

将一株原红霉素链霉菌转入拟无枝菌酸菌属的分类学研究

刘志恒 钱宇冬 张亚美 石彦林 谢家仪

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

摘 要 对保藏的红霉素链霉菌 AS4.894、AS4.198 的化学分类研究表明, 它们的胞壁类型为 IV/A 型, 不属于胞壁为 I 型的链霉菌属。菌株 AS4.198 与已由 Labeda (1987) 转入糖多孢菌属 (*Saccharopolyspora*), 定名为 *Saccharopolyspora erythreus* 的菌株相似; 菌株 AS4.894 虽然胞壁型与糖多孢菌相似, 但磷酸类脂为 PII 型, 应转入拟无枝菌酸菌属 (*Amycolatopsis* Lechevalier, 1986)。通过与红霉素糖多孢菌 (*Saccharopolyspora erythreus*) 和白色拟无枝菌酸菌 (*Amycolatopsis alba*, A83850^T) 进行比较, 菌株 AS4.894 的生长 pH 范围广泛, 耐盐和耐 50℃ 高温, DNA G+C mol% 高, 区别于拟无枝菌酸菌属中的任何已知种, 而建议命名为新种——红霉素拟无枝菌酸菌 (*Amycolatopsis erythreus* comb. nov.)。

关键词 红霉素拟无枝菌酸菌, 红霉素糖多孢菌

中国微生物菌种保藏委员会收藏的菌号分别为 AS4.198、AS4.894 的两株放线菌, 形态类似链霉菌, 产生红霉素, 原名为红霉素链霉菌 *Streptomyces erythreus* Waksman and Henrici, 1948^[1]。通过我们对其进行化学分类的研究, 发现它们的胞壁类型不同于链霉菌所特有的 I 型 (即含有 LL-DAP)。其中菌株 AS4.198 与 Labeda (1987) 发表的研究结果一致^[2], 已归属于糖多孢菌属, 并改名为红霉素糖多孢菌 *Saccharopolyspora erythreus*; 而菌株 AS4.894 则转入拟无枝菌酸菌属, 定名为红霉素拟无枝菌酸菌 *Amycolatopsis erythreus* comb. nov.。本文报告对菌株 AS4.894 由链霉菌属转入拟无枝菌酸菌属的分类研究结果。

1 材料和方法

1.1 菌株来源

菌株 AS4.894 由北京红卫油厂分离, 东北制药厂作为红霉素产生菌收集。

菌株 AS4.198 为原中国医学科学院抗菌素研究所收集的红霉素产生菌株, 是本项研究的模式菌株。

1.2 形态观察

在燕麦粉培养基^[3]上插片培养, 由光学显微镜和电子显微镜观察并拍摄菌丝、孢子形态照片。

本文于 1995 年 11 月 30 日收到。

1.3 培养特征

在 7 种不同的培养基上^[3]28℃,培养 7~14d,观察并记录培养特征,颜色记录使用中国科学院编译出版委员会名词室编辑的色谱^[4]。

1.4 细胞化学

全细胞水解液化学组分分析以 Lechevalier(1980)^[5]和 Hasegawsa(1983)^[6]的方法进行,纯细胞壁化学组分分析按照 Lechevalier(1980)^[5]的方法;磷酸类脂的成分分析用 Lechevalier(1980)的方法^[5];全细胞壁甲基脂的分析用 Minnikin(1979,1980)的方法^[7,8];醌的提取、分析用 Collins(1985)和吴诚华等人的方法^[9,10],进行高压液相分析。

1.5 生理生化

按照 Gordon(1974)等人报道的方法^[11]进行。

1.6 DNA 的 G+C mol%的测定

主要参照 Marmur 和 Delay(1962)等人的 Tm 值测定方法^[12]。大肠杆菌(*E. coli* AS1.365)的 DNA 为参照 DNA G+C mol%值。

