

Rapid Identification and
Systematics of Actinobacteria

阮继生
黄英
编著



放线菌

快速鉴定与系统分类



科学出版社

Rapid Identification and Systematics of Actinobacteria

放线菌快速鉴定与系统分类

阮继生 黄 英 编著

科 学 出 版 社
北 京

内 容 简 介

放线菌是产生抗生素药物及其他活性物质的重要微生物资源,而放线菌分类学是放线菌资源开发利用的基础学科。为使我国放线菌分类学科与国际先进水平处于同步,加快我国放线菌生物资源的开发和利用,促进国内抗生素事业的发展,作者以国际放线菌分类学在基因水平上的最新研究成果为基础,结合自身几十年的分类经验与最新科研成果,编写了《放线菌快速鉴定与系统分类》一书。这是一本内容丰富、新颖、理论与经验相结合,具有较高学术水平和实用价值的参考书,不仅涵盖放线菌门内放线菌纲、亚纲、目、亚目、科、属、种的系统分类,又具备不同属的快速识别与鉴定方法,有助于推动我国放线菌资源开发。

本书可作为大专院校相关专业师生的教学参考用书,也可供微生物学、分类学、资源开发、抗生素产生菌的分离与筛选等方面的科研人员和技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

放线菌快速鉴定与系统分类/阮继生,黄英编著. —北京:科学出版社, 2011

ISBN 978-7-03-030536-7

I. ①放… II. ①阮… ②黄… III. ①放线菌-鉴定 ②放线菌-系统分类 IV. Q939.13

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 040294 号

责任编辑:李悦 王玥/责任校对:刘小梅

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>

骏主印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011 年 4 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2011 年 4 月第一次印刷 印张:23 3/4 插页:8

印数:1—1 500 字数:547 000

定价:85.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

放线菌属于原核生物中 DNA(G+C)含量百分比大于 55%的革兰氏阳性菌,具有多种细菌形态结构。它广泛分布于不同的自然环境中,种类繁多,代谢功能各异,能产生多种活性物质,如抗生素、维生素、有机酸及各种酶类。抗生素是放线菌的重要产物,至今全世界在微生物中已发现的抗生素有万余种,其中约一半是由放线菌产生的。放线菌不仅在人类的医疗保健事业中作用巨大,同时在工农业生产、环境保护和国计民生中也发挥着极大的经济效益。

放线菌分类学科是随着抗生素事业的兴起与发展而发展起来的,两者相互促进、协同发展。为了使我国放线菌分类学科与国际先进水平处于同步,加快我国放线菌生物资源的开发和利用,促进国内抗生素事业的发展,作者以国际放线菌分类学在分子生物学水平上的最新研究成果为基础,结合当前国际的学术动态和自身几十年的科研工作经验,着力编写《放线菌快速鉴定与系统分类》一书,本书共分 8 章,分别为资源、方法、快速鉴定(第 2~6 章)与系统分类(第 7 章),以及高温放线菌(第 8 章)。第 1 章概括地介绍了放线菌的基本特点。第 2 章以国际当前放线菌资源开发的热点为主,介绍了极端放线菌、植物内生放线菌及海洋放线菌的多样性。第 3 章介绍了行之有效的分离方法,特别是从自然界中分离上述这三类放线菌资源的方法。第 4 章介绍了分类鉴定方法。第 5 章介绍了笔者按形态识别属的经验,可在菌种分离的早期挑选目的菌,淘汰相同菌株;继之,用 DNA 探针将放线菌快速鉴定至不同属,既经济又快捷。第 6 章介绍了放线菌分类研究入门,即用第 4 章的方法,按笔者的多年分类经验建立的分类流程,开展分类学研究,让初学者有章可循,少走弯路。第 7 章介绍了放线菌门中放线菌纲、亚纲、目、亚目、科、属、种的系统分类。第 8 章描述了厚壁菌门中的高温放线菌。

本书的分类体系以 Stackebrandt 等 1997 年建立的放线菌纲为基础,结合国际近十年来的最新进展及职晓阳等(2009)的修正,收集至 IJSEM(International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology)2009 年发表的新属、种(个别科、属、种至 2010 年),系统地介绍了放线菌纲内 5 个亚纲、9 个目、13 个亚目、54 个科、245 个属的表观特征、化学分类特征及分子分类特征,大部分属也附有形态图及属内典型种的描述。应该指出,在介绍链霉菌科时,用笔者最近建立的多基因位点序列分析法有效地区分链霉菌属中灰色类群、微黄白类群及吸水类群的不同种(Guo et al., 2008; Rong et al., 2009; Rong et al., 2010),弥补了当前国际上用单基因序列往往不能区分链霉菌属中某些不同种的缺点。除链霉菌科外,在拟诺卡氏菌科、链孢囊菌科、小单孢菌科、高温单孢菌科、弗兰克氏菌科、放线多孢菌科及假诺卡氏菌科中也引入了相关作者新的研究结果。总之,这是一本内容丰富、新颖、理论与经验相结合,具有较高学术水平和实用价值的参考书,不仅涵盖了系统分类,又有快速鉴别,十分有助于放线菌资源的研究与开发。

这本书曾获陈文新院士、东秀珠研究员的关怀与支持,推荐申请获得中国科学院科

学出版基金。本书不只是笔者几十年分类经验的汇聚，也是笔者研究团队多年来成果的总结，研究生们的论文，如古强的《西双版纳药用植物内生放线菌的多样性》、刘宁的《植物内生放线菌的代谢产物》、郭银平的《链霉菌 DNA 多位点序列分析》、邱旦恒的《DNA 探针鉴定小单孢菌科内不同属》等都非常有意义。此外，宫静、刘宁、郑文、荣晓莹、王浩、郝丽君、黄兵、丁芸、高鹏、张利敏、郭晓璇、刘明皓、马腾等同事们也给予了多方面的帮助。在此一并致以谢忱。

