

三十烷醇对庆大霉素产生菌生长代谢影响的研究

刘 华

(大同市惠达制药厂,大同 037006)

韩文儒 徐晓华

(大同进出口商品检验局,大同 037005)

摘要 植物生长激素三十烷醇,可促进庆大霉素产生菌绛红色小单孢菌生长代谢。在孢子培养过程中加入 25×10^{-8} ;在种子培养过程中加入 30×10^{-8} 和在发酵过程中加入 70×10^{-8} 三十烷醇,可使总菌数增加 57.4%,活菌数增加 216.8%,发芽率提高 120.6%,生物效价提高 26.2%,是提高产量、降低成本、增加经济效益的有效途径。

关键词 三十烷醇,庆大霉素产生菌,生长代谢

三十烷醇(Triacontanol,简称 TRIA)又名蜂花烷醇,是一种新型高效植物生长激素。70年代末由美国传入我国,80年代国内外研究证明 TRIA 对农作物的生理功能起多种调节作用^[1];TRIA 用于喂猪、牛、羊及养蚕、鱼等,能促进生长,并可促进鸡鸭多产蛋。TRIA 对植物和人畜无毒,是一种无公害,使用安全($LD_{50} 10g/kg$),来源广,成本低,作用方便的新型植物生长激素。TRIA 对放线菌是否也有调节作用,尚未见报道。我们采用用于生产庆大霉素的绛红色小单孢菌(简称 GM 产生菌),在斜面孢子及摇瓶上做了大量试验。结果证明,不同浓度的 TRIA 对 GM 产生菌的生长繁殖及生物效价有着不同的调节作用。

1 材料与方法

1.1 菌种

绛红色小单孢菌(*Micromonospora purpura*) (GM 产生菌 18)。

1.2 培养基

斜面培养基(%):可溶性淀粉 2, KNO_3 0.2, $CaCO_3$ 0.2, $NaCl$ 0.1, $MgSO_4$ 0.1, K_2HPO_4 0.1, 天冬素 0.002, 麸皮 0.4, 琼脂 2, pH 7.5, 蒸馏水配制。

种子瓶培养基(%):玉米粉 1.5, 葡萄糖

0.1, 黄豆饼粉 1.0, $CaCO_3$ 0.6, 玉米淀粉 1.0, 蛋白胨 0.2, KNO_3 0.05, 植物油 0.2, $CoCl_2$ $1\mu g/ml$, 自来水配制。

发酵瓶培养基(%):玉米淀粉 5.5, 黄豆饼粉 2.0, 蛋白胨 0.2, $CaCO_3$ 0.6, KNO_3 0.01, $(NH_4)_2SO_4$ 0.1, $CoCl_2$ $8\mu g/ml$, 植物油 0.2, 自来水配制。

1.3 培养条件

斜面种子于 $37^\circ C$ 培养, 216h。种子瓶(100ml 培养基 / 750ml 三角瓶) $34^\circ C$ 培养 24h。发酵瓶(100ml 培养基 / 750ml 三角瓶) $34^\circ C$ 110h, 摇床转速 220r/min。

TRIA 购于太原化学工业公司磷肥厂, 化学纯。

2 结果

在试验过程中, 参照植物使用 TRIA 浓度, 在反复扩大对比试验(试验浓度范围为 $10^{-8} \sim 10^{-6}$)的基础上, 根据实践经验, 选定 TRIA 最终试验浓度范围为 $5 \times 10^{-6} \sim 8 \times 10^{-7}$ 。

2.1 不同浓度 TRIA 对斜面产孢的影响

采用 TRIA 9 种不同浓度测定对斜面产孢量影响。接种后, 每隔 24h 观察 1 次, 共 8 次。

观察表明, $15 \times 10^{-8} \sim 45 \times 10^{-8}$ 的 TRIA 可加速 GM 产生菌斜面孢子的成长, 特别是 25×10^{-8} 更为明显。以血球计数板计数, 平均总菌数较对照增加 57.39%。加入 30×10^{-8} 、 20×10^{-8} 、 45×10^{-8} 、 70×10^{-8} 、 80×10^{-8} 、 15×10^{-8} TRIA 平均总菌数分别较对照增加 31.19%、18.16%、16.84%、15.96%、6.15% 和 5.71%, 而加入 5×10^{-8} 、 10×10^{-8} 平均总菌数却比对照分别减少 0.59% 和 2.34%。

