

几株具有除莠活性的放线菌的鉴定*

张利平 刘淑君 张俊强 孙茜**

(河北大学生物系 保定 071002)

刘志恒

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

关键词 放线菌, 鉴定, 除莠活性

分类号 Q93-331

目前, 危害农业生产的杂草多于 200 科, 约 6000 种。农田杂草给农业生产造成了很大的困难。我国农田受草害的面积约 6 亿亩, 粮食作物每年因草害而减产 1700 多万吨, 远超过了病虫害所造成的危害, 且每年用于农田除莠所耗费的劳动日也是巨大的^[1]。因此, 在现代化农业生产中, 除莠剂已经成为主要的除草手段。随着我国农业集约化生产规模的扩大, 除莠剂越来越显示出其优越性。但是, 目前使用的除莠剂大多为化学合成的, 杂草对现有除莠剂产生抗药性是迟早的问题, 而化学除莠剂在自然界残留时间长, 必然会造成环境污染, 对植物以外的其他生物具有较大的毒性。与之相反, 生物除莠剂具有高效无毒的特点。因此, 开发新的微生物来源的高效无毒的除莠剂对于发展绿色食品, 保护自然环境等方面均有重要意义。

本实验对 14 株具有除莠活性的放线菌进行形态学和化学分类研究。结果表明, 它们分别归于链霉菌属 (*Streptomyces*), 小单孢菌属 (*Micromonospora*) 和诺卡氏菌属 (*Nocardia*)。这结果为放线菌除莠剂资源的开发利用提供了依据。

1 材料和方法

1.1 菌种

由云南省微生物研究所姜成林、徐丽华分离自云南不同地区的土壤中, 经筛选具有除莠活性的放线菌。

1.2 活性菌株的筛选

采用发酵液喷施法^[2], 并加以改动, 以发酵原液喷洒或浇于 30cm 高的杂草。室温下培养观察抑制效果。

1.3 活性菌株的鉴定

1.3.1 形态学研究^[3]: 挑取经筛选具有除莠活性的菌株分别涂布于 HV 琼脂平皿, 以 30 度角插入无菌盖玻片 5 片, 28℃ 温箱培养 1、3、5、7、14d 连续取片, 光学显微镜观察。

1.3.2 细胞壁化学组分分析: 参考 Hasegawa T 和王平的细胞壁化学组分的分析方法^[4,5] 和 Lechevalier's

* 本课题为河北省自然科学基金资助项目。

** 刘淑君 张俊强 孙茜为河北大学生物系 91 级、92 级本科毕业生。

收稿日期: 1996-12-03

的纯细胞壁分析的方法^[6]。

1.3.3 磷酸类脂分析:参照 Lechevalier's 的磷酸类脂的分析方法^[7]。

1.3.4 甲基萘醌的分析:参照 Collins 的方法^[8]。

2 结果和讨论

2.1 菌株的除莠活性

14 株实验菌分别对双子叶杂草萝摩或单子叶杂草狗尾草表现不同的抑制作用(表 1)。实验菌株中有 9 株对单子叶杂草狗尾草具有选择抑制作用,4 株对双子叶杂草萝摩具有选择抑制作用,1 株对单子叶和双子叶杂草有非选择性抑制作用。

表1 实验菌株的除莠活性的比较

菌号	狗尾草	萝摩	菌号	狗尾草	萝摩
Y-1	+, 2d后变枯	-	Y-10	+, 1d后变黄	-
Y-2	+, 1d后枯死	-	Y-13	+, 1d后变黄	-
Y-3	+, 1d后变黄	-	Y-12	+, 1d后枯死	+, 1d后变枯
Y-5	+, 1d后变黄	-	Y-7	-	+, 1d后变枯
Y-6	+, 2d后变黄	-	Y-11	-	+, 2d后枯死
Y-8	+, 2d后变黄	-	Y-4	-	+, 1d后变黄
Y-9	+, 2d后变黄	-	Y-14	-	+, 1d后变黄

注:“+”表示有除莠活性;“-”表示无除莠活性。

2.2 形态学研究

菌株 Y-1、Y-2、Y-3、Y-4、Y-5、Y-6、Y-7 的基内菌丝与气生菌丝发育良好,不断裂,在气生菌丝上可形成波曲或直形长孢子丝,进而形成孢子链。菌株 Y-8、Y-9、Y-10、Y-11 基内菌丝发育良好,无气生菌丝,菌丝不断裂,在基内菌丝的孢子梗上着生单个分生孢子。菌株 Y-12、Y-13 基内菌丝断裂,形成少量气

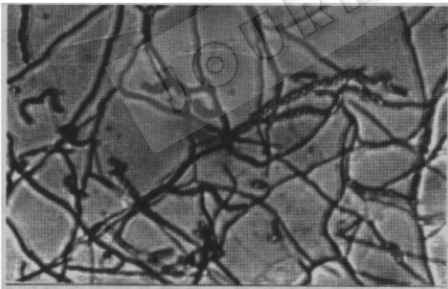


图1 菌株Y-1的形态特征(×400)

