

# 半干旱条件下 21 株耐盐放线菌的数值分类研究

李 丽, 强郁荣, 来航线, 乔正良, 莫桂林

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨陵 712100)

**摘 要:** 对采自陕西、宁夏两地半干旱土壤的 21 株耐 18%NaCl 的放线菌进行了形态、生理生化特性、生长条件、抗生素敏感性等 89 项指标试验测定, 并用 DPS 数据处理软件作聚类树状图, 分析其数值分类情况。结果表明: 所有试验菌株在 0.66 的水平上聚在一起。在 0.42 的水平上, 它们可形成 10 个表观群, 并分别归为链霉菌的八个类群和两个待定种。第 I 群为金色类群, 第 II 群为灰类群, 第 III 群为粉红孢类群, 第 V 群为球孢类群, 第 VI 群为灰褐类群, 第 VII 群为白孢类群, 第 IX 群为黄色类群, 第 X 群为绿色类群, 第 IV 群和第 VIII 群为待定种。另外, 金色类群在陕西、宁夏两省盐渍土耐盐放线菌中最多, 占总数的 38.1%, 为优势类群。

**关键词:** 半干旱地区; 耐盐放线菌; 数值分类; 聚类分析

**中图分类号:** Q949.32    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1000-7601(2006)03-0207-04

耐盐放线菌是极端微生物的重要组成部分, 是一类极具应用前景的微生物资源。它们主要存在于盐湖、盐碱地、盐田和用盐保存的食品中。耐盐放线菌具有特殊的生理特征和代谢途径, 可产生多种酶及生物活性物质, 因而在工业、化工、食品以及基础研究等领域具有巨大的应用价值<sup>[1]</sup>。我国对耐盐放线菌的分类研究起步于 20 世纪 80 年代中期, 目前报道的主要是云南大学微生物所姜成林等和河北大学张利平等的工作<sup>[2]</sup>。系统而深入的研究工作以待进一步开展, 这对于开发和利用我国耐盐放线菌资源具有重要的理论和实用价值。

数值分类学通常也称为统计分类学 (Taxometrics), 它是按等权原则用数值的方法评价有机体之间的相似性或相异性, 根据相似值对这些有机体进行分群归类的一种现代生物分类方法<sup>[3]</sup>。本试验采用了数值分类的方法对西北半干旱地区 21 株耐 18%NaCl 的放线菌进行聚类分析, 并结合它们的形态和培养特征将其归为不同的表观群(属和类群), 为进一步的分子生物学分类研究和种的鉴定提供了可靠的依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株来源

试验菌株由采自陕西和宁夏两省的盐碱土样中分离而得, 分离所用放线菌培养基为: 改良高氏一号琼脂, 盐浓度为 1%, 加 75 μg/ml K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 抑制真菌生长。

通过不同盐浓度梯度筛选出 01F10、11F23、20F03、21F15、22F02、02H13、02H14、04H01、09J03、14H03、14J09、14J12、14J16、17J01、24J02、28D01、32J01、56J02、57A01、59H05 和 59H05' 21 株耐 18% NaCl 的放线菌。

### 1.2 试验性状分析

性状的选择参考《放线菌的分类和鉴定》<sup>[4]</sup>一书, 主要进行了形态结构、培养特征、生理生化特性、碳、氮源利用、生长条件及对抗生素的敏感性等 7 类 89 项试验的测定。(试验项目见表 1)

### 1.3 试验方法

1.3.1 形态观察 采用改良高氏一号琼脂平皿埋片法, 28℃ 培养 7~14 d 后观察, 记录孢子丝的形态。

1.3.2 培养特征观察 将供试菌株接种在改良高氏一号琼脂斜面上, 28℃ 培养 7~14 d 后观察, 记录基丝、气丝和可溶性色素的颜色, 参照《链霉菌鉴定手册》色谱<sup>[5]</sup>。

