

放线菌分类学

姜成林等著

云南大学出版社

放线菌

分类学

姜成林

徐丽华

著

许宗雄

云南大学出版社

(滇) 新登字 07 号

责任编辑：王登全

封面设计：刘雨

放 线 菌 分 类 学

姜成林 徐丽华 许宗雄 著

*

云南大学出版社出版

(云南大学校内)

云南大学出版社印刷厂印装

*

开本：850×1168 1/32 印张：7.8 字数 189 千

1995年10月第1版 1995年10月第1次印刷

印数：0001—1000

ISBN7-81025-601-7 / Q · 11

定价：15 元

序

放线菌是抗生素等一系列生物活性物质重要的生产者。迄今临床使用的抗生素有三分之二是用放线菌生产的。放线菌是一类重要的自然资源。为了开发放线菌资源，放线菌分类是必备的条件之一。由长期从事放线菌分类研究和分子生物学研究的两岸学者合著的“放线菌分类学”正好顺应了这种需要。

《放线菌分类学》是一本研究和教学的参考书。其对象主要是研究生，博士生，教师，研究人员和工程技术人员。本书的中心是论述现代放线菌分类的原理，以分子分类为主，利用 90 年代的最新成果阐述分子分类的原理和方法。一书在手，就可以进行分子分类，尤其是关于 rRNA 的论述及有关的研究方法颇为详尽。这些原理和方法还可以运用于分子生态，生物进化诸方面的研究。各论部分增加了 90 年代的新属，并有许多是作者们的研究成果和心得。本书不但有原理，而且对值得研究的问题及方向在各章都有论述。这对有心从事放线菌研究的人应有所帮助。本书还有一章专门论述利用综合手段研究放线菌的分类与系统进化及有关的思路。这是国内外放线菌分类著作所缺少的。

本书是两岸学者长期合作研究，共同写作的成果。它的出版将进一步推动、扩大该领域及其他领域的合作，进一步扩大我国放线菌分类研究的国际影响。

中央研究院植物研究所

吴荣洋

一九九五年五月于台北

目 录

第一篇 现代放线菌分类学原理

第一章 放线菌分类学的过去和现在	(2)
第一节 国外概况	(2)
第二节 国内概况	(5)
第三节 放线菌的分类地位	(6)
第二章 形态特征和培养特征在分类中的意义	(10)
第一节 放线菌的基本形态	(10)
第二节 放线菌形态特征和培养特征的稳定性	(11)
第三章 化学分类原理	(13)
第一节 细胞壁化学类型	(14)
第二节 全细胞水解物糖类型	(16)
第三节 肽聚糖类型	(18)
第四节 磷脂	(18)
第五节 脂肪酸	(21)
第六节 甲基萘醌	(26)
第四章 分子分类原理	(29)
第一节 蛋白质图谱	(31)
第二节 DNA 的 GC 克分子百分比	(35)
第三节 DNA-DNA 分子杂交	(37)
第四节 DNA-RNA 分子杂交	(42)
第五节 DNA 探针及其应用	(44)
第五章 rRNA 核苷酸序列分析在分类中的应用	(50)

第一节	基本原理	(50)
第二节	16SrRNA 核苷酸序列分析方法之一	(56)
一、	基本原理	(56)
二、	引物设计	(56)
三、	引物的合成和纯化	(61)
四、	模板 RNA 提取	(62)
五、	RNA 纯化	(63)
六、	测序	(64)
七、	试剂配制	(67)
第三节	RT-PCR 方法	(71)
一、	rRNA 制备	(72)
二、	cDNA 的合成	(73)
三、	PCR 扩增	(74)
四、	制备 pBluescript KS+重组质粒	(77)
五、	重组质粒转入 E.coli	(79)
六、	从 E.coli 提取 DNA	(81)
七、	测定 DNA 核苷酸顺序	(82)
第四节	结果的分析整理	(89)
一、	相似性计算	(89)
二、	构建进化(系统发育)树 (Phylogenetic tree)	(89)
第五节	问题和展望	(89)
第六章	数值分类原理	(92)
第一节	基本原则	(92)
第二节	方法	(95)
第三节	程序	(96)
第四节	结果分析	(102)
第五节	数值分类的应用	(103)

第七章	综合分类	(105)
第一节	放线菌分类的基本程序	(105)
第二节	信息是分类研究的生命线	(106)
主要参考文献(I)		(108)

