

徐丽华 李文均 刘志恒 姜成林◎主编

放线菌系统学

——原理、方法及实践

 科学出版社
www.sciencep.com

放线菌系统学

——原理、方法及实践

徐丽华 李文均 刘志恒 姜成林 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

放线菌是产生抗生素等药物和其他生物活性物质的重要微生物资源。放线菌分类学是放线菌资源开发利用,尤其是抗生素等药物开发利用的基础。本书利用作者和国际同行的最新研究成果,以分子系统学为重点,全面论述现代放线菌系统分类学的发展简史、基本原理、分类系统,介绍目、科、属和每个属有效发表的种及其原始文献;并根据作者长期从事放线菌分类研究和教学所取得的新进展和新经验,结合我国的国情,详细论述放线菌分类程序和实验方法。本书还对放线菌分类学存在的问题及值得研究的问题进行了探讨。

本书可用作大专院校相关专业师生的教学参考书,也可供微生物资源开发利用方面的研究人员和技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

放线菌系统学:原理、方法及实践/徐丽华等主编. —北京:科学出版社, 2007

ISBN 978-7-03-017700-1

I. 放… II. 徐… III. 放线菌 IV. Q939.13

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 082538 号

责任编辑:庞在堂 夏 梁 李久进 沈晓晶/责任校对:朱光光

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双 青 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007 年 4 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2007 年 4 月第一次印刷 印张:30 1/4 插页:2

印数:1—2 500 字数:704 000

定价:78.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

放线菌系统学

——原理、方法及实践

Actinomycete Systematic

——Principle, Methods and Practice

作者（按姓氏笔画排列）：

- | | |
|-----|---|
| 田新朋 | 中国科学院南海研究所，云南大学微生物研究所 |
| 刘志恒 | 中国科学院微生物研究所 |
| 李文均 | 云南大学微生物研究所 |
| 陈国忠 | 中国科学院过程工程研究所，云南大学微生物研究所 |
| 张玉琴 | 中国医学科学院医药生物技术研究所以，云南大学微生物研究所 |
| 张建丽 | 北京理工大学 |
| 姜成林 | 云南大学微生物研究所 |
| 姜 怡 | Leibniz-Institut für Meereswissenschaften, an der Universität Kiel, Germany |
| | 云南大学微生物研究所 |
| 姜 恺 | 新疆农业科学院特殊环境微生物资源重点实验室 |
| 徐丽华 | 云南大学微生物研究所 |
| 唐蜀昆 | 云南大学微生物研究所 |
| 职晓阳 | 云南大学微生物研究所 |
| 黄 英 | 中国科学院微生物研究所 |
| 熊 智 | 西南林学院 |

前 言

放线菌系统学是关于放线菌分类地位、分类系统、分类方法的科学。放线菌系统学是放线菌资源开发利用的理论基础之一。自 20 世纪 50 年代起,我国放线菌系统学的奠基人阎逊初院士及其同事们就开创了我国放线菌系统学的研究。半个多世纪以来,经过至少三代人的艰苦努力,2004~2005 年,我国放线菌分类学工作者在国际微生物系统学权威杂志 (International Journal of Systematic and Evolutionary of Microbiology, IJSEM) 发表论文的数量排名已上升到第二位,我国放线菌系统学研究在国际上已占有一席之地,成为国际微生物系统学界的一支重要力量。

为了进一步推动我国放线菌系统学的持续发展,推动学科队伍建设,使放线菌系统学更好地为放线菌资源开发利用服务,我们根据近年来国内外放线菌系统学研究的最新进展和成就,结合作者多年来的工作实践和知识积累,试图就现代放线菌系统学的基本理论、分类系统、分类方法做一个较全面的介绍,对一些值得研究的问题提出建议。全书共分两篇 21 章,图文并茂。每章均附有主要参考文献便于读者进一步查阅,书的最后附有放线菌名录索引。由于书中有些内容较新,所以有些新种和新化合物尚未有中文译名,留下原名备作参考。