阮继生 黄 英
2010 年 3 月于北京
中国科学院微生物研究所

目 录

前言

第 1 章 放线菌的基本特点	1
1.1 什么是放线菌	1
1.2 放线菌生活史	1
1.3 放线菌在微生物中的地位	5
1.4 放线菌与人的关系	6
1.5 放线菌分类学的重要性	6
主要参考文献	7
第 2 章 放线菌的多样性与资源	8
2.1 极端环境放线菌	8
2.2 植物内生放线菌的多样性	13
2.3 植物内生放线菌的应用	17
2.4 红树林放线菌的多样性	22
2.5 海洋放线菌的多样性	27
2.6 下一代新药物的源泉——海洋微生物	35
主要参考文献	45
第 3 章 稀有放线菌的分离方法	53
3.1 稀有放线菌的分离	54
3.2 极端环境放线菌的分离	58
3.3 植物内生放线菌的分离	59
3.4 共生固氮弗兰克氏菌的分离	60
3.5 海洋放线菌的分离	64
3.6 分离菌株去重复	65
主要参考文献	67
第 4 章 放线菌的分类鉴定方法	69
4.1 表观特征	69
4.2 化学分类	78
4.3 基因型分类	102
主要参考文献	113
第 5 章 放线菌不同属的快速鉴定	116
5.1 稀有放线菌不同属的形态识别	116
5.2 形态和细胞壁相结合在属划分中的作用	140

5.3 DNA 分子探针·····	152
主要参考文献·····	169
第 6 章 放线菌系统分类研究·····	172
6.1 什么是放线菌分类学·····	172
6.2 放线菌分类学的发展·····	173
6.3 表观信息与基因信息在定属、种中的作用·····	175
6.4 如何开展菌种鉴定和分类研究·····	176
6.5 菌种退化的解决方案·····	187
6.6 分类研究要重视历史文献·····	187
6.7 分类研究要不断创新和完善·····	188
主要参考文献·····	189
第 7 章 放线菌纲分类系统·····	192
7.1 酸微菌亚纲·····	195
7.2 红杆菌亚纲·····	196
7.3 红蜡杆菌亚纲·····	200
7.4 脘基降解菌亚纲·····	203
7.5 放线菌亚纲·····	205
主要参考文献·····	341
第 8 章 高温放线菌·····	353
主要参考文献·····	358
附录 放线菌门、纲、亚纲、目、亚目、科及属名目录·····	360
图版	

第 1 章 放线菌的基本特点

1.1 什么是放线菌

放线菌是一类单细胞微生物，革兰氏阳性。细胞壁主要由肽聚糖组成，没有真正的细胞核，属于原核生物，其细胞 DNA 中(G+C)含量为 55%~79%。放线菌具有多种细菌形态，如球状、杆状、分枝状和生长发育良好的菌丝体，有气生菌丝体(aerial mycelium)和基内菌丝体(substrate mycelium)之分及各种形状的孢子体(sporophyte)。大多数放线菌好气腐生，少数厌气寄生，也有的放线菌与非豆科植物共生。由于放线菌菌落边缘菌丝常呈放射状，故称之为放线菌(actinomycete)。

1.2 放线菌生活史

放线菌生活史见图 1.1。放线菌的孢子和孢囊孢子在适宜的环境下吸收水分，膨胀发芽，生出芽管 1~3 个，芽管伸长长出分枝，分枝越来越多，形成菌丝体。因其菌丝体长在培养基内，为基内菌丝体或称营养菌丝体，有人将其称为初级菌丝体或一级菌丝体。基内菌丝体一般没有横隔，而细胞壁 IV 型菌如诺卡氏菌型放线菌的基内菌丝体有横隔并断裂。Williams 等(1973)在电子显微镜下对超微结构的研究表明，横隔断裂有两种类型：I 型，菌丝壁和膜内出现单个环状内生长物，向内逐渐伸长而贯通，间体时常参与横隔的形成，断裂发生于横隔中的中间线，借助于物质的自溶而断裂，I 型多发生于真细菌如蜡状芽孢杆菌或基丝不断裂的放线菌中；II 型，从菌丝体壁和膜内部发生环状二层内生长物，有一共同的中间空隙，分别保留在发育过程的各个阶段。这种生长物从开始就清楚地表现出两层壁，壁沟通后形成横隔，中间空隙沟通内壁自溶而断裂，多发生于基丝有横隔断裂的诺卡氏菌型放线菌中(图 1.2)。由于菌丝体长入培养基内和紧贴在培养基表面，并纠缠在一起形成密集的菌落，所以可以用接种针将整个菌落自培养基挑起而不易破裂。基内菌丝体大部分呈黄、橙、红、紫、绿、蓝、褐及黑色，但也有的无色。它产生的色素既有溶于水的水溶性色素也有溶于有机溶剂的脂溶性色素。基内菌丝体发育到一定阶段，由基内菌丝体向空中生长的菌丝体称为气生菌丝体，或称为二级菌丝体。在显微镜下观察时，气生菌丝体比基内菌丝体颜色深，且较基内菌丝体粗 1~2 倍。气生菌丝体发育到一定阶段，在它上面形成孢子丝、孢囊及其他形状的孢子体等。孢子丝形状有直(图 1.3)、波曲、螺旋(图 1.4~图 1.9)、轮生(图 1.10)，螺旋有松、紧、大、小之分，是区分放线菌种的特征之一。轮生孢子丝是由气丝上一点长出 3 个以上孢子丝枝，称为轮生枝，有一级与二级之分，直形或螺旋形。孢囊有各种形状，圆形、椭圆形、酒瓶形状等，其大小也不同。有的菌由气丝形成孢囊(图 1.11)，有的菌无气丝由基丝形成(图 1.12、图 1.13)，有的菌则在两种菌丝体上都形成。

