

放线菌分类学研究进展

阮继生

(中国科学院微生物研究所,北京)

我国的放线菌分类工作在阎逊初教授等老一辈科学家的领导下,从无到有得到了较快的发展,除发现3个新属和180个左右新种外,还提出了放线菌目的试行分类系统。但是,我国与先进的国家相比,尚有很大差距,属的数量较少,实验手段落后。为了赶上世界先进水平,现将国外放线菌分类学研究进展作一简单介绍,以便为我国放线菌分类学的发展有所借鉴。

一、关于放线菌目中科、属的划分

放线菌目已报道50多个属,由于各国分类学家观点不同,科的标准,科内属的划分也各异,长期难以统一。经国际放线菌分类委员会广泛征求意见,取消了科的分类等级。在放线菌目下以菌丝体断裂与否及孢子着生方式,将放线菌目中近50个属分成群。《伯杰细菌学鉴定手册》第9版(分四卷)中关于放线菌部分即按此方式编排。(第一卷为革兰氏阴性细菌,第二卷为革兰氏阳性细菌与诺卡氏菌形放线菌,第三卷为古细菌、蓝藻细菌等,第四卷为放线菌)。将菌体有横隔并断裂的诺卡氏菌形放线菌9个属刊登在第二分卷上^[1],它们是间孢囊菌属(*Intrasporangium*),厄氏菌属(*Oerskovia*),小多孢菌属(*Micropolyspora*),诺卡氏菌属(*Nocardia*),类诺卡氏菌属(*Nocardioides*)原小单孢菌属(*Promicromonospora*),假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*),红球菌属(*Rhodococcus*),糖多孢菌属(*Saccharopolyspora*)。"生孢子放线菌"(*Sporoactinomycete*)分为7个群,将刊登在第四分卷上: 1.多腔孢囊放线菌:嗜皮菌属(*Dematiophilus*),地嗜皮菌属(*Geodermatophilus*),弗兰克氏菌属(*Frankia*) 2.游动放线菌:游动放线菌属(*Actinoplanes*),小瓶菌属(*Ampullariella*),发仙菌属(*Pilimelia*),指孢囊菌属(*Dactylosporangium*),小单孢菌属(*Micromonospora*)。 3.链霉菌及其有关属:链霉菌属(*Streptomyces*),链轮丝菌属(*Streptoverticillium*),鱼孢菌属(*Sporichthya*),动孢菌属(*Kineosporia*)。 4.马杜拉放线菌:马杜拉放线菌属(*Actinomadura*),小双孢菌属(*Microbispora*),小四孢菌属(*Microtetraspora*),

游动双孢菌属(*Planobispora*),游动单孢菌属(*Planomonospora*),螺孢菌属(*Spirillospora*),链孢囊菌属(*Streptosporangium*)。 5.高温单孢菌及有关的属:高温单孢菌属(*Thermomonospora*),束丝放线菌属(*Actinosynnema*),拟诺卡氏菌属(*Nocardiopsis*),链异壁菌属(*Streptoalloteichus*)。 6.高温放线菌:高温放线菌属(*Thermoactinomyces*)。 7.其他属:糖霉菌属(*Glycomyces*),开布德孢囊菌属(*Kibdelosporangiuni*),北里孢菌属(*Kitasatosporia*),糖丝菌属(*Sacchrothrix*)。放线多孢菌属(*Actinopolyspora*),蔗糖单孢菌属(*Saccharomonospora*)。另外得知,分枝杆菌属(*Mycobacterium*),不生孢子放线菌属(*Actinomyces*)也刊登在第二分卷中。

这种分法的确避免了科分类等级的混乱。但有的属如小单孢菌属放在游动放线菌中有待商榷。

二、关于孢子分化问题

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,基本上归纳为两种类型^[2]: 1.菌丝壁和膜出现单个内生生长物,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; 2.从菌丝体壁内部发生二层内生生长物,有一共同的楔子,分别地保留在发育过程的各个阶段。这种内生生长物从开始就清楚地表现出两层壁,楔子沟通形成横隔而断裂,如链霉菌的孢子形成就是这种方式。1981年Hansen等^[3]研究了链霉菌属的不同种,嗜热假诺卡氏菌(*Pseudonocardia thermophile*)、普通高温放线菌(*Thermoactinomyces vulgaris*)、弯曲高温单孢菌(*Thermomonospora curvata*)的孢子形成的超微结构。对链霉菌的孢子形成提出了三种基本型: I型——双层横隔壁将孢子丝分成若干份,这种横隔谓之间隙横隔(Interspace septum 图1-I, a, b, c); II型——孢子形成的横隔是由外部环状缢缩细胞壁与中间的间隙横隔组成(图1-II, a, b, c, d); III型——根本

