

农 生 微 生 物

农用抗菌素

目 录

第一章	抗菌素的基本特性	3
第一节	抗菌素的一般理化特性	3
一、	抗菌素化学结构的多样性	3
二、	抗菌素理化特性综述	4
第二节	抗菌素的生物学特性	8
一、	抗菌谱	8
二、	有效作用浓度	9
第三节	农用抗菌素的有关特性	10
一、	内吸性	10
二、	有效期	11
三、	药害	12
四、	毒性及残毒	12
第二章	抗菌作用与抗菌素	14
第一节	抗菌素的作用机制	14
一、	抑制各种酶的活性	15
二、	妨碍正常的代谢作用	15
三、	细胞表面活性的改变	16
第二节	抗菌素产生抗菌素的特性	16
第三节	抗菌素的主要类别	18
一、	放线菌类抗菌素	18
二、	真菌类抗菌素	24
三、	细菌类抗菌素	24
第四节	抗菌素的生态分布	24
一、	土壤性质的影响	25
二、	温度	
三、	水分	
四、	酸碱度	
五、	空气	
六、	植被	
七、	地理	

第三章	农用抗菌素的筛选	27
第一节	筛选的一般途径	27
第二节	分土	28
一、	土样的采集	28
二、	土样的加富培养	29
三、	分离方法	29
第三节	初筛	34
一、	划线接种法	34
二、	琼脂植块法	35
第四节	复筛	36
第五节	植株试验	37
一、	植物离体组织的试验	37
二、	盆栽试验	38
三、	大田试验	39
第六节	定向筛选	41
一、	分土	41
二、	初筛与复筛	41
三、	抗菌素的鉴定	42
四、	产生菌的分类鉴定	42
附录1	农用抗菌素选取的参考标准	43
二、	多烯类抗菌素的筛选	44
第四章	抗菌素的分离与鉴别	47
第一节	电泳技术	47
第二节	纸上层析	49
一、	纸上层析的一般原理	49
二、	纸上层析法	50
第三节	层析图谱在鉴别抗菌素上的应用	53
一、	碱性水溶性抗菌素	53
二、	大环内酯抗菌素	53
三、	环素族抗菌素	53
四、	多烯类抗菌素	53
五、	非水溶性抗菌素(1型)	53
六、	非水溶性抗菌素(2型)	54
七、	其他	54

第 一 章	抗菌素理化特性的测定	53
一、	主要物理性状的测定	55
二、	化学功能团的探测	59
附:	几种功能团反应常用的试剂和方法	60
第 五 章	农用抗菌素的土法生产	62
第 一 节	固体发酵法的一般原理与方法	62
第 二 节	土法生产技术	64
一、	固体培养料的配制	64
二、	菌种的培养	65
三、	固体发酵	67
第 三 节	农用抗菌素土法生产举例	69
一、	春雷霉素土法生产	69
二、	庆丰霉素的土法生产	70
三、	内疔素的土法生产	71
四、	灰黄霉素的土法生产	73
第 四 节	抗菌素效价的测定(管碟法)	74
一、	测试菌种的选择	75
二、	测定方法	75
第 六 章	农用抗菌素的工业生产	78
第 一 节	发酵罐生产的设备配套	78
一、	发酵罐	78
二、	空气净化设备	79
三、	种子罐	79
四、	锅炉	79
五、	后处理设备	79
六、	其他附属设备	79
第 二 节	发酵罐生产技术	81
一、	投料	81
二、	灭菌	81
三、	接种	81
四、	发酵条件的控制	81
五、	抽样检查	81
六、	培养周期	81
第 三 节	发酵液的处理和提取方法的选择	81

一、发酵液的处理	84
二、浓缩	85
三、抗菌素提取方法的选择	86
第四节 提取抗菌素的主要方法	87
一、吸附法	87
二、萃取法	89
三、离子交换法	89
附：国产离子交换树脂与类似商品对照表	93
第五节 几种农用抗菌素提取方法举例	94
一、灭瘟素的提取	94
二、春雷霉素的提取	95
三、灰黄霉素的提取	95
第七章 抗菌素在农业上的应用	96
第一节 灭瘟素(稻瘟散)	96
第二节 春雷霉素	101
第三节 灰黄霉素	106
第四节 灰黄霉素	110
第五节 放线酮(环己酰亚胺)	113
第六节 内疗素	115
第七节 井岗霉素	118
第八节 多氧霉素D	121
第九节 大环内酯类抗菌素	122
第十节 灭胞素(叶枯散)	123
第十一节 几种药用抗菌素在农业上的应用	124
附：几种农用抗菌素应用情况一览表	125