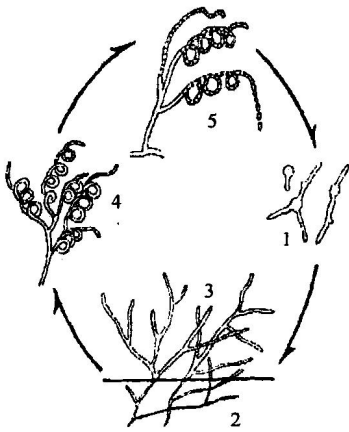


图 1.1 链霉菌生活史

1. 孢子发芽; 2. 基内菌丝体; 3. 气生菌丝体; 4. 孢子丝;
5. 孢子丝分化孢子

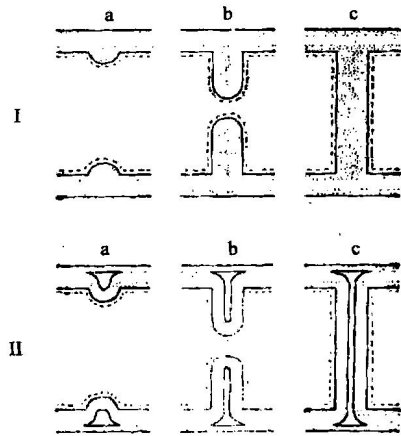


图 1.2 基丝形成的横隔I型和II型(Williams, 1973)