第二篇 各 论

第八章 放线细菌群	Actinobacteria	(114)
第一节	壤霉菌属 <i>Agromyces</i>	(114)
第二节	杆菌属 <i>Arthrobacter</i>	(115)
第三节	原小单孢菌属 <i>Promicromonospora</i>	(115)
第四节	厄氏菌属 <i>Oerskovia</i>	(116)
第五节	放线菌属 <i>Actinomyces</i>	(116)
第六节	短杆菌属 <i>Brevibacterium</i>	(117)
第九章 游动放线菌群	Actinoplanetes	(118)
第一节	游动放线菌属 <i>Actinoplanes</i>	(119)
第二节	小瓶菌属 <i>Ampullariella</i>	(120)
第三节	嗜毛水生菌属 <i>Pilimelia</i>	(121)
第四节	指孢囊菌属 <i>Dactylosporangium</i>	(124)
第五节	小孢链菌属 <i>Catellatospora</i>	(125)
第六节	小单孢菌属 <i>Micromonospora</i>	(127)
第十章 马杜拉菌群	Maduromycetes	(130)
第一节	马杜拉放线菌属 <i>Actinomadura</i>	(131)
第二节	小双孢菌属 <i>Microbispora</i>	(134)
第三节	小四孢菌属 <i>Microtetraspora</i>	(136)
第四节	游动双孢菌属 <i>Planobispora</i>	(138)
第五节	游动单孢菌属 <i>Planomonospora</i>	(138)
第六节	游动多孢菌属 <i>Plano polyspora</i>	(139)

第七节	螺孢菌属 <i>Spirillospora</i>	(140)
第八节	链孢囊菌属 <i>Streptosporangium</i>	(140)
第九节	草孢菌属 <i>Herbidospora</i>	(143)
第十节	游动链孢菌属 <i>Streptoplanospora</i>	(143)
第十一节	中国孢囊菌属 <i>Cathayosporangium</i>	(144)
第十一章	小多孢菌群 Micropolyspores	(145)
第一节	放线多孢菌属 <i>Actinopolyspora</i>	(146)
第二节	糖多孢菌属 <i>Saccharopolyspora</i>	(146)
第三节	无枝菌酸菌属 <i>Amycolata</i>	(147)
第四节	拟无枝菌酸菌属 <i>Amycolatopsis</i>	(148)
第五节	假无枝菌酸菌属 <i>Pseudoamycolata</i>	(149)
第六节	小多孢菌属 <i>Micropolyspora</i>	(149)
第七节	拟孢囊菌属 <i>Kibedelosporangium</i>	(150)
第八节	假诺卡氏菌属 <i>Pseudonocardia</i>	(151)
第九节	糖单孢菌属 <i>Saccharomonospora</i>	(152)
第十节	双孢放线菌属 <i>Actinobispora</i>	(152)
第十一节	游动四孢菌属 <i>Planotetraspora</i>	(153)
第十二章	多腔孢囊菌群 Multilocular Sporangia	(154)
第一节	地嗜皮菌属 <i>Geodermatophilus</i>	(154)
第二节	嗜皮菌属 <i>Dermatophilus</i>	(155)
第三节	弗兰克氏菌属 <i>Frankia</i>	(156)
第十三章	诺卡氏菌群 Nocardioforms	(158)
第一节	乳酸杆菌属 <i>Caseobacter</i>	(158)
第二节	棒杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	(159)
第三节	红球菌属 <i>Rhodococcus</i>	(159)
第四节	分枝杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	(160)
第五节	诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>	(161)
第十四章	类诺卡氏菌群 Nocardioides	(163)

第十五章 链霉菌群	Streptomycetes	(165)
第一节	间孢囊菌属 <i>Intrasporangium</i>	(165)
第二节	动孢菌属 <i>Kieosporia</i>	(166)
第三节	鱼孢菌属 <i>Sporichthya</i>	(167)
第四节	链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	(168)
第十六章 高温单孢菌群	Thermomonosporaceae	(177)
第一节	高温单孢菌属 <i>Thermomonospora</i>	(177)
第二节	束丝菌属 <i>Actinosynnema</i>	(178)
第三节	拟诺卡氏菌属 <i>Nocardiopsis</i>	(179)
第四节	糖丝菌属 <i>Saccharothrix</i>	(180)
第五节	链异壁菌属 <i>Streptoalloteichus</i>	(181)
第六节	珊瑚放线菌属 <i>Actinocarallia</i>	(181)
第七节	库茨勒菌属 <i>Kutzneria</i>	(182)
第十七章 未归群各属	Other Genera	(183)
第一节	糖霉菌属 <i>Glycomyces</i>	(184)
第二节	游动短孢链菌属 <i>Catenuloplanes</i>	(184)
第三节	库奇游动菌属 <i>Couchioplanes</i>	(185)
第四节	高温放线菌属 <i>Thermoactinomyces</i>	(185)
主要参考文献(II)		(187)
附:	一、评论: 近五年放线菌分类研究的进展	(198)
	二、构建微生物分子分类系统进化树 的快速算法与数据结构	(212)
	三、系统进化树的图论性质及研究自动绘制算法	… (224)