本书是集体劳动的成果,每一章都由 1~3 位作者撰写,姜怡做版式校对,职晓阳做图表加工,由徐丽华、刘志恒、姜成林统稿,力求章节内容连贯、系统。在本书的编写过程中,我们也高兴地看到,我国年轻一代放线菌系统学研究骨干已经成长起来,为放线菌系统学的发展注入了新的活力。

作者要特别感谢日本 Shinji Miyadoh 先生同意我们使用《放线菌图鉴》中的一些精美图片。我们也特别感谢科学出版社庞在堂等同志为本书的出版付出的辛劳。在此我们也真诚希望读者对本书提出批评指正。

本书获得国家重大基础研究发展规划项目 (973 项目、2004CB719601)、国家自然科学基金项目 (30560001)、云南省国际合作计划 (2005GH21)、云南省自然科学基金 (2004 C0002Q) 及新世纪优秀人才支持计划项目资助。特此致谢。

作 者

2006 年 5 月 9 日于昆明

目 录

前言

第一篇 放线菌系统学原理及实验方法

第一章 概论	3
1.1 放线菌在微生物系统学中的地位	3
1.2 放线菌生物学的发展	5
1.3 放线菌生物技术的发展	11
1.4 放线菌资源的开发与利用	15
主要参考文献	24
第二章 放线菌系统分类学的过去和现在	27
2.1 国外概况	27
2.2 国内概况	30
2.3 几个值得重视的问题	31
主要参考文献	32
第三章 形态特征和培养特征在分类中的意义	33
3.1 放线菌的基本形态	33
3.2 放线菌形态特征和培养特征的稳定性	36
3.3 形态分化的分子机制	37
主要参考文献	39
第四章 生理生化特性	40
4.1 生理生化实验的内容	40
4.2 实验方法	40
4.3 API 细菌数值鉴定系统	47
4.4 Biolog 全自动和手动细菌鉴定系统	52
主要参考文献	53
第五章 化学分类原理	54
5.1 细胞壁化学类型	55
5.2 全细胞水解物糖类型	66
5.3 磷酸类脂分析	69
5.4 醌组分分析	74
5.5 枝菌酸分析	79
5.6 脂肪酸分析	80
5.7 全细胞蛋白 SDS-PAGE 分析	87

5.8 核糖体蛋白双向凝胶电泳 (2D-PAGE) 分析	90
主要参考文献	91
第六章 分子系统学原理及方法	93
6.1 核酸的提取、分离与纯化	93
6.2 聚合酶链反应	99
6.3 凝胶电泳技术	108
6.4 16S rRNA 基因序列分析	119
6.5 DNA (G+C) mol%测定	119
6.6 DNA 同源性分析	129
6.7 RNA 同源性分析	135
6.8 DNA 分子指纹分析	136
6.9 DNA 探针及其应用	140
6.10 特异性引物应用于菌株的快速鉴别	143
主要参考文献	147
第七章 生物信息学在放线菌系统学中的应用	150
7.1 提交序列到数据库	150
7.2 16S rRNA 系统进化树的构建	155
7.3 RNA 二级结构分析在分类学中的应用	189
主要参考文献	199
第八章 多相分类	202
8.1 种的概念	202
8.2 属的概念	202
8.3 哪些菌株值得进行分类鉴定	202
8.4 放线菌分类鉴定的基本程序	203
8.5 有效发表的刊物	205
8.6 如何撰写论文	205
8.7 投稿	207
主要参考文献	207

第二篇 各 论

第一章 放线菌在原核生物中的地位	211
1.1 放线菌纲的建立	211
1.2 放线菌门的研究进展	213
主要参考文献	218
第二章 放线菌亚目	220
2.1 放线菌科及主要属	220
主要参考文献	231
第三章 丙酸杆菌亚目	234
3.1 丙酸杆菌科及主要属	234

