第9卷 第2期 微 生 物 学 报 Vol. 9, No. 2
1963 年 5 月 ACTA MICROBIOLOGICA SINICA May, 1963

# 麦角碱发酵生产的研究*

陸师义 孔顯良 岳德超 楊云鵬
(中国科学院微生物研究所,北京)(中国医学科学院药物研究所,北京)

麦角碱是妇产科的重要药物，各国目前大多利用野生麦角或在黑麦上利用人工接种所得的麦角作为提取原料。近年来我国虽已开始利用野生麦角并在黑麦上进行麦角菌的接种栽培[2]，但是由于利用寄主植物生产麦角碱受季节及气候条件的限制，不能在短时期内进行大量生产，且成本亦較高。利用发酵过程生产麦角碱是摆脱这些困难和缺点的有希望的途径，具有重大意义。

1931 年以后，不少报告指出麦角菌能在純培养中产生麦角碱[4,7,8,12,13,14,19,20]，但产量往往极低，很多近代工作者事实上不能重复以前的成果[9,10,17]。1954 年以来，Abe 等[4]，Stoll[21] 及 Taber 等[23]用較为精細的方法証实麦角菌在腐生培养中能产生不同种类的麦角碱。德国的研究者在 Rochemeyer 指导下从一个黑麦麦角菌的菌絲中得到較高的含碱量[11]。1956 年瑞士 Sandoz 葯厂[18]利用一个从中欧黑麦上采得的麦角菌系在液体发酵中能产生麦角胺(ergotamine)，麦角异胺(ergotaminine)，麦角新碱(ergonovine)等麦角碱，經 26 天获得菌絲的含碱量为 0.1%，但发酵液的含碱量仅为 0.00075%。1958 年 Taber 和 Vining[24] 利用麦角菌 *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. 的不同菌系在发酵过程中經 35—50 天获得較高的含碱量，每升培养基中含碱量达 23—80 毫克。Arcamone 等[5,6]采用麦角菌 *C. paspali* Stevens & Hall. 在深层发酵中經 6—9 天，每毫升发酵液含麦角酸衍生物为 1 毫克。这些都是比較成功的例子，証明发酵生产有着广闊的前途。

本研究的目的是寻找适合于发酵生产的优良菌种和培养基[1]，为国內利用发酵过程生产麦角碱的研究打下基础。

## 一、材料和方法

**(一) 菌系的来源和分离培养：** 1956 年及 1957 年从盛产麦角的黑龙江璦琿、黑河和河北张北、沽源等地区采集到賴草(*Aneurolepidium dasystachys* (Trin.) Nerski)等 17 种野生麦角寄主，分离出近 400 个菌系，其中 250 个左右的菌系测定了产碱能力。所应用材料見下頁附表：

菌系的分离方法是将菌核切成小块，在 0.1% 升汞水里消毒 3—5 分鈡，用无菌水洗滌 3—4 次，然后移入盛有 PSA 培养基(馬鈴薯 200 克、蔗糖 20 克、洋菜 20 克，加水至 1000 毫升)的培养皿或試管中，在 25℃培养，4—6 天后就能长出白色菌絲。所得菌系在盛有固体培养基的錐形瓶中(100 毫升錐形瓶装 30毫升培养基)进行菌落性状的詳細观察比較，每一分离物重复 3 瓶，重复間菌落形态一致的加以标号作为初篩的菌系，不一致的繼續分离純化，将不同成分的分别标号。培养过程中菌落出現角变的另行分离培养，与原菌种比較，証明确与原菌种不同时作为不同菌系处理。一般从同一菌核分离所得的不同菌系，其菌落形态差别較小，从不同菌核分离的菌系差别較大，从不同寄主所得菌系差异更为悬殊。图 1

* 本文于 1959 年初完稿，現又整理并增加了一些必要的資料。微生物所蔡妙英，陈超英等同志曾参加部分工作。
本文 1963 年 3 月 7 日收到。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

| 寄主植物 | 学名 | 麦角菌种名 | 来源 | 采集日期(年.月.) |
|---|---|---|---|---|
| 賴草 | *Aneurolepidium dasystachys* (Trin.) Nerski | *Claviceps purpurea* (Fri.) Tul. | 河北张北、沽源 | 1957.8. |
| 碱草 | ,, *chinense* (Trin.) Kitag. | ,, | ,, | 1957.8. |
| 扁穗鹅观草 | *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn. | ,, | ,, | 1957.8. |
| | ,, spp. | ,, | 东北九三农場 | 1956.9. |
| 野牯草 | *Arundinella anomala* Stend. | ,, | 北京 | 1957.9. |
| 披碱草 | *Clinelymus dahuricus* (Turcz.) Nevski. | ,, | 河北沽源、宝昌,黑龙江黑河、瑷琿 | 1957.9.,1956.9. |
| 老芒麦 | ,, *sibiricus* (L.) Nevski. | ,, | ,, | 1956.9.,1956.9. |
| 肥披碱草 | ,, *excelsus* (Turcz.) Nevski. | ,, | 黑龙江穆稜 | 1957.9,1956.9. |
| 野青茅 | *Deyeuxia sylvatica* (Schrad.) Kunth. | ,, | 河北沽源 | 1957.8. |
| | *Elymus* sp. | ,, | 东北九三农場 | 1956.9. |
| 紫野麦草 | *Hordeum violaceum* Boiss et Hust. | ,, | 河北沽源 | 1957.9. |
| 布頓大麦草 | ,, *bogdanii* Wilensky | ,, | ,, | 1957.9. |
| 大麦 | ,, *sativum* L. | ,, | 四川乾宁 | 1956.8. |
| 草芦 | *Phalaris arumdinacea* L. | ,, | 东北 | 1956.9. |
| 大油芒 | *Spodiopogon sibiricus* Trin. | ,, | 北京 | 1957.9. |
| 黑麦 | *Secale cereale* L. | ,, | 河北沽源、宝昌 | 1957.9. |
| 拂子茅 | *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth. | ,, | 河北张北,黑龙江瑷琿 | 1957.8,1956.9. |
| | | (以前曾鉴定为 *C. microcephala* (Wallr.) Tul.)* | | |