不形成间隙横隔,只是厚的缢缩细胞壁将孢子丝分成若干部分(图 1-III,a,b),当原生质膜全部凹入后,孢子的新细胞壁就形成了,母体孢壁不参与孢子的新细胞壁(图 1-III,c)而自溶掉(图 1-III,d),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(图 1-III,c,d)。另外嗜热假诺卡氏菌的孢子是顶生芽殖形成的,发现间隙横隔的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二个电子稠密层组成的多层结构(图 1-IV,a,a',b,c)。

关于孢子分化与形态超微结构的内容,在第六届国际放线菌生物学会议上宣读了 5 篇论文。最引人注目的是美国 Smucker 等的报告^[4]。他们通过物理、细胞化学与电子显微镜的研究发现链霉菌在孢子形成过程中存在着几丁质,孢子丝鞘系纤维素。大家都知道,几丁质与纤维素是真核生物如真菌细胞壁的特有成分,而在原核生物中从未有过报道。Smucker 首次在原核生物的放线菌中发现几丁质与纤维素的存在,这对说明放线菌的演化关系可能有参考意义。

物质组成。四肽链上第三位是含有二个氨基的氨基酸。不同种微生物的肽聚糖中这个含有二个氨基的氨基酸种类各异。Cummins 等于 1962 年将细胞壁化学组分应用于放线菌分类,随后 Lechevalier 用纸层析分析了大量菌株放线菌细胞壁化学组成,按所含的氨基酸种类分成 9 个型,全细胞糖分成 4 个型^[5]。自从这个方法广泛应用于放线菌分类后,世界各国的学者大多数改变了纯形态分类的观点,用形态与细胞壁化学组分相结合的方法鉴别放线菌目中的属。与此同时,发现了形态上几乎相同,但细胞壁组分不同的菌,并建立了新属。如细胞壁化学组分 III 型不含马杜拉糖的“达森诺维尔马杜拉放线菌”(Actinomadura dassonvillei)从马杜拉放线菌属中分出,另立新属——拟诺卡氏菌属^[6](Nocardiopsis);形态与诺卡氏菌属(细胞壁化学组分 IV 型)相同,但细胞壁化学组分为 I 型,另立类诺卡氏菌属^[7];形态像小单孢菌的原小单孢菌属^[8]发表后出现争议,经细胞壁化学组分测定为 VI 型^[9],为这属的建立提供了证据;具有链霉菌属(细胞壁 I 型)的形态特点,而细胞壁化学组分为 II 型的异壁放线菌属(Actinoalloteichus)^[9]类链霉菌属(Streptomycoides)^[10]。1982 年 Omura 等^[11]发现在同一菌株内既含有 LL-DAP,也含有 meso-DAP,建立了北里孢菌属(Kitasatosporia)。Omura 等建议这种细胞壁型为 X 型,现尚未被国际公认。我们也发现了同时含有 LL-DAP 与 meso-DAP 的菌^[12]。关于在同一菌株内既含有 meso-DAP 又含有 LL-DAP,这与按氨基酸种类分型的原理是不相符合的,这有待深入研究。

除全细胞化学组分分析外 Lechevalier 也进行纯细胞壁组分的分析,一方面进行 meso-DAP, LL-DAP, 2-OH-DAP, 3-OH-DAP, 天门冬氨酸、葡萄糖胺、甘氨酸、丙氨酸、壁酸等的分析,另一方面赖氨酸、鸟氨酸, 2,4-二氨基丁酸不能由全细胞水解方法获得,也必须进行纯细胞壁组分测定^[5]。