3.2 类诺卡氏菌科及主要属	241
主要参考文献	253
第四章 微球菌亚目	255
4.1 微球菌科及各属	261
4.2 博戈里亚湖菌科及各属	270
4.3 短杆菌科及各属	271
4.4 纤维单孢菌科及各属	273
4.5 皮杆菌科及各属	276
4.6 皮生球菌科及各属	280
4.7 嗜皮菌科及各属	281
4.8 间孢囊菌科及各属	283
4.9 琼斯氏菌科及各属	291
4.10 微杆菌科及各属	292
4.11 原小单孢菌科及各属	309
4.12 稀有杆菌科及各属	314
4.13 血杆菌科及各属	315
4.14 阎氏菌科及各属	315
4.15 布登堡菌科及各属	317
主要参考文献	319
第五章 棒杆菌亚目	323
5.1 棒杆菌科及各属	325
5.2 迪茨氏菌科及各属	330
5.3 戈登氏菌科及各属	332
5.4 分枝杆菌科及各属	336
5.5 诺卡氏菌科及各属	343
5.6 慢反应脂肪酸菌科及各属	351
5.7 冢村氏菌科及各属	352
5.8 威廉姆斯氏菌科及各属	354
主要参考文献	356
第六章 假诺卡氏菌亚目	359
6.1 假诺卡氏菌科及主要属	359
6.2 束丝放线菌科及主要属	372
主要参考文献	379
第七章 链霉菌亚目	381
7.1 链霉菌科及主要属	381
主要参考文献	387
第八章 链孢囊菌亚目	390
8.1 拟诺卡氏菌科及主要属	391
8.2 链孢囊菌科及主要属	396

8.3 高温单孢菌科及主要属	408
主要参考文献	417
第九章 小单孢菌亚目	418
9.1 小单孢菌科及主要属	418
主要参考文献	435
第十章 弗兰克氏菌亚目	436
10.1 弗兰克氏菌亚目各科的系统发育关系	436
10.2 弗兰克氏菌科及主要属	441
10.3 嗜地皮菌科及主要属	443
10.4 中村氏菌科及主要属	447
10.5 鱼孢菌科及主要属	448
10.6 热酸菌科及主要属	449
10.7 “动孢菌科”及主要属	450
主要参考文献	453
第十一章 糖霉菌亚目	455
11.1 糖霉菌科及主要属	455
主要参考文献	457
第十二章 未归类各属	459
12.1 双孢放线菌属	459
12.2 珊瑚放线菌属	460
12.3 卓孢菌属	461
12.4 佩尔泽氏菌属	461
12.5 苏黎世菌属	462
主要参考文献	462
第十三章 高温放线菌科	464
13.1 高温放线菌属	465
13.2 莱斯氏属	466
13.3 黄色高温微杆菌属	466
13.4 清野氏菌属	467
13.5 直丝菌属	467
主要参考文献	468
附录: 放线菌科属名录	469

第一篇 放线菌系统学 原理及实验方法



第一章 概 论

1.1 放线菌在微生物系统学中的地位

放线菌因其菌落呈放射状而得名。最早是由 Cohn (1875) 自人泪腺感染病灶中分离到一株丝状病原菌——链丝菌 (*Streptothrix*) 被发现的, 而后 Harz (1877) 从牛颈肿病灶中分离到类似的病原菌, 并命名为牛型放线菌 (*Actinomyces bovis*)。因绝大多数放线菌具有发育良好的菌丝体, 19 世纪以前人们曾将放线菌归于真菌中。随着科学的发展及新技术的应用, 人们的认识逐渐深入, 才将放线菌列于细菌之中。克拉西里尼科夫 (Krassil'nikov) 首先将放线菌放在植物界、原生植物门、裂殖菌纲中。后有人认为把无真正细胞核的放线菌放在植物界不妥, 因此, 将其列入动物界和植物界之外的原生生物界 (Protista) 内。1968 年, Murray 提出原核生物界 (Procaryotae) 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 根据细胞壁有无和细胞壁的性质建议将原核生物界分为: 薄壁菌门 (Gracilicutes), 包括革兰氏阴性细菌; 厚壁菌门 (Tenericutes), 包括革兰氏阳性细菌; 疵壁菌门 (Mendosicutes), 包括无肽聚糖细胞壁的细菌; 柔膜菌门 (Mollicutes), 包括无细胞壁的支原体类细菌。放线菌被包括在厚壁菌门中。在 1989 年出版的《伯杰氏系统细菌学手册》(*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*) 中, 放线菌被划分在原核生物界, 厚壁菌门, 分枝菌纲 (Thallobacteria), 放线菌目 (Actinomycetales)。