* 試驗証实一般区分 *C. purpurea* 及 *C. microcephala* 两个不同种的性状变异性較大，不能認为是合理的分类标准，故本文所用有关这两个种的材料仍統称 *C. purpurea*。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

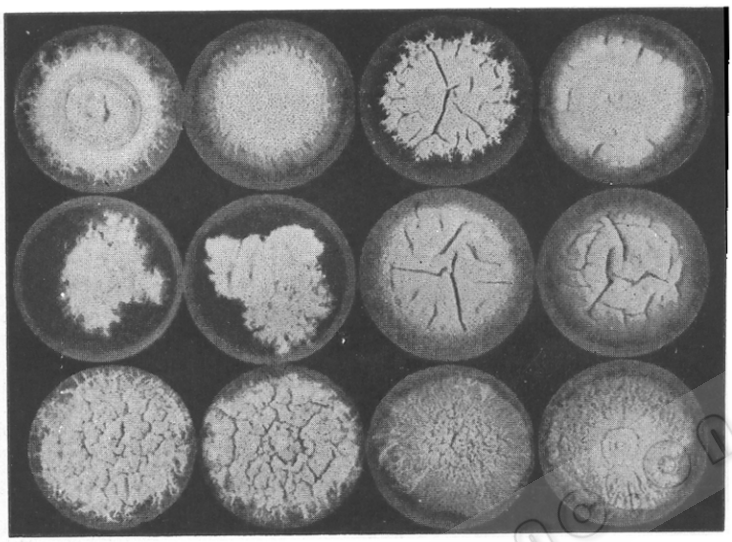


图 1　麦角菌在 PSA 培养基上不同类型的菌落；第 2 行自左第 2 个菌落中有不同类型出现

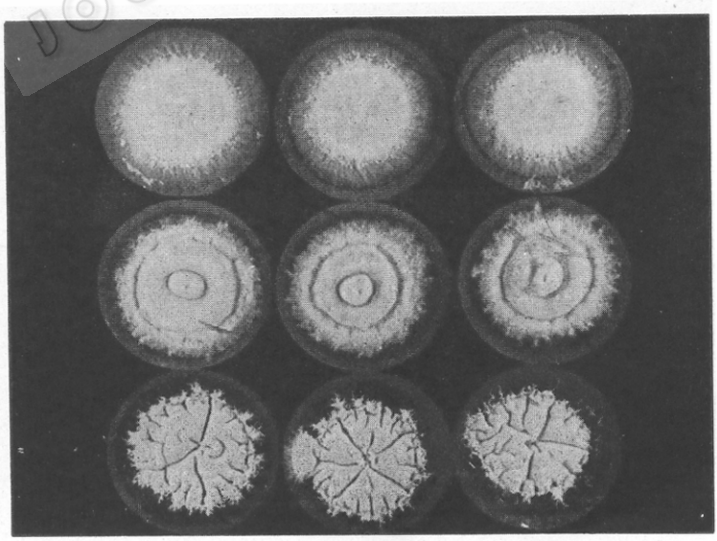
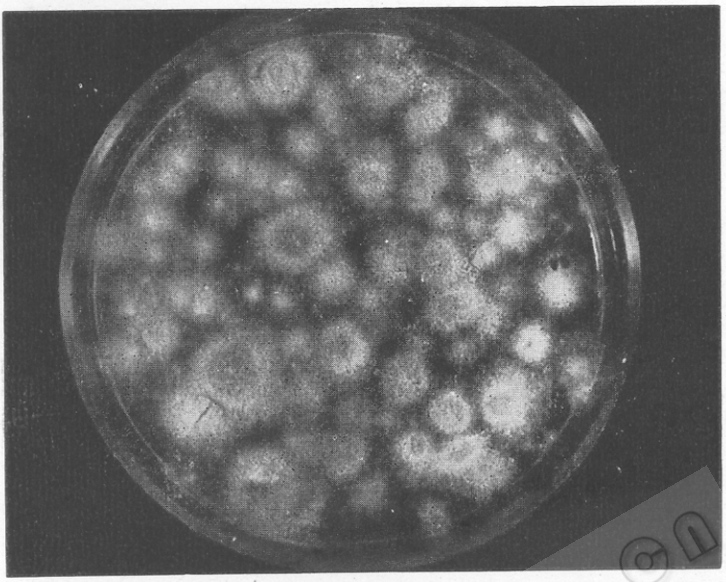
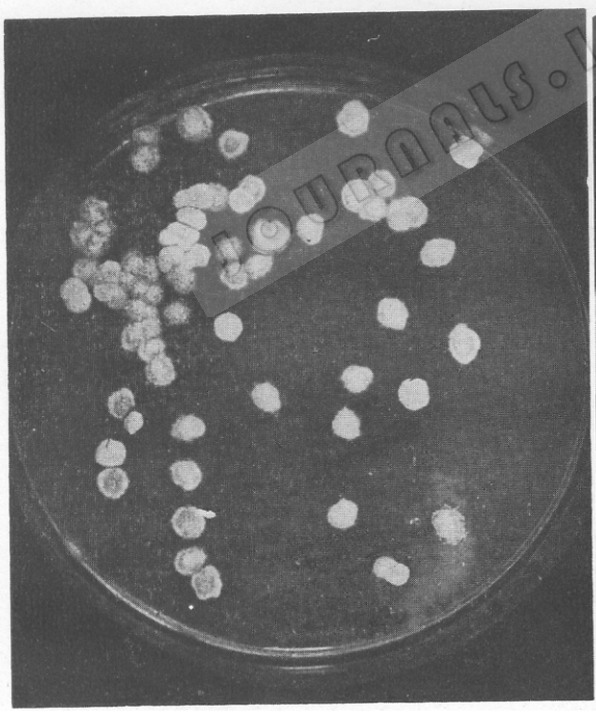


