

· 研究论文 ·

浅灰链霉菌 CGMCC1370 及其代谢产物 除草活性研究

薛章荣¹, 徐文平¹, 陈杰², 陶黎明^{*1}

(1. 华东理工大学药学院, 上海 200237; 2. 浙江省化工研究院有限公司, 杭州 310023)

摘要:从上海附近海岛中分离得到放线菌 70014, 其发酵液在多次生物活性筛选中表现出较好的除草活性。对该菌株的培养特征、生理生化指标、细胞壁以及 16S rDNA 基因序列分析后, 确定其为链霉菌属浅灰链霉菌 *Streptomyces griseolus* 中的一员。采用溶剂萃取、硅胶层析分离及制备型高效液相色谱等手段得到一个主要活性化合物 SPRI-70014。通过对该化合物的理化性质及波谱学分析, 确定其结构为 2-[2-(3,5-二甲基-2-氧-环己基)-6-氧-四氢吡喃-4-基]-乙酰胺。尽管其结构与文献报道的具有骨质再吸收抑制活性的抗生素 A75934 的一致, 但首次发现其具有除草活性。种子萌发试验结果表明, 在 1 mg/L 质量浓度下, 该化合物可彻底抑制多种供试作物种子的萌发。盆栽试验发现, 在有效成分 75 g/hm² 剂量下, 其对供试阔叶杂草的抑制率高达 96.0%~100.0%。其对千金子 *Leptochloa chinensis* (L.) Ness、牛筋草 *Eleusine indica* (L.) Gaertn.、反枝苋 *Amaranthus retroflexus* L. 和鳢肠 *Eclipta prostrate* L. 的鲜重 ED₉₀ 值分别为 143.29、146.94、80.88 及小于 9.37 g/hm²。作物安全性试验结果表明, 即使在 2 000 g/hm² 下其对花生和小麦依然安全。

关键词:浅灰链霉菌; 微生物代谢产物; 除草活性

DOI:10.3969/j.issn.1008-7303.2011.02.10

中图分类号: S482.4 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2011)02-0155-07

Study of *Streptomyces griseolus* CGMCC 1370 and its herbicidal metabolite

XUE Zhang-rong¹, XU Wen-ping¹, CHEN Jie², TAO Li-ming^{*1}

(1. East China University of Science and Technology, Pharmaceutical Institute, Shanghai 200237, China;
2. Zhejiang Research Institute of Chemical Industry, LTD., Hangzhou 310023, China)

Abstract: In the course of screening novel pesticides or leading compounds from microorganisms, an actinomyces strain 70014 was isolated from the soil sample collected in an island near Shanghai. The metabolites of the strain showed high herbicidal activity to various broad-leaved and gramineous weeds. According to its culture characters, biochemical characters, the consist of cell wall and 16S rDNA sequence, the strain was identified as *Streptomyces griseolus*. The herbicidal activity compounds were isolated using solvent extraction, silica gel chromatograph and preparative HPLC. One main activity compound was purified. By the means of physico-chemical properties and spectroscopy analyses, the

收稿日期: 2010-09-06; 修回日期: 2010-11-04.

作者简介: 薛章荣 (1973-), 男, 上海人, 硕士研究生; * 通讯作者 (Author for correspondence); 陶黎明 (1958-), 男, 上海人, 博士, 教授级高级工程师, 电话: 021-59883849; E-mail: taolm@sh163.net

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2008AA09Z407); 上海市优秀学科带头人计划 (B 类 08XD14220).

structure was elucidated as: 2-[2-(3,5-dimethyl-2-oxo-cyclohexyl)-6-oxo-tetrahydro-pyran-4yl]-acetamide. The structure appeared the same as the antibiotic A-75943, which was isolated from *S. sp.* SANK6129 with bone resorption inhibition activity. But the herbicidal activity of this compound was firstly reported in this study. In germination inhibition experiments, the compound could inhibit both root and shoot growth at a concentration of 1 mg/L. In the pot tests, at a dose of 75 g/ha, SPRI-70014 provided effective control over most broad leaved weeds at the effect of 96%–100%. At the dose of 150 g/ha, the compound showed effective control over gramineous weeds as well. The fresh weight ED₉₀ against *Leptochloa chinensis* (L.) Ness, *Eleusine indica* (L.) Gaertn., *Amaranthus retroflexus* L., white *Eclipta prostrate* L. was 143.29, 146.94, 80.88 and <9.37 g/hm², respectively. Crop safety experiments showed that the compound had no harmful effect on peanut and wheat plants, at the dose as high as 2 000 g/ha.

Key words: *Streptomyces griseolus*; microorganism metabolite; herbicidal activity

化学除草已成为农业生产中的一项重要技术,推动了农业现代化的进程。但是,过度使用化学除草剂也带来很多负面影响,如出现了污染环境^[1]、影响作物生长^[2-3]、杂草产生抗性^[4-5]、生物多样性遭到破坏^[6-8]等诸多问题,因此人们开始注重天然产物作为除草剂的研究工作。尽管直接利用微生物代谢产物作为除草剂并取得登记注册的产品至今只有双丙氨膦 1 个^[9],但是开发微生物源除草剂或以微生物天然产物作为新型除草剂的先导化合物,仍然引起了杂草科学家和农药化学家的极大兴趣^[10-14]。

在微生物源农药筛选的过程中,笔者从上海附近海岛上的土壤中分离得到一株编号为 70014 的放线菌,经多次生物活性测试发现,其发酵液具有显著的除草活性。本文首次对该放线菌的分类、活性化合物的分离提取、结构鉴定以及化合物的除草活性进行报道。

1 材料与amp;方法

1.1 试材

放线菌 70014 分离自上海郊区海岛的土壤中,保存于中国普通微生物保藏中心(CGMCC 1370);T 载体,上海申能博彩公司产品;*Escherichia coli* TG1,中科院上海植物生理生态研究所提供;供试作物和杂草种子均符合国家南方农药创制中心相关生物测定操作规范要求,试验前对种子进行相应的破休眠处理,选择发芽率大于 95% 的种子供试。

1.2 仪器和试剂

OLYMPUS BH-20 光学显微镜(日本奥林巴斯株式会社生产);JEOL 940 扫描电子显微镜(日本电子株式会社生产);SHIMADZU LC8A 型制备高效

液相色谱仪(日本岛津公司);制备柱(ODS, C₁₈, 250 mm × φ 20 mm, 10 μm);Aglient 1100LC-MSD 液质联用仪(美国 Aglient 公司);Varian INVOA600 核磁共振仪(美国 Varian 公司)。

甲醇和乙腈,HPLC 级;二甲基亚砜、琼脂等,分析纯。41% 农达水剂[有效成分草甘膦(glyphosate),美国孟山都公司生产];20% 百草枯水剂(paraquat AS, 先正达南通作物保护有限公司生产)。

1.3 菌株 70014 的分类

在酵母膏麦芽膏琼脂(ISP2)培养基平板上,划线涂菌并插入盖玻片,28 °C 下培养 7~28 d,用光学显微镜和扫描电子显微镜观察放线菌 70014 的菌丝、孢子丝及分生孢子的形态特征;采用国际链霉菌计划(ISP)推荐的方法^[15]进行菌种的培养特征和生理生化反应试验;全细胞水解液化学组份分析按 Hasegawa 等^[16]和王平^[17]改进的薄层层析(TLC)方法进行。16S rDNA 序列测定按文献^[18]的方法进行。

1.4 微生物菌株的培养

在高氏培养基上接种放线菌 70014,于 28 °C 下培养 10 d 后接种到消毒后的发酵培养基(质量分数:玉米淀粉 1%、葡萄糖 2%、黄豆饼粉 2.5%、肉膏 0.1%、酵母粉 0.4%、氯化钠 2.0%、磷酸氢二钾 0.005%、水, pH 7.2)中,250 mL 摇瓶中装量 50 mL,在 220 r/min 摇床上 28 °C 培养 96 h 左右。过滤除去菌丝体,发酵液用于活性测定及分离提取。

1.5 活性化合物的分离纯化和结构鉴定

取发酵滤液 15 L 用正丁醇萃取 3 次,有机相浓缩至浸膏状(得 18 g),用 50 mL 甲醇溶解,过滤后除去不溶物,减压浓缩得到油状物 12 g。取该油状物 6 g 与少量层析用硅胶混合均匀,加入硅胶层析

柱内,以甲醇-氯仿-石油醚(1:10:5,体积比)洗脱,每50 mL 收集1次,测定除草活性。合并有活性部分的洗脱液,浓缩至干(0.58 g 淡黄色固体),用少量甲醇溶解,用TLC分离(展开剂:甲醇-氯仿=1:15,体积比),经活性测试,刮下具有活性的条带。用甲醇浸泡后过滤,浓缩至干,得到0.22 g 白色粉末。最后用甲醇溶解,利用制备高效液相色谱[流动相为甲醇-乙腈-水(25:5:70,体积比,15 mL/min)]进一步纯化,收集活性组份浓缩至干,得SPRI-70014活性化合物0.14 g 白色粉末,纯度98.5%。通过质谱及核磁共振分析确定化合物的结构。

1.6 种子萌发抑制试验

采用 Sugawara 的方法^[19]并作了部分改进。取8 g 琼脂加入1 L 水,加热融溶后冷却至40~50℃备用。定量称取SPRI-70014溶解于二甲基亚砜(DMSO)中,用含有0.1%吐温-80的水溶液稀释成质量浓度分别为0.5、1、2、4 mg/L 的药液供试。取1 mL 药液加入到含有19 mL 融溶琼脂的小杯中(ϕ 8 cm × 7 cm),待冷却到室温后制成平板。以不加药剂者为空白对照。将黄瓜 *Cucumis sativus*、小藜 *Chenopodium serotinum* L.、苋 *Acalypha australis* L.、马唐 *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop、稗草 *Echinochloa crusgalli* L. 和高粱 *Sorghum vulgare* Pers. 6种植物的种子均匀放置在杯中的平板上(种子处理参照文献[20]进行),加盖后,将杯子置于温度为20~28℃、相对湿度为85%~95%的房间内,光照周期(光照/黑暗)16 h L/8 h D,光源为10⁴ lx 的荧光灯管。7 d 后观察是否有白化或黄化症状,用直尺量取苗长和根长,与对照比较后计算抑制率。

1.7 室内盆栽除草活性

根据国家南方农药创制中心生物测定方法操作规范并参考文献[21]的方法进行。试验样品按设置的剂量用含0.1%吐温-80的蒸馏水稀释后进行处理。供试样品设4.695、9.375、18.75、37.5、75、150和300 g/hm²共7个处理剂量,对照药剂百草枯设0.4695、0.9375、1.875、3.75、7.5、15和30 g/hm²共7个处理剂量。每处理3次重复,另设空白对照。

处理后定时观察植株反应症状,并于药效充分发挥时按0~100%分级法目测评价综合除草活性。同时测定地上部分鲜重,计算鲜重抑制率^[21]。

1.8 作物安全性试验

试验样品按设置的剂量用含0.1%吐温-80的蒸馏水稀释后进行处理。供试样品设500、1000、

2000和4000 g/hm²共4个处理剂量,对照药剂草甘膦的处理剂量为50 g/hm²。每处理3次重复,另设空白对照。处理后定时观察植株反应症状,并于药效充分发挥时按0~100%分级法目测评价其对作物的安全性^[21]。同时测定地上部分鲜重,计算鲜重抑制率。

1.9 统计方法

采用DPS数据处理系统进行统计分析。由式(1)计算对种子萌发的抑制率(R);由式(2)计算鲜重抑制率。根据剂量和活性的回归分析计算ED₉₀值。

$$R/\% = (L_0 - L_1)/L_0 \times 100 \quad (1)$$

其中 L_0 和 L_1 分别表示对照和处理组苗长或根长。

$$\text{鲜重抑制率}/\% = (W_0 - W_1)/W_0 \times 100 \quad (2)$$

其中 W_0 和 W_1 分别表示对照和处理组鲜重。

2 结果与讨论

2.1 放线菌70014的分类鉴定

菌株70014在大多数培养基上生长良好。在高氏培养基上,菌落整齐,基内菌丝体无横隔,不断裂;气生菌丝体分支,生长丰盛。孢子丝直而略波曲,孢子个数10个左右,孢子呈短圆柱型,表面光滑(见图1)。根据《伯杰细菌鉴定手册》^[22],其应属于链霉菌属。生理生化试验结果见表1。菌株70014细胞壁含有L-2,6-二氨基庚二酸(LL-DAP)和甘氨酸,属胞壁I型;全细胞糖水解无特征性糖,为C型。菌株70014的16Sr DNA核苷酸序列全长为1518 bp (Genbank 登录号:FJ538595),通过与Genbank中的序列比对,发现其与浅灰链霉菌的序列相似度为

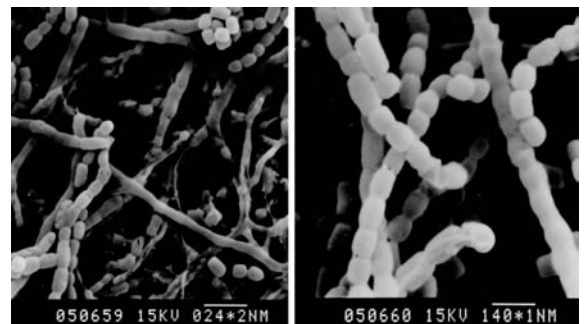


图1 菌株70014在高氏培养基培养14 d后的电镜照片
Fig. 1 The electron microscope photo of SPRI-70014

左图:70014孢子丝(放大5000倍);右图:70014孢子(放大15000倍)。

Left: the spore hypha of 70014(×5000); Right: the spore of 70014(×15000).

99%。综合其形态和培养特征,判断该菌株属于浅灰链霉菌 *S. griseolus* 中的一员,命名为浅灰链霉菌

SPRI-70014,并保存于中国普通微生物保藏中心,保藏号 CGMCC 1370。

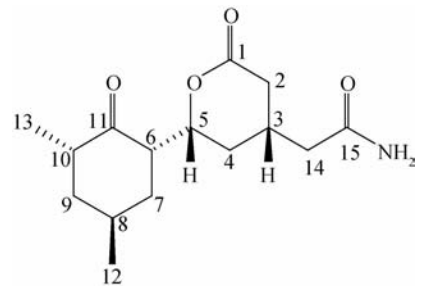
表 1 菌株 70014 对碳源的利用及生理生化指标

Table 1 Carbon source utilization and physiological biochemical characteristics of strain 70014

碳源利用 Carbon source utilization	70014 菌株 Strain	生理生化特征 Physiological biochemical characteristics	70014 菌株 Strain
D-葡萄糖 Glucose	+	纤维素生长 Cellulose growth	-
D-木糖 Xylose	+	明胶液化 Hydrolyzing gelatin	液化完全 Completely
D-甘露醇 Mannase	+	淀粉 Starch	水解完全 Completely
D-果糖 Fructose	-	酪素水解 Hydrolyzing casein	不水解 None
L-阿拉伯糖 Arabinose	+	牛奶凝固,牛奶胨化 Curdled milk, peptone milk	不凝固,胨化完全 None, completely
L-肌醇 Inose presoakin	+	H ₂ S 产生 H ₂ S produce	不产生 None
L-鼠李糖 Rhamnose	-		
棉子糖 Raffinose	+		
蔗糖 Sucrose	+		

2.2 活性化合物的结构鉴定

质谱显示该化合物的相对分子质量为 281 [MS (EI), m/z (%): 219、246、264、282 (M^+)], 用氘代甲醇进行的核磁共振氢谱 (^1H NMR) 显示其有 21 个氢, 碳谱 (^{13}C NMR) 显示其有 15 个碳原子 (见表 2)。经检索, 确定 SPRI-70014 与文献报道^[23] 的抗生素 A-75943 结构一致, 为 2-[2-(3,5 二甲基-2-氧-环己基)-6-氧-四氢吡喃-4-基]-乙酰胺 (见 Scheme 1)。



Scheme 1

表 2 SPRI-70014 的核磁共振氢谱、碳谱数据

Table 2 NMR data of SPRI-70014

碳原子 Carbon atom	^{13}C NMR (CD_3OD), δ		^1H NMR (CD_3OD), δ	
	SPRI-70014	Antibiotic A-75943	SPRI-70014	Antibiotic A-75943
1	175.75	176.4		
2	36.44	36.6	2.03 ~ 2.22 (m, 1H) 2.70 (ddd, 1H)	2.06 ~ 2.24 (m, 1H) 2.73 (ddd, 1H)
3	29.39	30.0	2.67 ~ 2.72 (m, 1H)	2.73 (m, 1H)
4	32.97	33.1	1.36 (td, 1H) 2.40 ~ 2.51 (m, 1H)	1.38 (td, 1H) 2.49 (m, 1H)
5	80.09	80.0	4.74 (ddd, 1H)	4.72 (ddd, 1H)
6	50.21	50.5	2.80 (td, 1H)	2.86 (td, 1H)
7	36.39	36.1	1.76 (dt, 1H) 2.03 ~ 2.22 (m, 1H)	1.78 (dt, 1H) 2.06 ~ 2.24 (m, 1H)
8	41.14	41.5	2.54 ~ 2.68 (m, 1H)	2.70 (m, 1H)
9	44.12	43.7	1.60 (dt, 1H) 1.66 ~ 1.72 (m, 1H)	1.62 (dt, 1H) 1.69 (m, 1H)
10	28.68	28.3	1.90 ~ 1.95 (m, 1H)	1.93 (m, 1H)
11	216.34	213.4		
12	14.78	14.8	0.98 (d, 2H)	0.96 (d, 2H)
13	18.55	18.4	1.31 (d, 3H)	1.28 (d, 3H)
14	42.89	42.5	2.22 (d, 3H)	2.22 (d, 3H)
15	173.63	173.8		

2.3 生物活性

种子萌发抑制试验结果(表3)表明,化合物 SPRI-70014 在 1 mg/L 时即可全部抑制供试的 6 种植物种子发芽,在 0.5 mg/L 时也有 50% 以上的平均抑制率。试验中未发现有白化和黄化现象。

盆栽试验的平均除草活性测试结果(见表4)表明,化合物 SPRI-70014 除草活性较高,其在有效成

分 75 g/hm² 剂量下,对阔叶杂草反枝苋和鳢肠的抑制率为 96% ~ 100%; 在 150 g/hm² 剂量下,对禾本科杂草千金子和牛筋草的抑制率在 95% 以上,与对照药剂百草枯在 7.5 g/hm² 剂量下的活性相当。根据剂量-活性的回归分析(表5),SPRI-70014 的除草活性与剂量有较好的线性相关性,在推荐剂量下除草活性与百草枯有一定的可比性。

表3 SPRI-70014 在不同剂量下对种子萌发的抑制作用*

Table 3 Data of the seed germination inhibit experiment of SPRI-70014 under different concentration*

植物品种 Plant type	0.5 mg/L		1 mg/L		2 mg/L		4 mg/L	
	苗抑制率 Seedling inhibit rate/%	根抑制率 Root inhibit rate/%	苗抑制率 Seedling inhibit rate/%	根抑制率 Root inhibit rate/%	苗抑制率 Seedling inhibit rate/%	根抑制率 Root inhibit rate/%	苗抑制率 Seedling inhibit rate/%	根抑制率 Root inhibit rate/%
稗草 <i>E. crusgalli</i>	39.67 ± 3.51	85.00 ± 2.00	70.33 ± 2.52	95.33 ± 1.53	83.36 ± 1.56	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
高粱 <i>S. vulgare</i>	60.33 ± 2.52	65.00 ± 3.00	90.00 ± 3.61	100.00 ± 0.00	97.66 ± 2.32	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
马唐 <i>D. sanguinalis</i>	79.67 ± 5.51	85.33 ± 3.51	100.00 ± 0.00	95.33 ± 1.53	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
苋 <i>A. australis</i>	95.00 ± 3.00	95.33 ± 2.52	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
黄瓜 <i>C. sativus</i>	50.33 ± 2.52	79.67 ± 4.51	89.93 ± 3.06	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
小藜 <i>C. serotinum</i>	100.00 ± 0.00	50.67 ± 3.06	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00

* 表内数值表示平均值 ± 标准误差(4 个单独试验,每次 3 个重复)。

* Data in the table represent average ± SE (n = 3, with 4 independent experiments).

表4 SPRI-70014 和百草枯各剂量处理对几种供试杂草的除草活性(抑制率/%)

Table 4 Herbicidal activity of the SPRI-70014 and paraquat against the tested weeds in different doses (Inhibition rate/%)

药剂 Agent	剂量 Dose/ (g/hm ²)	千金子 <i>Leptochloa chinensis</i>		牛筋草 <i>Eleusine indica</i>		反枝苋 <i>Amaranthus retroflexus</i>		鳢肠 <i>Eclipta prostrate</i>	
		目测	鲜重	目测	鲜重	目测	鲜重	目测	鲜重
		Sketching	Fresh weight	Sketching	Fresh weight	Sketching	Fresh weight	Sketching	Fresh weight
SPRI-70014	4.695	45	52.59	65	62.93	35	45.67	50	54.99
	9.375	55	61.11	65	66.91	55	55.71	95	97.36
	18.75	60	65.79	70	68.04	60	63.93	100	100.00
	37.5	65	72.41	70	74.37	85	87.80	100	100.00
	75	70	82.31	80	77.52	95	97.73	100	100.00
	150	95	95.69	95	94.10	100	100.00	100	100.00
	300	95	95.89	95	100.00	100	100.00	100	100.00
百草枯 paraquat	0.469 5	5	7.89	45	47.19	45	40.92	15	16.06
	0.937 5	25	23.10	60	62.33	50	52.66	20	20.61
	1.875	50	41.85	70	68.53	60	62.15	95	93.67
	3.75	75	73.03	90	89.74	65	67.53	100	100.00
	7.5	95	96.39	90	92.37	100	99.13	100	100.00
	15	100	100.00	100	97.72	100	100.00	100	100.00
	30	100	100.00	100.0	100.00	100	100.00	100	100.00

表 5 SPRI-70014 和百草枯鲜重抑制率剂量-活性回归分析数据

Table 5 Fresh weight inhibit dose-activity regression analyse result of SPRI-70014 and paraquat

靶标 Target	药剂 Agent	回归方程 Regression equation	相关系数 R Correlation coefficient, R	ED ₉₀ /(g/hm ²)
千金子 <i>L. chinensis</i>	SPRI-70014	$Y = 34.84 + 11.11 \ln x$	0.984 2	143.29
	百草枯	$Y = 30.16 + 24.98 \ln x$	0.963 9	10.97
牛筋草 <i>E. indica</i>	SPRI-70014	$Y = 44.99 + 9.02 \ln x$	0.953 0	146.94
	百草枯	$Y = 62.46 + 13.04 \ln x$	0.959 9	8.26
反枝苋 <i>A. retroflexus</i>	SPRI-70014	$Y = 25.38 + 14.71 \ln x$	0.954 8	80.88
	百草枯	$Y = 53.58 + 15.92 \ln x$	0.958 1	9.85
鳢肠 <i>E. prostrate</i>	SPRI-70014	-	-	<9.37
	百草枯	-	-	<1.88

在作物安全性试验中发现:喷药 3 d 后黄瓜受害症状最为严重,大部分黄瓜苗叶片发黑并萎缩;蚕豆和豌豆的叶片均有发黑、萎蔫状,且随着药剂浓度的增加,药害程度随之增加;水稻第 2 和第 3 真叶出现青枯,同样随着药剂浓度的增加药害程度随之增加;玉米出现块状黄斑且叶缘萎蔫;花生和小麦则与对照相比无差异。喷药处理后 15 d,黄瓜、蚕豆和豌

豆药害严重的叶片干枯,2 000 g/hm² 的处理目测防效达到 90.0% 以上,而在 500 g/hm² 的处理时蚕豆和豌豆都长出新叶,其余受害植株均有不同程度的恢复(表 6)。结果表明,SPRI-70014 采用茎叶喷雾处理,对黄瓜、豌豆、蚕豆、玉米和水稻的药害较严重,对花生和小麦较安全。

表 6 SPRI-70014 对作物的平均鲜重抑制率(%)^{*}

Table 6 Average fresh weight control effect (inhibition rate/%) on the crop of SPRI-70014

作物品种	SPRI-70014				草甘膦 glyphosate	水
	500 g/hm ²	1 000 g/hm ²	2 000 g/hm ²	4 000 g/hm ²	50 g/hm ²	Water
花生 <i>Arachis hypogaea</i>	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	10.32 ± 1.62	0 ± 0.00	/
豌豆 <i>Lathyrus odoratus</i> L.	19.20 ± 3.76	40.63 ± 1.78	50.17 ± 2.65	87.23 ± 2.76	15.73 ± 2.40	/
蚕豆 <i>Vicia faba</i> Linn	53.43 ± 3.96	74.13 ± 3.65	98.50 ± 1.50	100 ± 0.00	64.20 ± 1.83	/
玉米 <i>Zea mays</i> L.	0 ± 0.00	15.80 ± 5.66	46.47 ± 2.70	76.37 ± 1.93	0 ± 0.00	/
小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	0 ± 0.00	0 ± 0.00	8.13 ± 4.68	34.2 ± 3.26	0 ± 0.00	/
水稻 <i>Oryza sativa</i> L.	39.50 ± 2.25	49.97 ± 4.56	55.93 ± 2.83	86.6 ± 1.64	82.37 ± 2.98	/
黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	94.58 ± 2.56	100 ± 1.66	100 ± 0.00	100 ± 0.00	84.20 ± 2.43	/

^{*} 表内数值表示平均值 ± 标准误差(3 个单独试验,每次 3 个重复)。

^{*} Data in the table represent average ± SE (n = 3, with 3 independent experiments).

本研究中的 SPRI-70014 与 Sato^[23] 研究组在筛选新药物过程中发现的抗生素 A-75943 结构相同。A-75943 在体外具有抑制溶骨细胞溶骨的能力,从而被作为骨质再吸收抑制剂进行研究^[23],迄今并未见有该化合物具有除草活性的报道。

本研究发现,化合物 SPRI-70014 具有显著的除草活性,且对花生和小麦较安全,即使在 4 倍推荐剂量下使用,对这两种作物依然安全,因此有望成为这两种作物田中防治阔叶和禾本科杂草的候选产品。虽然目前菌株 70014 产生活性代谢物的能力较低,经济上还不具有将 SPRI-70014 直接开发为商品除草剂的可能性,但是,由于其结构相对简单,基因可

塑性大,可为有机合成提供先导结构或结构改造的模板。天然产物经结构改造或修饰后成为商品除草剂已有许多成功的例子:如以茴香霉素(Anisomycin)为模板成功开发出的商品除草剂苯草酮(methoxyphenone NK-049)^[24];以 Cyperine 为先导化合物,经结构改造后的产物已经有 10 多个被成功开发为商品化的除草剂^[25]。

致谢:本项目在结构鉴定过程中得到 Syngenta 作物保护公司顾玉诚博士的帮助,在室内除草活性测试中得到上海南方农药研究中心倪长春教授的建议和帮助,特此致谢。

参考文献:

- [1] BUSER H R. Atrazine and others-triazine herbicides in lakes and in rain in Switzerland [J]. *Environ Sci Technol*, 1990, 24: 1049 – 1058.
- [2] LI Wei (李伟), FAN Zhi-jin (范志金). 氯磺隆的化学行为 [J]. *J Sichuan Normal Univ; Nat Sci* (四川师范大学学报:自然科学版), 2002, 25(5): 522 – 525.
- [3] NORTHCOTT G L, JONES K C. Experimental approach and analytical techniques for determining organic compound bound residues in soil and sediment [J]. *Environ Pollut*, 2000, 108(1): 19 – 43.
- [4] SU Shao-quan (苏少泉). Target Enzyme of Herbicides and New Variety Development (除草剂作用靶标与新品种创制) [M]. Beijing (北京): Chemical Industry Press (化学工业出版社), 2001: 16 – 23.
- [5] SU Shao-quan (苏少泉). 除草剂开发面临的问题及发展趋势 [J]. *J Modern Agric* (现代化农业), 2002, 70(1): 1 – 8.
- [6] DENG Xiao (邓晓), TANG Qun-feng (唐群峰). 百草枯对土壤微生物影响的研究 [J]. *J Eco-Agric* (中国生态农业学报), 2006, 14(4): 146 – 149.
- [7] DU Yu-feng (杜宇峰), YE Yang-fang (叶央芳). 除草剂苯噻草胺对水稻田土壤微生物种群的影响 [J]. *J Appl & Environ Bio* (应用与环境生物学报), 2005, 11(6): 747 – 750.
- [8] SHENG Xiao-feng (沈晓峰), LUAN Feng-xia (栾凤霞), TAO Bo (陶波). 抗草甘膦转基因大豆生物与环境安全性 [J]. *J Northeast Agric Univ* (东北农业大学学报), 2007, 38(3): 401 – 404.
- [9] COPPING L G, DUKE S O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents [J]. *Pest Mgt Sci*, 2007, 63(6): 524 – 554.
- [10] DAYAN F E, FEFFERIA D, WANG Y H, *et al.* A Pathogenic fungi diphenyl ether phytotoxin targets plant enoyl (acyl carrier protein) reductase [J]. *Plant Physiol*, 2008, 147(6): 1062 – 1071.
- [11] SAKAI Y, YOSHIDA T, OCHIAI K, *et al.* GEX1 compounds, novel antitumor antibiotics related to herboxidiene produced by *Streptomyces* sp. [J]. *J Antibiot*, 2002, 55(10): 855 – 862; 863 – 872.
- [12] OMURA S, HINOTOZAWA K, IMAMURA N, *et al.* The structure of phosalacine, a new herbicidal antibiotic containing phosphinothricin [J]. *J Antibiot*, 1984, 37(8): 939 – 940.
- [13] KATO H, NAGAYANA K, ABE H, *et al.* Isolation, structure and biological activity of trialaphos [J]. *Agric Biol Chem*, 1991, 55(7): 1133 – 1134.
- [14] DUKO S O, DAYAN F E, HERNADDERZ A. Natural products as leads for new herbicide modes of action [C] // The Brighton Crop Protection Conference. Glosgow, 1997: 579 – 586.
- [15] SHIRLING E B. Methods for characterization of *Streptomyces* species [J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1966, 16(4): 313 – 340.
- [16] HASEGAWA T, TAKIZAWA M, TANIDA S. A rapid analysis for chemical grouping of aerobic actinomycetes [J]. *J Gen Appl Microbiol*, 1983, 29(4): 319 – 322.
- [17] WANG Ping (王平). 测定放线菌菌体中氨基酸和单糖的快速方法: 薄层层析法 [J]. *Microbiol* (微生物学通报), 1986, 13(4): 228-230.
- [18] HOPWOOD D A, BIBB M J, CHATER K F, *et al.* Genetic manipulation of *Streptomyces*—a laboratory manual [M] // Preparation of Chromosomal, Plasmid and Phage DNA. Norwich: F Crowe & Sons Ltd, 1985: 79 – 80.
- [19] SUGAWARA H, KOYAMA K. Biological Assay of Pesticide [M]. TOKYO: Nankodo, 1965: 57 – 58.
- [20] XU W P, TAO L M, GU X B, *et al.* Herbicidal activity of the metabolite SPRI-70014 from *Streptomyces griseolus* [J]. *Weed Sci*, 2009, 57(5): 547 – 553.
- [21] CHEN Jie (陈杰), LI Ming-zhi (李明智), WU Sheng-gan (吴声敢), *et al.* 新除草剂 ZJ0166 生物活性评价 [J]. *Zhengjiang Chem Ind* (浙江化工), 2000, 31(Suppl): 46 – 51.
- [22] BUCHANNA R E, GIBBONS N E. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology [M]. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994: 1322 – 1533.
- [23] MORISHITA T, SATO A, ANDO T, *et al.* A novel bone resorption inhibitor, A-75943 isolated from *Streptomyces* sp. SANK 61296 [J]. *J Antibiot*, 1998, 51(6): 531 – 538.
- [24] DANYAN F E, ROMAGNI J E, DUKE S O. Investigating the mode of action of natural phytotoxins [J]. *J Chem Ecol*, 2000, 26(9): 2079 – 2094.
- [25] LIU Chang-ling (刘长令), HAN Liang (韩亮), LI Zheng-ming (李正名). 以天然产物为先导化合物开发的农药品种 (3)——除草剂 [J]. *J Pestic* (农药), 2004, 43(1): 1 – 4.

(责任编辑: 金淑惠)