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, 即真细菌域 (Eubacteria)、古细菌域 (Archaeobacteria) 和真核生物域 (Eucaryota)。1990 年, Woese 等通过 rRNA 及 RNA 聚合酶 (RNA polymerase) 分子结构特征和序列的比较发现核苷酸分子的结构和序列比表型更能揭示生命的进化关系, 将地球上的生命分为 3 个基本类群, 正式建立了三域分类系统图 I-1-1, 并将生物分类的最高等级命名为域 (domain) (域的拉丁文结尾为 -a)。生命三域分别为古菌域 (Archaea)、细菌域 (Bacteria) 和真核生物域 (Eucarya), 每个域包含两个或多个界 (kingdom)。细菌域的界尚未给出具体划分, 但放线菌所属的厚壁菌门归于细菌域 (图 I-1-2)。

Stackebrandt 和 Woese 根据 16S rRNA 相似性, DNA-DNA 杂交和 DNA-rRNA 杂交的结果构建了放线菌与其他生物之间的系统发育树。结果表明, 放线菌作为高 (G+C)mol%, 革兰氏阳性 (G^+) 细菌的一个分支, 与芽孢杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、梭菌属构成的梭状菌分支有着共同的起源 (Fox et al. 1980; Stackebrandt et al. 1981; Stackebrandt et al. 1983; Woese et al. 1985)。1997 年, Stackebrandt 等通过对 16S rRNA/rDNA 序列分析, 提出了放线杆菌纲 (Actinobacteria) 这一新的分类等级, 并将放线杆菌纲分为 5 个亚纲。《伯杰氏系统细菌学手册》第二版采纳了这一分类观点。迄今, 各国系统学家综合各种证据 (见第二篇第一章), 已将放线菌提升

