

关于白色链霉菌的筛选与鉴定*

宋 尚 直

(河北大学生物系,保定)

白色链霉菌 (*Streptomyces albus*) 是链霉菌属的代表种,是白放线菌素、硫蒽黄菌素及白真菌素等的产生菌,在放线菌的分类和抗菌素生产上具有一定的意义。已有的文献资料对白色链霉菌典型种的特征描述和鉴定依据,看法不一,概念不清,对白色链霉菌生态问题的意见也有很多分歧。目前,国际上公认的白色链霉菌标准株已不存在,新公布的白色链霉菌是新种^[1],我国未曾发现过这一菌种。为此,我们于1975—1977年,开展了对白色链霉菌的分离、鉴定的研究工作。先后从河北省十个地区两个直辖市采集了318个土样,从不同地区的122个土样中分离出1,294株链霉菌,又从属于白孢类群的93株菌中选出23株。以中国科学院微生物研究所保藏的白色链霉菌为对照株,参照1891年以来有关文献资料,进行了全面的定种鉴定,结果选出了3株白色链霉菌(菌株编号为A₃、A₃₋₁及A₃₋₂)。分离、鉴定情况如下。

材料与方法

采用高氏合成一号琼脂培养基分离土样,用无菌操作稀释法进行平皿培养,28℃,5—7天后,挑菌转接于同一种培养基斜面,28—30℃培养1—1个半月,定期观察形态与培养特征。鉴定类群后,将选出的23株菌,在高氏合成一号琼脂、蔗糖察氏琼脂、葡萄糖天门冬素琼脂、甘油天门冬素琼脂及营养琼脂等不同培养基上进行平皿培养1—1个半月,再观察形态与培养特征,同时进行生理生化反应、碳源的利用(用16种碳源)以及拮抗性试验。每项试验内容重复2—3次,进行全面的定种鉴定。最后将选出的白色链霉菌菌株,参照对照株和文献再进行全面的比较鉴定。

* 本研究承蒙中国科学院微生物研究所阎逸初和阮继生同志审核鉴定。

表 1 白 色 链 霉 菌

鉴定结果 菌源与文献资料		鉴定项目	形 态 与 培 养 特 征					
			内容	高氏合成一号琼脂	蔗糖察氏琼脂	葡萄糖天门冬素琼脂	营养琼脂	甘油天门冬素琼脂
白色链霉菌A ₁ (河北省张家口市)			A M	白至雪白色;薄,绒状	雪白色,薄,绒粉状	雪白色至微灰白色,薄,绒状	白色至微灰白色,薄,绒状	雪白色,绒状
			S M	生长慢,无色至白色	白至浅驼色变炒米黄色	生长良好,无色至沙石黄,变软木黄色	生长丰茂,白色至浅黄色	生长良好,白或淡黄色
			S P	无	无	无或淡黄色	无	无
白色链霉菌 (对照菌株)			A M	白色;薄,绒状	白色,绒状	白至灰白色,绒状	白色至灰白色,绒状	白色至灰白色
			S M	生长慢,弱,微白色	生长良好,白色至炒米黄色	生长丰茂,无色至淡黄色	生长良好,白色至浅黄色	淡黄色
			S P	无	无	无	无	无
文 献 资 料	Rossi-Doria ^[2]	A M	[琼脂]白色(雪白略微黄)	白至雪白色,絮状至粉状	灰色变微褐色	无气丝,老菌落多呈白沉积,或微白色	[马铃薯块]白色	
		S M	无色至微黄色	生长无色			地衣状,乳脂色	
		S P	无					
	Pridham, Lyons ^[3]	气丝至白色(石灰白色,常带有少量粉色) 基丝无色 无可溶性色素 [未注明培养基]						
	Bergey, et al. ^[1]	在察氏琼脂上气丝白色,基丝生长弱,可溶性色素						
	Waksman ^[4]	[合成培养基]气丝厚,白色至灰色,生长白色,无可溶性色素 [苹果酸钙琼脂]气丝灰色 [葡萄糖琼脂]气丝淡鼠灰色 [营养琼脂]少数气丝斑						
	Nonomura ^[5]	在燕麦片琼脂上气丝白色,带黄色,基丝无色,无可溶性色素						

