

闽南地区海岸潮间带链霉菌的 分布及其抗菌性能研究

周美英 郑志成 姚炳新

(厦大学生物系)

摘 要

本文报道福建南部厦门、龙海、泉州和东山等地潮间带海泥中链霉菌 (*Streptomyces*) 的分布及抗菌性能研究。结果表明, 这些地区海泥链霉菌的平均含菌量为 2.1×10^4 个/g (干泥); 共包括12个类群, 以灰、金色和灰红紫类群分布最广, 菌株比率最高, 青色、蓝色类群分布较窄, 比率也低; 具有抗菌性能的拮抗性菌株数占34.8%, 以抗金黄色葡萄球菌的分布最广, 比率最高, 抗变形杆菌的居次, 抗绿脓杆菌和白色念珠菌的比率最低, 不少菌株还具有广谱抗菌活性; 海泥链霉菌的类群数、总菌量和拮抗性菌株比率有随环境盐度的不同呈规律性变化; 其他生境对链霉菌类群和总菌量的变化也有较大的影响, 但对拮抗性菌株比率无显著差异; 此外, 生息在潮间带海泥的链霉菌都具有较高的耐盐性, 拮抗性菌株比非拮抗性菌株更为明显。

土壤微生物是现有抗生素的最主要产生菌, 近年来随着海洋微生物学的发展, 新抗生素筛选有从土壤微生物扩大到海洋微生物的趋势。国外对海洋微生物的分布、海洋拮抗性微生物的分离及其产生的抗生素已有不少研究, 涉及的微生物包括细菌、霉菌、放线菌和担子菌; 研究的地理环境有海湾入口、陆地沿海、海岛周围浅海直至外洋深海的海水悬浮物、沉积物、海滩及海底污泥^[1-7]。迄今, 我国仅在海洋细菌的生态分布、分离培养等方面的研究有一些报道, 有关海洋拮抗性链霉菌方面的研究尚未见报道。

本文报道海岸潮间带海泥中链霉菌的分布及抗菌性能的研究结果, 它对深入探索海岸潮间带拮抗性链霉菌分布规律, 开发新抗生素和其他生物活性物质资源有着重要的意义。

一、材料与方 法

1. 采样地点与方法

样品采自福建南部沿海地区包括厦门的鼓浪屿、厦大、嵩屿和集美, 龙海的石码、角

本文于1987年8月20日收到, 修改稿于1988年7月5日收到。

• 宋思扬、林 琴、孙亚萍、史美容、罗 文、杨常胜等同志参加部分地区的采样和菌种分离、鉴定工作。

尾、石美、海澄、白礁、浮宫和屿仔尾、泉州的后绪及东山等地。采样时间1982—1985年每年3月底—4月。采样方法是海水退至最低潮后, 除去泥滩表面土2—3cm后取泥样, 记录土质和植被等情况, 海泥装于预先灭菌的广口瓶内。

2. 链霉菌的分离与纯化

培养基, 高氏合成一号琼脂⁽⁸⁾。

海泥样品用平板稀释法, 经28°C培养5—7天, 计数并挑菌, 再移接至新鲜培养基上, 28°C进行5—7天的纯化培养。

3. 链霉菌的类群鉴定

挑取纯化菌株、移接至上述新鲜培养基上, 28°C培养14天, 按链霉菌12个类群分类法进行类群鉴定并归类^(8, 9)。

4. 抗菌性能测定

试验菌, 选用金黄色葡萄球菌209 p (*Staphylococcus aureus* 209 p)、变形杆菌 (*Proteus vulgaris*)、绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 和白色念珠菌 (*Candida albicans*) 作为抗菌性能测定的试验菌。试验菌均由中国科学院微生物研究所提供。

测定方法, 初筛用琼脂块法。经初筛的拮抗性菌株在黄豆饼粉玉米浆培养基内, 28°C摇床培养96小时, 取发酵滤液用打洞法测定抗菌性能。

5. 盐度及样品含水量的测定

用Mohr-Knadsen法测定盐度⁽¹⁰⁾, 干燥恒重法测定含水量。

6. 耐盐性试验

以链霉菌纯化菌株移接于含不同NaCl浓度的高氏合成一号琼脂培养基斜面上, 28°C培养15天, 置低倍镜下观察记录生长情况, 并以陆生的细黄链霉菌 (*S. microflavus*) 和珠孢链霉菌 (*S. glabispurus*) 作为对照。

二、结果与讨论

1. 不同生态环境海泥中链霉菌的数量分布

链霉菌的分布与生态环境有着密切的关系, 我们从具有不同生态环境的潮间带采样,

表1 不同生态环境中链霉菌的数量分布

生态环境	盐度	样品数	样品平均含菌量(个/g干泥)
渡口泥滩	2.0	4	5.0×10^4
红树林泥滩	28.9	6	1.1×10^4
牡蛎养殖场	27.8	4	2.6×10^4
虎苔泥滩	29.1	6	2.4×10^3
不长植被的泥滩	27.3	6	3.7×10^3
不长植被的沙泥滩	28.2	4	5.0×10^2

进行链霉菌的分离、计数、比较不同环境中链霉菌的数量分布，结果如表 1。

从表 1 可以看出，渡口、牡蛎养殖场及红树林泥滩中链霉菌的数量最多，生长虎苔的

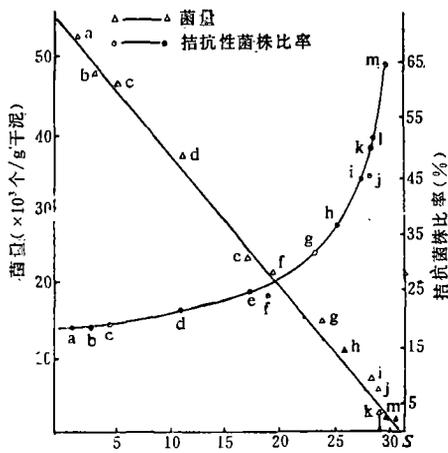


图1 环境盐度与链霉菌数量及其拮抗性菌株比率的关系

- a—石码 b—石美 c—海澄 d—角美
- e—浮宫 f—白礁 g—泉州 h—屿仔尾
- i—集美 j—鼓浪屿 k—厦门大学
- l—嵩屿 m—东山

实验表明，潮间带海泥中含有链霉菌数量平均为 2.1×10^4 个/g干泥，其中拮抗性菌株平均比率为34.8%。但不同地区之间链霉菌数量及其拮抗性菌株比率则随环境盐度的不同而有明显的变化。在本研究的环境盐度(2.0—30.2)范围内，链霉菌的数量以盐度最低(2.0)的石码地区海泥中最多，为 5.2×10^4 个/g干泥。随着盐度的升高，菌的数量呈直线下降。盐度最高(30.2)的东山地区，菌的数量最少，为 1.9×10^3 个/g干泥。链霉菌中拮抗性菌株的比率也随环境盐度的不同而有规律的变化，在盐度为2.0—19.2的范围内，盐度升高，拮抗性菌株的比率略有上升，其比率为18.2—23.4%之间；当盐度为23.5—30.2，拮抗性菌株比率随盐度的升高而成指数曲线上升，比率达31.7—64.0%。

由此可见，环境盐度对链霉菌数量及其拮抗性菌株比率有十分显著的影响；菌的数量随环境盐度的升高而降低；但拮抗性菌株比率则随盐度的升高而增加。这一结果与陆地盐碱土中拮抗性放线菌比率随盐度的升高而增加的报道相符^[11]。因此可以认为，从盐度较高的潮间带海泥中可以分离得到较多的拮抗性链霉菌。

3. 不同地区潮间带海泥中链霉菌的类群分布

对闽南 13 个地区潮间带海泥样品中分离得到的 1 301 株链霉菌，按 12 个类群分类法^[9]鉴定归类，结果列于表2。

表 2 结果表明，这些地区海泥中含有所有类群的链霉菌、并以灰、金色和灰红紫 3 个类群分布最广，菌量最多，分别占全部分群菌株的25.4%，17.2%和13.5%。其次是淡紫灰、粉红孢、灰褐，吸水和黄色 5 个类群，其菌株比率分别为 10.2%，7.9%，6.5% 6.5%和4.9%。绿色、白孢、蓝色和青色4个类群分布最窄，其比率也最低，分别为2.5%，

泥滩居次，不生长其他植被的沙泥滩中菌的数量最少。这一结果表明，海泥的类型、有机物质含量和其他生物类群的存在情况对链霉菌的数量有显著的影响。而生态环境中的盐度对链霉菌的数量分布也有着直接的影响。

2. 环境盐度与海泥中链霉菌的数量分布及拮抗性菌株比率的关系。

海岸潮间带与陆地具有不同的生态环境，不同地区潮间带之间所处的环境也各有差异。而诸环境因子中盐度是一个重要的因子，它对海洋微生物的分布有着明显的影响。为了研究环境盐度与链霉菌数量分布的关系，我们对闽南沿海具有不同盐度的13个地区潮间带海泥样品共64份，分别进行链霉菌的分离、计数，从中挑出1301株进行拮抗性试验，统计拮抗性菌株比率，结果如图 1。

2.4%, 1.7%和1.6%。

表2结果还表明,环境盐度与链霉菌的类群组成也有一定的关系。低盐度地区类群少,如盐度为2.0的石码海泥中链霉菌只有烬灰、金色和灰红紫3个类群,随着盐度的升高,链霉菌的类群增多,在盐度为3.6—19.2范围内,每个取样点都有5—7个类群的链霉菌。盐度升至23.5—30.2范围,其类群达9—11个。此外,不同地区链霉菌的优势类群也有所不同。

4. 海泥链霉菌的耐盐性

海洋微生物有依盐型和耐盐型,有的还能耐100—250的盐浓度^[3]。为研究潮间带海泥链霉菌的耐盐性,将海泥链霉菌分别接入含有不同NaCl浓度的高氏合成一号琼脂斜面培养基上培养,并以陆生链霉菌作对照,15天后通过肉眼及低倍镜下观察其生长情况,结果如表3。

表3 海泥链霉菌与陆地链霉菌的耐盐性比较

培养基中含NaCl浓度 (%)	海泥链霉菌生长情况 (%)			陆地链霉菌生长情况	
	良好	较差	不生长	细黄链霉菌	球孢链霉菌
0	100	0	0	+	+
2	92.5	7.5	0	+	+
4	62.8	29.8	3.4	+	—
6	50.4	36.4	13.2	—	—
8	23.9	47.1	29.0	—	—
10	10.1	56.2	33.7	—	—

+表示生长; —表示不生长。

从表3可以看出,在含6%NaCl高氏合成一号琼脂培养基上,陆生链霉菌已不能生长,而海泥链霉菌有50.4%的菌株能良好生长,36.4%的菌株生长较差。当培养基含10%NaCl时,海泥链霉菌尚有10.1%的菌株能良好生长,56.2%的菌株生长较差。说明生息在潮间带海泥中的链霉菌比陆地链霉菌具有更高的耐盐性。这一结果与有关海分放线菌比陆分放线菌的耐盐性高的报道相一致^[3]。

以含8%NaCl浓度的高氏一号琼脂培养基对海泥链霉菌中的拮抗性菌株与非拮抗性菌株的耐盐性作进一步比较试验,结果如表4。

从表4可以看出,在8%NaCl高氏合成一号琼脂培养基上拮抗性链霉菌生长率达90.1%,非拮抗性链霉菌的生长比率为45.9%,这一结果表明,链霉菌中拮抗性菌株比非拮抗性菌株具有更高的耐盐性。至于产生这一差别的原因,尚待进一步的研究。

5. 不同地区潮间带海泥拮抗性链霉菌的抗菌性能

从13个地区潮间带海泥分离得到1301株链霉菌,分别测定其对4种试验菌的抗菌性

能，结果如表5。

表4 拮抗性菌株与非拮抗性菌株耐盐性的比较

菌株类型	试验菌株数	生 长		不 生 长	
		株 数	比率 (%)	株 数	比率 (%)
非拮抗性菌株	37	20	54.1	17	45.9
拮抗性菌株	81	73	90.1	8	9.9

两种类型菌株均在含8% NaCl的培养基中培养。

表5 不同地区潮间带海泥拮抗性链霉菌抗菌性能的比较

采样地点	试 验 菌株数	拮 抗 性 链 霉 菌 *		抗 菌 性 能 **							
				金黄色葡萄球菌		变形杆菌		绿脓杆菌		白色念珠菌	
		株 数	%	株 数	%	株 数	%	株 数	%	株 数	%
石 码	88	16	18.2	10	62.5	8	50.0	0	0	0	0
石 美	89	17	19.1	13	76.5	5	29.4	2	11.8	4	23.5
海 澄	92	18	19.5	15	83.3	10	55.6	1	5.6	3	16.7
角 尾	149	32	21.4	25	78.1	15	46.9	1	3.1	18	56.3
浮 宫	111	27	24.3	20	74.1	17	63.0	5	18.5	0	0
白 礁	77	18	23.4	18	100	3	16.7	3	16.7	6	33.3
泉 州	85	27	31.7	22	81.5	15	55.6	8	29.6	0	0
屿 仔 尾	100	36	36.0	32	88.9	18	50.0	16	44.4	6	16.7
集 美	99	44	44.4	37	84.1	17	38.6	9	20.5	24	54.5
鼓浪屿	101	45	44.6	39	86.7	8	17.8	13	28.8	16	35.6
厦门大学	96	48	50.0	40	83.3	18	37.5	20	41.7	30	62.5
嵩 屿	89	45	50.5	42	93.3	9	20.0	22	48.9	11	24.4
东 山	125	80	64.0	70	87.5	27	33.8	27	33.8	18	22.5
合 计	1031	453	34.8	1383	84.5	170	37.5	121	26.7	136	30.0

• 对4种试验菌中任何一种或数种具有抑制作用者。

• 此栏内的%是指占拮抗性菌株的百分率。

表5表明，海泥链霉菌中拮抗性菌株平均比率为34.8%，其中对金黄色葡萄球菌有抑制作用的比率最高，占总拮抗性菌株的84.5%，分布最广；对变形杆菌有抑制作用的居次，其比率为拮抗性菌株的37.5%；对白色念珠菌和绿脓杆菌有抑制作用的比率较低，分

表6 不同类群的链霉菌抗菌性能的比较

类 群 名 称	试 验 菌株数	拮抗性 链霉菌*		抗 菌 性 能**							
				金黄色葡萄球菌		变形杆菌		绿脓杆菌		白色念珠菌	
		株数	%	株数	%	株数	%	株数	%	株数	%
吸 水	85	36	42.4	30	83.3	20	55.6	11	30.6	8	22.2
白 孢	31	3	9.7	1	33.3	0	0	0	0	3	100
黄 色	64	30	46.9	20	66.7	12	40.0	8	26.7	11	36.7
粉红孢	103	42	40.8	32	76.2	15	46.9	18	42.9	22	52.4
淡紫灰	133	74	55.6	70	94.6	25	33.3	17	23.0	20	27.0
青 色	21	5	23.8	5	100	2	40.0	0	0	0	0
烬 灰	327	105	32.1	90	85.7	38	36.2	26	24.8	28	26.7
绿 色	32	7	21.9	7	100	2	28.6	0	0	2	28.6
蓝 色	22	3	13.6	3	100	0	0	0	0	0	0
灰红紫	175	43	24.6	40	93.0	17	39.5	13	30.2	13	30.2
灰 褐	84	21	25.0	15	71.4	11	52.4	10	47.6	9	42.9
金 色	224	84	37.5	70	83.3	28	33.3	18	21.4	20	23.8
合 计	1310	453	34.8	383	84.5	170	37.5	121	26.7	136	30.0

°, • • 说明同表5.

别为拮抗菌株的30.0%和26.7%。

从表5统计结果还可以看出,多数地区分离得到的拮抗性链霉菌中,有一定数量菌株的抗菌性能具有光谱性,它们对细菌和真菌都有抑制作用。从对绿脓杆菌和白色念珠菌有抑制作用的拮抗性菌株比率看,似有从盐度较高的海泥中更易分离到的趋势。

6. 不同类群链霉菌抗菌性能的比较

我们进一步对不同类群链霉菌的拮抗性菌株比率及其抗菌性能作比较,结果如表6。

表6说明,拮抗性链霉菌中以淡紫灰、黄色、吸水和粉红孢4个类群抗菌比率最高,分别为55.5%, 46.9%, 42.4%与40.8%,其次是金色和烬灰2个类群,比率分别为37.5%

与32.1%。以蓝色和白孢类群比率最低，只占13.6%与9.7%。可见，在海泥中的链霉菌，拮抗菌株的比率在不同类群间亦有明显的差异。

从表6还可以看出，不同类群的拮抗性链霉菌对4种试验菌的拮抗作用也有不同。对金黄色葡萄球菌有抑制作用者，以青色、绿色、蓝色、淡紫灰和灰红紫5个类群的比率为最高，对变形杆菌和绿脓杆菌有抑制作用者，以灰褐和粉红孢2个类群为最高，对白色念珠菌有抑制作用者，则以白孢，粉红孢和灰褐3个类群为最高。在拮抗性链霉菌中，灰褐、灰红紫，吸水，淡紫灰、烬灰和粉红孢等类群还是有广谱的抗菌性能。

参 考 文 献

- [1] Grein, A. and S. P. Meyers, Growth characteristics and antibiotic production of actinomycetes isolated from littoral sediments and materials suspended in seawater, *J. Bact.*, **76** (1958), 457—463.
- [2] 冈见吉郎, 1, 2抗生物质源としての海洋微生物, 发酵工业, **37** (1979), 504—516.
- [3] Okami, Y. et al., Studies on marine microorganisms, V. A new antibiotic, aplasmomycin, produced by a streptomycete isolated from shallow sea mud, *J. Antibiotic*, **29** (1979), 1019—1025.
- [4] Okami, Y. et al., New aminoglycoside antibiotic, istamycins A and B, *J. Antibiotic*, **32** (1979), 964—966.
- [5] Okami, Y., Potential use of marine microorganisms for antibiotics and enzyme production, *Pure App. Chem.*, **54** (1982), 1951—1992.
- [6] Kupka, J. et al., Antibiotics from basidiomycetes, XI. The biological activity of isolated from the marine halocyphina villosa, *J. Antibiotic*, **34** (1981), 298—304.
- [7] Umezawa, H. et al., Marinactan, antitumor polysaccharide produced by marine bacteria, *J. Antibiotic*, **36** (1983), 471—477.
- [8] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组编著, 链霉菌鉴定手册, 科学出版社, 1975.
- [9] 樊庆笙、陈华癸主编, 微生物学进展, 农业出版社, 1984.
- [10] 陈国珍主编, 海水分析化学, 科学出版社, 1965.
- [11] 阎逊初, 拮抗性放线菌的生态和分类中的几个问题, 全国第三次抗菌素学术会议论文集, 第一分册, 新抗菌素, 科学出版社, 1965, 20—29.