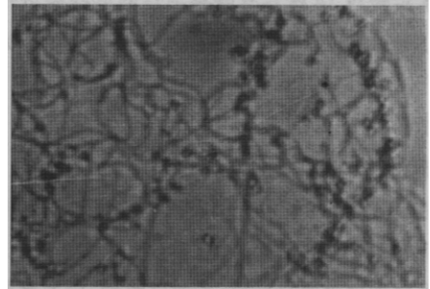


图2 菌株Y-8的形态特征(×400)

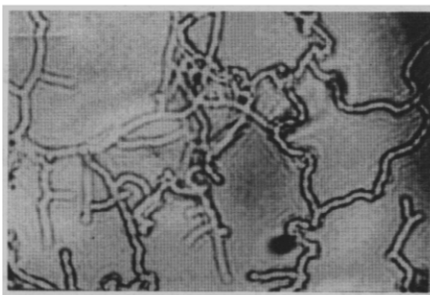


图3 菌株Y-12的形态特征(×400)

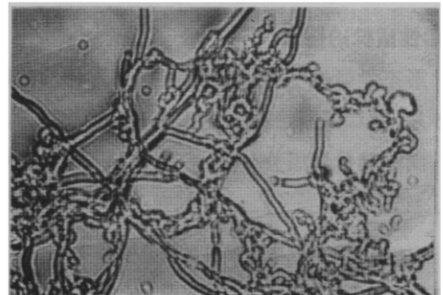


图4 菌株Y-14的形态特征(×400)

的纯细胞壁分析的方法^[6]。

1.3.3 磷酸类脂分析:参照 Lechevalier's 的磷酸类脂的分析方法^[7]。

1.3.4 甲基萘醌的分析:参照 Collins 的方法^[8]。

2 结果和讨论

2.1 菌株的除莠活性

14 株实验菌分别对双子叶杂草萝摩或单子叶杂草狗尾草表现不同的抑制作用(表 1)。实验菌株中有 9 株对单子叶杂草狗尾草具有选择抑制作用,4 株对双子叶杂草萝摩具有选择抑制作用,1 株对单子叶和双子叶杂草有非选择性抑制作用。

表1 实验菌株的除莠活性的比较

菌号	狗尾草	萝摩	菌号	狗尾草	萝摩
Y-1	+, 2d后变枯	-	Y-10	+, 1d后变黄	-
Y-2	+, 1d后枯死	-	Y-13	+, 1d后变黄	-
Y-3	+, 1d后变黄	-	Y-12	+, 1d后枯死	+, 1d后变枯
Y-5	+, 1d后变黄	-	Y-7	-	+, 1d后变枯
Y-6	+, 2d后变黄	-	Y-11	-	+, 2d后枯死
Y-8	+, 2d后变黄	-	Y-4	-	+, 1d后变黄
Y-9	+, 2d后变黄	-	Y-14	-	+, 1d后变黄

注:“+”表示有除莠活性;“-”表示无除莠活性。

2.2 形态学研究

菌株 Y-1、Y-2、Y-3、Y-4、Y-5、Y-6、Y-7 的基内菌丝与气生菌丝发育良好,不断裂,在气生菌丝上可形成波曲或直形长孢子丝,进而形成孢子链。菌株 Y-8、Y-9、Y-10、Y-11 基内菌丝发育良好,无气生菌丝,菌丝不断裂,在基内菌丝的孢子梗上着生单个分生孢子。菌株 Y-12、Y-13 基内菌丝断裂,形成少量气

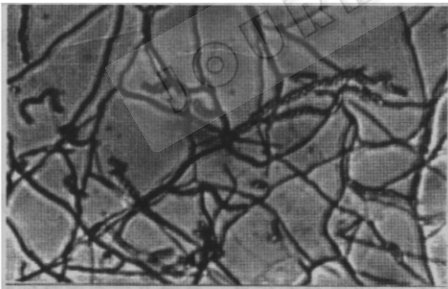


图1 菌株Y-1的形态特征(×400)

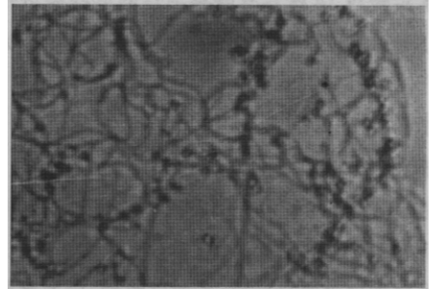


图2 菌株Y-8的形态特征(×400)



图3 菌株Y-12的形态特征(×400)