图 2　3 个不同麦角菌系菌落形态的比较，由上至下第一横行为菌系 E56-23，第二行为菌系 H56-20，第三行为 H56-15-2

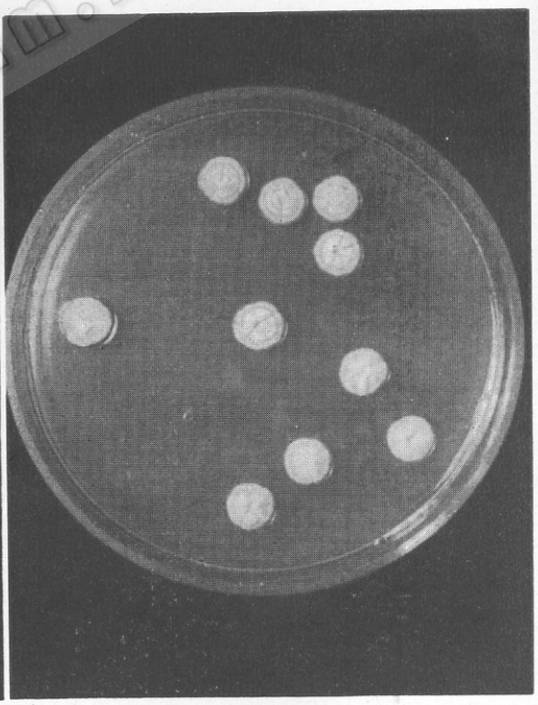
© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn



a



b



c

图 3 麦角菌在 PDA 平板培养中菌落生长性状的控制

a. 在 PDA 培养基上菌落扩散性较强，不易作羣体变异性的观察。
b. PDA 中加 5% NaCl 后菌落扩散性得到較好的控制。
c. 加 NaCl 的 PDA 平板培养中控制数量較少的菌落，其特性易于比較。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

示明不同菌系菌落形态的差异。图 2 示明純菌系不同重复培养間菌落的一致性。进行菌落比較观察时注意其生长速度、菌落的大小、顏色、气生菌絲的多少、菌落的表面特性及边緣性状。在小麦培养基上有麦角碱产生的优良菌系，則取麦粒置于消毒水中振蕩或經牛肉汁液体培养基培养后得其孢子悬浮液，再以适当浓度的悬浮液散播于 PSA 的平板中进行培养，約經一星期漸見小菌落出現后，随机分离 30—50 个菌落至盛有 PSA 的錐形瓶中（每一菌落重复 3 瓶），比較菌落形态，作进一步純化鑒定，如发現有不同菌系出現时，則分別測定其产碱能力。最近发現平板培养时，如在 PSA 或 PDA 中加入 5—10% 食盐（浓度視菌系而异）即可有效控制麦角菌的生长特性，便于直接进行羣体变异的观察（图 3），大大地提高了菌系純度鑒定的效率。