注: 1. “AM” 气生菌丝; “SM” 基内菌丝; “SP” 可溶性色素。

2. “*” 中国科学院微生物研究所电镜观察结果。

3. “+” 利用; “-” 不利用; “⊥” 微弱利用。

表 2 白色链霉菌 _A 的碳源利用

鉴定结果 菌名(菌源) 与文献资料	碳源	D-葡萄糖	蔗糖	D-木糖	D-甘露醇	D-果糖	L-鼠李糖	棉子糖	麦芽糖	乳糖	半乳糖	蜜二糖	甘露糖	菊糖	山梨糖	L-阿拉伯糖	I-肌醇
白色链霉菌 _A , (河北省张家口市)		+	+	-	-	+	+	-	⊥	-	⊥	-	⊥	⊥	-	-	-
白色链霉菌(中国科学院微生物研究所原存菌种)		-	+	-	-	-	-	-	⊥	-	⊥	-	⊥	-	-	-	-
文 献 资 料	1891年 路西-多里亚 (Rosi-Doria)	+	+														
	1974年 Hideo Nonomura		-	+	+	+	-	+								-	±
	1974年 伯吉 (Bergey)	+	+	+	+	±	-	-			+						

注: “+” 利用; “-” 不利用; “⊥” 微弱利用。

		一般生理生化特性							拮 抗 性												
孢子丝形态	孢子形状大小和表面特征	牛乳反应	明胶液化	淀粉水解	纤维素利用	硝酸盐产生	硫酸盐产生	黑色素	金黄色葡萄球菌209p	枯草杆菌6633	大肠杆菌177	草分枝杆菌1562	白假丝酵母2538	黑曲霉3315	亚黄八叠球菌	蜡芽杆菌	质孢菌	塞氏菌	啤酒母	铜色单孢菌	绿假单孢菌
螺旋形(1-4)	椭圆形(0.75-1.05×1.05-1.7μ)表面光滑*	凝固, 胨化(轻度至中度)	±或+	±或+	±	+	-	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
螺旋形(1-5)	椭圆形(0.7-1.05×1.4-1.75μ)表面光滑	凝固, 胨化(轻度)	±或+	±	±	+	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
长螺旋形或有波曲		凝固, 胨化	+(强)无可溶性色素	±或-		+	-		有的对革兰氏阳性细菌有活性; 有的产生白放线菌素; 有的产生硫磺菌素或除霉素												
								-													
螺旋形	孢子表面光滑		+	-				-	对细菌的抑制作用弱												
长螺旋形, 在合成培养基上无螺旋, 在甘油合成琼脂上有少数短密螺旋	球形至椭圆形(1.2-1.6×1.1-1.4μ)	凝固(微褐色表面生长环)胨化	+(中速)	+		+			拮抗性弱; 某些培养对革兰氏阳性细菌有活性												
螺旋形	椭圆形表面光滑																				

结 果

根据形态与培养特征为主、生理生化特性及拮抗性为辅的定种原则, 对白孢类群中选出的23株菌进行了分类鉴定, 结果是: 11株属于白孢亚群; 12株属于白色亚群, 其中有5株为纯白链霉菌(*S. candidus*), 3株为白色链霉菌(A₃、A₃₋₁、A₃₋₂), 其中A₃为典型白色链霉菌(见表1、2)。

从表1、2中可以看出, A₃的形态、培养特征(包括孢子丝的形状与大小及表面特征)、生理生化性质、拮抗性以及对碳源的利用和对照株比较, 虽大部分一致, 但也有较显著的不同: A₃在绝大部分培养基上的气生菌丝呈雪白色, 而对照株的气生菌丝主要是白色; A₃对有些革兰氏阳性细菌有微弱抑制作用, 而对照株则对枯草杆菌有弱的拮抗作用; 对革兰氏阴性菌大