农用抗菌素

抗菌素，是一类特异性的抗菌物质。它们往往在浓度很低的情况下对于某些微生物就具有一定的生长抑制作用或杀伤作用。并且大多数抗菌素又都是微生物的特殊代谢产物，有些抗菌素可以从动植物中提取，或化学合成。因此抗菌素的发现，为研究和应用微生物开辟了一个新新的领域。首先它被大量地用作防治人、畜传染病的重要药物，其他如农业、畜牧业、食品工业等方面的应用也日见广泛。

农业上抗菌素的应用，主要利用抗菌素对植物病害进行防治与治疗，称为“农用抗菌素”。农用抗菌素的有些品种，实际上与医用抗菌素完全一样，如链霉素、氯霉素、灰黄霉素、春雷霉素等，不过提炼或精制的要求可以低一些，甚至利用粗制品或医药工业的下脚。另外则是专门为作物上应用而筛选的农用抗菌素，如放线酮、灭瘟素、庆丰霉素等，这些抗菌素一般具有以下特点：

1. 对植物病原菌作用强烈；
2. 对植物和动物的药害和毒性比较小或无，使用安全；
3. 植物对它有较强的内吸收作用；
4. 成分比较稳定，特别不受日光的作用而破坏；
5. 生产成本低或便于土法进行生产；
6. 制剂使用方便。

我国无产阶级文化大革命以来，抗菌素的工业生产已经进入了世界的先进行列，抗菌素的总产量为世界第一，抗菌素产品居世界第三位。工业的迅速发展有力地支援了农业，同时农村社队大力兴办农业微生物工厂（场），采用土法生产农用抗菌素，大大降低了生产成本。为了寻找新的更有效的抗菌素，

不少地区在有关部门的统一领导下，相互配合，开展社会主义大协作，努力筛选农用抗菌素新品种，如最近两年选出了防治稻瘟病的庆丰霉素，防治水稻纹枯病的井岗霉素等。……这一切，在我们面前展现了我国农用抗菌素研究、生产和应用等方面的广阔前景！

第一章 抗菌素的基本特性

抗菌素是各种抗菌有机化合物的总称。它们由于化学成分和结构的不同，抗菌素的性质和作用各异。下面就农用抗菌素涉及有关的物理化学和生物学基本特性作一概要的叙述。

第一节 抗菌素的一般理化特性

一、抗菌素化学结构的多样性：

目前已知的抗菌素已不下于几千种（1965年统计为1862种），它们的成分和结构是多种多样的。其中，有比较简单的分子，也有结构很复杂的化合物。从有机化合物的分类系统来说，属于脂类、酮类、醌类、肽类、胺类、有机酸、有机碱，直链化合物，芳香环或杂环的抗菌素都已有发现，大致可归为四大类。

1. 氨基酸蛋白质衍生物抗菌素：

有些是简单的氨基酸衍生物如氯霉素，有的是肽类或它的衍生物，如青霉素、杆菌肽。

2. 糖类衍生物抗菌素：

如糖类、氨基糖的糖苷类抗菌素，链霉素等。

3. 脂肪链衍生物抗菌素：

如灰黄霉素、春雷霉素是酮酸和醇的衍生物，制霉菌素等则是多烯、多炔类抗菌素。

4. 杂环衍生物抗菌素：

如含嘌呤、嘧啶等碱基的抗菌素、灭瘟素、庆丰霉素。

但是，具体按化学结构将抗菌素进行分类是有很多困难的，因为抗菌素的化学结构一般都比较复杂，不仅搞清这些结构需要一个过程，就是确定了分子结构，分类也十分困难。如春雷霉素的结构包括：D-环己醇，春雷霉胺和甘氨酸等三个部分；