1.3.3 生理生化特性试验<sup>[6]</sup> 牛奶石蕊试验采用乌里克牛乳培养基, 产 H<sub>2</sub>S 试验采用柴斯纳 (Tresner) 培养基, 产黑色素试验采用酪氨酸琼脂培养基, 唯一碳、氮源利用采用普戈二氏 (Pridham & Gottlieb) 培养基, 其他常规试验参照《放线菌分类基础》中的方法。

1.3.4 生态条件试验 采用改良高氏一号琼脂培养基接种供试菌株, 观察在不同温度、pH 条件下的生长状况。

收稿日期: 2005-10-05  
基金项目: 西北农林科技大学土壤学博士点基金  
作者简介: 李 丽 (1978—), 河北唐山人, 在读硕士研究生, 研究主向为微生物资源利用。  
通讯作者: 来航线 (1964—), 男, 陕西礼泉人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事微生物资源利用和微生物生态方面的研究。

表 1 耐盐放线菌聚类分析特征表

Table 1 the clustering analytic characteristic table of saline tolerance actinomycetes

|                                                        |                                          |                                                                         |                                           |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 形态结构<br>shape and structure                            | 23. 牛奶石蕊产酸<br>milk litmus produce acid   | 47. 马尿酸钠<br>sodium hippurate                                            | 70. pH 6                                  |
| 1. 孢子丝直线型<br>spore thread linetype                     | 24. 牛奶石蕊产碱<br>milk litmus produce alkali | 48. 丙酮酸钠<br>pyruvic acid sodium                                         | 71. pH 8                                  |
| 2. 孢子丝波曲型<br>spore thread wavetype                     | 25. 牛奶石蕊胨化<br>milk litmus peptonilation  | 49. 酒石酸钠<br>tartaric acid sodium                                        | 72. pH 10                                 |
| 3. 孢子丝螺旋型<br>spore thread helixtype                    | 26. 牛奶石蕊凝固<br>milk litmus coagulation    | 50. 琥珀酸钠<br>amber acid sodium                                           | 73. pH 12                                 |
| 培养特征<br>culture characteristic                         | 27. 牛奶石蕊还原<br>milk litmus deoxidize      | 氮源 nitrogen                                                             | 抗生素敏感性<br>antibiotic sensitivity          |
| 4. 气丝白色<br>aerial mycelium white                       | 28. 纤维素利用<br>cellulose degradation       | 51. 尿素<br>urea                                                          | 74. 青霉素 5μg/ml<br>penicillin 5μg/ml       |
| 5. 气丝灰色<br>aerial mycelium gray                        | 碳源 carbon                                | 52. KNO <sub>3</sub><br>potassium nitrate                               | 75. 青霉素 50μg/ml<br>penicillin 50μg/ml     |
| 6. 气丝褐色<br>aerial mycelium brown                       | 29. D-葡萄糖<br>D-glucose                   | 53. NaNO <sub>2</sub><br>sodium nitrite                                 | 76. 青霉素 100μg/ml<br>penicillin 100μg/ml   |
| 7. 气丝黄色<br>aerial mycelium yellow                      | 30. D-阿拉伯糖<br>D-Arabinose                | 54. (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub><br>ammonium sulfate | 77. 青霉素 300μg/ml<br>penicillin 300μg/ml   |
| 8. 气丝粉红色<br>aerial mycelium pink                       | 31. D-木糖<br>D-xylose                     | 55. 酪氨酸<br>tyrosine                                                     | 78. 链霉素 5μg/ml<br>streptomycin 5μg/ml     |
| 9. 基丝无色/白色<br>substrate mycelium<br>colorless/ white   | 32. L-鼠李糖<br>L-cascara                   | 56. 丝氨酸<br>serine                                                       | 79. 链霉素 50μg/ml<br>streptomycin 50μg/ml   |
| 10. 基丝黄色<br>substrate mycelium yellow                  | 33. D-果糖<br>D-fructose                   | 57. 烟酰胺<br>niacinamide                                                  | 80. 链霉素 100μg/ml<br>streptomycin 100μg/ml |