**（二）麦角碱的測定：** 麦角碱的測定主要参照 N. F. 法[22]，McGillivray 和 Metcalf[15] 及 Mukerji 和 De Tempe[16] 的分析方法进行比較試驗，确定 Mukerji 的方法較为簡便可靠。先把充分发酵的麦粒置于暗处，在低于 40℃ 的温度下烤干，然后磨成粉，称取 1 克装在試管或燒瓶中，加入 5% 的 $Na_2CO_3$ 5 毫升振搖，再加入 10 毫升 $CHCl_3$ 猛烈振搖数分鈡，用脫脂棉花滤去乳胶状物，取滤液 3 毫升放入試管中，加入 6 毫升試剂（0.1 克对二甲氨基苯甲醛 +35% 硫酸 100 毫升 +5% $FeCl_3$ 1.5 毫升），用玻璃棒攪动，在暗处靜放 40—50 分鈡，即能充分显色。然后用吸管吸取上层溶液于比色管中进行光电比色，以 6 毫升試剂作为对照，所得之讀数查标准曲綫，計算出麦角碱含量。此外如作为一般定性分析，則称取培养好的麦粒 10 克，装入 100 毫升錐形瓶內，同上法进行測定。液体培养試驗中菌絲及培养基中麦角碱含量的測定主要参考 Michener 和 Snell[17] 的方法进行。称取菌絲粉 200 毫克放在离心管中，加 4 毫升乙醚，0.3 毫升 1.75 *M* 的 $NH_4OH$，振搖过夜，离心后，取出乙醚液，余留物再用 2 毫升乙醚提取。将乙醚提取液加 0.1 *N* $H_2SO_4$ 0.3 毫升，振搖 15 分鈡，同时离心，吸出提取液，再加 0.1 *N* $H_2SO_4$ 提取一次，此提取液加試剂进行比色。培养液的提取是取 5 毫升培养液于离心管內，用等量的乙醚，同时加入 0.5 毫升 1.5 *M* 的 KOH 和 0.5 毫升 1.5 *M* 的 $K_2HPO_4$，使 pH 值为 8 左右，搖动 15 分鈡，同时离心，吸取乙醚提取液在燒杯中使蒸发尽，加 0.1 *N* 的 $H_2SO_4$ 洗之，洗下的液体加試剂并进行比色。以上菌絲和培养液的提取液用二倍的 van Urk 試剂混合（对二甲氨基苯甲醛 0.5%；$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.008%；加入 60% $H_2SO_4$ 中），放置 1 小时，待蓝色反应充分发展后进行光电比色。

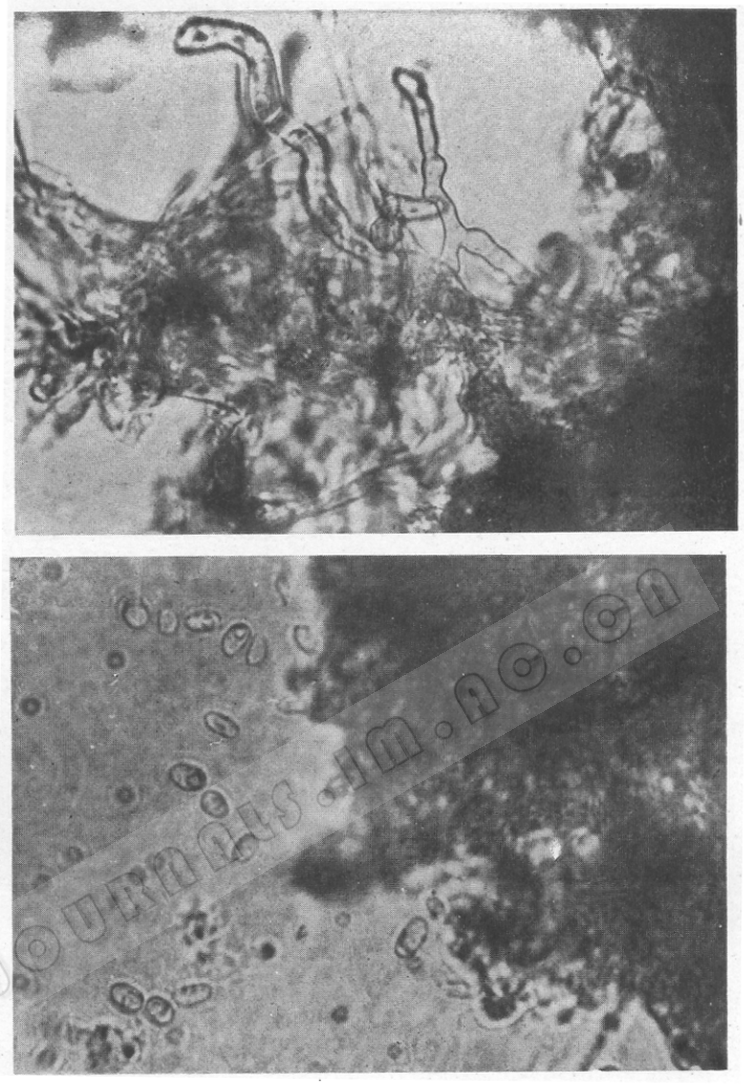
## 二、試驗結果

### （一）培养基的选择

培养基的选择是試驗中极为重要的环节。首先应找出适合于麦角菌生长和能够产生一定量麦角碱的培养基方能对大量原始菌种进行篩选。在液体培养基中曾采用过 McCrea[14]，Abe[4] 及 Michener 等[17] 所用过的培养基，測定大量菌系，发現麦角菌的生长极为緩慢，虽經一个多月的生长，菌絲和培养液中均不产生麦角碱，有时以 van Urk 試剂測定，仅有极輕度的蓝色反应。試驗过程中发現在繁殖田間接种菌源的小麦培养基上，很多菌系生长极为迅速，因此初步認为固体发酵优于液体发酵；以后曾采用过高温消毒过的小麦、黑麦、大麦、高粱、燕麦、麦麸等作为培养基，其中以小麦培养基对麦角菌生长最好，10 余天后在麦粒表面长滿菌絲及孢子，經 20 余天即能充分发展，其时麦粒逐漸变为黑紫色，內部亦充滿大量菌絲和孢子（图4 A，B）。分析結果发現小麦培养基亦有利于麦角碱的产生，很多菌系能在其上产生麦角碱。因此决定用小麦培养基对大量的麦角菌系进行篩选。