灭瘟素由胞嘧啶和一种灭瘟酸构成；灰黄霉素则是香豆满酮和环己烯酮的复合物。单纯按化学结构分类势必造成混乱，而且应用上也没有多大意义。因此无论在医药或农业上对抗菌素的分类都采用化学结构、理化特性和生物学性能相结合的方法归类，将基本结构和抗菌作用相似的归为一族，如青霉素族，四环素族，大环内脂抗菌素族等。每一族中包括的种类有多有少，如大环内脂抗菌素族目前已知的就有100多种，四环素族主要是三种抗菌素。

二、抗菌素理化特性综述：

抗菌素种类繁多，成分和结构各异，因此彼此物理和化学特性也差异甚大。从实际应用出发，了解各种抗菌素的理化特性也是十分必要的。因为它是制订使用技术的基础。就农用抗菌素而言，主要的理化特性包括以下几个方面内容：

1. 溶解性：

各种抗菌素的溶解性差别甚大，大致可归为四类：

- (1) 能溶解于水（包括酸性或碱性的水溶液），而不溶于一般有机溶剂的抗菌素。如庆丰霉素，灭瘟素。
- (2) 不溶于水而易溶于有机溶剂的抗菌素，如灰黄霉素。
- (3) 同时易溶于水和有机溶剂的抗菌素，如放线酮、内疗素。
- (4) 不溶于水和一般有机溶剂，而必须溶于特定的溶剂之中或需要在特定的条件下才溶于水和有机溶剂中的抗菌素。

抗菌素的溶解性一方面关系到提取和应用，另一方面也影响到植物或微生物细胞对它的吸收和作用。

2. 熔点：

熔点是指抗菌素纯品结晶熔化为液体的温度，它是有机化合物重要的物理常数之一。不同抗菌素由于成分、结构不同，纯品结晶具有不同的熔点，如灰黄霉素结晶熔点为 222°C ，放

线酮醋酸盐结晶熔点为 148°C 。同一种抗菌素结晶也可因杂质含量增加而降低其熔点，因此熔点也是鉴别抗菌素纯度的依据之一。

3. 旋光性：

有的抗菌素分子中由于包含有不对称的碳原子，因此可以引起平面偏振光的振动面的偏转，这种光学特性就是旋光性，它是辨别抗菌素异构体的重要依据。例如，氯霉素有两种同分异构体，抗菌有效成份（氯霉素）是它的左旋结构，在乙酸乙酯中的比旋光度为 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -25.5^{\circ}$ 。其左旋和右旋结构的等量混合物称为“合霉素”。

4. 稳定性：

主要是抗菌素在光、热和氧化等作用下的稳定性。如庆丰霉素、放线酮和氯霉素等抗菌素在高温下都比较稳定，一般在煮沸的水中也都不致影响其活性，而青霉素和链霉素则在高温下比较容易破坏。日光的作用对于农用抗菌素来说也是十分主要的特性，许多多烯类的抗菌素，尽管抗菌作用比较强，但是它们在光照下很不稳定，容易失效，因此就失去了田间实际应用的价值。

5. 电泳特性：

抗菌素在电场作用下定向移动，反映了分子带电和质量的特性。根据抗菌素在酸性和碱性两种不同的缓冲溶液中电泳的结果，可以判断抗菌素的酸性或碱性，如向负极方向移动的一般为碱性抗菌素，而移向正极的为酸性抗菌素。

电泳结果与抗菌素性质的判别

抗菌素性质	电 泳 结 果	
	酸性缓冲液	碱性缓冲液
中性抗菌素	不移动	不移动或稍向负极*
弱碱性抗菌素	微移向负极	不移动
强碱性抗菌素	移向负极	微移向负极
弱酸性抗菌素	稍移向正极	微移向正极
强酸性抗菌素	微移向正极	移向正极
两性抗菌素	移向负极	移向正极

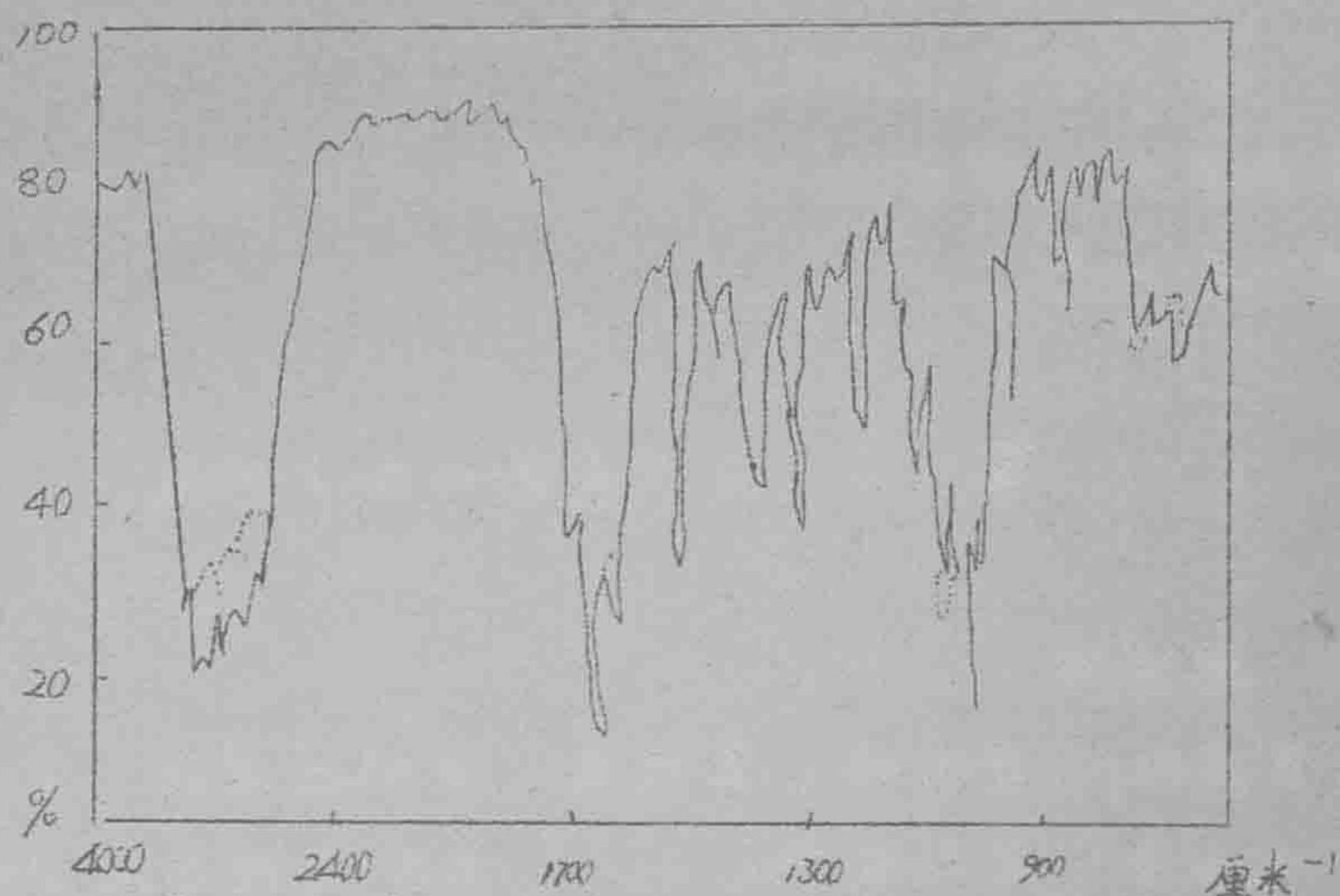
* 因滤纸带有羧基，其电渗作用使样品偏向负极

抗菌素的酸碱性，不仅直接关系到提取和制剂，同时如与其他农药或化肥混合使用，也影响配伍禁忌。如春雷霉素是一种弱碱性抗菌素，它在酸性溶液中比较稳定，而在碱性溶液中则活性显著降低，因此不宜与碱性的农药或化肥混用。

6. 光谱吸收

抗菌素对于光谱的吸收特性（主要是波长范围200~400毫微米(mμ)的紫外光和波长范围在2~15微米(μ)的红外光)注，通常用于鉴别抗菌素的化学结构和测定其纯度的主要依据，例如日本筛选的春日霉素和我国筛选的春雷霉素，根据光谱吸收特性的分析结果基本重合，证明它们是化学结构相同的抗菌素。（见叁）。

注：红外光谱有时可用波数来表示，波数即一毫米范围中振动波的数目，它们之间的关系可用下式表示： $\text{波长}(\mu) = \frac{1 \times 10^4}{\text{波数}(\text{cm}^{-1})}$



春雷霉素和春日霉素红外光谱图

春雷霉素 ·····

春日霉素 ——

7. 核磁共振谱

核磁共振谱利用抗菌素在一定强度的磁场中用适当频率(60兆周)的电磁波照射后产生不同的能吸收峰,以判明抗菌素的化学结构。

核磁共振谱的能吸收作用,主要是由于分子中氢原子引起的,由于氢原子所处的化学环境不同使吸收能吸收的频率稍有不同,产生不同的吸收峰。而吸收峰的面积又与该类氢原子的数成正比。氢原子是有机化合物中的主要成分之一,若能知道分子中全部或大部分氢原子的情况,那么这种成分的化学结构也就不难推测了。

产生核磁共振谱的能通常比红外线更小,而且它吸收峰的位置一般也不用固定的波长来表示,而是以某一化合物的氢(最常用的是四甲基硅烷的氢)原子吸收峰为标准零点,再测其他氢吸收峰的相对距离。

8. 抗菌素的化学性质

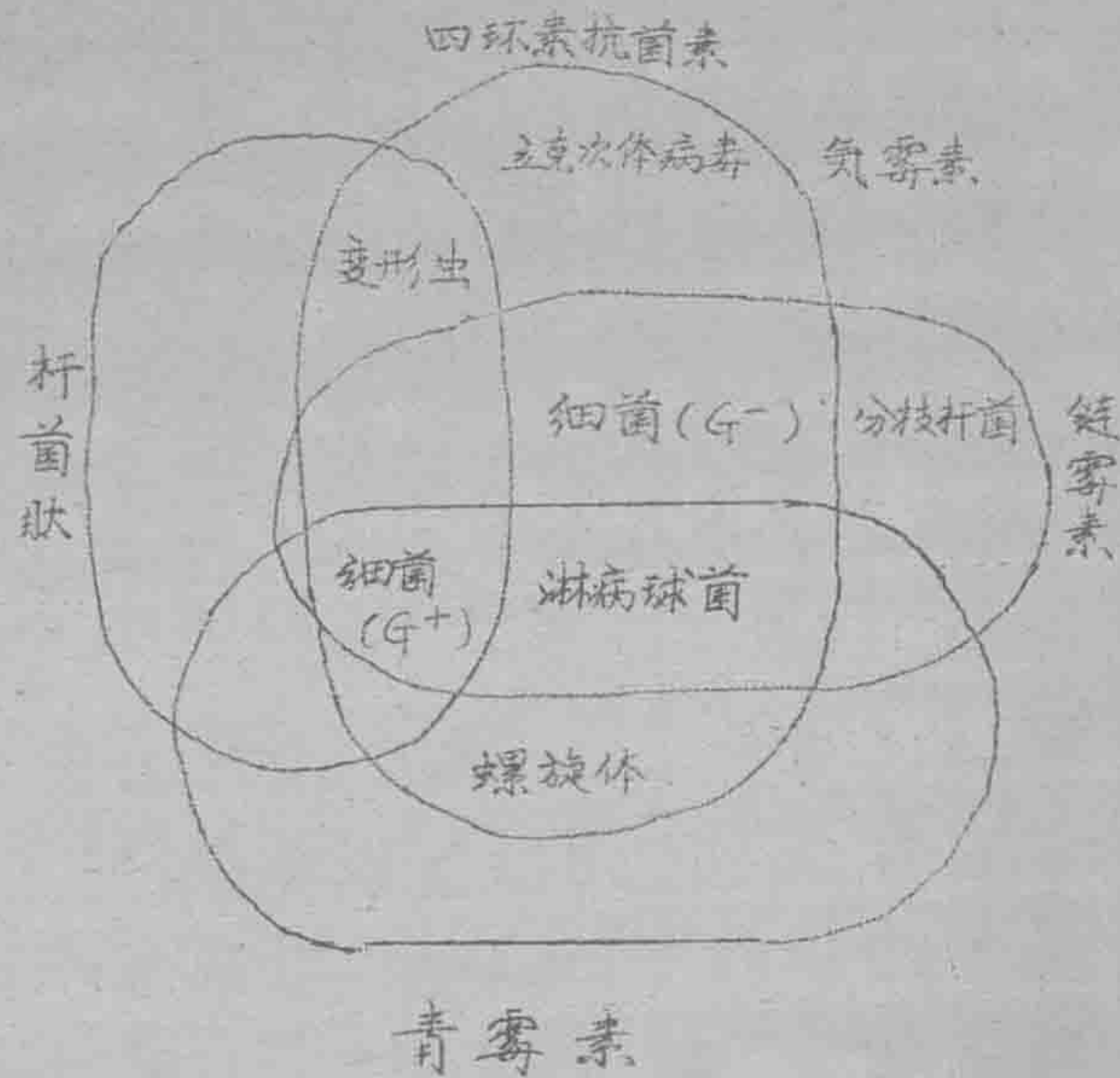
抗菌素的化学性质主要测定其分子中各化学功能团的反应。详见讲义第四章。

第二节 抗菌素的生物学特性

一. 抗菌谱

抗菌素的抗菌作用，各有其一定的选择性，这是抗菌素区别于其他化学灭菌剂的特征之一。各种抗菌素特定的抗菌范围，习惯上称为抗菌谱。抗菌谱表明某一种抗菌素对于哪些微生物类群具有抗菌作用，并且常用抑制这种微生物的抗菌素最低浓度来表示其作用的强度（各种农用抗菌素的抗菌谱可参阅讲义的各论部分）。当然要牢记各种抗菌素的具体抗菌谱是有一定的困难的，因此一般可先掌握其粗略的抗菌范围。如链霉素、灭胞素等主要对细菌具有抑制作用，有时称它为细菌抗菌素；放线酮和灰黄霉素等主要对真菌具有抗菌作用，所以也可称真菌抗菌素。另一些抗菌素的抗菌范围则更窄，例如青霉素主要抑制格兰氏正反应的细菌，对格兰氏负反应细菌一般没有抑制作用。但是也有一些抗菌素的抗菌范围比较广泛，如著名的四环素族抗菌素（土霉素、四环素、金霉素等）和氯霉素，它们对细菌、立克次体、螺旋体、病毒等都有一定的抗菌作用，因此称为广谱抗菌素。

下面用简明的各式表示几种抗菌素的不同抗菌谱：



各种农用抗菌素的粗略抗菌范围如下：

链霉素：抗细菌

灭胞素（叶枯散）：抗细菌

灰黄霉素：抗真菌

放线酮（环己酰亚胺）：抗真菌、原生动物

内疗素：抗真菌

多氧霉素D：抗真菌

春雷霉素：抗某些细菌和真菌

庆丰霉素：抗某些细菌和真菌。

土霉素、氯霉素：抗细菌、病毒、原生动物等。

抗菌素的抗菌谱是决定其实际应用的主要依据之一，例如防治植物的细菌性病害，必须选用链霉素或其他抗细菌的抗菌素，而防治真菌性病害又必须选择放线酮或其他抗真菌抗菌素。这样“对症下药”方能取得比较理想的防治效果。

二、有效作用浓度：

各种抗菌素和普通化学杀菌剂在抗菌作用上最明显的不同，

就在于抗菌素一般都在低浓度时产生作用。具体的有效作用浓度因抗菌素和微生物等不同而异，通常以抑制微生物的最大稀释倍数作为抗菌素作用强度的指标，简称有效浓度。这种有效浓度越低，表明抗菌作用强度越高。例如：几种抗菌素对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的有效浓度分别列表如下：

抗菌素与抑制剂名称	抑制生长所需的最大稀释度	
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌
青霉素	1: 80,000,000	没有作用
链霉素	1: 10,000,000	1: 1,000,000
绿脓杆菌兰素	1: 80,000	1: 10,000
烟曲霉素	1: 100,000,000	1: 1,200
石炭酸(对照)	1: 500	1: 500

一般有效浓度在 100 P.P.M 以上是作用强度比较低的抗菌素，如上表中的绿脓杆菌兰素与烟曲霉素；有效浓度在 1 P.P.M 以下的是作用强度比较高的抗菌素，如表中的青霉素；大多数的抗菌素的有效浓度为 1 P.P.M 左右，而农用抗菌素略高，约 10 P.P.M。

第三节 农用抗菌素的有关特性

抗菌素除了上述的物理、化学和生物学特性以外，在农业上应用的抗菌素还有一些其他的特性关系到在植物上使用的效果。如：

一、内吸性：

抗菌素当喷洒到植物的茎、叶、花、果或根等植物组织的表面，有些抗菌素可以被植物的细胞将它吸收，并且在体内组

织中运转，而不丧失其对病原微生物的抗菌能力。抗菌素的这种特性，称为内吸性。

抗菌素的内吸性是农业上应用的重要特性，它不仅是指导植物施药方法的依据，更主要的它是作为植物病害的治疗剂、预防药剂的主要性能。如放线酮、灰黄霉素、内疗素等都是具有一定内吸性的农用抗菌素。

根据已有的试验资料分析，认为内吸性较强的抗菌素大多属于酸性或中性，并且主要是酯溶性、略带水溶性的抗菌素，它们的分子量通常都不大，一般不超过400，如下列的几种具有内吸性的抗菌素的有关资料：

抗菌素类别	分子量	溶解特性	酸碱性
青霉素	356 [±]	酯溶为主	酸性
灰黄霉素	353	酯溶性	近中性
氯霉素	323	酯溶、水溶	中性
放线酮	281	酯溶性	微酸性

实践证明，真菌所产生的抗菌素，符合以上条件的较多，因此筛选内吸性农用抗菌素值得加以重视。

最近的研究表明：各种抗菌素的内吸作用的机制是不同的，如放线酮和灰黄霉素已证明可由叶片吸收，而氯霉素的内吸性主要是扩散作用，因此吸收的时间长，而吸收量也不大。此外，植物的种类、施药的方法与部位、气候条件等也影响抗菌素的内吸性，这些复杂的关系，有待进一步研究解决。

二、有效期：

抗菌素在田间喷洒应用，维持其抗菌有效作用的时间称为有效期，它关系到防治病害时施药时间的掌握和对植物的保护期。有些抗菌素在日光下不很稳定，就不适于田间使用，一般

内吸性较强的抗菌素，有效保护期都比较长，例如放线酮和灰黄霉素，在用药1个月以后仍在植株内测得其活性，但是其残留量是否足以维持到有效浓度还与很多因素有关。

三、药害：

抗菌素虽然不是细胞质的一般毒物，而且用量通常也比较少，但是这也不排斥它仍然可能对植物细胞具有一定的毒性。当一种抗菌素，它的浓度稀释至0.1~0.2微克/毫升时，对于植物仍有致毒的毒性，这种抗菌素就不适于在植物上应用。至于浓度比较大时产生的药害，就要具体分析，讲完使用的技术。一般抗菌素有效抑制病原菌的浓度与发生药害的浓度之间差距越大，其实用价值便越大。

抗菌素对于植物的药害，常见的有以下几种症状：

- 1、叶片的失绿症：如链霉素可以抑制叶片中叶绿体的形成，使叶片颜色变浅或出现花叶等症状。
- 2、根系膨大发育受阻，矮化或枝叶减少，如链霉素、灰黄霉素应用不当可以出现以上症状。
- 3、叶尖干枯，出现坏死性斑点，大量落叶等如放线酮。
- 4、种子或芽萌发迟缓，或某些组织生理代谢作用降低等。

应当指出，抗菌素产生的药害，不仅与抗菌素的种类，使用浓度等有关，植物的种类、生育期、施药的方法、气候条件等有时也产生重要的影响。

四、毒性与残毒：

由于大面积应用农用抗菌素用量很大，抗菌素的毒性直接关系到人、畜和各种水生物的安全问题，因此选择抗菌素品种必须重视这一点。常用的农用抗菌素，一般都是无毒（如灰黄霉素）或毒性很低的（如春雷霉素），也有一些抗菌素具有一定的毒性，如灭瘟素。