2 结 果

2.1 形态学特征

菌株 AS4.894 气丝和基丝有分枝,基丝有分隔,少见断裂,气丝产生孢子链,孢子短柱形,表面光滑,直径为 0.7~1.0μm(图 1)。

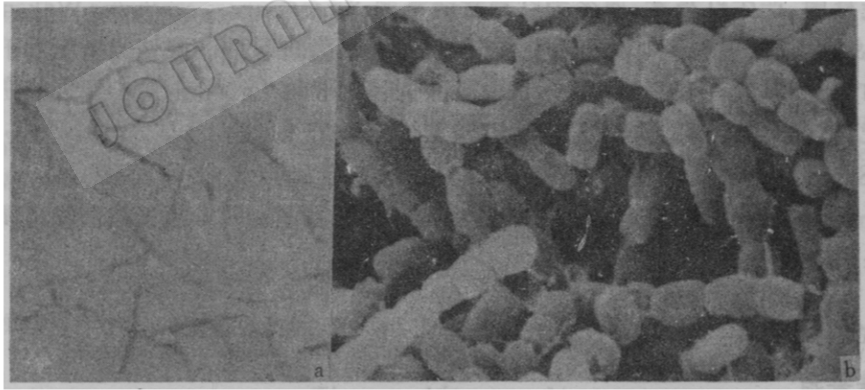


图 1 菌株 AS4.894 的形态

a. 菌丝($\times 1200$); b. 孢子链和孢子(SEM $\times 8000$)

Fig. 1 Morphology of strain AS4.894

a. Mycelium morphology; b. Morphology of Spore-chains and spores

菌株 AS4.198 基丝和气丝均发育良好,菌落边缘呈丝状,基丝部分断裂;气丝有小螺旋,产生带刺的孢子链,孢子球形,表面带刺,直径为 0.6~0.7μm(图 2)。

2.2 培养特征

菌株 AS4.198、AS4.894 的培养特征见表 1。

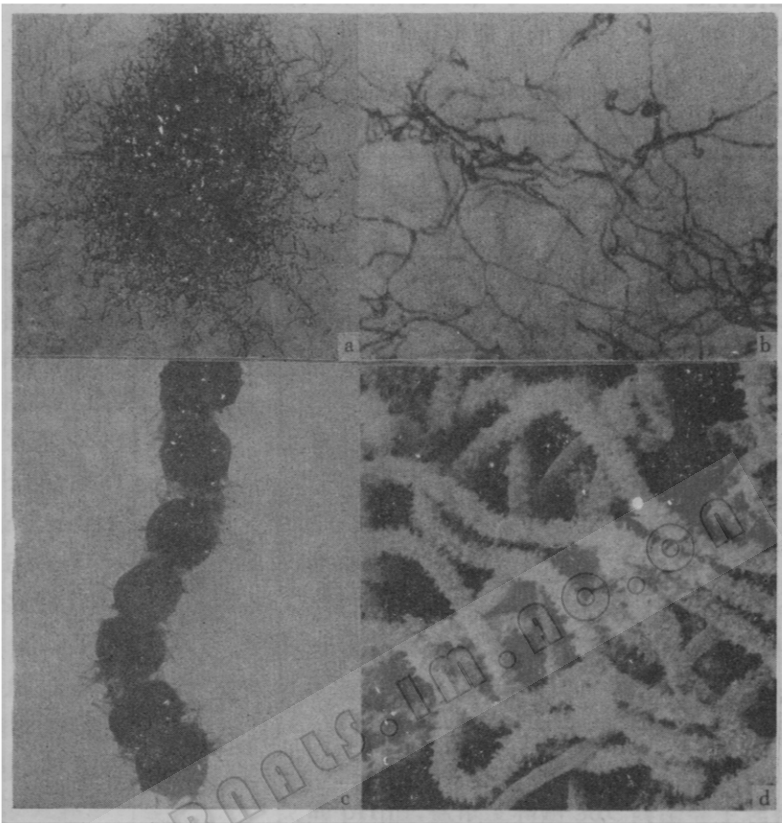


图 2 菌株 AS4.198 形态

a. 菌落边缘($\times 240$); b. 菌丝形态($\times 1200$); c. 孢子链形态(TEM $\times 15000$); d. 孢子丝形态(SEM $\times 5000$)

Fig. 2 Morphology of strain AS4.198

a. Edge of colony; b. Mycelium morphology; c. Morphology of spore-chains;
d. Morphology of spore-mycelium.

