



专论与综述

## 粘细菌资源挖掘与多相分类研究进展

王春玲<sup>1</sup> 吕颖颖<sup>1</sup> 姚青<sup>2</sup> 李安章<sup>1</sup> 朱红惠<sup>\*1</sup>

1 广东省科学院 广东省微生物研究所 华南应用微生物国家重点实验室 广东省菌种保藏与应用重点实验室  
广东 广州 510070

2 华南农业大学园艺学院 广东省微生物信号与病害防治重点实验室 广东 广州 510642

**摘要:** 粘细菌(Myxobacteria)是一类具有复杂多细胞行为、能够广泛捕食各类细菌和真菌并能产生丰富次级代谢产物的药源微生物,具有重要研究和应用价值。然而,由于资源挖掘困难,多相分类研究进展缓慢,严重阻碍了粘细菌的开发利用。本文对粘细菌的特性、分离和纯化方法、目前存在的不足及改进措施进行阐述,并对粘细菌多相分类研究进展及存在的问题进行解析。另外,结合当前技术手段和发展现状,进一步对粘细菌的未来发展趋势进行展望,以期为相关研究提供参考。

**关键词:** 粘细菌, 资源挖掘, 多相分类研究

## Research progress in resources mining and polyphase classification of myxobacteria

WANG Chunling<sup>1</sup> LÜ Yingying<sup>1</sup> YAO Qing<sup>2</sup> LI Anzhang<sup>1</sup> ZHU Honghui<sup>\*1</sup>

1 Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510070, China

2 Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control, College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

**Abstract:** Myxobacteria are a kind of medical microorganisms that could produce abundant secondary metabolites, show complex multicellular behaviors and prey kinds of bacteria and fungi. Therefore, myxobacteria have important values of research and application. However, it seriously impedes myxobacterial mining and utilization because of their difficulties to isolate, cultivate, and research in polyphase classification. This review described myxobacterial features, methods for isolation and purification, and discussed existing problems and improvement measures. In addition, we also analyzed the research status in polyphase classification of myxobacteria. Based on the current technical means and research progress, the future research trends of myxobacteria were prospected. This review aims to

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (31800003); GDAS' Science and Technology Development Project of Guangdong Academy of Sciences (2020GDASYL-20200103032); Science and Technology Project of Guangdong Province (2019B030316010)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-20-87685669; E-mail: zhuhh@gdim.cn

**Received:** 24-07-2020; **Accepted:** 19-12-2020; **Published online:** 24-03-2021

**基金项目:** 国家自然科学基金(31800003); 广东省科学院建设国内一流研究机构行动专项资金(2020GDASYL-20200103032); 广东省科技计划(2019B030316010)

**\*通信作者:** Tel: 020-87685669; E-mail: zhuhh@gdim.cn

**收稿日期:** 2020-07-24; **接受日期:** 2020-12-19; **网络首发日期:** 2021-03-24

provide help to relevant researches on myxobacteria in the future.

**Keywords:** myxobacteria, resource mining, polyphase classification

粘细菌(Myxobacteria)是一类位于  $\delta$  变形菌纲(Deltaproteobacteria)粘球菌目(Myxococcales)的革兰氏阴性棒状杆菌<sup>[1]</sup>, 其基因组很大, 一般为9–15 Mb。粘细菌具有复杂社会学特征, 如能够进行滑行运动、形成颜色鲜艳的子实体和抗逆性粘孢子。广泛捕食各类细菌和真菌, 被认为是高等原核生物<sup>[2]</sup>。粘细菌这些复杂行为为研究细菌多细胞行为和进化过程提供了丰富的素材。另外, 粘细菌是仅次于放线菌和芽孢杆菌的第三大次级代谢产物产生菌, 目前已经在粘细菌发酵产物中分离和鉴定出 500 多种具有新型骨架的天然产物, 结构衍生物的数目高达 2 000 种以上<sup>[3]</sup>。因此, 粘细菌具有重要的研究和应用价值。

然而, 由于生长缓慢和密度依赖性生长等特点, 粘细菌很难分离和纯化, 截至目前仍有 99% 以上的资源未被获取<sup>[4]</sup>。此外, 粘细菌具有复杂的生活周期和特殊的脂肪酸类型, 与常规菌种鉴定存在一定差异<sup>[5-6]</sup>。目前发现很多粘细菌新资源, 由于在表型描述及脂肪酸分析等方面比较复杂, 导致一些菌株没有被进一步鉴定及命名, 粘细菌的多相分类研究进展缓慢。本综述对粘细菌资源挖掘和多相分类研究进展进行详细阐述, 并对未来发展趋势进行展望, 以期对相关研究人员提供参考。

## 1 粘细菌资源挖掘

### 1.1 粘细菌的特性

由于资源挖掘困难, 截至目前, 粘细菌仅分为 1 个目 3 个亚目 10 个科 30 个属 78 个物种 (图 1)<sup>[4]</sup>。第一大亚目为孢囊杆菌亚目(Cystobacterineae), 其中粘球菌科(Myxococcaceae)中的粘球菌属(Myxococcus)和珊瑚球菌属(Coralloccoccus)生长较快, 容易形成子实体被分离到<sup>[7]</sup>。第二大亚目为堆囊菌亚目(Sorangineae), 其中堆囊菌属

(Sorangium)是一类能产生具有独特结构和作用模式的天然产物产生菌, 纤维堆囊菌(Sorangium cellulosum)中分离到的次级代谢产物占粘细菌总次级代谢产物的 48.4%<sup>[8]</sup>。第三大亚目为小囊菌亚目(Nannocystineae), 除其中 *Kofleria flava* 分离自陆地环境之外, 其他小囊菌亚目为嗜盐和耐盐粘细菌, 均分离自海洋环境。在另外两大亚目中, 目前仅孢囊杆菌亚目的 *Myxococcus fulvus* HW-1 分离自海洋生境, 耐盐度高达 3%<sup>[9]</sup>, 其他菌株均来自陆生或淡水生境, 耐盐度一般不超过 1%<sup>[10]</sup>。根据食性不同, 粘细菌分为两大类, 绝大多数为噬细菌类群, 仅堆囊菌亚目中的堆囊菌属和 *Byssovorax* 为噬纤维素类群<sup>[11]</sup>。在粘细菌类群中, 目前仅发现一个(兼性)厌氧粘球菌属和种 *Anaeromyxobacter dehalogenans*<sup>[12]</sup>, 在水体和污泥等氧气含量低的生境中含量丰富, 也有报道指出在噬纤维素类群中可能存在(兼性)厌氧粘细菌<sup>[4]</sup>。随着粘细菌新资源不断被挖掘, 有 3 株菌(*Vulgatibacter incomptus*、*Labilithrix luteola* 和 *Simulacricoccus ruber*)被发现既不能噬细菌也不能水解纤维素, 隶属于第三大粘细菌类群<sup>[13-14]</sup>。