| 11. 基丝褐色<br>substrate mycelium brown                   | 34. 蔗糖<br>sucrose                        | 58. DL-天门冬氨酸<br>DL-asparagine                                           | 81. 链霉素 300μg/ml<br>streptomycin 300μg/ml |
| 12. 基丝紫色<br>substrate mycelium purple                  | 35. 棉子糖<br>raffinose                     | 59. 甘氨酸<br>glycin                                                       | 82. 庆大霉素 5μg/ml<br>gentamicin 5μg/ml      |
| 13. 可溶性色素无色<br>soluble pigment colorless               | 36. DL-肌醇<br>DL-phaseomannite            | 60. L-甲硫氨酸<br>L-methionine                                              | 83. 庆大霉素 50μg/ml<br>gentamicin 50μg/ml    |
| 14. 可溶性色素黄色<br>soluble pigment yellow                  | 37. D-甘露醇<br>D-mannitol                  | 61. DL-丙氨酸<br>DL-alanine                                                | 84. 庆大霉素 100μg/ml<br>gentamicin 100μg/ml  |
| 15. 可溶性色素褐色<br>soluble pigment brown                   | 38. 半乳糖<br>galactose                     | 62. L-精氨酸<br>L-arginine                                                 | 85. 庆大霉素 300μg/ml<br>gentamicin 300μg/ml  |
| 16. 可溶性色素青色<br>soluble pigment cyan                    | 39. 乳糖<br>lactose                        | 63. L(+)-谷氨酸<br>L(+)-glutamic                                           | 86. 红霉素 5μg/ml<br>erythromycin 5μg/ml     |
| 生理生化特性<br>physiological biochemistry<br>characteristic | 40. 麦芽糖<br>maltose                       | 64. L-苯丙氨酸<br>L-benzedrine                                              | 87. 红霉素 50μg/ml<br>erythromycin 50μg/ml   |
| 17. 明胶液化<br>gelatin liquefies                          | 41. 甘露糖<br>mannose                       | 65. 腺嘌呤<br>adenine                                                      | 88. 红霉素 100μg/ml<br>erythromycin 100μg/ml |
| 18. 淀粉水解<br>starch hydrolysis                          | 42. 甘油<br>glycerol                       | 生长条件<br>growth condition                                                | 89. 红霉素 300μg/ml<br>erythromycin 300μg/ml |
| 19. 硝酸盐还原<br>nitrate deoxidize                         | 43. 山梨醇<br>sorbitol                      | 66. 温度 25℃<br>temperature 25℃                                           |                                           |
| 20. 卵磷脂酶测<br>lecithinase determine                     | 44. 醋酸钠<br>sodium acetate                | 67. 温度 35℃<br>temperature 35℃                                           |                                           |
| 21. 产生 H <sub>2</sub> S<br>produce H <sub>2</sub> S    | 45. 柠檬酸钠<br>sodium citrate               | 68. 温度 45℃<br>temperature 45℃                                           |                                           |
| 22. 产生黑色素<br>produce melanin                           | 46. 草酸钠<br>oxalic acid sodium            | 69. 温度 55℃<br>temperature 55℃                                           |                                           |

1.3.5 抗生素敏感试验 采用常规药敏试验方法，将供试菌株点接于加入不同浓度抗生素的改良高氏一号琼脂培养基上，28℃下培养 7~14 d，观察并记录菌株生长情况。

1.3.6 聚类分析 采用 DPS 数据处理软件对这 21 株放线菌的所有形态培养特征、生理生化特性及生

(C)1994-2025 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

态条件等 89 项指标进行聚类分析,并由此生成树状图<sup>[7]</sup>。

2 结果与讨论

2.1 聚类分析

21 株试验菌的 89 项特征性状的数值分类结果全部都表现在聚类树状图(图 1)中。

所试验的全部菌株在 0.66 的水平上聚在一起。在 0.42 的水平上,它们可形成 10 个表观群。第 I 群包括 8 株菌,即 01F10、24J02、02H14、14J16、

56J02、59H05、14J09 和 57A01,其相似值为 0.40。第Ⅱ群包括 1 株菌,即 02H13。第Ⅲ群包括 1 株菌,即 59H05'。第Ⅳ群包括 1 株菌,即 28D01。第Ⅴ群包括 2 株菌,即 21F15 和 04H01,其相似值为 0.30。第Ⅵ群包括 2 株菌,即 09J03 和 17J01,其相似值为 0.35。第Ⅶ群包括 1 株菌,即 14J12。第Ⅷ群包括 2 株菌,即 11F23 和 22F02,其相似值为 0.37。第Ⅸ群包括 2 株菌,即 20F03 和 32J01,相似值为0.42。第Ⅹ群包括 1 株菌,即 14H03。

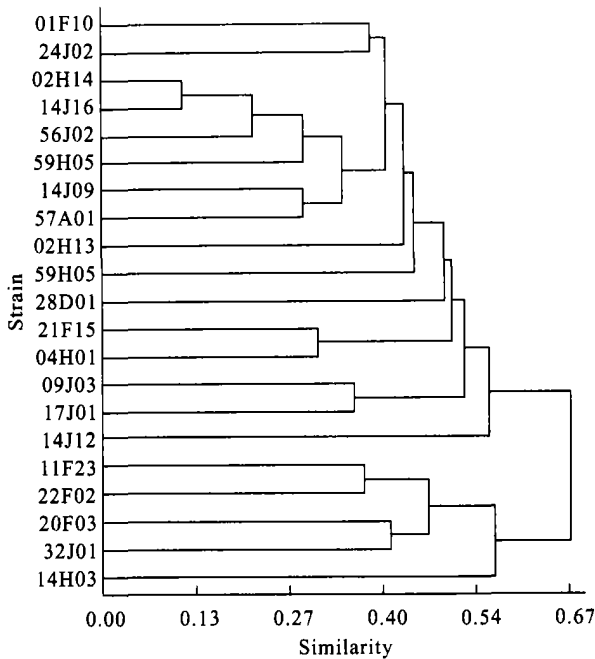


图 1 21 株耐盐放线菌的聚类分析树状图

Fig. 1 the clustering analytic dendrogram of 21 saline tolerance actinomycetes

表 2 耐盐放线菌各类群的形态和培养特征

Table 2 the shape and culture characteristic of saline tolerance actinomycetes

| 菌株号<br>strain number                                    | 孢子丝<br>spore thread   | 基丝<br>substrate<br>mycelium | 气丝<br>aerial<br>mycelium | 可溶性色素<br>soluble<br>pigment | 类群<br>clusters     |
|---------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------|
| 01F10、24J02、02H14、<br>14J16、56J02、59H05、<br>14J09、57A01 | 直或螺旋<br>line or helix | 黄—褐<br>yellow—brown         | 褐灰<br>brown gray         | 有<br>have                   | 金色类群 Aureus        |
| 02H13                                                   | 直型 line               | 无色 colorless                | 灰色 gray                  | 无 nothing                   | 烬灰类群 Cinerogriseus |
| 59H05'                                                  | 螺旋 helix              | 无色 colorless                | 粉红 pink                  | 无 nothing                   | 粉红孢类群 Roseosporus  |
| 21F15、04H01                                             | 直型 line               | 无色—黄褐<br>colorless—brown    | 淡绿灰黄<br>green and yellow | 有 have                      | 球孢类群 Globisporus   |
| 09J03、17J01                                             | 螺旋 helix              | 黑褐 dark brown               | 灰褐 gray brown            | 有 have                      | 灰褐类群 Griseofuscus  |
| 11F23、22F02                                             | 直或波曲 line or wave     | 白色 white                    | 白色 white                 | 无 nothing                   | 白孢类群 Albosporus    |
| 20F03、32J01                                             | 直或螺旋 line or helix    | 黄色 yellow                   | 黄白—白色 yellow—white       | 无 nothing                   | 黄色类群 Flavus        |
| 14H03                                                   | 螺旋 helix              | 墨绿 dark green               | 灰绿 gray green            | 有 have                      | 绿色类群 Viridis       |
| 28D01                                                   | 无 zero                | 白色 white                    | 白色 white                 | 无 nothing                   | 待定 undecided       |
| 14J12                                                   | 无 zero                | 黄褐 brown                    | 褐色 brown                 | 有 have                      | 待定 undecided       |