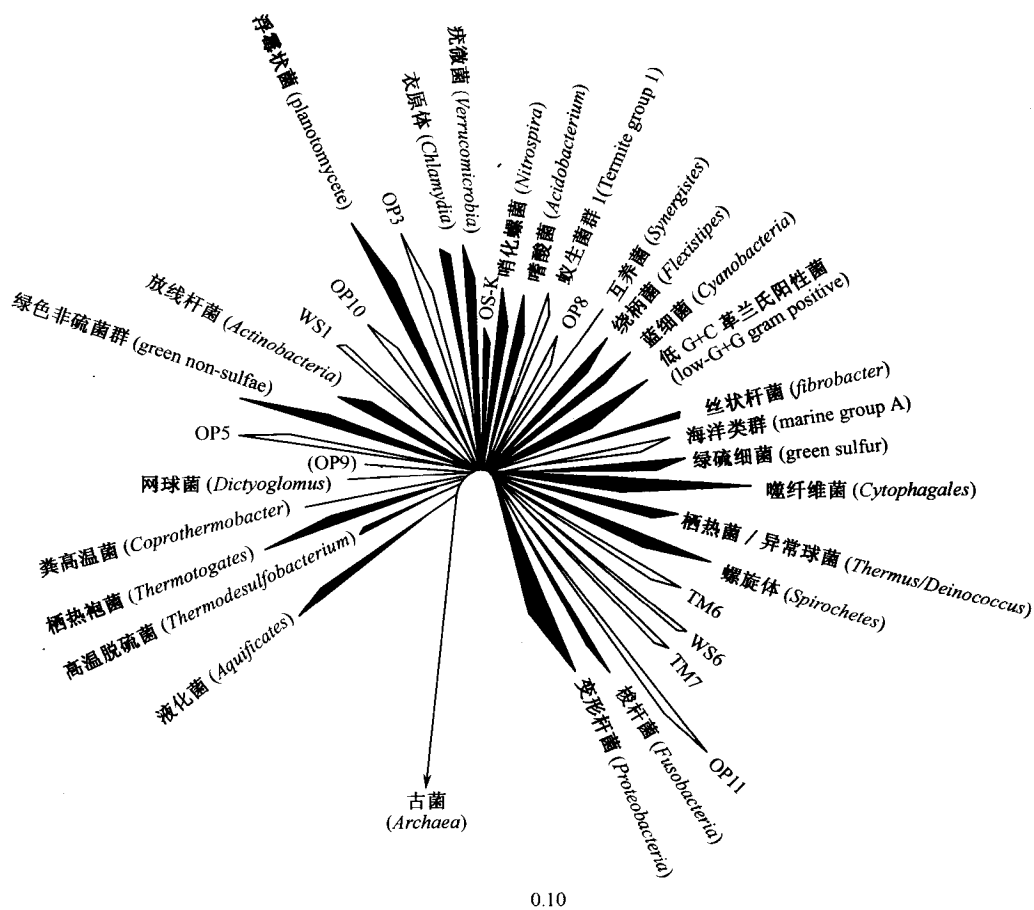


图 I-1-2 细菌域的进化距离树，表示了目前被承认的细菌门和推测（候补）的细菌门
树的构建采用 ABR 软件包和 1997 年 3 月 ABR 释放的序列数据。含有两个或更多序列的聚类成的细菌门用楔状
表示，楔的深度反映了分支的深度。可培养的细菌门用黑色表示，只是环境中的序列聚类的细菌门用框表示。
线段长度代表 10% 核苷酸差异的距离

IV Coriobactridae)、球杆菌亚纲 (Subclass V Sphaerobacteridae)、放线菌亚纲 (Subclass Acinobacteridae)。放线菌亚纲有放线菌目 (Order I Actinomycetales) 和双歧杆菌目 (Order II Bifidobacteriales)。目前，放线菌目包括 10 个亚目 40 个科约 170 多个属。本书描述涉及 40 个科，176 个属。

1.2 放线菌生物学的发展

1.2.1 分子系统学

放线菌 (actinomycete) 是一类具有分枝状菌丝体的高 (G+C)mol %、革兰氏阳性细菌。从 Cohn 发现放线菌至今已有 100 多年的历史，放线菌分类学作为研究放线菌的基础学科，已经由以往的经典分类 (classical classification)、化学分类 (chemot-

axonomy) 发展到了现在的分子分类 (molecular taxonomy), 从而建立了放线菌分子系统学 (molecular systematics of actinomycete), 也称分子分类学 (molecular taxonomy)。

Harz (1877) 虽是最早对放线菌进行描述的学者, 但直到 1916 年前后, Waksman 等在研究土壤微生物时, 才首次把一些微小“真菌”或丝状细菌称为“放线菌”(actinomycete), 并详细描述了这些微生物。1942 年链霉素的发现, 以及 20 世纪五六十年代抗生素工业的兴起, 极大地促进了放线菌分类学研究的开展。同时, 相继出版了 *Guide to the Bacteria and Actinomycetes* (Krassil'nikov 1949)、*Problems in the Classification of Antagonists of Actinomycetes* (Gause 1957) 等经典专著, 尤其是 1961 年 Waksman 的专著《放线菌的属和种分类鉴定和描述》的出版标志着放线菌分类学的形成。这个时期的放线菌分类可称为经典分类或传统分类 (traditional classification), 主要的依据是放线菌的形态特征、培养特征及生理生化特性。

20 世纪 50 年代发展起来的数值分类 (numerical classification) 是应用计算数学原理和技术来辅助定义微生物分类单位。根据微生物分类学信息, 借助计算机对表型数据进行比较。数值分类应用在将大量独立的菌株归群以至定种或更高类群方面曾取得广泛成功, 尤其是在链霉菌的研究上, Williams 等 (1983) 通过数值分类研究, 将已报道的 475 种链霉菌合并成了 77 个种 (或簇), 一定程度上理顺了链霉菌混乱的分类系统。

