <i>et al.</i>	2012
<i>Conyzicola lurida</i> gen. nov.	Kim <i>et al.</i>	2014
<i>Enteractinococcus coprophilus</i> gen. nov.	Cao <i>et al.</i>	2012
<i>Flaviflexus huanghaiensis</i> gen. nov.	Du <i>et al.</i>	2013
<i>Galbitalea soli</i> gen. nov.	Kim <i>et al.</i>	2014
<i>Glaciihabitans tibetensis</i> gen. nov.	Li <i>et al.</i>	2014
<i>Gryllotalpicola koreensis</i> gen. nov.	Kim <i>et al.</i>	2012
<i>Halopolyspora alba</i> gen. nov.	Lai <i>et al.</i>	2014
<i>Labeledaea rhizosphaerae</i> gen. nov.	Lee <i>et al.</i>	2012
<i>Longimycelium tulufanense</i> gen. nov.	Xia <i>et al.</i>	2013
<i>Lysinimicrobium mangrove</i> gen. nov.	Hamada <i>et al.</i>	2012
<i>Lysinimonas soli</i> gen. nov.	Jang <i>et al.</i>	2013
<i>Jatrophihabitans endophyticus</i> gen. nov.	Madhaiyan <i>et al.</i>	2013
<i>Mariniluteicoccus flavus</i> gen. nov.	Zhang <i>et al.</i>	2014
<i>Mumia flava</i> gen. nov.	Lee <i>et al.</i>	2014
<i>Naasia aerilata</i> gen. nov.	Weon <i>et al.</i>	2013
<i>Naumannella halotolerans</i> gen. nov.	Rieser <i>et al.</i>	2012
<i>Oceanitalea nanhaiensis</i> gen. nov.	Fu <i>et al.</i>	2012
<i>Parvibacter caecicola</i> gen. nov.	Clavel <i>et al.</i>	2013
<i>Pontimonas salivibrio</i> gen. nov.	Jang <i>et al.</i>	2013
<i>Rhizocola hellebore</i> gen. nov.	Matsumoto <i>et al.</i>	2014
<i>Rhodoluna laticola</i> gen. nov.	W. Hahn <i>et al.</i>	2014
<i>Rudaeicoccus suwonensis</i> gen. nov.	Kim <i>et al.</i>	2013
<i>Rudaibacter terrae</i> gen. nov.	Kim <i>et al.</i>	2013

续表

新属	作者	年份
<i>Spelaieicoccus albus</i> gen. nov.	Lee <i>et al.</i>	2013
<i>Tamlicoccus marinus</i> gen. nov.	Lee <i>et al.</i>	2013
<i>Tersicoccus phoenicis</i> gen. nov.	Vaishampayan <i>et al.</i>	2013
<i>Thermocatellispora tengchongensis</i> gen. nov.	Zhou <i>et al.</i>	2012
<i>Thermotunica guangxiensis</i> gen. nov.	Wu <i>et al.</i>	2014
<i>Tonsilliphilus suis</i> gen. nov.	Azuma <i>et al.</i>	2013
<i>Xiangella phaseoli</i> gen. nov.	Wang <i>et al.</i>	2013

曾经日本、西方国家是发现放线菌新物种的大国，后来韩国进入前三名。近十年来我国发现的微生物、尤其是放线菌新分类单元的数量已迅速增加，现在已连续数年处于前列，甚至于世界第一的国际地位。从 2003—2012 年期间，全世界共在 IJSEM 上发表放线菌新物种 1023 个，其中中国发表 256 个、韩国 177 个、日本 142 个、德国 100 个。国际上发表放线菌新物种的前五个机构分别是：中国云南大学、中国科学院微生物研究所、韩国生命工学研究院（KRIBB）、日本技术评价研究所生物资源中心（NITE/NBRC）、韩国济州国立大学校（Cheju National University）。其中云南大学云南省微生物研究所共发表 104 个，占全国的 41%，其次是中国科学院微生物研究所共发表 51 个，占全国的 20%，其余 39% 的新种由其他多个团队发掘（阮继生，2011；李文均，2013）。这些研究也使得我国放线菌的一些类群或种类的系统学研究水平已处于国际先进水平或领先地位。例如，云南大学李文均课题组在嗜盐放线菌分离方法上获得突破（唐蜀昆，2007），近十年课题组所发表的嗜/耐盐放线菌新物种就占同期全世界发表的总数的 80% 以上，全球报道的近 50 余个拟诺卡菌科的新物种，有近一半出自该团队；链单孢菌属（*Streptomonospora*）5 个生效发表种全部出自该研究团队（Cui，2001；Li，2003；Cai，2008；Cai，2009）；目前全球报道的植物内生放线菌新物种，有一半以上出自该团队的成果（Qin，2011；赵国振，2012）。

近十年来，我国在放线菌系统学及其新物种的挖掘上取得了长足的发展，这也将为我国放线菌产业的发展提供更为有利的素材。

1.2 放线菌的多相分类

1970 年，Colwell 首次提出多相分类（polyphasic taxonomy）的概念，它是指采用现代分类的多种方法，综合表现型和遗传型信息进行分类鉴定和系统发育研究的过程。现代的放线菌分类方法学，是以系统发育学研究为基础，将表型分类（形态和生理生化特征等）、数值分类、化学分类和分子分类等各种信息综合考虑，来确定菌株的分类地位的多相分类（Vandamme，1996）。由于多相分类综合了表