a、b、c代表时间顺序

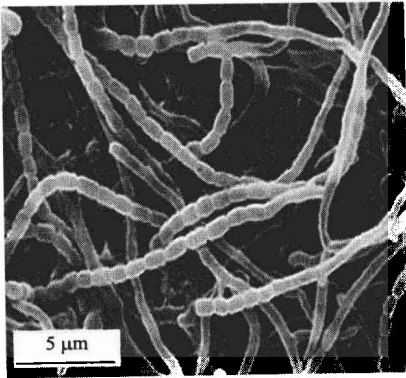


图 1.3 孢子丝直形, 孢子表面光滑
图引自《放线菌图鉴》

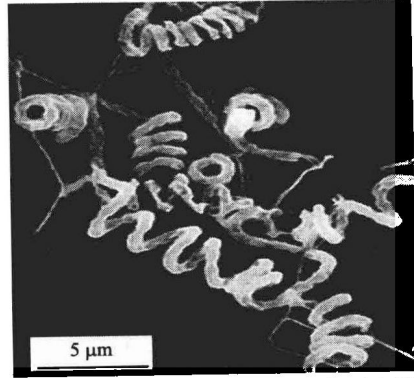


图 1.4 孢子丝螺旋形, 孢子表面光滑
图引自《放线菌图鉴》

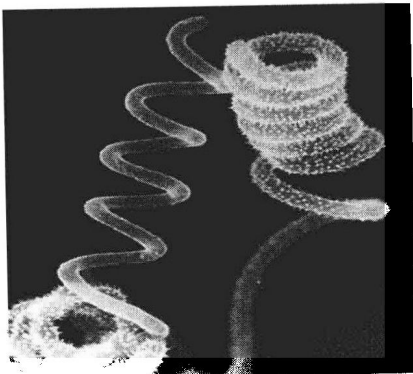


图 1.5 孢子丝螺旋形, 孢子表面短刺
图引自《放线菌图鉴》

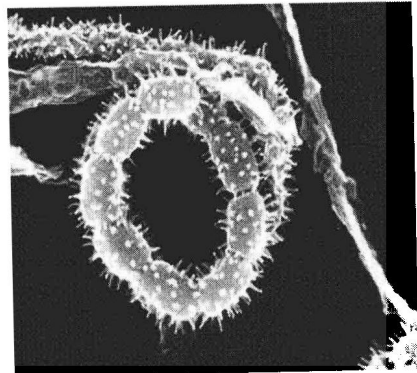


图 1.6 孢子丝螺旋形, 孢子表面长刺
图引自《放线菌图鉴》

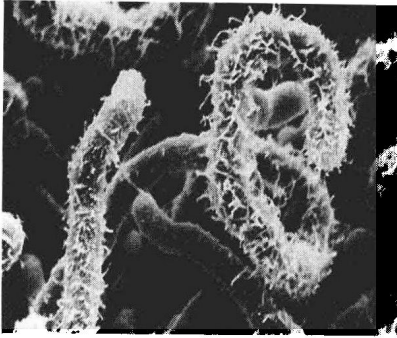


图 1.7 孢子丝螺旋形，孢子表面毛发状
图引自《放线菌图鉴》

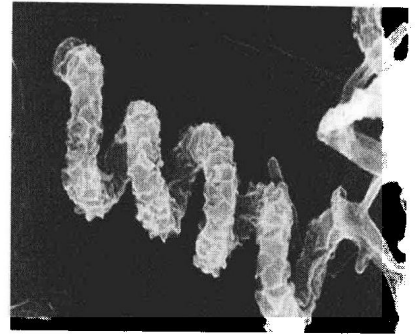


图 1.8 孢子丝螺旋形，孢子表面龟纹状
图引自《放线菌图鉴》

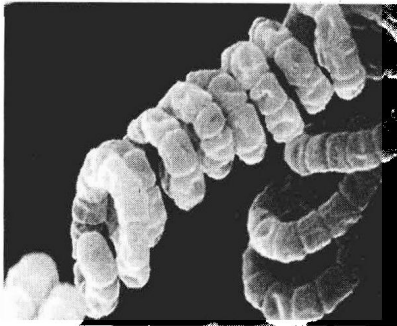


图 1.9 孢子丝螺旋形，孢子表面粗糙
图引自《放线菌图鉴》

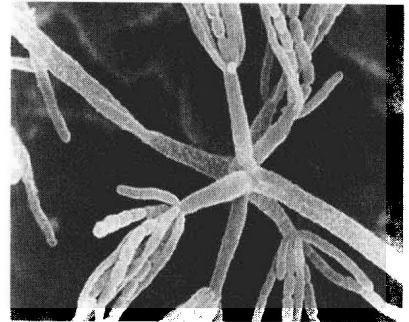


图 1.10 孢子丝二级轮生，孢子表面光滑
图引自《放线菌图鉴》

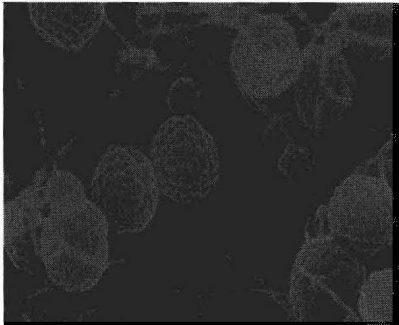


图 1.11 孢囊长在气丝上，孢囊孢子无鞭毛，不能游动

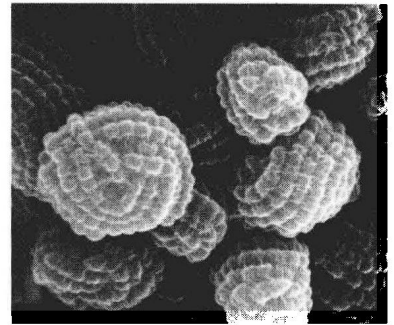


图 1.12 孢囊长在基丝上，孢囊孢子带鞭毛，能游动

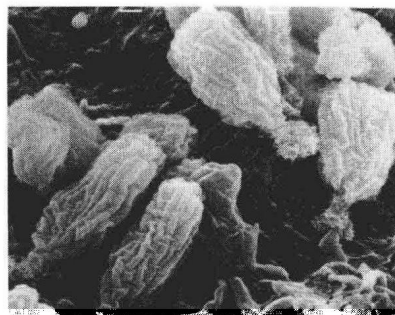


图 1.13 孢囊长在基丝上(酒瓶形)，孢囊孢子带鞭毛，能游动

孢子丝长到一定阶段即形成孢子。链霉菌的孢子分化方式，以前在光学显微镜下认为有凝集分裂与横隔分裂，而用电子显微镜观察超微结构的研究表明，只有横隔分裂。1981 年 Henssen 等研究了链霉菌属的不同种，嗜热假诺卡氏菌(*Pseudonocardia thermophila*)孢子形成的超微结构，对链霉菌的孢子形成方式提出了三种基本类型：I 型，双层横隔壁将孢子丝分成若干份，这种横隔称为间隙横隔(interspace septum)；II 型，孢子形成的横隔是由缢缩细胞壁与间隙横隔组成；III 型，不形成间隙横隔，只是缢缩细胞壁将孢子丝分成若干部分，当原生质膜全部凹入后，孢子的新细胞壁就形成了，原来的孢子丝壁不参加新孢子的细胞壁形成而自溶掉，缢缩壁内的积存物质也分解了，在成熟的孢子间可看到残余物。另外嗜热假诺卡氏菌的孢子是顶生芽殖(细胞壁 CW-IV 型)，其间隙横隔形成不同于链霉菌中上述三种类型。菌丝壁是由具有一个电子透明区和两个电子稠密层组成的多层结构(图 1.14 中 IV 型)。