Cummins 等 (1956) 最早指出 G^+ 菌细胞壁化学组分是有用的化学分类特征。1964 年, Lechevalier 夫妇等进行了放线菌化学分类的研究, 并在 1971 年发表了主要依据化学指征的分类系统, 从而使放线菌分类进入了化学分类时期。从 20 世纪 70 年代开始, 化学分类被各国放线菌分类学者所接受, 化学分类技术和方法也日趋完善。放线菌分类学的研究内容从个体形态水平深入到了细胞化学水平, 并总结出了规律性的结论, 建立了放线菌的化学分类体系。经常使用的特异性细胞化学特性包括: 细胞壁化学组分 (主要是氨基酸和糖)、枝菌酸、脂肪酸、磷酸类脂、甲基萘醌、全细胞蛋白及核糖体蛋白电泳分析等。

随着科学技术的快速发展, 尤其是分子生物学、细胞化学、分子遗传学、分子生态学以及生物信息学的发展, 放线菌分类学研究也从传统的表观水平跨越到了分子水平。20 世纪 80 年代, Stackebrandt 等根据 16S rRNA 相似性、DNA-rRNA 和 DNA-DNA 杂交的结果, 描绘了放线菌和其他生物之间的系统发育树, 这标志着放线菌分类学分子分类时期的开始。分子分类是在分子水平上对生物个体的 DNA 和 RNA 进行分析, 并根据获得的基因型信息对生物个体进行分类, 也有人将其称为基因型分类 (genotypic taxonomy)。近年来, 随着分子生物学的发展又出现了一些直接以 DNA 和蛋白质为基础的分子分型方法, 如核糖体基因分型 (ribotyping)、限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析、扩增性 rDNA 限制性酶切片段分析 (ARDRA)、随机扩增多态 DNA (RAPD) 分析、低频限制性酶切片段分析 (LFRFA)、Rep-PCR 基因指纹技术及全细胞蛋白 SDS-PAGE 指纹图谱分析等, 形成了在分子水平上研究认识生物的自然进化关系和生物多样性的基础生物科学, 即分子系统学。

放线菌分类学在经历了长期曲折的发展历程后, 人们的认识已经从表观现象向基因

本质逐步深入,以分子系统学为核心,综合微生物多种不同的信息,包括表型 (phenotypic)、基因型 (genotypic) 和系统发育 (phylogenetic) 信息,来研究微生物系统进化的多相分类 (polyphasic taxonomy) 方法已成为研究放线菌各级分类单位的最有效手段。多相分类将生物的各种信息和数据综合起来,可用于所有水平上的分类单位的描述和定义,更能反映生物间系统进化关系。多相分类的研究方法及其适用的分类等级水平见表 I-1-1。

表 I-1-1 多相分类信息在不同分类水平上的适用性

信息来源	方法	适用的分类等级		
		属或以上	种	亚种或以下
基因型数据				
染色体 DNA	DNA 碱基组成[(G+C) mol%]	√	√	
	DNA-DNA 杂交		√	√
	限制性酶切图谱 (PFGE、RFLP、AFLP)		√	√
	全基因组测序	√	√	√
DNA 片段	DNA 探针	√	√	√
	DNA 测序 (如: <i>gyrB</i> 和 <i>recA</i> 基因, MLST)	√	√	√
	基于 PCR 的 DNA 指纹图谱 (如: PCR-RFLP、RAPD、Rep-PCR)		√	√
rRNA	DNA-rRNA 杂交	√	√	
	核酸序列	√	√	
	ribotyping, ARDRA		√	√
表观数据				
蛋白质	氨基酸序列	√	√	
	SDS-PAGE		√	√
	血清学分析	√	√	√
化学特性	脂肪酸	√	√	
	异戊烯醌	√	√	
	糖脂	√	√	
	枝菌酸	√	√	
	肽糖	√	√	
	极性类脂	√	√	
	氨基酸	√	√	
	糖	√	√	
	壁酸	√	√	
全细胞化学组分指纹图谱	拉曼分散色谱		√	√
	FT-IR		√	√
	PyMS		√	√
细胞表型特征	形态特征	√	√	
	生理生化特征	√	√	
	快速酶学测定		√	√