第一章 放线菌分类学的过去和现在

第一节 国外概况

最早描述放线菌的学者要算 Harz，他于 1877 年建立了放线菌属。但他把放线菌看成是细菌。奠基放线菌分类并使其发扬光大的是 1880 年创建的新泽西农业试验站（New Jersey Agricultural Experiment Station）及其发展起来的 Rutgers 大学微生物研究所。1916 年前后，Waksman 在该校研究土壤微生物时，首次把一些微小真菌或丝状细菌称之为“放线菌”(Actinomycete)，并详细描述了这些微生物。二次大战期间，由于青霉素的应用刺激了抗生素的研究。1942 年，Waksman 及其同事们从放线菌中发现了链霉素，并在 1952 年获得诺贝尔奖。在五、六十年代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《放线菌的属和种分类鉴定及描述》，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经典分类，分类依据主要是形态和生理生化特征。

1964 年，Lechevalier 及其同事们进行了放线菌的化学分类并在 1971 年发表了主要依据化学指征的分类系统。整个 70 年代，化学分类在各国放线菌分类实验室得到推广。这是化学分类年代。

Stackebrandt 和 Woese 在 1981 年根据 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（图 1）。从此放线菌分类进入了分子分类时代。

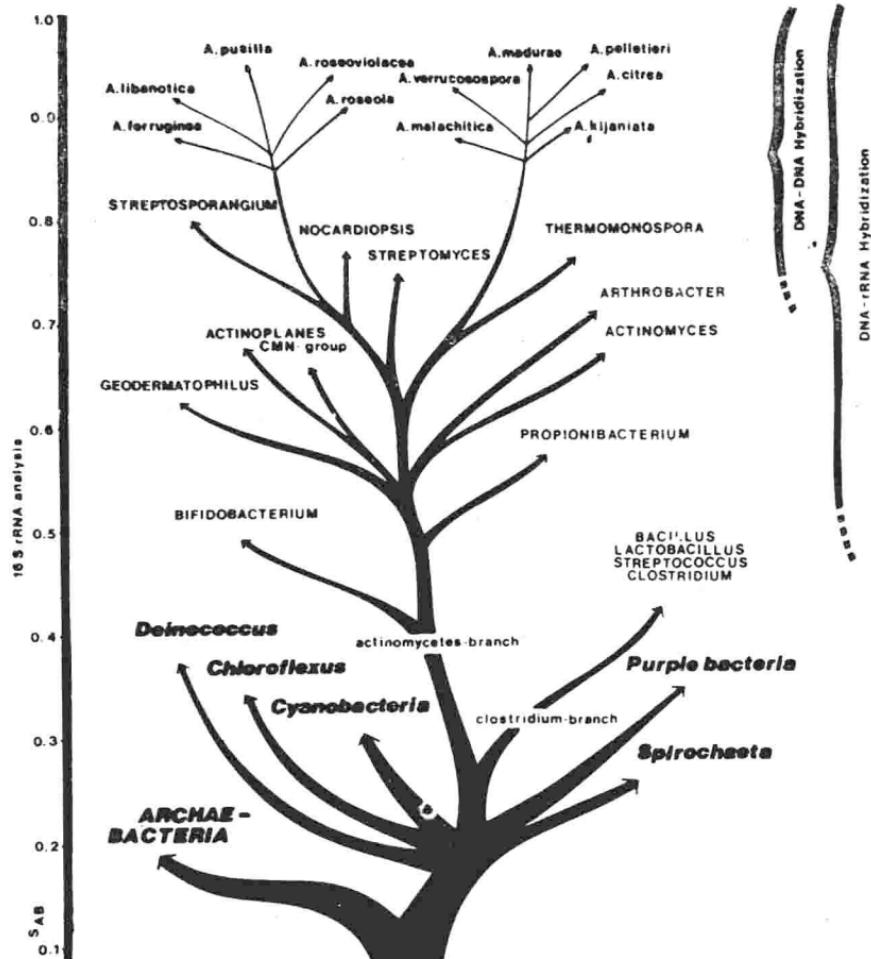


图 1 根据 16S rRNA 相似性等计算出来的生物系统进化关系

Fig. 1 Phylogenetic relationships based on 16S rRNA similarity
 (see Stackebrandt and Woese 1981; Stackebrandt et al. 1983)