### 1.2 粘细菌的次级代谢产物

粘细菌能产生结构独特和生物活性多样的次级代谢产物, 被认为是聚酮类、非核糖体肽及其杂合化合物的潜在来源, 这些化合物具有抵抗细菌、真菌、紫外及细胞毒性等多种作用<sup>[10,15]</sup>。已经上市的抗癌药物伊沙匹隆 Ixabepilone (IXEMPRA)就是由纤维堆囊菌分离的埃博霉素 B 研制而成<sup>[16]</sup>。然而, 由于粘细菌中很多次级代谢产物基因簇表达量低或基因沉默, 导致有些代谢产物分离不到, 需要结合多种方法进行分离。次级代谢产物的分离主要基于以生物活性、培养、代谢及基因组学为导向<sup>[17-19]</sup>, 结合不同微生物共

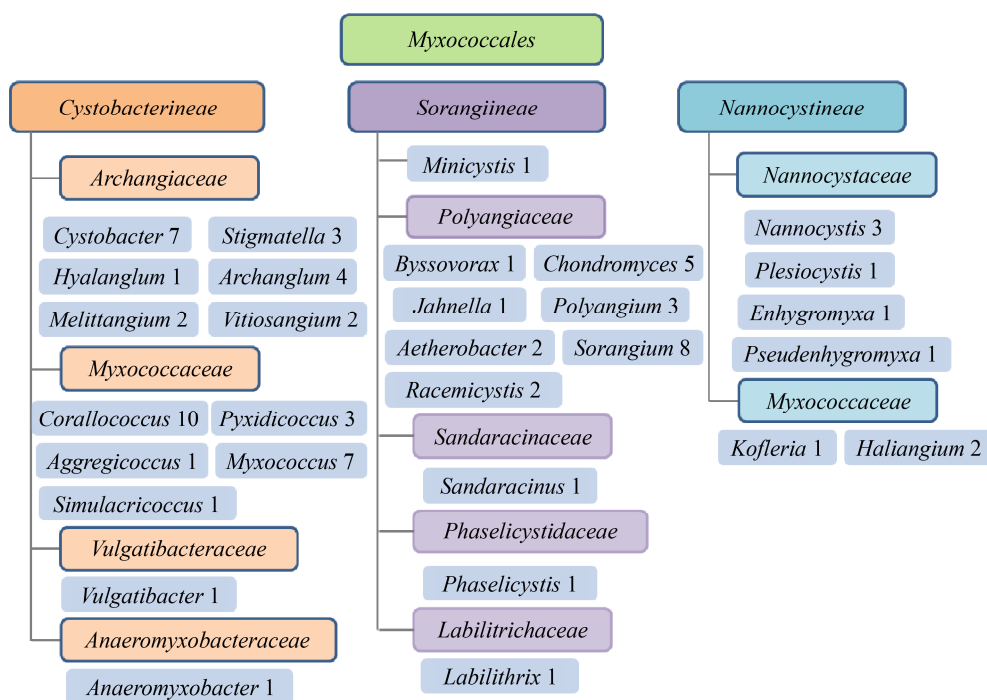


图 1 粘细菌目分类单元

Figure 1 Monophyletic order of Myxococcales

注：数字代表属内物种数量；图片改编自 Mohr 等<sup>[4]</sup>Note: The number represents species numbers within the genus; Picture was revised according to Mohr et al<sup>[4]</sup>

培养、不同生活史阶段代谢组的变化及化学诱导剂的影响，以最大限度地获取其资源。

### 1.3 粘细菌的分离与纯化

根据噬细菌和噬纤维两大类群的食性特征，目前粘细菌的分离方法主要包括兔粪诱导法、酵母诱导法、大肠杆菌诱导法(A)和纤维滤纸法(B)<sup>[20]</sup> (图 2)等。其中，大肠杆菌诱导法是在水琼脂培养基上使用大肠杆菌作为粘细菌诱导物；纤维滤纸法是在培养基(KNO<sub>3</sub> 1 g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 1 g/L, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1 g/L, CaCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 1 g/L, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.2 g/L)上，使用灭菌滤纸作为唯一碳源；通过大肠杆菌或纤维滤纸等诱导粘细菌子实体形成，将观察到的子实体挑到不同纯化培养基中，置于 30 °C 培养箱进行培养<sup>[20-21]</sup>。分离到的粘细菌种类与其生存环境有很大相关性，一些常见类群如珊瑚球菌、粘球菌及原囊菌属(*Archangium*)等普遍存在于不同生境中，使用多

种方法都能分离到<sup>[22-25]</sup>。湿地底泥样品中粘细菌类群明显多于其他样地，用大肠杆菌能够诱导出不同种类粘细菌子实体<sup>[26]</sup>。由于不同种属粘细菌子实体形成时间不同，一般分离平板需要持续观察 1-2 个月时间。目前常用的纯化方法包括转接法、划线法、挖取底部菌落法、水琼脂纯化法、抗

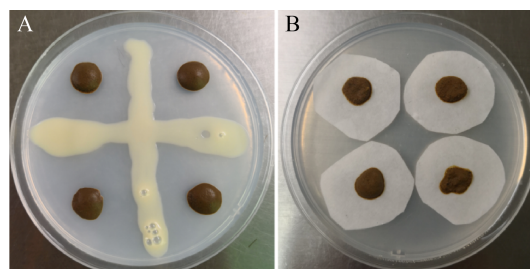


图 2 粘细菌分离方法

Figure 2 Isolation methods of myxobacteria

注：A：大肠杆菌诱导法；B：纤维滤纸法

Note: A: Induction method of *E. coli*; B: Induction method of filter papers

生素纯化法及加热纯化法等<sup>[20]</sup>, 纯化培养基通常采用 VY/2 和 MD1 培养基<sup>[27]</sup>。将纯化的菌株用斜面、甘油及冻干等方法进行保藏。