表 1 菌株 AS4.198 和 AS4.894 的培养特征

Table 1 Cultural characteristics of strain AS4.198 and AS4.894

	AS4.198			AS4.894		
	气 丝	基 丝	色 素	气 丝	基 丝	色 素
蔗糖酵母浸汁	珠母灰	栗棕	火焰棕	淡红灰	酱紫	酱紫
酵母麦芽糖浸汁	无	无	无	无	丁香棕,少,凸起	无
无机盐淀粉琼脂	粉白	瓜瓤粉	无	无	稀少	无
燕麦粉琼脂	荷花白	润红	酱棕	荷花白	瓦罐灰	殷红
贝蔡特琼脂	中灰白	酱紫	火焰棕	中灰驼,少	酱紫	殷红
高氏琼脂	粉白	丁香棕	珠母灰	灰白,少	中灰驼	淡桂皮棕
察氏琼脂	落英淡粉	暗紫苑红	玉粉红	灰	碗灰	无

2.3 生理生化特性

菌株 AS4.198 和 AS4.894 的生理生化特性见表 2。

表 2 菌株 AS4.198 和 AS4.894 的生理生化特性

Table 2 Differentiating physiological characteristics of strain AS4.198 and AS4.894

		AS4.198	AS4.894			AS4.198	AS4.894
牛奶	凝固	+	+	碳源	D-果糖	+	+
	胨化	+	-		蔗糖	+	+
明胶水解		+	+		D-葡萄糖	+	+
淀粉水解		-	-		D-木糖	+	+
硝酸盐还原		-	+		D-甘露醇	+	+
纤维素上生长		-	-		L-阿拉伯糖	-	+
硫化氢产生		-	+		L-鼠李糖	+	+
酪氨酸水解		-	-		棉子糖	+	+
酪蛋白水解		+	-		D-甘露糖	+	+
苹果酸钙分解		-	-		乳糖	-	-
最适 pH	5.0	-	+	利用	麦芽糖	+	+
	8.0	+	+		糊精	+	+
	9.0	+	+		菊粉	+	+
嗜盐范围(%)	1	-	+		D-半乳糖	+	-
	2	+	+		甘油	+	+
	3	+	+		D-山梨醇	+	-
	4	-	+		D-卫矛醇	-	-
	4.5	-	+		肌醇	+	+
最适温度	28℃	+	+		D-核糖	+	+
	50℃	-	+		山梨糖	-	-
					D-蜜二糖	+	+

2.4 细胞化学和 DNA G+C mol% 分析

细胞化学组分和 DNA G+C mol% 分析结果见表 3, 其中白色拟无枝菌酸菌 *Amp.*

表 3 菌株 AS4.198、AS4.894 和 A83850^T 的细胞化学组分及 DNA G+C mol% 值

Table 3 Cell chemistry and DNA G+C mol% of strain AS4.198, AS4.894 and A83850^T

菌株	胞壁类型	糖型	磷酸类脂	枝菌酸	醌型 MK	DNA G+C mol %
AS4.198	I V	A	III	-	9(4,8)	70.4
AS4.894	I V	A	II	-	9(6,4)	74.9
A83850 ^T	I V	A	II	-	9(4).8(4)	ND*

* ND, not done.

alba A83850^T 资料取自 Labeda 先前发表的实验数据^[2]。

3 讨论

实验结果表明, 菌株 AS4.198 的表征和化学分类特征与 Labeda 的红霉素糖多孢菌 (*Saccharopolyspora erthreus*) 描述一致^[2]。

菌株 AS4.894 气丝为多种基调的灰色, 基丝殷红至酱紫色, 在有些培养基上产生酱紫或殷红色的可溶性色素。基丝分枝断裂, 气生菌丝形成孢子链, 孢子短柱形, 表面光滑。化学指征中胞壁类型为 I V 型, 糖型为 A, 磷酸类脂类型为 P II (含磷脂酰乙醇胺), 不含有枝菌酸, 酰型为 MK9(H₆) 和 MK9(H₄)。DNA 中 G+C mol% 为 74.9%。这些分类特征与《伯杰氏鉴定细菌学手册》(第九版) 中的拟无枝菌酸菌属相一致^[13], 因此它应归入拟无枝菌酸菌属 (*Amycolatopsis*), 而不同于胞壁 I 型的链霉菌属 (*Streptomyces*) 和磷酸类脂 III 型的糖多孢菌属 (*Saccharopolyspora*)。目前, 已报道的拟无枝菌酸菌属的菌种有: *Amp. orientalis* Lechevalier et al., 1986; *Amp. mediterranei* Lechevalier et al., 1986; *Amp. rugosa* Lechevalier et al., 1986; *Amp. surpurea* Lechevalier et al., 1986; *Amp. methanolica* Boeret et al., 1990; *Amp. alba* Mertz and Yao, 1993。