当前国外放线菌分类研究的特点有三：

1，仍有新的放线菌不断被发现。尽管研究放线菌已有一百多年的历史，但迄今所发现的放线菌可能仅占实有放线菌的 10—20%。换言之尚有 80% 以上的放线菌人们迄今还不认识。因此一些实验室一直把分离新的放线菌作为主要工作，不断改进分离方法。日本山梨大学的 Nonomura 等已至少两代人为之费尽心力，并做出了突出的贡献。90—94 年已报导的新属有：双孢放线菌属(*Actinobispora* Jiang et al. 1991)，游动多孢菌属(*Planopolyspora* Petrolini et al. 1993)，草孢菌属(*Herbidospora* Kudo et al. 1993)，游动四孢菌属(*Planotetraspora* Hu et al. 1993)，游动短孢链菌属(*Catenuloplanes* Yokota et al. 1993)，库奇游动菌属(*Couchioplanes* Tamura et al. 1994)，珊瑚放线菌属(*Actinocorallia* Yokota et al. 1994)，库茨勒菌属(*Kutzneria* Stackebrandt et al. 1994)等。

2，一些实验室把工作的重点放在利用综合手段搞清已有菌种的归属以及各属之间的关系上。最突出的例子是链霉菌。链霉菌是种类最多，经济价值最大的一类放线菌。过去按照不同规范、不同目的报导的链霉菌有三千多种，其中许多种多次被“发现”而定为“新种”，引起不少混乱。1980~1983 年，英国著名学者 Williams 及其合作者进行了链霉菌的数值分类，发表了长达 70 页的论文，将链霉菌合并为 136 个种。1986 年他们又将鞘孢菌属，小耳孢囊菌属，钦氏菌属，孢囊放线菌属和孢器放线菌属并入链霉菌属。1989 年出版的《伯杰细菌学鉴定手册》四卷采纳了他们的意见。最近 Stackebrandt 等将链孢囊菌属的几个种分出来建立了一个新的属——*Kutzneria* 属。这方面的研究尤其以诺卡氏类放线菌最热烈。

3，在方法上已普遍采用 DNA-DNA 杂交，DNA-RNA 杂交，核苷酸序列分析等现代分子生物学手段，同时注重各种手段的综合运用。

第二节 国内概况

我国的放线菌分类始于 50 年代初，也是顺应抗生素的研究与开发而发展起来的。70 年代以前，全国放线菌分类几乎集中在中国科学院微生物研究所，而且是集中在链霉菌属（在几乎 20 年的时间被叫做放线菌属）分类，并以形态分类为主。以我国放线菌分类学的奠基人阎逊初院士为首的科学家对链霉菌各类群的分类作了深入研究，提出了自己的分类系统，发表了大量论文，还翻译出版了苏美有关放线菌的部分重要专著，为我国放线菌分类学的发展，人才的培养，为抗生素工业的建立和发展都作出了重要贡献。阎逊初 1992 年出版的《放线菌的分类和鉴定》集我国放线菌分类之大成，是放线菌分类工作者必备的参考书之一。书中把放线菌分为 14 个科，即放线菌科(Actinomycetaceae), 分枝杆菌科(Mycobacteriaceae), 诺卡氏菌科(Nocardiaceae), 嗜皮菌科(Dermatophilaceae), 弗兰克氏菌科(Franikiaceae), 小单孢菌科(Micromonosporaceae), 高温放线菌科(Thermoactinomycetaceae), 高温单孢菌科(Thermomonosporaceae), 小多孢菌科(Micropolysporaceae), 链霉菌科(Streptomycetaceae), 鱼孢菌科(Sporichthyaceae), 小芽孢囊菌科(Microellobosporiaceae), 游动放线菌科(Actinoplanaceae), 枝动菌科(Mycoplanaceae)。

70 年代以后，中科院微生物所开展了化学分类，分类的范围扩大到稀有放线菌。阮继生教授等为此作出了重要贡献。与此同时，福建微生物所，中科院东北林土所（应用生态所），云南微生物所，四川抗菌素所，山西生物所，广西农学院等也开展了放线菌分类研究工作。80 年代中，阎逊初及其同事们在微生物学报发表了小链孢菌属 (*Microstreptospora* Yan, Jiang & Zhang, 1983)，异壁放线菌属 (*Actinoalloteichus* Liu, Zhang & Yan, 1984)，拟链霉菌属 (*Streptomycoïdes* Zhang, Xing & Yan, 1984)，连云港等发表了三歧