以平板菌落计数, 活菌数变化为, 加入 25×10^{-8} TRIA 较对照增加 216.8%, 加入 30×10^{-8} 、 45×10^{-8} 、 20×10^{-8} 、 15×10^{-8} 、 10×10^{-8} 、 70×10^{-8} 、 5×10^{-8} TRIA 平均活菌数分别较对照增加 189.6%、171.2%、170.4%、164.8%、130.4%、120.8% 和 97.7%, 只有加入 80×10^{-8} TRIA 平均活菌数较对照减少 56%。

2.2 生物效价测定

用加入 25×10^{-8} TRIA 的斜面培养孢子, 进行摇瓶试验, 观察发芽率及测定生物效价。

2.2.1 不同浓度 TRIA 对 GM 产生菌孢子发

芽率有不同的调节效果, 种子瓶生长 10h 发芽率结果见表 1。

表 1 TRIA 对 GM 产生菌 10h 发芽率影响

TRIA 浓度 ($\times 10^{-8}$)	发芽率 (%)							增减值 (%)
	一批	二批	三批	四批	五批	六批	平均	
空白	40	40	45	35	30	40	38.33	+58.59
25	55	50	50	45	40	45	47.5	+96.52
30	65	55	55	50	45	50	53.33	+120.6
35	染菌	25	20	20	15	20	20	-17.25
对照	25	25	25	25	20	25	24.17	

注: 空白指斜面加 25×10^{-8} TRIA, 种子瓶和发酵瓶都不加。

试验结果证明, 25×10^{-8} 及 30×10^{-8} TRIA 加入种子瓶内发芽率明显提高, 分别较对照提高 96.52%、120.6%。

2.2.2 不同浓度 TRIA 对 GM 产生菌生物效价的影响: 从表 2 看出, 种子瓶加入 30×10^{-8} TRIA, 发酵瓶加入 70×10^{-8} 的 TRIA 效果最佳, 较对照提高效价 26.2%。

表 2 TRIA 对 GM 产生菌生物效价影响

TRIA 浓度 ($\times 10^{-8}$)		生物效价 (u/ml)							增减值 (%)
种子瓶	发酵瓶	一批	二批	三批	四批	五批	六批	平均	
空白	空白	1050	1282.5	1181.3	1215	1185	1200	1185.6	+12.03
25	70	1215	1335	1158.7	1215	1200	1170	1215.6	+14.86
30	70	1335	1417.5	1316.2	1327.5	1282.5	1335	1335.6	+26.2
35	70	染菌	967.5	928.7	1125	967.5	975	992.7	-6.2
对照	对照	870	1147.5	1055	1012.5	1170	1095	1058.3	

3 讨论

通过大量的试验结果表明:

a. 在庆大霉素发酵过程中, 加入少量的 TRIA 能提高效价 20% 左右, 而 TRIA 用量小、价格便宜, 是提高抗生素效价、降低成本、增加经济效益的有效途径。

b. TRIA 在庆大霉素发酵过程中, 使用的关键是控制浓度的最佳点, 不同生长时期 GM 产生菌对 TRIA 有不同的需求, 不同浓度的 TRIA 有不同的调节效果, 大剂量的 TRIA 反

而不会促进生长。

c. TRIA 对 GM 产生菌的作用, 是在一定的温度、时间、含氧量、pH 等条件下发生的, TRIA 活性的作用部位可能是在菌体细胞膜上, TRIA 引起膜相变化, 改变细胞膜的渗透性, 引起一系列连锁反应, 以致新陈代谢增强, 各种菌体生长繁殖所需中间代谢物质——还原糖、氨基酸、可溶性蛋白质等含氮总量增加, 促进孢子的生长, 加速孢子的分裂繁殖^[2]。同时通过激活菌体内葡萄糖-6-磷酸脱氢酶, 异柠檬酸脱氢酶, PEP 羧化酶, 丙酮

(下转第 216 页)

(上接第 223 页).

羧化酶多种酶类的活性而发生生理效应^[3~4]。
其详细作用机制仍需进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] Eriksen A B, Sellden G, Skogen D, et al. *Plant*, 1981,

152 (7): 44~49.

[2] 王洪春. 生物膜结构功能和渗透调节. 上海: 上海科学技术出版社, 1987.

[3] Ries S K, Wert V F. *Plant*, 1977, 135 (4): 77~82.

[4] Hangarter R, Ries S. K, Gartsor P. *Plant physiol.* 1978, 61 (5): 855~857.