初步試驗在小麦培养基中加入各种不同的营养物質，发現培养基成分的改变对麦角碱产量的影响很大。从表 1 可以看出，基本培养基（小麦培养基）中分別加入 0.0057% 的硝酸銨或 1.7% 的葡萄糖后，麦角碱产量提高一倍或接近一倍；分別加入 1.7% 的蔗糖，

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn



(A)

(B)

图 4 經充分发酵后麦粒內存在大量的菌絲(A)和分生孢子(B)

表 1 基本培养基中加不同輔助营养物質对菌系 $Ce_3$ 產碱量的影响

| 培 养 基 | 麦角碱总量*(%) | 培 养 基 | 麦角碱总量*(%) |
|---|---|---|---|
| 基本培养基** | 0.024 | 加 $NH_4NO_3$ (0.0057%) | 0.048 |
| 加葡萄糖(1.7%) | 0.046 | 加 $KH_2PO_4$ (0.0027%) | 0.035 |
| 加蔗糖(1.7%) | 0.040 | 加 $MgSO_4$ (0.0027%) | 0.006 |
| 加麦芽糖(1.7%) | 0.027 | 加啤酒(33%) | 0.024 |
| 加甘油(1.7%) | 0.019 | 加混合物 A*** | 0.055 |
| 加蛋白胨(0.7%) | 0.037 | 加混合物 B | 0.057 |

* 总碱量系根据麦角毒碱純样品的标准曲綫計算。

** 基本培养基为 50 克小麦 +60 毫升水。其他培养基系将基本培养基中的水用 60 毫升表中各种营养液代替。

*** 混合物 A = 基本培养基+含 0.0027% $KH_2PO_4$, 0.0027% $MgSO_4$, 0.0057% $NH_4NO_3$ 及 1.7% 麦芽糖的混合液 60 毫升。

混合物 B = 基本培养基+含0.0027% $KH_2PO_4$, 0.0027% $MgSO_4$, 0.0057% $NH_4NO_3$ 及 1.7% 葡萄糖的混合液 60 毫升。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

0.7% 的蛋白胨或 0.0027% 的磷酸二氢鉀后亦使麦角碱的产量显著提高；加入 1.7% 的麦芽糖对麦角碱产量的提高很少；加入 33% 的啤酒对麦角碱的产量并无提高的效果；加入 1.7% 的甘油和 0.0027% 的硫酸镁反降低了麦角碱的产量。同时加入磷酸二氢鉀、硫酸镁、硝酸銨、麦芽糖或葡萄糖的混合培养基 A 和 B 大大提高了麦角碱的产量，較单加任何一种糖或盐类或蛋白胨为佳。可見，小麦培养基中加入一定量合适的营养物質对麦角碱产量的提高极为重要。小麦培养基中含水量对麦角碱的形成亦有相当大的影响。

### （二）不同菌系产碱能力的測定

菌系产碱能力初步測定結果詳表 2。共采用了分离自賴草等 17 种不同寄主的麦角菌系 245 个。其中有 13 种寄主上的 85 个菌系能产生麦角碱，占总数的 35%。不同寄主中，似以賴草、碱草、鵝观草、披碱草及紫野麦草等寄主較易得到能产碱的菌系。这些数据說明在小麦培养基上选择能产生麦角碱的菌系是比較容易的。

表 2　分离自不同寄主植物[1]的麦角菌系在小麦培养基上産生麦角碱的測定

| 寄主 | 拂子茅 | 賴草 | 碱草 | 扁穗鵝观草 | 鵝观草[2] | 野牯草 | 披碱草 | 老芒麦 | 肥碱披草 | 野青茅 | 碱草[3] | 紫野麦草 | 布顿大麦草 | 大麦 | 草芦 | 大油芒 | 黑麦 | 共計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 測定菌系数 | 81 | 24 | 21 | 1 | 16 | 8 | 20 | 7 | 3 | 3 | 3 | 9 | 1 | 2 | 15 | 22 | 9 | 245 |
| 有麦角碱产生的菌系数 | 17 | 19 | 17 | 0 | 7 | 0 | 10 | 2 | 1 | 0 | 3 | 5 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 85 |

注：1) 寄主植物詳名参閱試驗材料附表。2) 未定种名的 *Agropyron* spp.。3) 未定种名的 *Elymus* sp.。

不同菌系产碱能力的稳定性显然是不同的。由表 3 可看出，菌系 Ce 3-2，Ce 3，Ad 1-4，As 2-9，Hv 3-3 等产碱极为稳定，多次測定中均有麦角碱产生，只有极个别的次数例外，如 Ce 3-2 在 19 次測定中 18 次产生麦角碱；Ce 3 經 28 次測定，26 次产生麦角碱；As 56-1、Ce 3-1、Ce 8-3、Cs 6-63、Hv 4-3 等菌系較不稳定；Ce 3-3 (A) 及 Cd 56-27 极不稳定，多次測定中仅有极少次数产生麦角碱；Ce 56-20 則在多次測定中均未产生麦角碱。