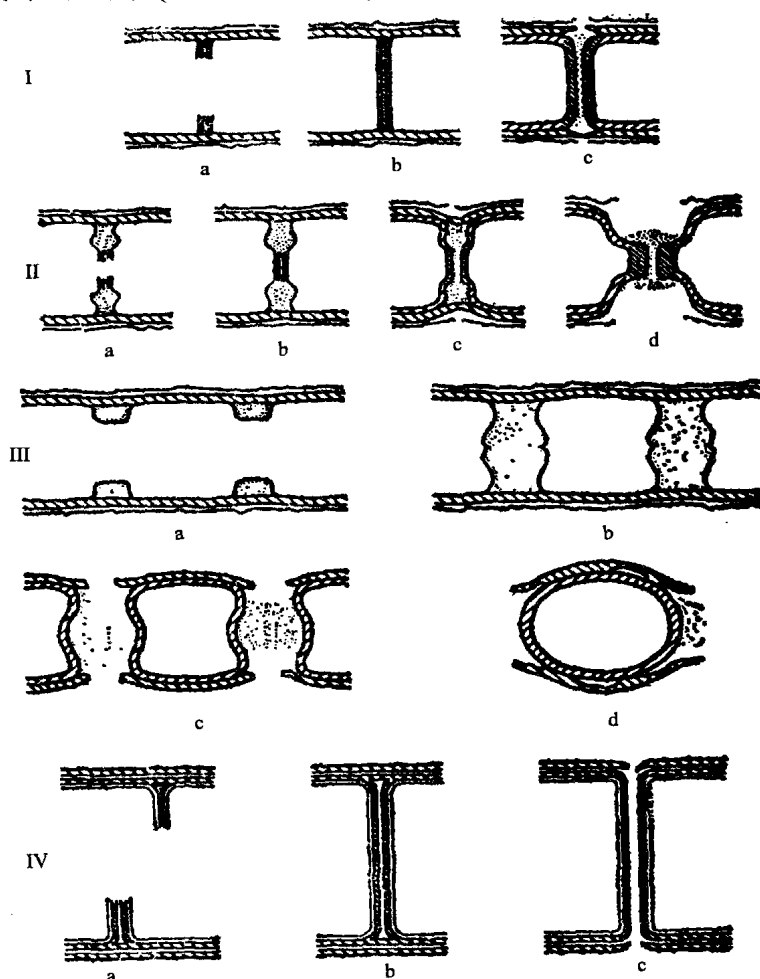


图 1.14 生孢子放线菌孢子横隔形成的模型(Henssen, 1981)

I~III 型. 链霉菌孢子形成的三种类型：I 型. 间隙横隔；II 型. 由缢缩壁和间隙组成的孢子横隔；III 型. 由缢缩壁形成横隔；IV 型. 嗜热假诺卡氏菌形成孢子丝的横隔

a、b、c、d 表示时间顺序

孢子具有不同形状,有球形、椭圆形、杆状、柱状、瓜子形等,在光学显微镜下能看清楚。因为从一个孢子丝分化而来的孢子可能有不同的形状,不能一概而论以孢子的大小、形状作为区分种的指征之一,应结合孢子表面结构来加以区分。在电子显微镜下可见到有的孢子表面光滑(图 1.3、图 1.4),有的孢子表面生有小疣,有的有刺(粗细、大小、长短不同)(图 1.5、图 1.6),有的带毛发(图 1.7),有的表面龟纹状(图 1.8),有的表面粗糙(图 1.9)。如果孢子丝为螺旋形,则孢子的表面结构因种而异,有的种光滑、有的种带刺、有的种带毛发。如孢子丝为直形,其孢子的表面都是光滑的,未发现带刺或毛发(阮继生和蒋宁寿,1964)。

孢囊菌的孢囊孢子是在孢囊内形成,一般有椭圆形、球形,杆状,鞭毛有极生或周生,能游动(图 1.15)。

放线菌虽然有发育良好的菌丝体,但仍为单细胞,至今尚未发现它的有性世代。用现代镜检技术对放线菌超薄切片进行细胞学的研究,在菌丝和孢子内未看到具体形状的细胞核,没有核膜、线粒体等,仅含有核物质。因此,放线菌属于原核生物。

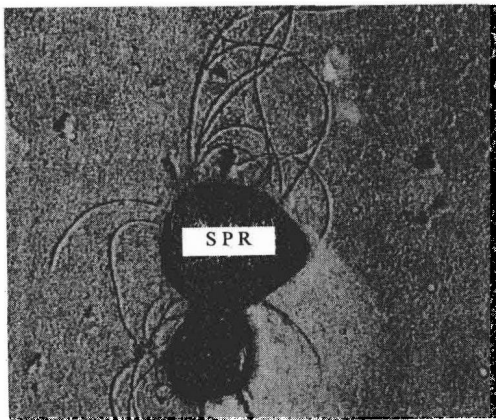


图 1.15 孢囊孢子(SPR)游动,周生鞭毛

1.3 放线菌在微生物中的地位

放线菌由 Cohn 于 1875 年发现,当时并未引起人们足够的重视,Waksman 从土壤中分出链霉菌,从中发现链霉素并获得诺贝尔奖后,才引起了人们极大的关注。抗生素事业的兴起与蓬勃发展,促进了放线菌分类学的发展。由于放线菌具有生长发育良好的菌丝体,19 世纪人们将其列入真菌中。随着科学的发展及人们认识的深入,20 世纪才将放线菌列入细菌中。但放线菌在微生物中的地位,因分类学家的观点不同,其分类地位也随之发生不同变革。克拉西里尼科夫曾将细菌与放线菌放在植物界、原生植物门、裂殖菌纲中。随后有人将其放入原核生物界(Procarotae)。Gibbens 和 Murray(1978)根据细胞壁有无和性质将原核生物界分为 4 个门: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和放线菌;疵壁菌门(Mendosicutes),包括无肽聚糖细胞壁的细菌,如甲烷菌、嗜盐菌和硫化叶菌;柔膜菌门(Mollicutes),包括无细胞壁的支原体类细菌。放线菌当时被列入原核生物界、厚壁菌门。

Woese 发现了古细菌(Archaeobacteria)后,1987 年提出生命三域学说:细菌域(Eubacteria)、古菌域(Archaeobacteria)及真核生物域(Eucaryota)。当时 Woese 的生命三域学说未被国际接受和采纳,《伯杰氏系统细菌学手册》1984(第一版)仍以表观特征将原核生物界分为 4 个门 7 个纲。放线菌被列入原核生物界、厚壁菌门、丝状菌纲、放线菌目。

Woese 等于 1990 年经 rRNA、RNA 聚合酶分子结构特征和序列深入研究正式提出

生命三域学说,即细菌域(Bacteria)、古细菌域(Archaea)及真核生物域(Eucarya)。Sogin 1992 年也以 rRNA 碱基序列发表了生命三域的分类系统。自此 Woese 三域学说被国际普遍接受。