目前科学家已在世界各地的多种生境中分离到粘细菌, 如温带、热带雨林、北极苔原、沙漠、酸性沼泽<sup>[7]</sup>, 以及海洋和其他盐碱环境<sup>[22,28]</sup>、堆肥<sup>[29]</sup>或者食草动物粪便<sup>[30]</sup>等。Dawid<sup>[30]</sup>于 2000 年基于文献中提供的数据, 以及他自己对来自 64 个国家和所有大洲的近 1 400 份土壤样本提供的数据, 分析了粘细菌的全球分布情况; 研究发现, 来自地中海型冬季雨林气候、永久湿润雨林气候和热带半沙漠气候的土壤中, 粘细菌物种的平均数量异常高; 然而, 在寒温带针叶林和泥炭藓针叶林的中温带气候的土壤中粘细菌物种平均数量较低。目前, 国际上 Mohr 等<sup>[4,7,29]</sup>从不同生境中分离到多种粘细菌资源, 并发现许多不同食性及子实体形态的新类群。在国内, 李越中等<sup>[20]</sup>于 2000 年左右从我国 20 多个省市采集的样品中分离到几百株粘细菌, 隶属于 10 个不同属; Zhang 等<sup>[22]</sup>采用常规方法从新疆盐碱地中分离到 58 株粘细菌, 隶属于 6 个不同属, 并发现有些粘细菌耐盐度超过 2%, 打破了对陆地粘细菌耐盐度一般不超过 1% 的认识; 他们还利用大肠杆菌诱导法和纤维滤纸法从越南原始森林土壤中分离纯化到 32 株粘细菌, 隶属于 6 个不同属<sup>[23]</sup>; 赵智颖等<sup>[24]</sup>利用不同于大肠杆菌的诱导菌(*Achromobacter* sp.)从华南植物园和南岭国家森林公园采集的药用植物根系土壤中分离获得 50 株粘细菌, 隶属于 3 个科 7 个属; 李百元等<sup>[25]</sup>采用多种不同种属的细菌作为诱导菌株, 从新疆阿克苏盐碱地中分离 55 株粘细菌, 隶属于 5 个不同属; 此外, 张鲜姣等<sup>[26]</sup>从广东不同地区湿地底泥中分离到多株粘细菌新类群; Li 等<sup>[31]</sup>采用变性梯度凝胶电泳法发现土壤中丰富的粘细菌类群; 蚁硕星等<sup>[32]</sup>通过添加土壤浸提液, 使用不同种类诱导菌及改变诱导菌接种方式等改进措施, 发现新方法比传统粘细菌分离方法可以获取更多粘细菌类群。

#### 1.4 粘细菌分离纯化方法存在的不足及改进措施

由于缺乏合适的分离和纯化方法, 环境中仍有 99% 以上的粘细菌不能被获取<sup>[4]</sup>, 这极大地限制了粘细菌资源开发与应用。影响粘细菌资源挖掘的主要因素有: (1) 由于缺乏合适诱导物或粘细菌不以子实体形态存在, 导致环境中大量粘细菌不能诱导出来。在 2018 年, Garcia 等<sup>[13]</sup>首次发现了不以子实体形态存在的粘细菌, 他们从德国萨尔布吕的新鲜土壤样品中分离到一株 *Simulacricoccus ruber*, 隶属于粘球菌科; 其不能形成子实体, 以粘孢子形态存在, 是一株微厌氧粘细菌。(2) 诱导出来的子实体由于缺乏合适的培养条件, 在常用 VY/2 或 MD1 培养基上不能生长, 导致新资源获取失败。(3) 子实体形成缓慢, 在分离过程中, 很多后期形成的子实体容易被真菌覆盖, 从而不能被获取。(4) 粘细菌极易死亡, 分离纯化的一些罕见难培养粘细菌, 使用常规的甘油、液氮和冻干 3 种保藏方法仍然很难长时间保藏, 造成珍贵的粘细菌资源丢失。

随着生物信息学时代的到来, 高通量测序手段可以调查不同生境中粘细菌的多样性及影响其分布的因素, 并发现了大量未培养粘细菌资源, 对粘细菌资源挖掘具有一定的指示作用<sup>[33-35]</sup>。最初粘细菌一直被认为是陆生细菌, 随着嗜盐和耐盐粘细菌在沿海地区被分离, 并且在形态和多种特征上与陆生粘细菌不同, 逐渐证实了海洋粘细菌的存在<sup>[36-37]</sup>; 但淡水粘细菌一直被认为是由陆地粘细菌的粘孢子或含粘孢子的子实体被冲进河流或湖泊中萌发而来<sup>[33]</sup>。直到 2012 年, Li 等<sup>[33]</sup>用 454 焦磷酸测序方法调查了淡水湖中粘细菌的群落, 结果显示粘细菌是淡水环境中的主要类群之一。Wang 等<sup>[34]</sup>发现在活性污泥样品中粘细菌是整个微生物群落的主要成员之一, 序列占总序列数的 0.9%–9.5%。令人意外的是, Grice 等<sup>[35]</sup>在患有特应性皮炎的儿童皮肤上也发现大量粘细菌, 这些粘细菌的生物学意义尚未被很好地研究。不同生境中粘细菌的丰度和多样性不同, 在

长期的环境选择下,形成独有的特征以适应相应的环境,例如盐碱地或者海洋生境中分离到的粘细菌具有较高的耐盐性<sup>[9-10]</sup>。Zhou 等<sup>[38]</sup>发现粘细菌群落丰度与土壤 pH 值、碳氮比和温度有关。此外,粘细菌作为一类土壤微生物捕食菌,广泛捕食其他细菌和真菌,影响微生物动态平衡<sup>[39]</sup>。Wang 等<sup>[40]</sup>也发现粘细菌与土壤 pH 和细菌多样性有关。由此可见,环境中的生物因素和非生物因素对粘细菌分布均有影响。

综上所述,粘细菌的分布范围广泛,从一些极端环境中有望获得新的类群。另外,根据不同生境的生理特性,可以对粘细菌的分离方法进行改进。例如分离盐碱地或海洋粘细菌时,可以使用高盐培养基。堆囊菌属在酸性土壤中含丰富,可以使用 pH 值较低的培养基进行分离<sup>[40]</sup>。粘细菌的常规培养温度为 30 °C,有些粘细菌在低温或高温条件下才能存活,例如 *Haliangium tepidum* 最适培养温度为 37–40 °C<sup>[24]</sup>,可以尝试不同温度进行分离培养。此外,粘细菌作为一类广泛捕食菌,可以选用不同细菌类型对粘细菌子实体进行诱导<sup>[25,32]</sup>。针对诱导出来的子实体在平板上不能生长的问题,可以将诱导菌制成相应的分离平板,对分离培养基进行改进,以保证诱导出来的子实体均能存活。目前有关不同生境中的生物因素,如细菌、真菌或不同植物类型对粘细菌多样性及丰度影响的相关报道还极度缺乏,通过调查影响粘细菌分布的环境因子,分析粘细菌对某一类生物因子或非生物因子是否具有偏好性,能够为粘细菌资源挖掘提供一定的指导意义。总之,通过不断尝试新的方法,结合组学和生物信息学相关技术手段,有望在不久的将来获取更多宝贵的粘细菌资源。