表 3　不同菌系産碱穩定性的比較

| 菌系編号 | 寄主 | 測定次数 | 有麦角碱次数 | 菌系編号 | 寄主 | 測定次数 | 有麦角碱次数 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ad 1-4 | 賴草 | 3 | 3 | Ce 3-3(A) | 拂子茅 | 5 | 2 |
| Ac 3-1 | 碱草 | 4 | 3 | Ce 8-3 | ,, | 8 | 3 |
| Ac 3-1-1 | ,, | 3 | 3 | Ce 56-20 | ,, | 5 | 0 |
| As 56-1 | 鵝冠草 | 5 | 3 | Cd 56-27 | 披碱草 | 5 | 1 |
| As 2-9 | ,, | 4 | 4 | Cs 6-63 | 老芒麦 | 7 | 3 |
| Ce 3 | 拂子茅 | 28 | 26 | Hv 3-3 | 紫野麦草 | 7 | 7 |
| Ce 3-1 | ,, | 10 | 7 | Hv 4-3 | ,, | 7 | 4 |
| Ce 3-2 | ,, | 19 | 18 | | | | |

不同菌系产碱量的差异极大，表 4 所列的 20 个菌系是由定性測定中选出較有希望的部分菌系，其中以 Ce 8-3-2、Ce 3-2 的产碱能力最高 (0.061、0.060%)；Hv 2-3、Hv 3-2、Hv 3-3、Ac 5-4 及 Ac 12 等菌系产碱量亦較高 (0.041—0.050%)；菌系 Ac 1-1、Ad 3-3、

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

Ad 13、As 2-9、Sc 18 及 Hv 4-3 等产碱量稍低(0.020—0.030%)。其余菌系如 Cd 34、Ad 11 等产碱量又稍低(0.012—0.019%)。这些資料說明菌系的选择是十分重要的。在腐生培养中不同菌系产碱能力的差异似与其来源有一定关系，产碱量高的菌系 Ce 8-3-2，Ce 3-2 分离自拂子茅；4 个分离自披碱草的菌系及 3 个分离自賴草的菌系，产碱量均較低；5 个分离自紫野麦草的菌系，其中的 4 个产碱量均較高。但亦可看出，分离自同一寄主不同菌系間产碱能力的差异性也是較大的，如分离自紫野麦草的菌系中 Hv 4-2 的产碱量(0.017%) 远远低于 Hv 3-3 (0.049%)；又如分离自扁穗鹅观草的菌系中，Ac 1-1 的产碱量(0.020%)亦远低于 Ac 12 (0.050%)。

表 4 不同菌系产碱能力的比較

| 菌 系 | 寄 主 | 麦角碱总量*% | 菌 系 | 寄 主 | 麦角碱总量*% |
|---|---|---|---|---|---|
| Ac 1-1 | 碱 草 | 0.020 | Cd 34 | 披碱草 | 0.012 |
| Ac 5-1 | ,, | 0.032 | Cd 35 | ,, | 0.017 |
| Ac 5-4 | ,, | 0.049 | Ce 3-2 | 拂子茅 | 0.060 |
| Ac 12 | ,, | 0.050 | Ce 8-3-2 | ,, | 0.061 |
| Ad 3-3 | 賴 草 | 0.022 | Hv 2-3 | 紫野麦草 | 0.041 |
| Ad 11 | ,, | 0.019 | Hv 3-2 | ,, | 0.044 |
| Ad 13 | ,, | 0.024 | Hv 3-3 | ,, | 0.049 |
| As 2-9 | 鵝冠草 | 0.026 | Hv 4-2 | ,, | 0.017 |
| Cd 12 | 披碱草 | 0.012 | Hv 4-3 | ,, | 0.030 |
| Cd 30 | ,, | 0.018 | Sc 18 | 黑 麦 | 0.027 |

* 麦角总碱量系根据麦角毒碱純样品的标准曲綫計算。

菌系 Ce 3 在小麦培养基中产碱量动态的初步测定結果見图 5。当接种后第 9 天开始产生少量麦角碱，以后不断增长，至 25 天左右达最高量 (0.060%)，25 天后逐漸降低。很多試驗在后期麦角碱含量都有降低的趋势，这可能由于麦角碱极不稳定，在潮湿条件下已形成的麦角碱易逐漸分解和破坏的緣故。因此，发酵生产必須注意收获的适期，在发酵过程中应进行不同时期培养基中麦角碱含量的测定，发現达到最高量而有下降趋势时即收获，以免麦角碱的損失。

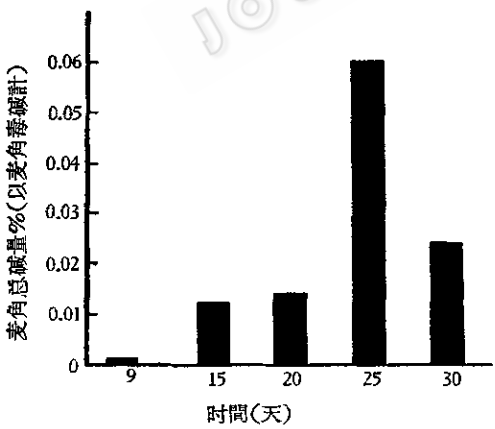



图 5 麦角菌系 Ce 3 在小麦培养基上产生麦角碱的动态测定

紙层析試驗証明 Ce 3 等菌系能产生麦角新碱。以后又証明菌系 Ce 3 产生麦角新碱的量占麦角总碱的 50% 以上[3,26]。麦角新碱是防治产后出血的重要药物，与其他麦角碱相比，疗效高，毒性小，因此这些菌系是可貴的材料。

