



# 井冈霉素产生菌的选育

沈寅初 周良玮 陈祥健 杨慧心 居月敏 舒小洪

(上海市农药研究所, 上海)

周淡宜

(浙江桐庐农药厂, 桐庐)

陈凯旋

(江苏太仓制药厂, 太仓)

井冈霉素对水稻纹枯病具有较好的防治效果<sup>[1]</sup>。由于原始菌种发酵单位较低, 几年来我们对该菌进行了大量的选育工作, 并研究了变异菌株的最适发酵条件, 使发酵单位大幅度提高, 成本下降, 基本满足了生产需要。现将井冈霉素产生菌的选育工作简报如下。

## 一、材料和方法

### (一) 原始菌株

吸水链霉菌井冈变种 (*Streptomyces hygroscopicus* var. *jinggangensis* Yen.)<sup>[2]</sup>。

### (二) 培养基(%)

斜面培养基: L-天冬素 0.05, 葡萄糖 1,  $K_2HPO_4$  0.05, 琼脂 1.5, 自然 pH, 0.8 公斤/厘米<sup>2</sup>灭菌 30 分钟。

摇瓶培养基: 玉米淀粉 3, 葡萄糖 2, 玉米浆 1, 酵母粉 1, 蚕蛹粉 1, 鱼粉 1, NaCl 0.5,  $KH_2PO_4$  0.045,  $CaCO_3$  0.4, pH 7.2。

### (三) 发酵条件和测定方法

种子于 28℃ 培养 5—7 天, 或 37℃ 培养 60—80 小时后, 接种于摇瓶培养液中(装液量为 30 毫升/250 毫升三角瓶)。测定方法为化学测定法<sup>[3]</sup>、生物测定法<sup>[4]</sup>、稻苗测定法<sup>[5]</sup>。

### (四) 选育方法

原始菌株经过诱变或自然分离后, 一般挑选各种形态的单菌落约 100 株进行摇瓶发酵, 结合传代进行复筛。复筛三次, 选择效价有显著提高并比较稳定的菌株作生产试验。由于井

冈霉素是多组份抗菌素<sup>[6]</sup>, 生物测定法只能测出 A 组份, 而化学测定法则能测出井冈霉素总组份, 因此, 用化学测定法作为初筛方法, 用生物测定法和稻苗测定法进行复筛。这样选出的菌种不仅化学效价高, 而且生物效价也高, 田间效果就较好。

### 诱变因子处理剂量:

1. 紫外线: 常规方法照射 25—60 秒。

2. 氯化锂: 于平板培养基中加入 0.05—0.3% 浓度的氯化锂溶液。

3. N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍: 处理浓度为 300—1,000 微克/毫升, 37℃ 摇床上振荡处理 1 小时。

4. 氮芥: 浓度为 1,000—2,000 微克/毫升, 处理时间为 8—12 分钟。

5. <sup>60</sup>Co-γ 射线: 用 1、3、5、7 万伦琴 4 种剂量。

6. 高浓度井冈霉素培养基分离: 在平板培养基上分别加入 3、5、7 万单位井冈霉素, 进行自然分离选菌。

诱变处理方法见“微生物诱变育种”一书<sup>[7]</sup>。

## 二、结果

### (一) 育种谱系(图 1)

几年来我们在菌种选育工作中不断为生产提供优良菌种, 育种谱系中各代菌株的产井冈霉素水平也不断提高, Co-20 菌株产井冈霉素水平比原始菌株提高了 7 倍(表 1)。

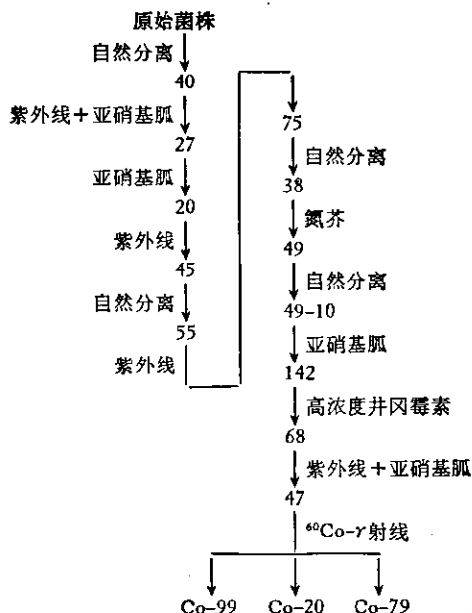


图 1 井冈霉素高产菌株 Co-20 选育谱系

## (二) 高产菌株 Co-20 的特性

### 1. Co-20 菌株的形态特征:

表 1 选育过程中各代菌株的产素水平

菌 株	产素水平
原始菌株	100%
20	150%
75	230%
38	260%
49	320%
49-10	450%
142	600%
Co-79、Co-20、Co-99	700%

Co-20 菌株在天冬素-葡萄糖培养基上生长情况和原始菌株基本相同。在 37℃ 培养 3 天, 气生菌丝由白转灰, 然后形成黑色吸水斑, 基内菌丝土黄色, 可溶性色素深褐色。平板分离的

单菌落多数为馒头形吸水型菌落。

### 2. Co-20 菌株的传代稳定性及自然变异:

为了考察 Co-20 菌株的稳定性, 我们将沙土斜面进行传代试验, 经摇瓶测定结果, 第 1、2、3 代的效价分别为 700、700、660 单位/毫升。该菌株在平板上进行自然分离, 挑选单菌落进行摇瓶测定, 正变率及负变率均较低, 分别为 7.7% 和 5.77%。

### (三) Co-20 菌株产井冈霉素各组份的比例

Co-20 菌株所产井冈霉素各组份经高压电泳和薄板层析法测定与原始菌株比较表明, 各组份含量未发生显著变化(表 2)。

表 2 Co-20 菌株和原始菌株所产抗菌素各组份含量比较

菌 株	A 组分	B 组分	EF 组分
原始菌株	58.5%	22%	19.5%
Co-20	56%	18%	26%

Co-20 菌株与同批选出的 Co-79、Co-99 菌株, 又经过最适发酵条件的研究, 已使井冈霉素的生产水平比原始菌种提高 10 倍。

## 参 考 文 献

- [1] 上海市农药研究所药效试验室、农用抗菌素组: 微生物学通报, 2(1): 10—14, 1975。
- [2] 上海市农药研究所农用抗菌素组: 微生物学报, 15(2): 110—113, 1975。
- [3] 上海市农药研究所: 微生物学通报, 4(4): 13—14, 1977。
- [4] Takahi, I. et al.: J. Antibiotics, 24 (2): 107—113, 1970。
- [5] 上海市农药研究所农用抗菌素组: 《井冈霉素》, 上海人民出版社, 上海, 1977。
- [6] 上海市农药研究所农用抗菌素组: 微生物学报, 15(3): 223—226, 1975。
- [7] 《微生物诱变育种》编写组: 《微生物诱变育种》, 科学出版社, 北京, 1973。