## 2 粘细菌的多相分类研究

德国亥姆霍兹药物科学研究所 Garcia 等<sup>[5,41-42]</sup>对粘细菌资源与鉴定研究较多。图 3 为目前已知

粘细菌类群,包含 66 个物种,另外有 3 株菌 *Corallococcus* sp. Z5C101001、*Corallococcus* sp. H22C18031201 和 *Archangium* sp. 12S042801 隶属于粘球菌属,是 Wang 等前期从鼎湖山森林土壤中分离到的潜在新物种,有待后期进行多相分类研究<sup>[40]</sup>。此外,Livingstone 等<sup>[43]</sup>使用多相分类方法,包括脂肪酸甲酯分析、底物利用及糖同化实验、不同菌株捕食范围、抗性范围及表型特点,结合比较基因组学分析鉴定了 8 株珊瑚球菌属新物种。Chambers 等<sup>[44]</sup>通过比较基因组及泛基因组分析粘球菌科菌株,并鉴定了 3 株粘球菌和 2 株匣状球菌新物种,同时将 *Myxococcus virescens* 与 *Myxococcus xanthus* 合并为一个物种。目前可培养粘细菌的物种数为 78 株,这些菌株为新型次级代谢产物及抗菌素的挖掘提供了丰富的资源。

粘细菌的多相分类研究流程与细菌类似,首先根据 16S rRNA 基因序列相似度<98.7%,初步判定是一个新物种,之后通过系统发育树构建、表型分析、化学分类及基因组平均核苷酸一致性(Average Nucleotide Identity,ANI)和数字 DNA 杂交值(Digital DNA-DNA Hybridization, dDDH)进行比较分析。对于 16S rRNA 基因序列相似度>98.7%的菌株,若基因组 ANI 值<95%和 dDDH 值<70%,也可以初步确定为一个新物种<sup>[45]</sup>。粘细菌与细菌多相分类研究也存在一定的差异:(1) 由于粘细菌的复杂生活史,通常能形成不同形态子实体和抗逆性粘孢子,所以在表型研究方面,粘细菌要比其他细菌的描述更细致<sup>[41-42]</sup>。(2) 粘细菌含有很多不饱和脂肪酸类型,某些类型用常规的 MIDI 系统无法鉴定到,需要使用特定的 GC-MS 方法<sup>[5,46]</sup>。(3) 由于粘细菌很难培养,生理生化特征鉴定不能使用常规的 API 试剂盒,人为配制各种培养基加大了鉴定的周期及工作量<sup>[41-42]</sup>。(4) 粘细菌能产生丰富的次级代谢产物,是新药研发的重要资源。因此,不同抗生素类型是鉴定粘细菌的重要指标之一<sup>[41-42]</sup>。

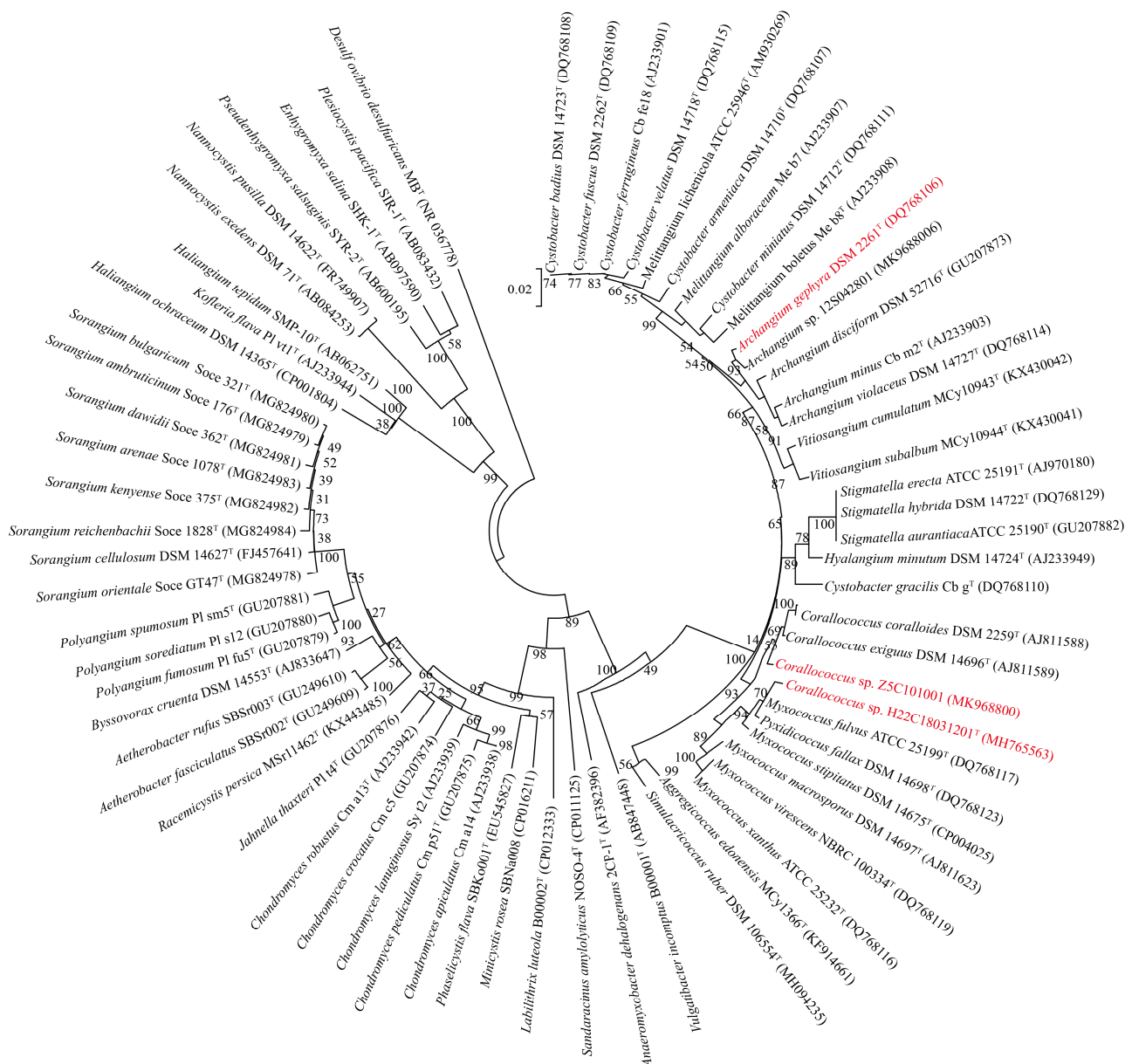


图3 基于16S rRNA基因序列的可培养粘细菌系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree of culturable myxobacteria based on 16S rRNA gene sequence