孢菌属(*Trichotomospora* Lian & Liu, 1985)和短小多孢菌属(*Parvopolyspora* Liu & Lian, 1986), 阮继生与外国学者合作发表了无枝菌酸菌属(*Amycolata* Lechevalier, Prauser, Labeda & Ruan, 1986)和拟无枝菌酸属(*Amycolatopsis* Lechevalier, Prauser, Labeda Ruan, 1986)。这批成果确立了我国放线菌分类学的国际地位。

90年代初, 姜成林等在国际权威刊物 *Int. J. Syst. Bacteriol.* 发表了双孢放线菌属(*Actinobispora* Jiang et al. 1991), 胡润茂等发表了游动四孢菌属(*Planotetraspora* Hu et al. 1993)。这是中国科学家以国内所作的研究工作, 在该刊物发表并最早得到承认的两个新属。它进一步扩大了我国放线菌分类的国际影响, 也是我国放线菌分类自立于世界的又一重要标志。

由于种种原因, 我国的放线菌分子分类目前还处在起步阶段, 90年代以后才有零星工作, 总体上与发达国家相比尚有较大差距。

第三节 放线菌的分类地位

长期以来, 细菌学家认为放线菌是细菌, 而真菌学家认为它们是真菌。在医学真菌学的著作中, 也有关于放线菌引起的疾病的描述。1975年, T. G. Pridham 及 H. Pruser 等人认为放线菌是一类界线微生物 (Boundary microorganism)。根据形态和遗传基础, 放线菌与低等裂殖菌没有什么亲缘关系, 但生理生化特性, 游动器官及 DAP 组成又有相似之处。因此认为放线菌可能是以类似于裂殖菌的方式独立进化的, 两者都可能从水生能游动的祖先向陆生不游动类型进化。从菌落、菌丝及分生孢子链的形态来看, 某些孢子放线菌与低等丝状真菌有些相似。

由于电子显微镜技术及分子生物技术的应用, 发现了原核生物与真核生物的原则区别, 从而提出原核生物界的概念

(Murray 1968, 1974)。细菌和放线菌的细胞核无核膜，同属原核生物界，而且它们的细胞壁组成为肽聚糖，都对溶菌酶和抗细菌抗菌素敏感，都是细菌型的鞭毛。现代分子生物学也发现原核生物的 DNA 重复顺序，mRNA 的结构以及多顺反子等都与真核生物不同。因此，目前大多数微生物学家都认为放线菌是细菌。

对放线菌所包括的范围也有不同看法。在 Waksman 早期著作中，放线菌目 (Actinomycetales) 包括放线菌科 (Actinomycetaceae Buchanan)、链霉菌科 (Streptomycetaceae Waksman et Henrici) 及游动放线菌科 (Actinoplanaceae Couch) 共 10 个属。在伯杰手册第 8 版中，放线菌目包括 7 个科、29 属。1970 年，Lechevalier 等主要依据细胞壁化学组分把放线菌目分为嗜皮菌科 (Dermatophilaceae Austwich; emend. Gordon)、游动放线菌科、链霉菌科、高温放线菌科 (Thermoactinomycetaceae) 及诺卡氏菌科。新近，我国著名微生物学家阎逊初把放线菌目分为 14 个科 69 个属，即放线菌科、游动放线菌科、小多孢菌科、高温单孢科菌、诺卡氏菌科、链霉菌科、高温放线菌科等。

1981 年，英国学者 T. Cross 等人的研究中，认为具有内生孢子的高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*) 不应放在放线菌目，而应放在杆菌科内。他们把放线菌分为 8 个群。

《伯杰系统细菌学手册》第 9 版将放线菌分放在第二、四卷。第二卷的第 15 群为不规则革兰氏阳性杆菌，有棒杆菌属，罗氏菌属及放线菌属等 21 个属；第 16 群为分枝杆菌群，仅分枝杆菌属；第 17 群为诺卡氏类放线菌，包括间孢囊菌属，厄氏菌属，小多孢菌属，诺卡氏菌属，拟诺卡氏菌属，原小单孢菌属，假诺卡氏菌属，红球菌属，糖多孢菌属。我们认为把胞壁 I 型、菌丝不断裂的间孢囊菌属放在诺卡氏菌类显然不合适。许多学者认为这个属应划在链霉菌类群。第四卷全是放线菌，分为 8 个类群。第 26 群仍为诺卡氏类。第 27 群为多腔孢囊放线菌群，包括