Stackebrandt 等根据多年对几百株放线菌与其相近的细菌进行了系统而深入的 16S rDNA/rRNA 特征性核苷酸分析,了解清楚了上述菌的亲缘关系,于 1997 年提出新的分类系统,建立了放线菌纲(Actinobacteria)。以 16S rDNA/rRNA 特征性核苷酸及相似性,从基因水平编排纲以下的各分类等级。当时放线菌纲分为 5 个亚纲、6 个目、10 个亚目。这个建议已被《伯杰氏系统细菌学手册》第二版(2001 年)采纳。由于放线菌纲是 DNA 高(G+C)含量的革兰氏阳性菌,《伯杰氏系统细菌学手册》编委会决定,放线菌最高分类单元采用域(domain),域下为门(phylum),即属于细菌域中第 14 门——放线菌门(Actinobacteria)。由此,放线菌归于细菌域、放线菌门、放线菌纲(亚纲)、放线菌目(亚目)。

1.4 放线菌与人的关系

放线菌多数腐生好气,广泛习居于自然环境中,土壤、海洋是放线菌的主要聚居场所。它能使动植物残体、粪便等有机物质分解,对自然界的碳、氮、磷、钾等物质的循环起着相当重要的作用。众所周知,放线菌是盛产抗生素的一类菌,抗生素除作为医疗卫生的主要药物外,也在农业病虫害防治中起到了极大的作用。据不完全统计,目前为止由微生物产生的抗生素有万余种,其中约一半是由放线菌产生的。当前在临床上广泛应用的抗生素包括链霉素、卡那霉素、红霉素、氯霉素、四环素、新生霉素、庆大霉素、丝裂霉素、柔红霉素、马杜拉霉素等。20 世纪 70 年代后随着疾病相关分子靶标的兴起、新筛选模型的不断建立,从链霉菌代谢产物中又发现了大量传统抗生素之外的免疫调节剂、受体拮抗剂等。在农业上广泛应用的有放线菌酮、春雷霉素、阿维菌素及多棘霉素等。另外,放线菌还产生各种有机酸、维生素及各种酶制剂等。在面粉加工、造纸、饲料、洗涤、食品工业、制革工业及机械工业等方面广泛应用。此外,在甾体转化、石油脱蜡、烃类发酵、污水处理及环境保护等方面放线菌也展示了无比威力。可以说放线菌在工农业生产及国计民生中都作出了极大贡献。寄生型放线菌能引起动物、人类的职业疾病,如分枝杆菌引起肺结核、麻风病。厌氧放线菌及诺卡氏菌等能引起各种传染病。有的链霉菌致使马铃薯和甜菜生疮痂病等。这些致病菌在放线菌中为数不多,只要我们加以重视和早期防治,难以造成极大的危害。综上所述,放线菌与人类的关系极为密切,且益大于弊。尤其放线菌种类繁多,广泛分布于自然界。我国地大物博,放线菌资源极为丰富。因而,放线菌是取之不尽、用之不竭的自然资源财富,我们应对放线菌给予极大的重视,进行研究和开发利用,使之不断地服务于人类。

1.5 放线菌分类学的重要性

放线菌分类学是生物学中的一门基础学科,其目的是研究放线菌的多样性及它们之间的亲缘关系及其系统发育。主要有两方面内容:一是给物种以科学命名,建立并完善

各种放线菌的信息库,以便人们认识、查证和交流各种放线菌,从而有效地开发和利用这类资源;二是探讨放线菌不同分类等级的亲缘关系,建立客观反映放线菌自然进化关系的分类系统。放线菌已经成为一类重要的微生物资源,人们掌握了放线菌分类知识,便可有目的地指导自然界放线菌资源的开发和利用,使之造福于人类。因而,放线菌分类学显得格外重要。

(阮继生)

主要参考文献

- 日本放线菌学会编. 1997. 放线菌图鉴. 朝仓书店.
- 阮继生, 蒋宁寿. 1964. 电子显微镜下放线菌孢子的初步研究, 微生物学报, 10(1): 72-83.
- 阮继生, 刘志恒, 梁丽糯等. 1990. 放线菌研究及应用. 北京: 科学出版社.
- 阮继生. 2005. 放线菌纲内亚纲、目、亚目、科的 16S rDNA/RNA 特征序列简介. 微生物学通报, 32: 344-352.
- Gibbons N E, Murray R G E. 1978. Proposal concerning the higher taxa of bacteria. *Int J Syst Bacteriol*, 28: 1-6.
- Henssen A, Weise E, Vobis G, et al. 1981. Ultrastructure of sporogenesis in actinomycetes forming spores in chains. *In: Schaal K P, Pulverer G A. Actinomycetes. Zbl Bakt Suppl.* 11. N.Y: Gustav Fischer Verlag Stuttgart: 137-146.
- Locci R, Sharples G P. 1984. Morphology. *In: Goodfellow M, Mordarski M, Williams ST. The Biology of Actinomycetes.* London: Academic Press: 165-199.
- Stackebrandt E, Rainey F A, Ward-Rainey N L. 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *Int J Syst Bacteriol*, 47: 479-491.
- Stackebrandt E, Woese C R. 1981. Towards a phylogeny of the actinomycetes and related organisms. *Current Microbiol*, 5: 197-202.
- Stackebrandt E, Ludwig W, Seewaldt E, et al. 1983. Phylogeny of sporeforming members of the order Actinomycetales. *Int J Syst Bacteriol*, 33: 173-180.
- Williams S T, Sharpe M E, Holt J G. 1989. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriol.* Vol. 4. Williams & Wilkins Baltimore. London. Sydney.
- Williams S T, Sharples G P, Bradshaw R M. 1973. The fine structure of the Actinomycetales *In: Sykes G, Skinner F A. Actinomycetales: characteristics and importance.* London: Academic Press: 113-130.
- Woese C R, Kandler O, Wheelis M L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci*, 87: 4576-4579.
- Woese C R, Stackebrandt E, Macke T J, et al. 1985. A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. *Syst Appl Microbiol*, 6: 143-151.
- Woese C R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol Rev*, 51: 221-271.