注: 菌株括号内为16S rRNA基因GenBank登录号; 分支上的数字表示自展值; 标尺表示0.02的分支长度

Note: GenBank accession numbers are given in parentheses; Bootstrap values are shown at nodes; Bar represents 0.02 substitutions per nucleotide position

根据NCBI数据库显示,许多16S rRNA基因序列相似度低的菌株隶属于粘球菌目,可能属于新科、新属或新种;但是这些菌株没有在*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM)或者*Antonie van Leeuwenhoek*

等分类学杂志上被有效发表,导致大量可培养粘细菌新资源未被定名及确定其分类地位。早在2010年,Garcia等<sup>[47]</sup>对101株粘细菌的16S rRNA基因序列进行系统发育分析,证实了3个亚目的存在,并且发现了9个新的分类单元,可能属于



新科水平。Liu 等<sup>[48]</sup>从公共数据库中收集 4 997 份粘细菌的 16S rRNA 基因序列, 通过人为划分基因序列相似度大小, 确定其分类地位; 结果显示 4 997 份粘细菌序列可以被归为 20 个亚目 58 个科 445 个属 998 个物种, 存在大量新的分类单元。此外, 随着分类学知识的逐渐完善, 之前鉴定的某些粘细菌分类地位存在紊乱现象。综上所述, 粘细菌的分类学研究严重滞后于其他类群, 目前可培养粘细菌资源未得到充分反映, 有必要开展相关研究。

## 2.1 表型分析

粘细菌三大亚目在细胞形态、粘孢子发育、菌落结构、脂肪酸和类胡萝卜素类型以及粘液的化学成分等方面均存在差异。不同科、属和物种中, 粘细菌子实体结构和粘孢子形状存在很大差别。刚果红可以将孢囊杆菌亚目染成深紫罗兰色, 而堆囊菌亚目和小囊菌亚目不能被染色, 因此, 刚果红染色被作为鉴定粘细菌不同亚目的重要指标之一<sup>[49]</sup>。此外, 粘细菌也有一些共有特征, 如一般最适生长温度为 30 °C, pH 呈中性或偏碱性, NaCl 耐受度不超过 1%, 只有耐盐或嗜盐粘细菌可以耐受 2%–3% 甚至更高浓度的 NaCl<sup>[9-10]</sup>。粘细菌具有丰富的水解酶和抗生素活性。粘孢子一般呈圆形或椭圆形, 在光学显微镜下能看到粘孢子周围发荧光<sup>[41-42]</sup>。三大亚目主要特征如下<sup>[27]</sup>:

孢囊杆菌亚目主要特征: 细长棒状营养细胞, 末端呈锥形、雪茄形、船形或针形。菌膜或粘液能被刚果红染呈深紫罗兰色, 但最新报道的粘球菌科中 *Simulacricoccus ruber*<sup>[13]</sup>刚果红染色呈阴性, 更新了人们对孢囊杆菌亚目的认识。不同种属子实体形态不同, 粘球菌属呈驼峰到球形子实体, 珊瑚球菌属呈珊瑚喇叭状子实体, 软骨霉状菌属和标桩菌属像树状子实体。粘孢子大多有孢子囊, 但粘球菌属和珊瑚球菌属没有, 而与其 16S rRNA 基因序列相近且系统发育树位于相邻位置的 *Pyxidicoccus fallax* 具有孢子囊, 从而将 *Pyxidicoccus fallax* 鉴定为一个新属。除

*Stigmatella* 外, 其他种属主要包含支链脂肪酸, 其中 2,3-羟基脂肪酸为主要脂肪酸。除 *Vulgatibacter incompus* 和 *Simulacricoccus ruber* 之外, 所有孢囊杆菌亚目均为嗜细菌类群。

堆囊菌亚目主要特征: 营养细胞呈圆柱状, 有些呈方形, 末端普遍呈圆形; 部分菌种有嗜琼脂特性, 黏液和菌体不能被刚果红染色; 它们的表面结构不太明显, 虽然可能产生径向脉、环状脊和扇形构造; 粘孢子与营养细胞在形状上只有细微的差别, 无包膜或只有一层很薄的包膜; 粘孢子发荧光; 主要脂肪酸类型为直链脂肪酸, 含有少量的支链脂肪酸, 而羟基脂肪酸则完全不存在<sup>[27]</sup>。堆囊菌亚目中堆囊菌属和 *Byssovorax* 为嗜纤维类群, 而 *Labilithrix luteola* 既不能嗜纤维也不能噬细菌, 其他菌属均为嗜细菌类群<sup>[14]</sup>。

小囊菌亚目主要特征: 一般分为 2 种类型, 一种是没有黏液层的菌膜, 在某些培养基上具有嗜琼脂特性, 使培养平板变成类似海绵状物质, 营养细胞呈短棒状, 子实体具有小到中等大小的孢子囊, 单独或聚合; 另一种类型, 营养细胞呈末端圆形的细杆状, 类似于堆囊菌亚目, 长 4–6 μm 和宽 0.6–0.7 μm, 有厚的菌膜和明显的分枝静脉, 类似于孢囊杆菌属, 子实体形态未知。小囊菌亚目均为嗜细菌类群。

## 2.2 脂肪酸分析

粘细菌能够产生很多不饱和脂肪酸 (Polyunsaturated Fatty Acid, PUFAs), 其中 Omega-3 PUFAs, 特别是二十碳五烯酸 (Eicosapentaenoic Acid, EPA) 和二十二碳六烯酸 (Docosahexaenoic, DHA) 对医药和食品行业起重要作用, 这些脂肪酸通常可作为食品、奶制品和药品添加剂<sup>[50]</sup>。不同种属粘细菌的脂肪酸类型和含量差异很大, 常作为鉴定不同类群的重要指标之一。粘细菌中有些脂肪酸类型, 特别是主要脂肪酸 C<sub>17:1</sub> 2-OH 用 MIDI 系统无法识别<sup>[5]</sup>, 需要使用粘细菌特定的气相色谱-质谱 (GC-MS) 方法进行鉴定<sup>[46]</sup>。