## 三、討 論

进行麦角碱的发酵生产，首先必須寻找优良菌系和适合的培养基。优良菌系和培养

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

基的寻找是密切联系的。Ce 3 和 Ce 3-2 等菌系在小麦培养基上在 20 天左右的发酵过程中能产生相当大量的麦角碱是值得重視的（与我国黑麦上自然感染所产麦角的含碱量相等）。現已証明这是目前国內麦角碱工业生产較为簡便有效的方法。

麦角碱发酵生产研究中菌种选育工作应与化学分析及葯理測定密切配合，肯定所产麦角碱是否有效。Ce 3 等菌系能产生大量麦角新碱更是值得注意的事实[3,26]。麦角新碱是治疗和預防产后出血的重要葯物，由于在发酵过程中能产麦角新碱的优良菌系較难获得，到目前为止，許多国家都是利用野生麦角或人工栽培的麦角提取（一般含量小于 0.01%），这种方法易受自然条件限制，麦角新碱的产量及質量均較难控制，化費的时間亦較长。我国麦角新碱的資源必須进一步发掘，現有麦角碱高产菌系如 Ce 8-3-2、Ac 12、Ac 5-4、Hv 3-3、Hv 3-2 及 Hv 2-3 等产生新碱的能力应加以測定。同时应継續在野生麦角菌中广泛分离更高产的菌系和注意現有菌系产碱能力的保持和提高。

麦角菌在培养基上繁殖生长过程中虽較为稳定，但仍应严格控制其变异。从 Ce 3 中已分离到 3 种不同类型，其中 Ce 3-2 显著优于 Ce 3-1 及 Ce 3-3 (A)。Arcamone 等[6] 在 *Claviceps paspali* 的菌系 F-97 中进行不断选育，結果能大大提高麦角酸衍生物的产量，高产的变异系較低产的变异系产碱能力高 10 倍左右。优良变异系的选育涉及大量化学分析工作，因此迫切要求适当簡化的选育方法。Arcamone 等[6]将寄生性及菌落顏色列为篩选优良菌系的輔助指标，这方面值得进一步研究。由于麦角碱具有螢光性，利用发酵液（或固体发酵浸出液）的螢光強度作为初篩指标，估計可減少大量分析工作，提高篩选效率。

麦角菌在固体培养基中远較在各种标准的液体培养基中生长为快，并且所产麦角碱的量亦远較在液体培养基中为高，这是目前我們进行固体发酵較液体发酵易成功的主要原因。固体发酵与液体发酵过程中，麦角碱产量显著差异的原因尙值得进一步研究。固体发酵是我国悠久发酵工业历史中优良的传統，值得重視和发展。但液体发酵毕竟具有較易控制发酵流程等方面的不可忽視的优点，因此也应开展，目前首先应选育适合于液体培养的优良菌种。

培养基成分的改进是提高麦角碱产量的主要环节之一，試驗証明，小麦培养基还可以改进，补充适当的碳源、氮源、盐类及促生素等是必要的。碳源中蔗糖的效果与葡萄糖的效果接近，在实际生产中如采用蔗糖可使生产成本降低。氮源中硝銨对麦角碱形成的显著促进作用值得重視，因为硝銨也是来源广、成本低的材料。

近年来对麦角碱生物合成机制的研究已有很大进展[25]，色氨酸、琥珀酸、柠檬酸、α-氧代戊二酸等都被訊为是形成麦角碱有关前体的重要部分，因此在培养基中增加这些有关成分将是提高麦角碱产量的重要途径。其中有的化合物显然由于目前来源較少或成本較高而受到限制。麦角碱形成的机制是理論研究中重要的課題，这方面的研究必須从麦角碱产生动态及形成麦角碱关鍵性代謝产物的分析等实际工作着手。現代同位素技术的进展，为麦角碱形成机制的研究創造了有利条件。固体培养基发酵过程中麦角新碱形成机制的研究实为当前极有意义的工作。

## 四、摘　　要

1957 年起分离自各种寄主植物的麦角菌发酵培养試驗示明，液体发酵的产碱量极

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

微，且需很长时間，麦角菌在固体发酵中特别是在經高温消毒的小麦培养基上生长迅速，經25天左右即能使麦粒变为黑紫色，内部充滿菌絲和分生孢子。經充分发酵后麦粒的麦角碱总量最高达0.061%，与黑麦上自然感染所产麦角的含碱量相等。小麦培养基中分别或同时加入适当的碳源、氮源及盐类等能显著提高了麦角碱的产量。分离自拂子茅等17种寄主植物的245个菌系在小麦培养基上测定結果，85个(35%)能产生麦角碱，不同菌系的产碱力差异甚大，其中Ce 3、Ce 3-2及Hv 3-3等7个菌系产碱較为稳定。优良菌系Ce 8-3-2、Ce 3-2、Ac 12、Ac 5-4、Hv 3-3、Hv 3-2及Hv 2-3的最高产碱量分别为0.061、0.060、0.050、0.049、0.049、0.044及0.041%。菌系Ce 3在发酵过程中經9天即开始产生麦角碱，25天左右产碱量达最高；菌系Ce 3和它的很多变异系，根据紙层分析結果，証明均能产生多量麦角新碱。

## 参 考 文 献


[1] 中国科学院微生物研究所：科学通报 **1959**(2)：57，1959.