全细胞与纯细胞壁化学组分按纸层析方法,测定一株菌的氨基酸与糖模型需要 1—2 周时间。现 Hasegawa 等报道了快速薄板层析法^[13]。他分析了 11 株不同属的放线菌,其结果表明,这种方法速度快,流程简单,4 小时即可获结果;点样微量,斜面上的菌落可作为分析样品用;减少了纸层析方法中除水解液中盐酸带来的环境污染;重复性强。我们认为这种方法适于大量菌种的鉴别,如保藏菌孢壁的分析;生长慢而难获得大量菌体的放线菌,如弗兰克氏菌属与致病菌种的孢壁测定。其缺点在于马杜拉糖与木糖不能分开。如经改进这种快速方法就更理想了。

四、类脂在分类中的作用

类脂的结构在放线菌及其相关菌分类中占有重要作用,类脂位于细胞膜上,早用于固酸菌类^[14]、诺卡氏

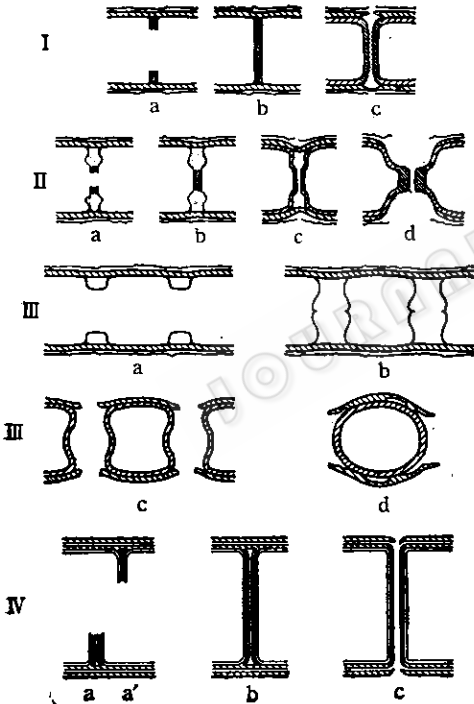


图 1 生孢子链放线菌孢子形成的模型^[13]

I—III: 链霉菌孢子形成的三种类型

I, a-c 系 I 型: 间隙横隔

II, a-d 系 II 型: 由缢缩壁和间隙组成的孢子横隔

III, a-d 系 III 型: 由缢缩壁形成孢子,

IV: 嗜热假诺卡氏菌形成孢子菌丝的横隔

三、细胞壁化学组分在分类中的作用

放线菌的细胞壁是由肽聚糖、胞壁酸、多糖等高分

形放线菌^[19]、棒状杆菌^[16]的分类,长链脂肪酸(12—20 碳和 20—80 个碳的枝菌酸)、极性类脂和异戊二烯酩可做放线菌化学分类指征之一。下面分别简单介绍一类脂在放线菌分类中的作用。

1. 脂肪酸

放线菌的长链脂肪酸可分为两大类,12—20 碳和 20—80 碳的枝菌酸。大多数是羟基直链非饱和的脂肪酸,其甲基酯借助于气相层析分析有两种主要型:直链非饱和或 10-甲基侧链或环丙烷脂肪酸;另一型主要含 iso 和 anteiso 侧链酸^[17]。Lechevalier^[17] 将磷酸类脂的脂肪酸分成 4 个型: I 型——主要成分为 anteiso/iso 系列的侧链脂肪酸 (ANT-IS); II 型——主要成分为饱和或非饱和脂肪酸,不是十七碳烯酸,ANT-IS 存在; III 型——主要成分为十七碳烯酸,ANT-IS 存在; IV 型——无 ANT-IS,如有,小于总脂肪酸的 10%。其结果表明: I 型——厄氏菌属、原小单孢菌属、小双孢菌属、钦氏菌属、拟诺卡氏菌属、链轮丝菌属、无定形孢囊菌属、小瓶菌属、指孢囊菌属。II 型——嗜皮菌属、地嗜皮菌属、小四孢菌属。III 型——束丝放线菌属、游动单孢菌属、游动双孢菌属、链孢囊菌属。IV 型——分枝杆菌属、诺卡氏菌属、红球菌属、螺孢菌属。