在粘球菌科中, *iso*-C<sub>15:0</sub> 是主要脂肪酸, 含量占 20%–60%; 直链 C<sub>16:1</sub> ω5c 是第二大脂肪酸类型, 含量占 7%–19%, 但其在珊瑚球菌属中含量很低(不足 1%); *iso*-C<sub>17:0</sub> 2-OH 是珊瑚球菌属的主要脂肪酸类型, 含量约占 20%–30%, 而在其他种属中含量不足 4%; 除个别脂肪酸分类地位紊乱外, C<sub>16:1</sub> ω5c、*iso*-C<sub>15:0</sub> 和 *iso*-C<sub>17:0</sub> 也是原囊菌属和孢囊杆菌属的主要脂肪酸类型; 在小囊菌亚目中, *iso*-C<sub>16:0</sub> 和 *iso*-C<sub>16:1</sub> 是主要脂肪酸类型, 大量的 *iso*-C<sub>17:0</sub> 也在其中被发现, 但不同种属之间存在一定的差异; 堆囊菌亚目中直链脂肪酸含量大于支链脂肪酸, 直链 C<sub>16:1</sub> ω7c 是最主要脂肪酸; C<sub>16:1</sub> ω5c 是第二大脂肪酸, 但此脂肪酸在堆囊菌属中不存在, 在堆囊菌属中含有较高的 C<sub>16:0</sub> 类型<sup>[6]</sup>。

### 3 总结与展望

随着全球新型冠状病毒疫情的暴发和多种病原细菌的不断出现, 目前迫切需要新型抗生素用于新药研发。粘细菌作为一类重要的抗生素产生菌, 有巨大的研究价值。Hoffmann 等<sup>[17]</sup>调查了 2 300 份粘细菌序列, 并解析了不同种属粘细菌中次级代谢产物类型, 发现粘细菌分类地位与不同次级代谢产物家族之间具有相关性, 并证明从新属中比同一属不同菌株中发现新型次级代谢产物的概率更大。将粘细菌资源多样性与其次级代谢产物多样性联系起来, 可为天然产物挖掘提供保障。然而, 由于获取的粘细菌资源有限, 系统发育分类研究严重滞后, 可培养粘细菌资源没有得到充分反映, 环境中大量未培养粘细菌无法获得, 从而使宝贵的粘细菌没有被人类充分认识和利用。因此, 需要不断尝试粘细菌资源挖掘和多相分类研究新方法, 以获取更多宝贵的新资源。

当前, 基于全基因组的系统发育分析方法逐渐被应用到细菌的多相分类研究中, 并且构建全基因组系统发育树更能准确展现细菌之间的分类地位。Liu 等<sup>[51]</sup>利用基因组分析揭示了海源菌科 (*Idiomarinaceae*) 的分类及其多样性, 将海源菌科

重新归类为海源菌属 (*Idiomarina*)、假海源菌属 (*Pseudidiomarina*) 和别样海源菌属 (*Aliidiomarina*)。他们还利用全基因组序列分析了蜡样芽孢杆菌的分类地位, 根据 Genome BLAST Distance Phylogeny (GBDP) 将 224 株蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 菌群划分为 3 簇, 其中包含 11 个已知物种, 有部分物种被合并一起, 并有 19–20 个潜在新物种<sup>[52]</sup>。Hördt 等<sup>[53]</sup>通过收集 1 000 多株 α-变形杆菌纲 (*Alphaproteobacteria*) 的基因组序列, 利用系统发育分类原则, 从基因组数据中推断出不同菌株系统发育关系, 纠正了一些科、属和种等有问题的分类单元的分类地位。由于粘细菌传统分类方法复杂且工作量大, 大量粘细菌新资源有待鉴定, 有望将全基因组分析方法应用到粘细菌的多相分类研究中, 可以规避鉴定过程中存在的问题, 纠正错误的分类单元, 将有助于推动粘细菌的多相分类研究。

组学和生物信息学时代的到来及各种新兴技术的不断涌现, 将为研究全世界不同环境中粘细菌的多样性和生态分布提供新的视角, 有助于分离未培养粘细菌和活性代谢产物。随着粘细菌越来越多新的特征被发现, 并且发现无子实体的细胞形态, 出现了除噬细菌和噬纤维类群之外的第三大粘细菌类群。只有不断创新研究方法, 结合新兴技术, 才能获取更多粘细菌资源及逐渐完善对粘细菌的认识。这些宝贵的粘细菌资源有太多未知有待探索, 如淡水生境中粘细菌资源的多样性情况; 粘细菌对水体污染及水华现象是否具有一定的防治作用; 粘细菌捕食不同微生物的具体机制; 目前对粘细菌防治病原真菌有相关报道, 然而对病原菌防治是否具有相同的机制还不清楚; 此外, 粘细菌对人类及动物病原菌是否具有一定的防治作用等都值得探索。尤其值得关注的是粘细菌在生态系统中的功能, 除了分泌水解酶抑制病原菌外, 作为捕食性细菌的粘细菌是否在生态系统中发挥更广泛的调节功能值得深入研究。