2.2 菌种鉴定

根据树状图谱的分析结果以及形态和培养特征的观察结果,我们将 21 株耐 18%NaCl 的放线菌归为链霉菌的八个类群和两个待定种。第 I 群为金色类群,第 II 群为烬灰类群,第 III 群为粉红孢类群,第 V 群为球孢类群,第 VI 群为灰褐类群,第 VIII 群为白孢类群,第 IX 群为黄色类群,第 X 群为绿色类群,第 IV 群和第 VII 群为待定种。各类群形态和培养特征见表 2,生理生化特性略。

另外,我们还可以看出,陕西、宁夏两省盐渍土中耐盐放线菌以金色类群最多,占总数的 38.1%,为优势类群。

但此结果尚不能完全作为定种的依据。在此实验的基础上正在进行分子分类学的研究,待完成这些实验内容之后,才能确定待试菌株之间的关系,此项研究作为下一步试验提供了参考依据、由此可以看出,数值分类虽不能确定种间的确切关系,但能为分子分类方法提供一些参考依据,以便考察他们

之间的 DNA—DNA 同源性。同时也可以看出,表观型相似性较大的菌种之间,也存在着较大的差异,而这个差异将有可能靠分子生物学方法的分子分类指标得到解决。

参 考 文 献:

[1] 姜成林,徐丽华. 微生物资源开发利用[M]. 北京:中国轻工业出版社,2001.  
[2] 阮继生,刘志恒. 放线菌研究及应用[M]. 北京:科学出版社,1990.  
[3] 张利平,陈文新,阮继生,等. 链孢囊放线菌及其相关菌的数值分类研究[J]. 微生物学报,1996,36(5):3284—3289.  
[4] 阎逊初. 放线菌的分类和鉴定[M]. 北京:科学出版社,1992.  
[5] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 链霉菌鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,1975.  
[6] 阮断生. 放线菌分类基础[M]. 北京:科学出版社,1977. 163—167.  
[7] 唐启义,冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京:科学出版社,2002.

A study on numerical taxonomy of 21 syrains saline tolerance actinomicetes

LI Li, QIANG Yu-rong, LAI Hang-xian, QIAO Zheng-liang, MO Gui-lin

(College of Resources and Environment, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yanglin, shanxi 712100, China)

**Abstract:** 21 strains actinomycetes of tolerated 18% NaCl were compared with numerical classification using 89 characteristics. The results indicated that; all tested strains were clustered altogether at 0.66 similarity level. At 0.42 level, they became ten clusters, and belonged to 8 clusters of streptomyces and 2 unknown strains. Cluster I was aureus, Cluster II was cinerogriseus, Cluster III was roseosporus, Cluster V was globisporus, Cluster VI was griseofuscus, Cluster VIII was albosporus, Cluster IX was flavus, Cluster X was viridis, Cluster IV and VII was unknown. Besides, aureus was superiority cluster among saline tolerance actinomycetes in salt soils of Shaanxi and Ningxia provinces.

**Keywords:** saline tolerance actinomycetes; numerical taxonomy; cluster analysis