2. 枝菌酸

枝菌酸系 α 侧链 β 羟基脂肪酸,从骨架上的碳原子数量来说有三种:含有约 80 个碳原子的为分枝杆菌酸,来自分枝杆菌属;约 50 个碳原子系诺卡氏菌酸,来自诺卡氏菌属;约 30 个碳原子系棒状杆菌酸,来自棒状杆菌属。因为分枝杆菌属、诺卡氏菌属、棒状杆菌属专靠形态难以区分,而细胞壁化学组分又都是 IV 型。当前区分这三个属较可靠的依据是枝菌酸结构的差别。近来 Minnikin 等^[17,18]对分枝杆菌的特征性类脂进行了详细研究,其结果表明, α 枝菌酸脂分为酮枝菌酸酯与二极性枝菌酸酯。酮枝菌酸酯分为甲氧基枝菌酸酯与蜡枝菌酸酯,前者存在于结核分枝杆菌 (*M. tuberculosis*)、牛型分枝杆菌 (*M. bovis*) 与堪萨斯分枝杆菌 (*M. kansasii*) 中,后者存在于草分枝杆菌 (*M. phlei*)、胞内分枝杆菌 (*M. intracellulare*)、副结核分枝杆菌 (*M. paratuberculosis*)、鸟分枝杆菌 (*M. avium*) 中。二极性枝菌酸酯存在于耻垢分枝杆菌 (*M. smegmatis*)、皮疽分枝杆菌 (*M. farcinogenes*)、偶发分枝杆菌 (*M. fortuitum*) 中。这对分枝杆菌属内种的鉴别是有益的。

应该指出,细胞壁 IV 型不含枝菌酸的菌有嗜热假诺卡氏菌、干草小多孢菌 (*Microspolyspora faeni*)、糖多孢菌属、绿色糖单孢菌 (*Saccharomonospora viridis*)、嗜盐放线多孢菌^[19] (*Actinopolyspora halophila*)。众所周知,诺卡氏菌属的特点是基丝断裂,全细胞化学组分 IV 型,含有枝菌酸。但是已发现名为地中海诺卡氏菌

(*N. mediterranea*)^[19]、空腔诺卡氏菌 (*N. coeliaca*)^[19,20]、粗糙诺卡氏菌 (*N. rugosa*)^[19]、东方诺卡氏菌 (*N. orientalis*)^[19] 不含有枝菌酸。我们同意 Goodfellow 和 Minnikin 的观点,应将无枝菌酸的诺卡氏菌从诺卡氏菌属中分出来,转入适合这些菌的属中去^[19]。如果还有其它化学分类指征不同时,也可以考虑建立新属。

Yano 等在第六届国际放线菌生物学会议中报告了用气相层析、质谱分析红球菌属的 11 个种的枝菌酸。其结果表明,这 11 个种菌的碳原子数目从 C_{20} — C_{30} 都不相同,证明枝菌酸可用于红球菌属内种的鉴别^[21]。Yassin 等用薄层板析、气相层析分析了 10 株分枝杆菌,18 株诺卡氏菌,2 株链霉菌与 2 株马杜拉放线菌的枝菌酸与脂肪酸甲基酯,并成功地地区分开所试验的属^[22]。

五、磷酸类脂在分类中的作用

磷酸类脂位于细胞膜上,系极性类脂,不同属菌的磷酸类脂组分是不同的,它是鉴别属的重要特征之一。可作为分类指征的有磷酸酰乙醇胺 (PE);磷酸酰甲基乙醇胺 (PME);磷酸酰胆碱 (PC);磷酸甘油 (PG);含有葡萄糖胺未知结构的磷酸类脂 (Glu Nu)。日本、英国、美国都开展了这方面的研究。像 Lechevalier 和 Lechevalier^[17,23] 分析了 48 属典型菌的磷酸类脂,根据上述磷酸类脂的组成为 5 种型:磷酸类脂 I 型 (PI) 即不含上述 5 种磷酸类脂成分 (但 PG 不稳定);磷酸类脂 II 型 (PII) 即只含有 PE;磷酸类脂 III 型* (PIII) 即只含有 PC;磷酸类脂 IV 型** (PIV) 即只含有 GluNu;磷酸类脂 V 型 (PV) 即含有 GluNu + PG。将其结果归纳于下:

PI 型——农霉菌属 (*Agromyces*)、线杆菌属 (*Bacterionema*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、类诺卡氏菌属、罗氏菌属 (*Rothia*)、嗜皮菌属、马杜拉放线菌属 (或 PIV 型)、小四孢菌属 (或 PIV 型)、螺孢菌属 (或 PII 型)、弗兰克氏菌属。

PII 型——放线菌属、分枝杆菌属、诺卡氏菌属、红球菌属、小单孢菌属、地嗜皮菌属、束丝放线菌属、钦氏菌属、小多孢菌属 (或 PIII 型)、糖单孢菌属、链霉菌属、链轮丝菌属、游动放线菌属、无定形孢囊菌属、小瓶菌属、指孢囊菌属、小荚孢囊菌属。

PIII 型——枝动菌属 (*Mycoplana*)、放线多孢菌属、拟诺卡氏菌属、假诺卡氏菌属、糖多孢菌属。

PIV 型——间孢囊菌属、小双孢菌属、游动单孢菌属、游动双孢菌属、链孢囊菌属。

PV 型——厄氏菌属、原小单孢菌属。

磷酸类脂是划分属的重要依据之一,像类诺卡氏菌属与链霉菌属都是细胞壁化学组分 I 型,前者与后

* PE、PME、PG 不稳定; ** PE、PME 不稳定。

者的区别在于基丝断裂。但是基丝断裂迟缓(生长晚期断裂)的“类诺卡氏菌”很难与链霉菌属区分开,易发生划分属的错误。Prauser 用噬菌体的专一性可以区分开类诺卡氏菌属与链霉菌属^[24]。我们用磷酸类脂型可区分开这两个属^[20]。因为类诺卡氏菌属系PI型,链霉菌属为III型,这就弥补了纯形态定属的不足。今后在鉴别类诺卡氏菌属时不应仅以基丝断裂作为属的重要特征,还应增加磷酸类脂的分析。

六、醌在分类中的作用

日本、英国已将醌用于细菌、放线菌的分类^[25-27],它分布于菌体细胞膜上,参与呼吸链的电子传递,是非极性类脂。醌有两种结构:甲基萘醌(Menaquinone);泛醌(Ubiquinone),甲基萘醌用于放线菌与革兰氏阳性细菌的分类。用于分类的指征是聚戊二烯侧链的长度与氢化度。结果表明,棒状杆菌属13个种为MK-8(H₂),MK-9或MK-9(H₂);分枝杆菌属9个种皆为MK-9(H₂),诺卡氏菌属6个种为MK-8(H₂);红球菌属为MK-8(H₂),谷登菌属*两个种为MK-9(H₂);马杜拉放线菌为MK-9(H₂)/MK-9(H₂),白乐杰马杜拉放线菌为MK-9(H₂);放线菌属两个种为MK-10(H₂);厄氏菌属MK-9(H₂);原小单孢菌属MK-9(H₂);假诺卡氏菌属MK-9(H₂)^[17];短链小多孢菌(*Micropolyspora brevicatena*)MK-8(H₂),干草小多孢菌(*Micropolyspora faeni*)MK-9(H₂, H₂, H₂)^[17],狄氏菌属、小荚孢囊菌属、链霉菌属与链轮丝菌属皆为MK-9(H₂, H₂, H₂)^[17]。

应该指出,像“达森诺维尔马杜拉放线菌”由于不含马杜拉糖,已被另立拟诺卡氏菌属^[6],经醌的分析表明,达森诺维尔拟诺卡氏菌为MK-10(H₂, H₂, H₂)^[17]显然有别于马杜拉放线菌属[MK-9(H₂, H₂)],磷酸类脂型也不同,拟诺卡氏菌属为PIII型,而马杜拉放线菌属为PI/PIV型。因而,从化学分类指征如细胞壁糖模型、醌、磷酸类脂都为拟诺卡氏菌属的建立提供了可靠的依据。地中海诺卡氏菌(*M. mediterranea*)不含有枝菌酸、MK-9(H₂),这两项化学指征都有别于典型诺卡氏菌属的特征^[30],最近Collins报道龋齿罗氏菌(*Rothia dentocariosa*)为MK-7,与放线菌科各属的MK-系统不同,建议将这株菌从放线菌科中分出,转入合适的属中去^[31]。