注: PFGE, 脉冲场电泳; RAPD, 随机扩增多态 DNA 指纹图谱; REP-PCR, 重复 DNA 序列 PCR; MLST, 多位点序列分型; RFLP, 限制性片段长度多态性分析; ARDRA, 扩增 rDNA 限制性酶切片段分析; AFLP, 扩增片段长度多态

放线菌分类学的研究具有理论和实际意义。当前主要从两个方面进行放线菌分类学

的研究, 一是为了实用的需要, 建立各种放线菌的信息库, 以便人们查证、认识各种放线菌, 从而更有效地开发利用放线菌资源及有效地控制有害放线菌; 二是为了探讨放线菌的系统发育, 建立反映放线菌进化关系的自然分类系统, 以揭示各种放线菌的本质特征和相互关系, 丰富生物多样性研究的内容。

1.2.2 分子生态学

放线菌作为一类具有广泛实际用途和巨大经济价值的微生物类群, 其分子生态学是微生物分子生态学的重要组成部分。伴随着放线菌分类学的发展, 放线菌生态学的研究由萌芽时期、发展时期进入到了分子生物学时期, 产生了放线菌分子生态学 (molecular ecology of actinomycete)。

放线菌生态学研究是从 19 世纪末建立放线菌属 (*Actinomyces*) 开始的。直至 20 世纪 40 年代初期, 放线菌还是不为人们熟知的一类微不足道的微生物, 当时发表的放线菌只有四五个属。能产生链霉素的链霉菌 (*Streptomyces*) (Waksman et al. 1943) 的发现是放线菌生态学研究的一个转折点。从发现链霉菌至 20 世纪 90 年代初期, 是放线菌生态学快速发展的时期, 以研究放线菌在各种环境的生态分布规律为重点。这个时期的很多研究工作是以分类学为主, 在方法学上取得重大进展, 并发现了大量放线菌新种、新属。Liesack 等 (1992) 利用 16S rDNA 分子序列和探针检测中度酸性土壤中的未培养或迄今尚不能培养 (uncultured or hitherto unculturable) 的放线菌种类组成, 标志着放线菌分子生态学研究的开始。他们的研究表明, 自然环境中存在着许多尚未为人所知的放线菌 (Stackebrandt et al. 1993)。从此很多国际同行纷纷采用分子生物学方法研究不同自然环境中的放线菌。

放线菌分子生态学的研究内容目前主要是采用分子生物学技术, 研究不同自然环境中放线菌的多样性、分布状况以及它们的数量动态; 目前的放线菌分子生态学方法还不能揭示各种群和群落的生态学功能。应用于放线菌分子生态学研究的方法大致可以分成两大类, 即全程 rRNA 分析法 (full-cycle rRNA analysis) 和 DNA 指纹分析法 (DNA fingerprinting)。相关技术有荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH)、流式细胞计数法 (flow cytometry, FCM) 和共聚焦激光扫描显微法 (confocal laser scanning microscopy, CLSM)。20 世纪 90 年代后, rRNA 分析法与 FISH 法结合而成为更为全面的分析方法, 故有时也称为全程 rRNA 分析法, 主要包括序列测定和探针检测。生态学所指的指纹是群落指纹 (community fingerprint), 包括已知和未知、可培养和尚未培养的微生物。近年来 DNA 指纹分析法的发展非常迅速, 如限制性酶切片段长度多态性分析、扩增性 rDNA 限制性酶切片段分析、rRNA 基因间区分析 (RISA)、长度异质性分析 (LH-PCR) 以及变性梯度凝胶电泳分析 (DGGE) 等。这些方法以电泳图谱或带型 (band profile, banding pattern) 的形式为结果, 可比性较好, 是复杂自然微生物群落快速比较研究非常有用的方法。此外, 可以从群落 DNA 指纹分析法产生的带型中切下任意一条带, 进行克隆和序列测定, 或者利用一系列类群特异探针进行杂交, 从而分析环境样品中的种类组成。

在过去几年的放线菌分子生态学研究中, 人们在不同陆生和海洋水生环境中发现了几个新的 16S rDNA 序列族 (Liesack et al. 1992; Rheims et al. 1996a, b)。它们所