## REFERENCES

- [1] Li SG, Zhou XW, Wu ZH, Li YZ. Population ecology and survival strategy of myxobacteria[J]. Microbiology China, 2013, 40(1): 172-179 (in Chinese)  
李曙光, 周秀文, 吴志红, 李越中. 粘细菌的种群生态及其生存策略[J]. 微生物学通报, 2013, 40(1): 172-179
- [2] Kaiser D, Kroos L. Intercellular signaling[A]//Dworkin MKD. Myxobacteria II[M]. Washington DC: Am Soc Microbiol, 1993: 257-283
- [3] Wenzel SC, Müller R. Myxobacteria-‘microbial factories’ for the production of bioactive secondary metabolites[J]. Molecular BioSystems, 2009, 5(6): 567-574
- [4] Mohr KI. Diversity of myxobacteria-we only see the tip of the Iceberg[J]. Microorganisms, 2018, 6(3): 84
- [5] Garcia RO, Reichenbach H, Ring MW, Müller R. *Phaselicystis flava* gen. nov., sp. nov., an arachidonic acid-containing soil myxobacterium, and the description of *Phaselicystidaceae* fam. nov.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59(6): 1524-1530
- [6] Garcia R, Pistorius D, Stadler M, Müller R. Fatty acid-related phylogeny of myxobacteria as an approach to discover polyunsaturated omega-3/6 fatty acids[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(8): 1930-1942
- [7] Mohr KI, Zindler T, Wink J, Wilharm E, Stadler M. Myxobacteria in high moor and fen: an astonishing diversity in a neglected extreme habitat[J]. MicrobiologyOpen, 2017, 6(4): e00464
- [8] Gerth K, Pradella S, Perlova O, Beyer S, Müller R. Myxobacteria: proficient producers of novel natural products with various biological activities-past and future biotechnological aspects with the focus on the genus *Sorangium*[J]. Journal of Biotechnology, 2003, 106(2/3): 233-253
- [9] Li ZF, Li X, Liu H, Liu X, Han K, Wu ZH, Hu W, Li FF, Li YZ. Genome sequence of the halotolerant marine bacterium *Myxococcus fulvus* HW-1[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(18): 5015-5016
- [10] Albataineh H, Stevens DC. Marine myxobacteria: a few good halophiles[J]. Marine Drugs, 2018, 16(6): 209
- [11] Reichenbach H, Lang E, Schumann P, Spröer C. *Byssovorax cruenta* gen. nov., sp. nov., nom. rev., a cellulose-degrading myxobacterium: rediscovery of ‘*Myxococcus cruentus*’ Thaxter 1897[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56(10): 2357-2363
- [12] Sanford RA, Cole JR, Tiedje JM. Characterization and description of *Anaeromyxobacter dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an aryl-halo-respiring facultative anaerobic myxobacterium[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(2): 893-900
- [13] Garcia R, Müller R. *Simulacricoccus ruber* gen. nov., sp. nov., a microaerotolerant, non-fruiting, myxospore-forming soil myxobacterium and emended description of the family *Myxococcaceae*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2018, 68(10): 3101-3110
- [14] Yamamoto E, Muramatsu H, Nagai K. *Vulgatibacter incomptus* gen. nov., sp. nov. and *Labilithrix luteola* gen. nov., sp. nov., two myxobacteria isolated from soil in Yakushima Island, and the description of *Vulgatibacteraceae* fam. nov., *Labilithricaceae* fam. nov. and *Anaeromyxobacteraceae* fam. nov.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014, 64: 3360-3368
- [15] Weissman KJ, Müller R. A brief tour of myxobacterial secondary metabolism[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009, 17(6): 2121-2136
- [16] Bian XY, Tang B, Yu YC, Tu Q, Gross F, Wang HL, Li AY, Fu J, Shen YM, Li YZ, et al. Heterologous production and yield improvement of epothilones in *Burkholderiales* strain DSM 7029[J]. ACS Chemical Biology, 2017, 12(7): 1805-1812
- [17] Hoffmann T, Krug D, Bozkurt N, Duddela S, Jansen R, Garcia R, Gerth K, Steinmetz H, Müller R. Correlating chemical diversity with taxonomic distance for discovery of natural products in myxobacteria[J]. Nature Communications, 2018, 9: 803
- [18] Bader CD, Panter F, Müller R. In depth natural product discovery-Myxobacterial strains that provided multiple secondary metabolites[J]. Biotechnology Advances, 2020, 39: 107480
- [19] Tautz T, Hoffmann J, Hoffmann T, Steinmetz H, Washausen P, Kunze B, Huch V, Kitsche A, Reichenbach H, Höfle G, et al. Isolation, structure elucidation, biosynthesis, and synthesis of antalid, a secondary metabolite from *Polyangium* species[J]. Organic Letters, 2016, 18(11): 2560-2563
- [20] Li YZ, Li J, Zhou L, Zhang Y, Hu W, Chen Q. Isolation and identification of myxobacteria[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2000, 40(6): 652-656 (in Chinese)  
李越中, 李建, 周璐, 张勇, 胡玮, 陈琦. 我国粘细菌 (Myxobacteria)资源的分离与鉴定[J]. 微生物学报, 2000, 40(6): 652-656
- [21] Yan ZC, Wang B, Li YZ, Gong X, Zhang HQ, Gao PJ. Morphologies and phylogenetic classification of cellulolytic myxobacteria[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2003, 26(1): 104-109
- [22] Zhang XJ, Yao Q, Cai ZP, Xie XL, Zhu HH. Isolation and identification of myxobacteria from saline-alkaline soils in Xinjiang, China[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e70466
- [23] Zhang XJ, Lv YY, Zhu HH. Isolation and identification of myxobacteria in virgin forest of Vietnam[J]. Current Biotechnology, 2018, 8(2): 147-152 (in Chinese)  
张鲜姣, 吕颖颖, 朱红惠. 越南原始森林粘细菌的分离与鉴定[J]. 生物技术进展, 2018, 8(2): 147-152

- [24] Zhao ZY, Zhang XJ, Tan ZY, Guo J, Zhu HH. Isolation and identification of cultivable myxobacteria in the rhizosphere soils of medicinal plants[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(7): 657-668 (in Chinese)  
赵智颖, 张鲜姣, 谭志远, 郭俊, 朱红惠. 药用植物根系土壤可培养粘细菌的分离鉴定[J]. *微生物学报*, 2013, 53(7): 657-668
- [25] Li BY, Xie XL, Zhang XJ, Cai ZP, Zhu HH. Influence of different prey strains on isolation of myxobacteria in saline-alkaline soils of Xinjiang[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(4): 379-389 (in Chinese)  
李百元, 谢小林, 张鲜姣, 蔡卓平, 朱红惠. 不同被捕食细菌对新疆盐碱地粘细菌分离的影响[J]. *微生物学报*, 2013, 53(4): 379-389
- [26] Zhang XJ, Lv YY, Zhu HH. Study on diversity of cultivable myxobacteria in wetland environment[J]. *Current Biotechnology*, 2018, 8(2): 140-146 (in Chinese)  
张鲜姣, 吕颖颖, 朱红惠. 湿地环境可培养粘细菌多样性研究[J]. *生物技术进展*, 2018, 8(2): 140-146
- [27] Shinkets LJ, Dworkin M, Reichenbach H. The myxobacteria[A]/Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, et al. *The Prokaryotes*[M]. New York: Springer, 2006: 31-115
- [28] Fudou R, Jojima Y, Iizuka T, Yamanaka S. *Haliangium ochraceum* gen. nov., sp. nov. and *Haliangium tepidum* sp. nov.: novel moderately halophilic myxobacteria isolated from coastal saline environments[J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 2002, 48(2): 109-115
- [29] Mohr KI, Stechling M, Wink J, Wilharm E, Stadler M. Comparison of myxobacterial diversity and evaluation of isolation success in two niches: Kiritimati Island and German compost[J]. *MicrobiologyOpen*, 2016, 5(2): 268-278
- [30] Dawid W. Biology and global distribution of myxobacteria in soils[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, 24(4): 403-427
- [31] Li BY, Yao Q, Zhu HH. Approach to analyze the diversity of myxobacteria in soil by semi-nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) based on taxon-specific gene[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e108877
- [32] Yi SX, Zhou Y, Zhang XJ, Yao Q, Li HP, Zhu HH. Effects of different isolation methods on fruiting body formation and myxobacterial isolation[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(4): 923-934 (in Chinese)  
蚁烁星, 周杨, 张鲜姣, 姚青, 李华平, 朱红惠. 不同分离方法对子实体形成和粘细菌分离的影响[J]. *微生物学报*, 2021, 61(4): 923-934
- [33] Li SG, Zhou XW, Li PF, Han K, Li W, Li ZF, Wu ZH, Li YZ. The existence and diversity of myxobacteria in lake mud: a previously unexplored myxobacteria habitat[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2012, 4(6): 587-595
- [34] Wang XH, Hu M, Xia Y, Wen XH, Ding K. Pyrosequencing analysis of bacterial diversity in 14 wastewater treatment systems in China[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(19): 7042-7047
- [35] Grice EA, Kong HH, Conlan S, Deming CB, Davis J, Yong AC, Bouffard GG, Blakesley RW, Murray PR, Green ED, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome[J]. *Science*, 2009, 324(5931): 1190-1192
- [36] Wang B, Hu W, Liu H, Zhang CY, Zhao JY, Jiang DM, Wu ZH, Li YZ. Adaptation of salt-tolerant *Myxococcus* strains and their motility systems to the ocean conditions[J]. *Microbial Ecology*, 2007, 54(1): 43-51
- [37] Zhang YQ, Li YZ, Wang B, Wu ZH, Zhang CY, Gong X, Qiu ZJ, Zhang Y. Characteristics and living patterns of marine myxobacterial isolates[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(6): 3331-3336
- [38] Zhou XW, Li SG, Li W, Jiang DM, Han K, Wu ZH, Li YZ. Myxobacterial community is a predominant and highly diverse bacterial group in soil niches[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2014, 6(1): 45-56
- [39] Keane R, Berleman J. The predatory life cycle of *Myxococcus xanthus*[J]. *Microbiology*, 2016, 162(1): 1-11
- [40] Wang CL, Lv YY, Li AZ, Yao Q, Feng GD, Zhu HH. Culture-dependent and -independent methods revealed an abundant myxobacterial community shaped by other bacteria and pH in Dinghushan acidic soils[J]. *PLoS One*, 2020, 15(9): e0238769
- [41] Garcia R, Gemperlein K, Müller R. *Minicystis rosea* gen. nov., sp. nov., a polyunsaturated fatty acid-rich and steroid-producing soil myxobacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(11): 3733-3742
- [42] Awal RP, Garcia R, Müller R. *Racemicystis crocea* gen. nov., sp. nov., a soil myxobacterium in the family *Polyangiaceae*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66(6): 2389-2395
- [43] Livingstone PG, Ingleby O, Girdwood S, Cookson AR, Morphew RM, Whitworth DE. Predatory organisms with untapped biosynthetic potential: descriptions of novel *Coralloccoccus* species *C. aberystwythensis* sp. nov., *C. carmarthensis* sp. nov., *C. exercitus* sp. nov., *C. interemptor* sp. nov., *C. llansteffanensis* sp. nov., *C. praedator* sp. nov., *C. sicarius* sp. nov., and *C. terminator* sp. nov.[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(2): e01931
- [44] Chambers J, Sparks N, Sydney N, Livingstone PG, Cookson AR, Whitworth DE. Comparative genomics and pan-genomics of the *Myxococcaceae*, including a description of five novel species: *Myxococcus eversor* sp. nov., *Myxococcus llanfairpwllgwyngyllgogerychwyrndrobwl llantysiliogogochensis* sp. nov., *Myxococcus vastator* sp. nov., *Pyxidicoccus caerfyrddinensis* sp. nov., and *Pyxidicoccus trucidator* sp. nov.[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2020, 12(12): 2289-2302

- [45] Chun J, Oren A, Ventosa A, Christensen H, Arahal DR, Da Costa MS, Rooney AP, Yi H, Xu XW, De Meyer SD, et al. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(1): 461-466
- [46] Bode HB, Ring MW, Schwär G, Kroppenstedt RM, Kaiser D, Müller R. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (CoA) synthase is involved in biosynthesis of isovaleryl-CoA in the myxobacterium *Myxococcus xanthus* during fruiting body formation[J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(18): 6524-6528
- [47] Garcia R, Gerth K, Stadler M, Dogma Jr IJ, Müller R. Expanded phylogeny of myxobacteria and evidence for cultivation of the 'unculturables'[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2010, 57(2): 878-887
- [48] Liu Y, Yao Q, Zhu HH. Meta-16S rRNA gene phylogenetic reconstruction reveals the astonishing diversity of cosmopolitan myxobacteria[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(11): 551
- [49] McCurdy HD. Studies on the taxonomy of the myxohacterales. I. record of canadian isolates and survey of methods[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1969, 15(12): 1453-1461
- [50] Warude D, Joshi K, Harsulkar A. Polyunsaturated fatty acids: biotechnology[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2006, 26(2): 83-93
- [51] Liu Y, Lai QL, Shao ZZ. Genome-based analysis reveals the taxonomy and diversity of the family *Idiomarinaceae*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2453-2468
- [52] Liu Y, Lai QL, Göker M, Meier-Kolthoff JP, Wang M, Sun YM, Wang L, Shao ZZ. Genomic insights into the taxonomic status of the *Bacillus cereus* group[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 14082
- [53] Hördt A, López MG, Meier-Kolthoff JP, Schleuning M, Weinhold LM, Tindall BJ, Gronow S, Kyrpides NC, Woyke T, Göker M. Analysis of 1,000+ type-strain genomes substantially improves taxonomic classification of *Alphaproteobacteria*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 468