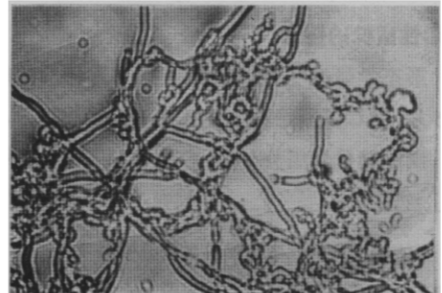


图4 菌株Y-14的形态特征(×400)

丝。菌株 Y-14 基丝在生长早期断裂为球杆状断裂小体(图 1~4)。

2.3 化学分类的研究

14 株实验菌株的细胞壁化学组分, 磷酸类脂及甲基萘醌分析结果列于表 2。

表2 实验菌株的化学分类特性比较

菌株	细胞壁化学组分		磷酸类脂	甲基萘醌
	氨基酸类型	糖类型		
Y-1 Y-2 Y-3	I	C		MK-9
Y-4 Y-5	含 LL-DAP	无特性糖	PI	(H ₄ , H ₆ , H ₈)
Y-6 Y-7				
Y-8 Y-9	II	D	PII	MK-9 (H ₆ , H ₈)
Y-10 Y-11	含 Meso-DAP 及甘氨酸	木糖、 阿拉伯糖		MK-10 (H ₄ , H ₆)
Y-12 Y-13	IV	A	PIV	MK-8 (H ₄)
	含 Meso-DAP	阿拉伯糖、 半乳糖		
Y-14	同上	同上	PIV	MK-9 (H ₂)

参照《伯杰氏系统细菌学手册》(第四卷)^[9]和《伯杰细菌鉴定手册》(第九版)^[10]放线菌目分属的标准, 将形态与化学分类的指征相结合比较 14 株实验菌, 菌株 Y-1、Y-2、Y-3、Y-4、Y-5、Y-6、Y-7 鉴定为链霉菌属 (*Streptomyces*); Y-8、Y-9、Y-10、Y-11 为小单孢菌属 (*Micromonospora*); Y-12、Y-13、Y-14 暂定为诺卡氏菌属 (*Nocardia*)。

理想的除莠剂应具有很强的除草活性, 对植物以外的其他生物毒性极小, 对作物和杂草之间的选择性, 分解后残留物对环境没有危害。放线菌所产生的除莠剂具有结构和生物活性多样性, 且易被生物所分解, 不会污染环境和其他的生物等优点。这些均优于目前农业生产上所使用的化学除莠剂。目前, 国际上所报道的除莠剂产生菌的菌株仅属于链霉菌属 (*Streptomyces*)。我们所得到的活性菌株中不仅有链霉菌属的放线菌, 而且有小单孢菌属 (*Micromonospora*) 和诺卡氏菌属 (*Nocardia*) 的放线菌。新的菌种产生新的产物, 本实验的研究不仅为微生物资源学的研究提供了宝贵的资料, 也为微生物来源的新型除莠剂的开发应用提供了依据。有关 14 株活性菌的活性产物的结构分析、作用机理及生物活性物质的应用研究正在进行中。

致谢 甲基萘醌测试由河北大学理化分析中心傅承光先生和石志红老师协助完成, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 申 镗, 张爱萍, 满 忠. 农田杂草与防除技术. 北京: 农业读物出版社, 1991.
- [2] Arai M, Haneishi T, Kitahara N *et al.* *J Antibiotics*, 1976, 29: 863~869.
- [3] 阮继生. 放线菌分类基础. 北京: 科学出版社, 1997.
- [4] Hasegawa T, Takizawa M, Tanida S. *J Gen Appl Microbiol*, 1983, 29: 319~322
- [5] 王 平. 微生物学通报, 1986, 13(5): 228~231.
- [6] Lechevalier M P, Lechevalier H A. Special publication N. 6. In: Deity A *et al* ed. The Society for Industrial Microbiology. Arlington: Arlington V A, 1980. 227~291.

- [7] Lechevalier M P, Stern A E, Lechevalier H A. *Actinomycetes*. New York: Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1981. 111~116.
- [8] Collins M D. *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. London: Academic Press, 1985. 267~285.
- [9] Williams S T, Sharpe M E, Holt J G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 4. Baltimore: The Williams & Wilkins Co, 1989.
- [10] Holt J G, Krieg M R, Sneath P H A *et al.* *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Co, 1994.

IDENTIFICATING OF ACTINOMYCETES PRODUCING ACTIVITY OF HERBICIDE

Zhang Liping Liu Shujun Zhang Junqiang Sun Qian

(*Department of Biology, Hebei University, Baoding 071002*)

Liu Zhiheng

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080*)

Abstract 14 strains of Actinomycetes were isolated from soil samples collected in Yunnan, China. Experiments showed that they had activity of herbicide. In this paper, the morphological and chemotaxonomic characters of these strains were studied and they were identified as three genera of Actinomycetales respectively, such as *Streptomyces*, *Micromonospora* and *Nocardia*.

Key words Actinomycetes, Identification, Activity of herbicide