Kawamoto等^[32]用质谱、生理生化与培养特征等研究了19株小单孢菌的分类,根据基丝颜色、MK-系统、孢子表面结构、糖与氨基酸的利用、糖苷酶活性等将所研究的菌分成群,青蓝色群(1个种)为MK-10;绛红棘孢群(2个种)MK-10;刺孢群(1个种)为MK-12;橄榄立体孢群(9个种)MK-10;嗜盐群(6个种)为MK-9。上述结果充分说明,化学分类指征如醌等在属或种的划分中是有价值的,应给予重视。

七、DNA、RNA 在分类中的作用

DNA和RNA是生物的遗传物质,是反映生物间亲缘关系的重要依据。DNA中G+C克分子百分比在细菌分类中(属种划分)具有重要作用,而用于放线菌分类尚不能说明问题。而DNA-DNA, DNA-rRNA体外杂交是当代微生物分类中表示亲缘关系颇有说服力的依据。如Bradley, Okanishi曾用DNA-DNA体外杂合鉴别放线菌属、诺卡氏菌属和产生链霉素的链霉菌属的不同种。近几年来如美国、德国等用16S rRNA寡核苷酸序列分析来阐述微生物间的亲缘关系,如Fox等^[33]用此法分析了170多种原核生物和少数真核生物(18S rRNA),提出了真核生物界(Eucaryote:)、真细菌界(Eubacteria)与另一新界即古细菌界(Archaeobacteria)(以产甲烷菌为代表)。Stackebrandt在第五届国际放线菌生物学会议上报告了细菌和放线菌(DNA中G+C克分子比在58%以上)的16S rRNA分析,其亲缘关系的树状谱表明,双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、丙酸杆菌属(*Propionibacterium*)是两个独立的分支,应作为两个独立的目,与放线菌目并立。将放线菌目中的属分为6个亲缘关系群^[34],与Fox等的结果基本一致。这不仅对放线菌目中应包括哪些属,同时对放线菌目与其相关的微生物间的关系,提出了科学依据。

Mordarski及其合作者报告了链霉菌属某些种、红球菌属36株菌DNA-DNA与DNA-rRNA杂交^[35,36]。Stackebrandt在第六届国际放线菌生物学会议上宣读了用DNA-DNA杂交定种, DNA-rRNA定属, 16S rRNA分析属以上分类单位菌的亲缘关系。并指出, Lechevalier的细胞壁化学组分II型与IV型中属的遗传分析是一致的,但在I型菌与III型菌中出现了遗传性状不一致的属^[37]。许多国家都开始将分子遗传技术用于分类,我们也应开展这方面的研究。

八、数值分类的前景

通过第五届国际放线菌生物学会议可以看出,英、美、德、意等国不像以前那样热衷于新种新属的描述,而是用多种技术与方法阐述有争议属种的分类地位和已知属种间的亲缘关系。英国表现最突出,宣读的十余篇论文中,除个别外全是数值分类的文章。像Cross等用101个形态、生理生化特性与化学分类的指标,将113株高温放线菌、双歧放线菌分成5个种组,建议将双歧放线菌属取消^[38]。William认为链霉菌属已描述了2,000多种,同种异名相当严重,通过数值分类,用139项特征以77.5% Ssm相似值,将475个种(其中包括394个典型链霉菌种与14个已知属的代表)分为19

* 有人将这属并入红球菌属中。

大群、40 个小群与 18 个单菌株的成员^[39]。Goodfellow 与 Minnikin 用数值分类研究诺卡氏菌型细菌的分类地位^[40]。Alderson 等用化学分类指标(脂肪酸、醌、细胞壁化学组成)与数值分类(139 项的形态、生理生化特性的指征)的结果表明,地中海诺卡氏菌不仅没有枝菌酸,而且 MK-系统、脂肪酸与数值分类的相似值都与典型诺卡氏菌、灰色链霉菌(*S. griseus*)、白色链霉菌(*S. albus*)有区别,因而他们建议给地中海诺卡氏菌另寻适合这株菌分类地位的属^[39]。意大利 Locci 报道了 110 株菌(189 项指征)的数值分类,其结果表明,能将链轮丝菌属从假轮丝的链霉菌和链霉菌属的种区分出来^[41]。近几年来在国际有关微生物学杂志上,经常刊登有关数值分类的文章。无数结果表明,数值分类不仅反映出微生物属、种间的差异与彼此间的亲缘关系,重要的是将模式种的信息输入电脑,可进行自动检索。