肠杆菌有拮抗作用。从有关文献的描述和我们鉴定的结果来看, 典型的白色链霉菌在高氏合成一号琼脂上的气生菌丝应为白色至雪白色或白色至微灰的白色; 孢子丝螺旋形; 孢子椭圆形、表面光滑; 不产生色素; 明胶液化、硝酸盐还原及蔗糖转化的反应均呈阳性。此外, 对革兰氏阳性细菌具有微弱抑制作用, 但对革兰氏阴性细菌无拮抗作用。A₃的全面鉴定结果与前者特征相同, 仅在对碳源的利用方面与 Hideo Nonomura 和 Bergey 的描述稍有不同。我们认为 A₃是典型白色链霉菌, 种名应为白孢类群白色亚群的白色链霉菌(*Streptomyces albus*)。由中国科学院微生物研究所放线菌分类组审核并确定。在审核鉴定过程中, 还增用了三种培养基, 其培养特征如下:

克氏合成一号琼脂: 气丝雪白色, 薄、绒状; 基丝浅驼色至榴萼黄; 无可溶性色素。

葡萄糖酵母膏琼脂: 气丝白色, 丰茂, 绒状; 基丝风帆黄, 无可溶性色素。

马铃薯块: 气丝雪白色, 少, 绒状; 基丝无色至凋叶棕色、块淡咖啡色; 可溶性色素淡黄色, 或无可溶性色素, 几乎无色。

讨 论

关于白色链霉菌的定种依据问题, 自 1891 年以来, 文献资料中对该菌的描述多种多样, 依据不一, 近年来, 学者们对白色链霉菌的定种依据似乎趋向于赞同 Pridham 和 Lyons 的看法, 即认为气丝至白色(石灰白色, 常带少量粉色); 不产色素, 牛乳胨化, 明胶液化, 硝酸盐还原及蔗糖转化均为阳性; 淀粉水解随株而异, 通常对革兰氏阳性细菌的拮抗性弱。对这一定种依据我们有一些不同的见解, 通过对白色链霉菌的鉴定, 我们认为, 鉴定典型白色链霉菌菌种的特征应以形态和培养特征为主要依据, 即气丝必须是白色至雪白色, 绒状; 基丝为无色或各种黄色; 孢子丝螺旋形; 孢子椭圆形、表面光滑。这是在多种培养基上应有的性状, 也是在高氏合成一号琼脂、蔗糖蔡氏琼脂、克氏合成一号琼脂和葡萄糖天门冬素琼脂上正常培养的结果。在马铃薯块上的培养特征更为典型, 如果在这些培养基上的气丝呈至白色, 或多数呈白色至灰白色, 则不是典型白色链霉菌。至于生理生化

性质、碳源的利用以及拮抗性等方面的差异, 仅作参考。

关于白色链霉菌的生态环境问题, 历来的学者也有很多争论, 多数认为白色链霉菌在一般土壤中少见, 仅存在于高原地带; Pridham 和 Lyons 认为白色链霉菌“在自然界相对稀少”; Waksman 和 Henrici 认为这个种“普遍存在”。我们认为这两种截然不同的看法都是比较片面的, 不太符合实际。如我们鉴定出的白色链霉菌 A₃ 就是从河北省张家口市、廊坊镇和蓟县等地的沙壤土中分离出来的, 既不是来自高原也不是来自高山, 说明该菌不只是生活在高原、高山地带, 就连山区、丘陵及平原地区均可能有它的存在。但该菌的分布并不广泛。所以白色链霉菌在自然界的分布不是“相对稀少”, 也不是“普遍存在”。

参 考 文 献

- [1] Buchanan, R. E. & N. E. Gibbons: *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*, 8th ed., The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1974, p. 754.
- [2] Rossi-Doria, E.: *Ann. igiene*, 1: 399—438, 1891. (转引自文献[4])
- [3] Pridham, T. G. and A. J. Lyons: *J. Bacteriol.* 81: 431—441, 1961.
- [4] Waksman, S. A.: *The Actinomycetes*, Vol. II, Bailliere, Tindall & Cox Ltd. 阎逸初译: 放线菌, 第二卷, 科学出版社, 1974.
- [5] Nonomura, H.: *J. Ferment. Technol.*, 52(2): 78—92, 1974.