菌株 AS4.894 可促使牛奶凝固、明胶液化、硝酸盐还原、硫化氢产生, 但不能使牛奶陈化、淀粉水解, 不能在纤维素上生长, 不能使酪氨酸、酪蛋白、苹果酸钙分解; 在 pH 值为 5.0、8.0、9.0 的 Sauton's 培养基上均可生长; 可在 NaCl 1%~4.5% 范围下生长; 可适 50℃ 高温; 能利用除乳糖、D-半乳糖、山梨糖、D-山梨醇、D-卫矛醇外的 16 种碳源 (详见实验结果部分)。

由于菌株 AS4.894 生长适应广泛的 pH 值, 盐浓度和耐 50℃ 高温等生理特性, 而不同于拟无枝菌酸菌属中的已知种; DNA G+C mol% 高于已报道的拟无枝菌酸菌属的 DNA G+C mol% 值 (66%~69%), 并产生红霉素, 所以, 我们认为它应并入拟无枝菌酸菌属, 作为一个新种——红霉素拟无枝菌酸菌: *Amycolatopsis erythreus* comb. nov.。菌株 AS4.894 为这个种的典型菌株, 保藏在中国科学院微生物研究所。进一步的 16S rRNA 核苷酸序列分析工作正在进行。

致谢 本项研究得到了中国科学院微生物研究所所长基金的资助; 河北大学生物系王建平先生协助测定酰型, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Waksman S A. Classification, identification and descriptions of genera and species. In: The Actinomycetes Vol 2. Baltimore: Williams and Wilkins Co, 1961.
- [2] Labeda D P. *Int J Syst Bacteriol*, 1987, 37: 19~22.
- [3] Shirling E B, Gottlieb D. *Int J Syst Bacteriol*, 1966, 16(3): 317~327.
- [4] 中国科学院编译出版委员会名词室. 色谱. 北京: 科学出版社, 1957.
- [5] Lechevalier M P, Lechevalier H A. A University Laboratory Approach. In: Dietz A et al ed. Actinomycetes Taxonomy. Arlington: SIM Spec. Publ. No. 6, 1980. 277~284.
- [6] Hasegawa T, Takizawa M, Tanida S. *J Gen Appl Microbiol*, 1983, 29: 319~322.
- [7] Minnikin D E, Collins M D, Goodfellow J. *Appl Bacteriol*, 1979, 47: 81~95.

- [8] Minnikin D E, Hutchinson I G, Caldicott A *et al.* *J Chromatography*, 1980, **188**: 221~233.
- [9] Collins M D. Isoprenoid Quinone Analyses in Classification and identification. In: Goodfellow M. *et al* ed. *Chemical methods in Bacterial Systematics*. London: Academic Press, 1985. 267~287.
- [10] 吴诚华, 陆小涛, 秦 敏, 等. 微生物学通报, 1989. 16(13): 176~178.
- [11] Gordon R E, Barnett D A, Handerman J B *et al.* *Int J Syst Bacteriol*, 1974, **24**(1): 54~63.
- [12] Marmur J, Doty P. *J Mol Biol*, 1962, **5**: 109~118.
- [13] Goodfellow M, Lechevalier M P, Prauser H *et al.* Group 22 Nocardioform Actinomycetes. In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Ninth Edition). Maryland: Williams & Wilkins, 1989. 629~630.

TRANSFER OF A STRAIN *STREPTOMYCES ERYTHREUS* TO THE GENUS *AMYCOLATOPSIS* AS *AMYCOLATOPSIS ERYTHREUS* COMB. NOV. AND RELATED TAXONOMIC STUDIES

Liu Zhiheng Qian Yudong Zhang Yamei Shi Yanlin Xie Jiayi

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

Abstract Chemotaxonomic analysis of cells wall of *Streptomyces erythreus* AS 4.894 and AS 4.198 revealed that these two strains are not representatives of the genus *Streptomyces* because the cell walls are type IV. The strain AS 4.198 belongs to species of *Saccharopolyspora erythreus* (Labeda, 1987). The phospholipid pattern of strain AS 4.894 was type PII, which differs from that of *Saccharopolyspora*. So, we propose that the strain AS 4.894 be transferred to the genus *Amycolatopsis* as the type strain of a new species, *Amycolatopsis erythreus* comb. nov.

Key words *Saccharopolyspora erythreus*, *Amycolatopsis erythreus*