1985 年,在第六届国际放线菌生物学会议上,英国的十几篇论文都是以 Williams 的数值分类结果为材料^[39],在同一表观群内或群间进行化学分类(磷酸类脂、枝菌酸、醌等分析)与遗传手段即 DNA-DNA、DNA-rRNA 体外杂交、16S rRNA 寡核苷酸序列分析,阐述种或属间的亲缘关系与分类地位。其他国家也增多了化学分类与遗传手段分析的内容,分类水平明显提高。值得重视的像 O'Donnell 用计算机与气相层析连用,以脂肪酸鉴定新菌种和分类^[42]。

上述事实充分说明,英、美、德、意等国家已在分子生物学水平上进行放线菌分类的研究。根据我国的现状,除扩大属的种类外,应在分类方法上加以提高。目前除用形态与细胞壁化学组分相结合作为属的分类指征外,也应尽可能使用分子生物学技术。像细胞壁 IV 型菌必须测枝菌酸,因它是这类菌划分属的比较重要的特征之一。磷酸类脂、醌也是分属的重要指标。DNA-DNA、DNA-rRNA 体外杂交可作为种属水平的主要鉴别特征,16S rRNA 寡核苷酸序列分析用于阐述属以上分类等级亲缘关系的可靠依据。总之,形态、化学分类指标、分子生物学方法与数值分类相结合,不仅可以使我国的放线菌分类尽快达到分子生物学水平,也可以由表及里地认识放线菌的属种,正确阐述微生物间的亲缘关系,建立更符合客观规律的分类体系。为了发挥放线菌这个宝库的作用,应积极进行放线菌资源开发,提供更多的放线菌资源。近年来人畜的放线菌病、诺卡氏菌病、以及“农夫病”等有日渐上升的趋势,今后也应加强对致病放线菌的分类研究与临床诊断,保护人畜健康,促进四化建设。

参 考 文 献

[1] Williams, S. T.: The Actinomycetes Waksman Institute of Microbiology Rutgers, The State

University of New Jersey, 18, No. 2, 72-74, 1983-1984.

- [2] Williams, S. T et al. In Syker, G. and Skinner, F. A. (eds.): Actinomycetes: Characteristics and Practical Importance, Academic Press London, New York, 113-130, 1973.
- [3] Hensen, A. et al.: In Schaal, K. P. and Pulverer, G. (eds.): Actinomycetes Zbl. Bakt. Suppl. 11, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York, 137-146, 1981.
- [4] Smucker, R. A. and Morin, L. G.: 6th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August, 26-30, 1985, Debrecen, Hungary.
- [5] Lechevalier, M. P. and Lechevalier, H. A.: In Diety, A. and Thayer, D. W. (eds.): Society for Industrial Microbiology Special Publication No. 6, Arlington VA, 227-291, 1980.
- [6] Meyer, J.: Int. J. Syst. Bacteriol., 26: 487-493, 1976.
- [7] Prauser, H.: Int. J. Syst. Bacteriol., 26: 58-65, 1976.
- [8] Красильников, Н. А. И Др.: Изв. А. Н. Биологии(серия Биология) Ио. 1, 107-112, 1961.
- [9] 刘志恒等: 微生物学报, 24(4): 295-298, 1984.
- [10] 张国伟等: 微生物学报, 24(3): 189-194, 1984.
- [11] Omura, S. et al.: J. of Antibiotics, 35(8): 1013-1019, 1982.
- [12] 刘志恒等: 微生物学报, 25(2): 170, 1985.
- [13] Hasegawa, T. et al.: J. Gen. Appl. Microbiol., 29: 319-322, 1983.
- [14] Minnikin, D. E. and Goodfellow, M.: In Goodfellow, M. and Board, R. G. (eds.): Microbiological Classification and Identification, Academic Press, London, 189-256, 1980.
- [15] Minnikin, D. E. and Goodfellow, M.: In Goodfellow and Brownell, G. H. and Serrano, J. A. (eds.): The Biology of Nocardia, Academic Press, London, 160-219, 1976.
- [16] Minnikin, D. E. et al.: In Bousfield, I. J. and Callely, A. G. (eds.): Coryneform Bacteria, Academic Press, London, 85-160, 1978.
- [17] Minnikin, D. E. and Goodfellow, M.: In Schaal, K. P. and Pulverer, G. (eds.): Actinomycetes Zbl. Bakt. Suppl. 11, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York, 99-109, 1981.
- [18] Minnikin, D. E. et al.: J. Chromatogr., 188: 221-233, 1980.
- [19] Goodfellow, M. and Minnikin, D. E.: In Schaal, K. P. and Pulverer, G. (eds.): Actinomycetes Zbl. Bakt. Suppl. 11, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York, 7-16, 1981.
- [20] Liu Zhiheng and Ruan Ji-sheng: 6th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August, 26-30, 1985, Debrecen, Hungary.
- [21] Yano, I. et al.: 6th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August, 26-30, 1985, Debrecen, Hungary.
- [22] Yassin, A. F. and Schaal, K. P.: 6th International (下转封三)