第 2 章 放线菌的多样性与资源

放线菌在自然界中主要分布于陆地和海洋，在大气中也有悬浮。陆地以土壤为放线菌的主要习居场所，无论在数量和种类上都比其他地方多。土壤性质、腐殖质含量、季节、植被等条件都影响土壤里放线菌生存的数量和种类。一般来说，在中性或偏碱性的土壤和有机质丰富的土壤中放线菌的数量和种类多，春季和秋季放线菌的数量和种类比夏季和冬季多。放线菌以孢子和菌丝片段的形式存在于土壤中，每克土壤中可含有成千上万个，或更多的孢子。

由于各类放线菌在形态和生理上的差异，不同属放线菌的生态分布也不完全相同。如生孢子的链霉菌属适宜在含水量低、透气性好的中性土壤中生长(pH 6.5~8.0)；链嗜酸菌属 (*Streptacidiphilus*) 适于在偏酸的土壤中生存 (pH 3.5~6.5)；小单孢菌属 (*Micromonospora*)在湖泊、河泥、厩肥及堆肥中生存；游动放线菌(*Actinoplanes*)类群喜欢在潮湿的土壤中或河边、沟旁的残株落叶上生长；嗜盐放线菌如放线多孢菌属 (*Actinopolyspora*)在盐场、盐湖及含盐量高的土壤中习居；酪蛋白博格里亚湖菌(*Bogoriella caseilytica*)在碱湖或含碱高的土壤中生存；高温放线菌属(*Thermoactinomyces*)普遍在热带、亚热带土壤、温泉及高温堆肥中或稻草堆中生存。

2.1 极端环境放线菌

能在高温、低温、高酸、高碱、高盐、高渗透压、高压、高辐射或太空等极端异常环境下生存的放线菌，被称为极端放线菌(extreme actinomycete)。由于这类放线菌具有独特的基因类型、特殊的生理机制，可能会产生特殊的代谢产物。因而，极端放线菌是具有巨大潜力的微生物资源。

2.1.1 嗜热放线菌

嗜热放线菌根据生长对不同温度的要求，分为低温、中温和高温菌(表 2.1)。

表 2.1 生长温度的区分

种类	最低生长温度/℃	最适生长温度/℃	最高生长温度/℃
低温菌	0	10~15	20 (或高于 20)
中温菌	5~25	18~45	30~50
高温菌	25~35	45~55	60~70

嗜热放线菌属于放线菌纲、放线菌目中不同属：如链霉菌属(*Streptomyces*)中的高温链霉菌；高温单孢菌属(*Thermomonospora* Henssen, 1957)；拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*

Lechevalier et al., 1986)中的高温菌;嗜热假诺卡氏菌(*Pseudonocardia thermophila* Henssen, 1957);热密卷菌属(*Thermocrispum* Korn-Wendisch et al., 1995);小单孢菌属中的嗜高温的种;经16S rRNA序列分析将双孢小双孢菌(*Microbispora bispora* Lechevalier, 1965)建立了新属,即双孢高温双孢菌(*Thermobispora bispora* Lechevalier, 1965; Wang et al., 1996);对高温单孢菌属中7个种的16S rRNA基因特征性核苷酸分析,从中建立了2个新属:高温双歧菌属(*Thermobifida* Zhang et al., 1998);野野村氏菌属(*Nonomuraea* Zhang et al., 1998);将中温高温单孢菌(*Thermomonospora mesophila*)转入小双孢菌属(*Microbispora*),也将台湾高温单孢菌(*Thermomonospora formosensis*)及弯曲高温单孢菌(*Thermomonospora curvata*)转入马杜拉放线菌属(*Actinomadura*)。

高温放线菌属(*Thermoactinomyces* Tsiklinsky, 1899)形成内生孢子,最适生长温度50~55℃,低(G+C)含量。现归属于厚壁菌门、芽孢菌纲、芽孢菌目、高温放线菌科。Yoon等于2005年将高温放线菌属分为四个属:高温放线菌属(*Thermoactinomyces* Tsiklinsky, 1899);来斯氏菌属(*Laceyella* Yoon et al., 2005);高温黄色微菌属(*Thermoflavimicrobium* Yoon et al., 2005);清野氏菌属(*Seinonella* Yoon et al., 2005)。后来又报道了直丝菌属(*Planifilum* Hatayama et al., 2005)、帛琉-洛克菌属(*Mechercharimyces* Matsuo et al., 2006)、岛津氏菌属(*Shimazuella* Park et al., 2007)。这样至今为止在高温放线菌科中就有7个属。

这些高温放线菌中有的菌产生各种热稳定酶如高温淀粉酶、高温蛋白酶、高温纤维素酶及一些工具酶等,在工业生产上都有应用的价值。

2.1.2 嗜冷放线菌

嗜冷放线菌是在低温条件下(0℃和0℃以下)可生长繁殖的放线菌,最适生长温度在15℃以下,最高生长温度不超过20℃。另一类为耐冷菌,在0~5℃可生长繁殖,最适生长温度高于15℃,最高生长温度高于20℃。低温环境如两极地区常年结冰,还有冬季积雪的高山、冰川、海洋、冰窟及人造冰场。国内外报道的低温放线菌有节杆菌属(*Arthrobacter* Conn and Dimmick, 1947)、低温杆菌属(*Cryobacterium* Suzuki et al., 1997)、弗来德门氏菌属(*Friedmanniella* Schumann et al., 1997)、冷杆菌属(*Frigoribacterium* Kämpfer et al., 1997)、栖地下菌属(*Subtercola* Mannisto et al., 2000)、贫养杆菌属(*Modestobacter* Mevs et al., 2000)中的嗜冷菌种和嗜冷糖丝菌(*Saccharothrix cryophilis* Labeda and Lechevalier, 1984)、嗜冷克洛斯氏菌(*Crossiella cryophila* Labeda, 2001)、嗜冷迪茨氏菌(*Dietzia psychrocaliphila* Yumoto, 2002)、耐冷分枝杆菌(*Mycobacterium psychrotolerans* Trujillo et al., 2004)等。

云南省微生物研究所于20世纪90年代,由云南西北部的白芒雪山和中甸自然保护区土壤中分离出低温放线菌如链霉菌属及小单孢菌属,其中77%的菌株能分解纤维素,4%和5%的菌株能分解果胶和淀粉,8%和9%的菌株产生抗生素和溶菌酶。

这些菌在食品发酵工业方面,进行低温发酵,可生产许多风味食品,也可以节约能源和减少中温菌的污染。有的菌产生酯酶、蛋白酶和 β -半乳糖苷酶,在食品工业和洗涤剂、添加剂中有极大用处。

2.1.3 嗜盐放线菌

嗜盐放线菌是指能生活在盐湖、盐场、盐碱地和海水等高盐环境中的菌。像高盐含量的盐湖有美国的犹他州大盐湖及死海和里海。我国的新疆、青海和内蒙古的盐湖,其含盐量为 15%~20%。嗜盐放线菌可分为中性(pH 7 左右)嗜盐菌和碱性嗜盐菌(pH 9 左右)。按在不同含盐量生长情况,我们建议分为极端嗜盐菌(只在 10%~20% NaCl 以上生长,而低于此则不长)和耐盐菌(在低含盐量 10% NaCl 以下生长,或有盐及无盐也可生长)。

嗜盐放线菌发现于 1975 年,名为放线多孢菌属(*Actinopolyspora* Gochnauer et al., 1975)。中国科学院微生物研究所发现了亚嗜盐链霉菌(*Streptomyces subhalophilus* Zhou et al., 1983); 于 20 世纪 90 年代又发现了在高盐含量 15%~20% NaCl 条件下生长的伊拉克放线多孢菌(*Actinopolyspora iraqiensis* Ruan et al., 1994)(现为糖单孢菌属); 在含盐量 10% NaCl 条件下生长的嗜盐拟诺卡氏菌(*Nocardiopsis halophila* AL-Tai and Ruan, 1994)两个新种; 涅斯捷连科氏菌属(*Nesterenkonia* Stackebrandt et al., 1995)中多个种及多形态放线菌属(*Actinopolymorpha* Wang et al., 2001)。

20 世纪 90 年代末,云南省微生物研究所对我国新疆、青海及甘肃的高盐环境下放线菌进行了系统研究,分离出 300 多株嗜盐与耐盐菌。经形态、化学、16S rRNA 序列及 RFLP 分析,这些菌属于放线菌目中两个科:拟诺卡氏菌科(*Nocardiopsaceae*)与假诺卡氏菌科(*Pseudonocardiaceae*)7 个属 20 多个种。其中,包括链单孢菌属(*Streptomonospora* Cui et al., 2001)约 10 个种;嗜盐普劳氏菌(*Prauserella halophila* Li et al., 2003)等 2 个种;拟诺卡氏菌属(*Nocardiopsis* Meyer, 1976)中 2 个种;盐生拟诺卡氏菌(*Nocardiopsis salina* Li et al., 2004)及新疆拟诺卡氏菌(*N. xinjiangensis* Li et al., 2003)等;放线多孢菌属(*Actinopolyspora* Gochnauer et al., 1975)中 2 个种;糖单孢菌属(*Saccharomonospora* Nonomura and Ohara, 1971)中 4 个种;糖多孢菌属(*Saccharopolyspora* Lacey and Goodfellow, 1975)中 4 个种;盐孢放线菌(*Haloactinospora* Tang et al., 2008)新属。另外有属于链霉菌属中 10 多个种。

此外还有耐盐菌如耐盐阎氏菌(*Yaniella halotolerana* Li et al., 2004),从青海盐环境土壤中分离出黄色阎氏菌(*Yaniella flavin* Li et al., 2005)。为纪念我国放线菌分类学奠基人阎逊初院士,建立了阎氏菌属(*Yaniella* Li et al., 2004),后建议为阎氏菌科(*Yaniellaceae* Li et al., 2005)。其他属的耐盐菌,如阿莫斯基盐水杆菌(*Salinibacterium amurskyensis* Han et al., 2003);耐盐棒杆菌(*Corynebacterium halotolerans* Chen, 2004);涅斯捷连科氏菌属中 3 个种(*N. halotolerans* Li et al., 2004; *N. sandarakina* Li et al., 2005; *N. lutea* Li et al., 2005)。还有福建糖多孢菌(*Saccharopolyspora fujianensis* Zhang et al., 2007)。嗜盐放线菌中能产生胞外多糖,也能产生抗生素、胰岛素、维生素等。

关统伟等(2009)应用免培养技术和基于 16S rRNA 基因序列系统发育树对新疆于田盐池土壤嗜盐放线菌多样性进行了研究,其结果表明:于田盐池土壤中放线菌群落主要有链孢囊菌亚目(*Streptosporangineae*)、链霉菌亚目(*Streptomycineae*)、丙酸杆菌亚目(*Propionibacterineae*)、棒杆菌亚目(*Corynebacterineae*)、小单孢菌亚目