嗜皮菌属、地嗜皮菌属、弗兰克氏菌属。第 28 群为游动放线菌群，包括游动放线菌属，小瓶菌属，嗜毛水生菌属，指孢囊菌属，小单孢菌属。第 29 群为链霉菌群，包括链霉菌属，链轮丝菌属，鱼孢菌属，动孢菌属。第 30 群为马杜拉放线菌群，包括马杜拉放线菌属，小双孢菌属，小四孢菌属，游动双孢菌属，游动单孢菌属，螺孢菌属，链孢囊菌属。第 31 群为高温单孢菌群，包括高温单孢菌属，束丝放线菌属，拟诺卡氏菌属，链异壁菌属。第 32 群为高温放线菌群，包括高温放线菌属。第 33 群，其他，包括糖霉菌属 (*Glycomyces*)，拟孢囊菌属 (*Kibdelosporangium*)，北里孢菌属，糖丝菌属 (*Saccharothrix*)，巴斯德菌属 (*Pasteuria*)。

由于分类学家分类观点的不同，所有放线菌科属检索表都带一定的人为性。到目前为止，还比较难于找到一个为大家普遍公认的分类系统。不过有一个趋势是明显的，即放线菌分类正逐渐从传统的形态分类向综合运用细胞化学、细胞细微结构、免疫学、核酸分子杂交、核酸序列分析及数值分类等现代技术进行综合分类的方向发展。我们认为，在目前情况下，不宜列“科”这一级分类单位，而宜用柔度比较大的“群”把各类特征彼此接近的属归在一起作为一个权宜之计。

放线菌是 DNA 的 G+C 含量在 50mol% 以上的革兰氏阳性细菌，它们的 16SrRNA 在系统发育上密切相关。从形态上看，有结构简单的“放线细菌”，有菌丝断裂的诺卡氏类放线菌，一直到具有高度分化的分枝菌丝、孢子链和孢囊的放线菌。

放线菌属于原核生物界，厚壁菌门，放线菌纲，放线菌目。到目前为止，连“放线细菌”在内，全世界共发现 70 多个属。

跟其他生物分类学科一样，放线菌分类学的任务，一是把特定的菌株按照一定的规范划到或者分（鉴定）到适当的分类单元，并给以一个正确的命名。二是研究各分类单元之间、放线菌与其他生物之间的亲缘关系及系统进化关系。

从本质上讲，生物的形态，结构，化学组成，新陈代谢都是由编码在 DNA 上的遗传特性所决定的。分类学就是从不同层次、不同水平，不同侧面认识生物，进行分类。图 2 简要说明生物大分子与其他化学组成之关系。

本书的重点是分子分类。

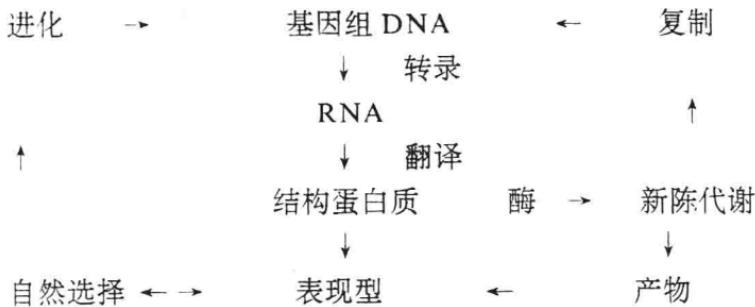


图 2 生物大分子与其他化学物质在分类中的价值

(Goodfellow and Minnikon, 1985)

“种”是最基本的分类单元。我们认为表观群相似性或 DNA 同源性或 16S rRNA 相似性在 95% 以内之菌株谓之一个种。过去，链霉菌定种主要是根据菌落的颜色，某些生理生化特征或产生某种抗生素来定名，结果造成不少混乱。

“属”是表观群相似性及 DNA 同源性均在 70% 以内或 16S rRNA 相似性在 85% 以内的各菌种所组成的。目前分属的主要依据是形态加细胞壁化学组成的类型。细胞壁化学类型不同者不能成为一个属。现代研究的结果表明，按化学类型分类所得的结果与核酸相似性研究的结果比较吻和。可见细胞壁化学类型是更带本质性的特征和分类依据。