- Symposium on the Biology of Actinomycetes, August, 26—30, 1985, Debrecen, Hungary.
- [23] Lechevalier, M. P. et al.: In Schaal, K. P. and Pulverer, G. (eds.): *Actinomycetes*, Zbl. Bakt. Suppl. 11, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York, 111—116, 1981.
- [24] Prauser, H.: In Schaal, K. P. and Pulverer, G. (eds.): *Actinomycetes* Zbl. Bakt. Suppl. 11, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York, 88—92, 1981.
- [25] Yamada et al.: *J. Gen. Appl. Microbiology*, 22: 203—214, 1976.
- [26] Yamada et al.: *J. Gen. Appl. Microbiology*, 23: 207—216, 1977.
- [27] Yamada et al.: *J. Gen. Appl. Microbiology*, 23: 331—335, 1977.
- [28] Collins, M. D. et al.: *J. Gen. Microbiology*, 100: 221—230, 1977.
- [29] Collins, M. D. et al.: *J. Gen. Microbiology*, 110: 127—136, 1979.
- [30] Alderson, G. et al.: In Schaal, K. P. and Pulverer, G. (eds.): *Actinomycetes*, Zbl. Bakt. Suppl. 11, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York, 39—46, 1981.
- [31] Collins, M. D. and Shah, H. N.: *Arch. Microbiology*, 137: 247—249, 1984.
- [32] Kawamoto, I.: 6th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August, 26—30, 1985, Debrecen, Hungary.
- [33] Fox, G. E. et al.: *Science*, 209, 457—463, 1980.
- [34] Stackebrandt, E.: 5th International Symposium on Actinomycetes Biology, Oaxtepec, Morelos, Mexico, August, 1982.
- [35] Mordarski, M.: 6th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August, 26—30, 1985, Debrecen, Hungary.
- [36] Gladek, A. et al.: *FEMS Microbiology Letters*, 26: 175—180, 1985.
- [37] Stackebrandt, E.: 6th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August, 26—30, 1985, Debrecen, Hungary.

参 考 文 献

- [38] Cross, T.: 5th International Symposium on Actinomycetes Biology, Oaxtepec, Morelos, Mexico, August, 1982.
- [39] Williams, S. T., Goodfellow, M. et al.: *J. of General Microbiology*, 129: 1743—1813, 1983.
- [40] Goodfellow, M. and Minnikin, D. E.: 5th International Symposium on Actinomycetes Biology, Oaxtepec, Morelos, Mexico, August, 1982.
- [41] Locci, R. et al.: 5th International Symposium on Actinomycetes Biology, Oaxtepec, Morelos, Mexico, August, 1982.
- [42] O'Donnell, A. G. et al.: 6th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August, 26—30, 1985, Debrecen, Hungary.