[2] 陆师义、楊云鵬、岳德超：葯学学报 **7**：31—42，1959.

[3] 岳德超、楊云鵬、刘金茹、陆师义、何丽一、梁彬、周同惠、黎蓮娘、方起程：葯学学报 **9**：77—83，1962.

[4] Abe, M., Yamano, T., Kozu, & Kusumoto, M.: *Agr. Chem. Soc. Japan*, **29**: 697—703, 1955.

[5] Arcamone, F., Bonino, C., Chain, E. B., Ferretti, A., Pennella, P., Tonolo, A. & Vero, L.: *Nature* **187**: 238, 1960.

[6] Arcamone, F., Chain, E. B., F. R. S., Ferretti, A., Minghetti, A., Pennella, P., Tonolo, A. & Vero, L.: *Proc. Royal Soc. B*, **155**: 26—54, 1961.

[7] Baldacci, E.: *Farmaco Sci. e Tec.* **1**: 187—192. 1946. (*Chem. Abstr.* **40**: 668.)

[8] De Tempe, J.: Alkaloidvorming door *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. in saprophytische cultur. Thesis, Univ. Amsterdam, 1945. (*Rev. Appl. Mycol.*, **25**: 210, 1946.)

[9] Gjerstad, G. & Ramstak, E.: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **44**: 736—740, 1955.

[10] Gjerstad, G.: *J. Am. Pharm. Assoc.*, **45**: 428—430, 1956.

[11] Gjerstad, G.: *Pharm. J.*, **17**: 379—381, 1958.

[12] Jaretzky, R.: *Arch. Pharm.*, **273**: 348—357, 1935. (*Chem. Abstr.*, **29**: 3013, 1935.)

[13] Kreitmair, H. & Kussner, W.: *Biochem. Z.* **239**: 189—192, 1931. (*Chem. Abstr.*, **25**: 5952.)

[14] McCrea, A.: *Am. J. Bot.*, **18**:50—78, 1931.

[15] McGillivray, W. A. & Metcalf, W. S.: *New Zealand Sci. Tech.*, **25B**: 123—128, 1943.

[16] Mukerji, B. & De, N. K.: *Current Sci.*, **13**: 128, 1944.

[17] Michener, H. D. & Snell, N.: *Am. J. Bot.*, **37**: 52—59, 1950.

[18] Sandoz, Ltd.: *Ergotamine, ergotaminine and ergotmetrine, British Patent*, No. 755, 555, 1956.

[19] Schweizer, C.: *Phytopath. Z.* **13**:317—350, 1941.

[20] Sim, S. K. & Youngken, H. W. Jr.: *J. Am. Pharm. Assoc.*, **40**: 434—439, 1951.

[21] Stoll, A. Von, Brack, A., Kobel, H., Hofmann, A., & Brunner, R.: *Helb. Chim. Acta*, **37**: 1815—1825, 1954.

[22] The National Formulary (published by Am. Pharm. Assc.) 1955.

[23] Taber, W. A. & Vining, L. C.: *Can. J. Microbiol.*, **3**: 55—60, 1957.

[24] Taber, W. A. & Vining, L. C.: *Can. J. Microbiol.*, **4**: 611—626, 1958.

[25] Tyler, V. E.: *J. Pharm. Soc.*, **50**: 629—640, 1961.

[26] Yueh, T. C., Yang, Y. P., Liu, J. R., Lu, S. I., Ho, L. Y., Liang, P., Chow, T. W., Li, L. N. & Fang, Q. C., *Sci. Sinica*, **11**: 917—924, 1962.


© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

# AN INVESTIGATION ON THE PRODUCTION OF ERGOT ALKALOID BY FERMENTATION

S. I. Lu, S. L. Kong
(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Peking*)

T. C. Yueh, Y. P. Yang
(*Institute of Materia Medica, Academy of Medical Science, Peking*)

An investigation has been made since 1957 on the *in vitro* production of ergot alkaloid by strains of *Claviceps purpurea*. Ergot strains grew rapidly on heat sterilized wheat grain medium, which turned completely to blackish purple in colour 25 days after inoculation, and the grains were filled with mycelia and conidia of ergot organism. Wheat grains thus fermented by proper ergot strains, usually contains high amount of alkaloids comparable to that of natural sclerotia (0.06%) collected from rye fields of different localities. Alkaloid production was greatly enhanced by adding certain amounts of glucose, sucrose, peptone, ammonium nitrate and monopotassium phosphate to the medium either separately or in proper combinations. Of the 245 strains isolated from 17 different host species, 85 (35%) were found to be capable of producing alkaloid in saprophytic culture. Among them, Ce3, Ce3-2 and other 5 strains were highly stable in alkaloid productivity. The range of alkaloid contents in wheat grain medium cultured with Ce3 or Ce3-2 varied from 0.02% to 0.06%. The alkaloid contents in this medium cultured with Ce8-3-2, Ac12, Ac5-4, Hv3-3, Hv3-2 and Hv2-3 were 0.061, 0.050, 0.049, 0.044 and 0.041 percent respectively. Strain Ce3 started to produce measurable amount of alkaloid 15 days after inoculation and a maximum of 0.06% was reached on the 25th day, which was occasionally followed by a sharp dropping. Strain Ce3 and many of its variants were found capable of producing high amounts of ergonovine.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn