

爪哇扁头猛蚁颊下囊可培养放线菌及抑菌活性研究

常莉莉,王 楚,罗美青,赵孟钦,贺 虹*

(西北农林科技大学 林学院,西部森林生物灾害治理国家林业和草原局重点实验室,陕西 杨陵 712100)

摘 要:为研究肉食性蚂蚁爪哇扁头猛蚁工蚁颊下囊内含物中放线菌的组成及其抑菌活性,采用传统的微生物分离培养和序列分析相结合的方法,对不同蚁巢单头工蚁颊下囊中放线菌进行分离培养,共获得 9 株不同的放线菌。链霉菌为优势类群,有 6 个菌株(A2、A3、B1、B3、B4、B5),菌株 B1、A3 和 B5 在 3 个蚁巢中均有分布,平均分离频率较高,分别为 93.3%、80.0%和 53.3%;菌株 C1 为微杆菌属,分离频率达到 100.0%,菌株 A1 为冢村氏菌属,分离频率为 80.0%,菌株 C1 和 A1 在 3 个蚁巢中均有分布。菌株 B2 为拟无枝酸菌属,仅在 2 个巢中分布,分离频率仅为 26.7%。利用平板对峙法和生长速率法对 9 株放线菌进行抑菌活性研究,菌株 B2(拟无枝酸菌属)以及菌株 B3、B4 和 B5(链霉菌属)对 8 种植物病原真菌具有一定的抑菌活性。其中,菌株 B4 的发酵液对 8 种病原菌均表现出较强的抑菌活性,尤其对杨树溃疡病菌、水稻纹枯病菌、核桃黑盘壳菌和苹果腐烂病菌的抑菌率达到 100.0%,显示出极强的抑菌效果,可进一步开发和利用。

关键词:爪哇扁头猛蚁;口前腔;微生物;抑菌活性

中图分类号:S763.33

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2022)04-0196-07

A Study on Culturable Actinomycetes from the Infrabuccal Pocket of *Ectomomyrmex javanus* (Mayr) and Their Antimicrobial Activity

CHANG Li-li, WANG Chu, LUO Mei-qing, ZHAO Meng-qin, HE Hong*

(College of Forestry, Key Laboratory on Management of Forest Bio-Disaster of National Forestry and Grassland Administration, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: In order to study the composition and antimicrobial activity of actinomycetes from the infrabuccal pocket of a carnivorous ant, *Ectomomyrmex javanus*, the composition of actinomycetes in the pocket was isolated by using a culture-dependent method and identified with DNA sequence analysis. Nine actinobacterial strains from the infrabuccal pocket were obtained. It was found that *Streptomyces* formed the dominant group, with a total of 6 strains (A2, A3, B1, B3, B4, B5), among which the strain B1, A3 and B5 were distributed in all 3 nests with the average isolation frequencies of 93.3%, 80.0% and 53.3%, respectively. Strain C1 and A1 belonged to genus *Microbacterium* and *Tsukamurella*, with isolation frequencies of 100.0% and 80.0%, respectively. Strain C1 and A1 both were found in all 3 nests. B2 was only found in 2 nests, and the average isolation frequency was only 26.7%. The antimicrobial activities of 9 strains of actinomycetes by using the plate confrontation method and the growth rate method showed that strain B2 (*Amycolatopsis*), B3, B4, and B5 (*Streptomyces*) had antimicrobial activity to 8 strains of tree pathogenic fungi. Among them, the fermentation liquor of strain B4 exhibited inhibitory activity to 8 strains of tree pathogenic, especially to *Botryosphaeria dothidea*, *Valsa mali*, *Thanatephorus cucumeris* and *Melanconium oblongum* with inhibitory rate of 100%, which could be further developed and utilized.

收稿日期:2021-05-09 修回日期:2022-03-09

基金项目:国家自然科学基金项目(31570388)。

第一作者:常莉莉。研究方向:森林昆虫学。E-mail:1742775617@qq.com

*通信作者:贺 虹,教授,博士生导师。研究方向:森林昆虫学。E-mail:hehong@nwsuaf.edu.cn

Key words: *Ectomomyrmex javanus*; preoral cavity; microorganisms; antibacterial activity

蚂蚁是高度进化的社会性昆虫,广泛分布于陆地生态系统,是种类和数量最为丰富的动物类群,对于农林害虫和其他小型动植物类群的种群数量具有较好的调节作用^[1]。蚂蚁食性较杂,能够取食固体食物如植物种子及其他小型节肢动物尸体,又能取食液体食物如花蜜、树汁及半翅目昆虫的蜜露^[2]。蚂蚁口前腔具有一个特殊的结构—颊下囊(infra-buccal pocket),能够过滤固体食物颗粒和其他杂质并将其定期排出体外^[3-4]。颊下囊的过滤作用使得只有液态食物才能进入食道并储存于嗉囊,然后个体间通过交哺传递给蚁巢内的其他个体^[1]。一些研究表明,蚂蚁颊下囊中存在一些特殊的微生物类群,在蚂蚁社会生活中发挥特殊功能^[5-6],尤其在培养真菌的切叶蚁中,其工蚁颊下囊中的链霉菌产生抗生素,可杀死致病菌孢子以此来保护菌圃的安全^[7-9]。前期的研究发现,日本弓背蚁(*Camponotus japonicus*)颊下囊中微生物的种类和数量明显高于消化道,且放线菌为颊下囊中优势的微生物类群^[10-11],其他研究者发现日本弓背蚁头部分离得到的放线菌种类较胸部和腹部多^[12]。但目前关于蚂蚁颊下囊微生物组成的研究仍局限于少数种类,这些微生物的组成及其功能有待更进一步的揭示。

爪哇扁头猛蚁(*Ectomomyrmex javanus*)是一种在中国分布较为广泛的捕食性蚂蚁,又被称为敏捷扁头猛蚁或敏捷厚结猛蚁(*Pachycondyla astuta*)^[13-15]。该种蚂蚁主要取食节肢动物的尸体,偶尔采集种子和植物的叶片^[16],其颊下囊的超微结构明显不同于杂食性的日本弓背蚁^[17-18],那么其内部的微生物组成是否也存在差异还是未知。因此,本研究以该种肉食性蚂蚁为研究对象,利用传统的微生物培养与 16S rRNA 相结合的方法,分离和鉴定了其颊下囊内含物中的放线菌,并对可分离培养放线菌进行抗菌活性研究,旨在进一步揭示颊下囊在蚂蚁食物资源利用、消化和清洁行为等方面可能发挥的作用,也为发现具有抑菌活性菌株应用于农林业病虫害防治提供信息。

1 材料与方法

1.1 蚂蚁的采集与解剖

在陕西杨凌选取距离>3 km 的 3 个爪哇扁头猛蚁巢穴,采集外出活动的工蚁,单头工蚁单独装入灭菌的离心管内,放入冰盒带回实验室在超净工作台中进行颊下囊的解剖,用于放线菌的分离培养研究。颊下囊的解剖方法参考张凯旋等^[11]的研究方法。

1.2 供试菌株

抑菌活性试验共涉及到 8 种植物病原真菌(表 1),试验菌株来源于西北农林科技大学森林病理实验室。

表 1 抑菌活性试验菌株信息统计
Table 1 The information of the strains used for antimicrobial bioactivity of actinomycetes

病害	病原	菌株编号
杨树溃疡病	葡萄座腔菌 <i>Botryosphaeria dothidea</i> (Moug. ex Fr.) Ces. et de Not	F1
茶叶炭疽病	盘长孢菌 <i>Discula theae-sinensis</i> (I. Miyake) Moriwaki & Toy. Sato	F2
核桃炭疽病	果生盘长孢菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	F3
枣缩病	细交链孢菌 <i>Alternaria tenuis</i> Ness	F4
水稻纹枯病	瓜亡革菌 <i>Thanatephorus cucumeris</i> (Frank) Donk	F5
灰霉病	灰葡萄孢菌 <i>Botrytis cinerea</i> Pers	F6
核桃枝枯病	矩园黑盘孢菌 <i>Melanconium oblongum</i> Berk	F7
苹果腐烂病	苹果黑腐皮壳菌 <i>Valsa mali</i>	F8

1.3 放线菌的分离培养

采用 ISP2 培养基、高氏一号固体培养基和牛肉膏蛋白胨培养基分别进行放线菌的分离培养,同一地点、同种培养基分别解剖 10 头工蚁的颊下囊作为重复。在 3 种培养基中加入质量浓度分别为 8.30%,6.25% 和 6.25% 的重铬酸钾^[12],抑制其他细菌生长^[19];采用高氏一号液体培养基和小米培养基用于放线菌菌株的发酵培养,PDA 固体培养基(马铃薯葡萄糖琼脂培养基)用于病原真菌的培养,具体配置方法见文献^[19]。

将单头工蚁颊下囊的内含物单独进行微生物的分离培养,直接放置于培养基上,加入 200 μL 无菌水,用灭菌后的三角玻璃棒研磨涂抹均匀。灭菌水 200 μL 涂抹于培养基上作为阴性对照。将制作好的培养皿用封口膜密封,置于恒温培养箱中 28 ℃ 培养,定期观察菌落生长情况。培养 21~31 d 后进行菌落的观察和统计,记录每个平板上的菌落形态及数量,计算菌株在不同蚁巢的分离频率,根据菌落形态特征挑取单菌落,进行划线培养,分离纯化后置于 4 ℃ 冰箱保藏备用。

分离频率 = 巢穴中分离到此种菌株的蚂蚁数量 / 本巢穴解剖的蚂蚁数量 × 100%

1.4 菌株的 DNA 提取、PCR 扩增及测序

采用 4 种方法对放线菌菌株的 DNA 进行提

取:菌落 PCR 法、CTAB 法^[20]、细菌基因组 DNA 试剂盒(北京天根生化科技有限公司)、Chelex-100 法^[21]。利用引物 27F: 5'-AGAGTTTGATCMTG-GCTCAG-3'; 1492R: 5'-ATGGGYTACCTTGT-TACGACTT-3')进行 PCR 扩增^[22]。待 PCR 产物达到测序的要求后送上海生工生物工程股份有限公司进行双向测序。

在 GenBank 数据库中进行 BLAST 序列比对, 下载相似性最高的前 5 条微生物序列, 然后利用 ClustalX 2.1 软件进行多重比对^[23], 利用软件 BioEdit 7.0.9.0 对原始序列进行拼接和校对, 切除首尾乱序, 选择最理想的建树模型, 使用软件 Mrbayes 3.1.2 构建贝叶斯系统发育树(Bayesian inference tree)^[24], 依据 97% 的序列相似性作为判定放线菌种类的标准。

1.5 放线菌抑菌活性研究

1.5.1 平板对峙法对放线菌抑菌活性的初步筛选 参照贺宏伟等^[25]的研究方法, 用接种针挑取少量分离纯化的放线菌菌丝涂布在高氏一号培养基平板上, 在 28℃ 的恒温条件下培养 3~5 d 备用。采用平板对峙培养法研究放线菌对病原菌的抑制作用。病原菌菌饼($d=0.5$ cm)取自于培养好的病原菌边缘, 将其置于 PDA 平板中央, 取供试放线菌菌饼($d=0.5$ cm)置于 PDA 平板病原菌的两侧, 每个处理重复 3 次。28℃ 恒温培养 3~5 d 后测量病原菌直径和 2 个放线菌菌饼的距离, 计算平均抑菌率。

抑菌率=(放线菌菌饼间距离-病原菌直径)/放线菌菌饼间距离 $\times 100\%$

1.5.2 生长速率法对放线菌发酵液抑菌活性的分析 参照贺宏伟等^[25]的研究方法, 在无菌条件下, 挑取初步筛选后具有抑菌活性的放线菌菌株单菌落, 在小米发酵培养基上接种 10% 活化好的菌株, 在台式恒温振荡器中 28℃、180 r/min 摇菌培养 7 d, 获得所需发酵液 8 000 r/min 离心 15 min, 取上清保存在 4℃ 冰箱备用。采用生长速率法对放线菌发酵液进行抑菌活性研究。在 28℃ 恒温条件下培养 3~4 d 后, 采用十字交叉法分别测量菌落直径, 计算不同发酵液对病菌的抑制率。

菌落生长直径(cm)=十字交叉法测量的 2 次直径平均值-0.4

抑菌率=(1-试验组菌落生长直径/对照组菌落生长直径) $\times 100\%$

1.6 高抑菌活性菌株的生理生化特性鉴定

采用插片法进行菌株菌丝形态的观察^[26]和生理生化特性分析, 包括淀粉和纤维素水解、硫化氢产生、明胶液化、牛奶凝固和胨化试验^[12]。

2 结果与分析

2.1 爪哇扁头猛蚁颊下囊中可培养放线菌种类组成及分子鉴定

利用 3 种固体培养基对爪哇扁头猛蚁 3 个蚁巢 90 头工蚁颊下囊内含物中的放线菌进行分离培养, 最终获得 9 株不同形态的放线菌菌株(图 1); 对其进行 16S rRNA 分子鉴定后在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对, 构建 BI 系统进化树(图 2), 确定分别属于链霉菌属(*Streptomyces*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、冢村氏菌属(*Tsukamurella*)和拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*)(表 2)。

利用 ISP2 培养基分离得到 3 株放线菌(A1、A2、A3), 利用高氏一号培养基分离得到 5 株放线菌(B1~B5), 利用牛肉膏蛋白胨培养基仅分离得到 1 株放线菌(C1)。

从分离菌株种类及其在不同蚁巢的分布和分离频率可以看出, 链霉菌为优势类群, 共有 6 个菌株(B1、A3、B4、B5、B3、A2), 菌株 B1、A3 和 B5 在 3 个蚁巢中均有分布, 其平均分离频率分别为 93.3%、80.0% 和 53.3%; 菌株 B4、B3 和 A2 均只出现在其中的 2 个蚁巢中, 分离频率分别为 60.0%、40.0% 和 26.7%。菌株 C1 为微杆菌属, 其分离频率最高, 达到 100.0%, 在 3 个蚁巢中均有分布。菌株 A1 为冢村氏菌属, 其分离频率为 80.0%, 也在 3 个蚁巢中均有分布。菌株 B2 为拟无枝酸菌属, 仅在巢 1 和巢 2 中有分布, 分离频率最低, 仅为 26.7%。

2.2 放线菌对林木病原菌的抑菌活性

2.2.1 平板对峙法对放线菌抑菌活性的初步筛选结果 利用分离得到的 9 株放线菌对 8 种林木病原真菌进行抗菌活性初步筛选, 结果表明, 9 株放线菌中, 只有 4 株(B4、B3、B2、B5)对病原真菌表现出抑菌活性, 其余 5 株(A1、A2、A3、B1 和 C1)对测试的病原真菌均无抑菌活性(表 3)。

菌株 B4(链霉菌属)对 8 种病原真菌均表现出明显的抑菌活性(部分抑菌图如图 3 所示), 尤其对灰霉病菌、苹果腐烂病菌、核桃黑盘壳菌和杨树溃疡病菌的抑制作用十分明显, 抑菌率分别为 66.0%、58.2%、57.7% 和 53.5%; 对茶叶炭疽病菌、枣缩病原菌、水稻纹枯病菌和核桃炭疽病菌的抑菌率相对较低, 分别为 49.3%、47.7%、41.3% 和 43.0%。菌株 B3 对其中的 7 种病原真菌表现出抑菌活性, 但抑菌活性均低于 52%。菌株 B2 仅对 2 种病原真菌表现出抑菌活性, 对苹果腐烂病菌的抑菌率为 34.5%, 对枣缩病原菌的抑菌率为 19.3%。菌株 B5 仅对枣缩病原菌具有抑菌活性, 抑菌率为 34.9%。

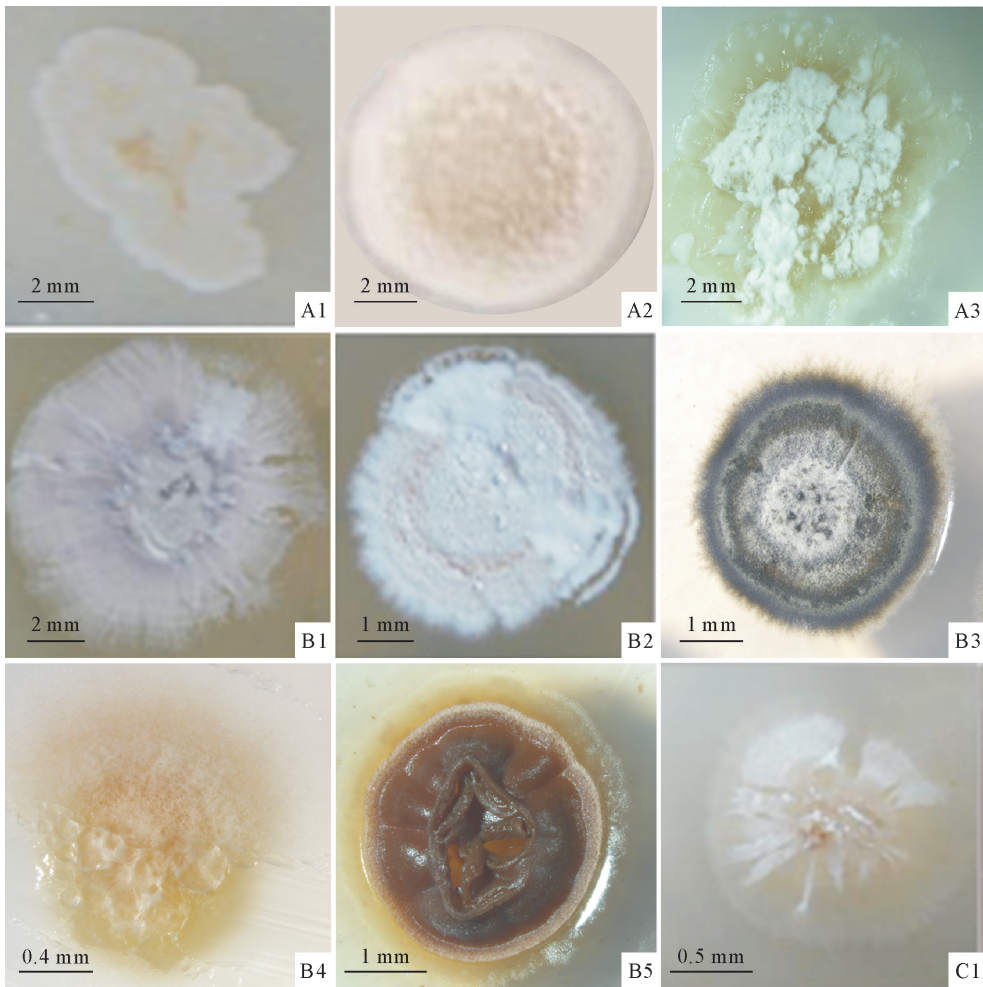


图 1 爪哇扁头猛蚁颊下囊中可培养的 9 株放线菌菌落形态

Fig. 1 Colony morphology of the nine strains of actinomycetes isolated from the infrabuccal pocket of *E. javanus* workers

表 2 爪哇扁头猛蚁颊下囊中放线菌的分离鉴定

Table 2 Actinomycetes isolation and identification from the infrabuccal pocket of *E. javanus* workers

菌株编号	Blast 结果中一致性最高的菌株 (GenBank 登录号)(一致性)	平均菌落数			平均分离 频率(%)
		巢 1	巢 2	巢 3	
B1	链霉菌属 <i>Streptomyces caldifontis</i> (NR149197.1) (99%)	14.0±10.2	200.4±187.7	47.6±26.7	93.3
A3	链霉菌属 <i>S. citricolor</i> (KR780440.1) (99%)	20.8±21.5	7.7±4.2	74.3±16.4	80.0
B4	链霉菌属 <i>S. fulvissimus</i> (LM999765.1) (99%)	—	7.2±1.6	127.3±26.8	60.0
B5	链霉菌属 <i>S. dioscori</i> (NR165766.1) (99%)	7.5±2.1	39.3±6.8	9.0±1.4	53.3
B3	链霉菌属 <i>S. viridocyaneus</i> (KU317905.1) (99%)	6.5±0.7	78.5±82.3	—	40.0
A2	链霉菌属 <i>S. venezuelae</i> (OM321591.1) (99%)	11.0±2.8	—	1.5±0.7	26.7
C1	微杆菌属 <i>Microbacterium</i> sp. (MT533965.1) (99%)	330.8±157.6	142.6±202.3	165.6±75.5	100.0
A1	冢村氏菌属 <i>Tsukamurella</i> sp. (MF175091.1) (99%)	25.0±6.4	2.5±2.1	57.8±80.5	80.0
B2	拟无枝酸菌属 <i>Amycolatopsis orientalis</i> (KM506911.1) (99%)	4.5±0.7	15.5±3.5	—	26.7

注：数据为平均值±标准差；“—”代表在样品中没有分离到。

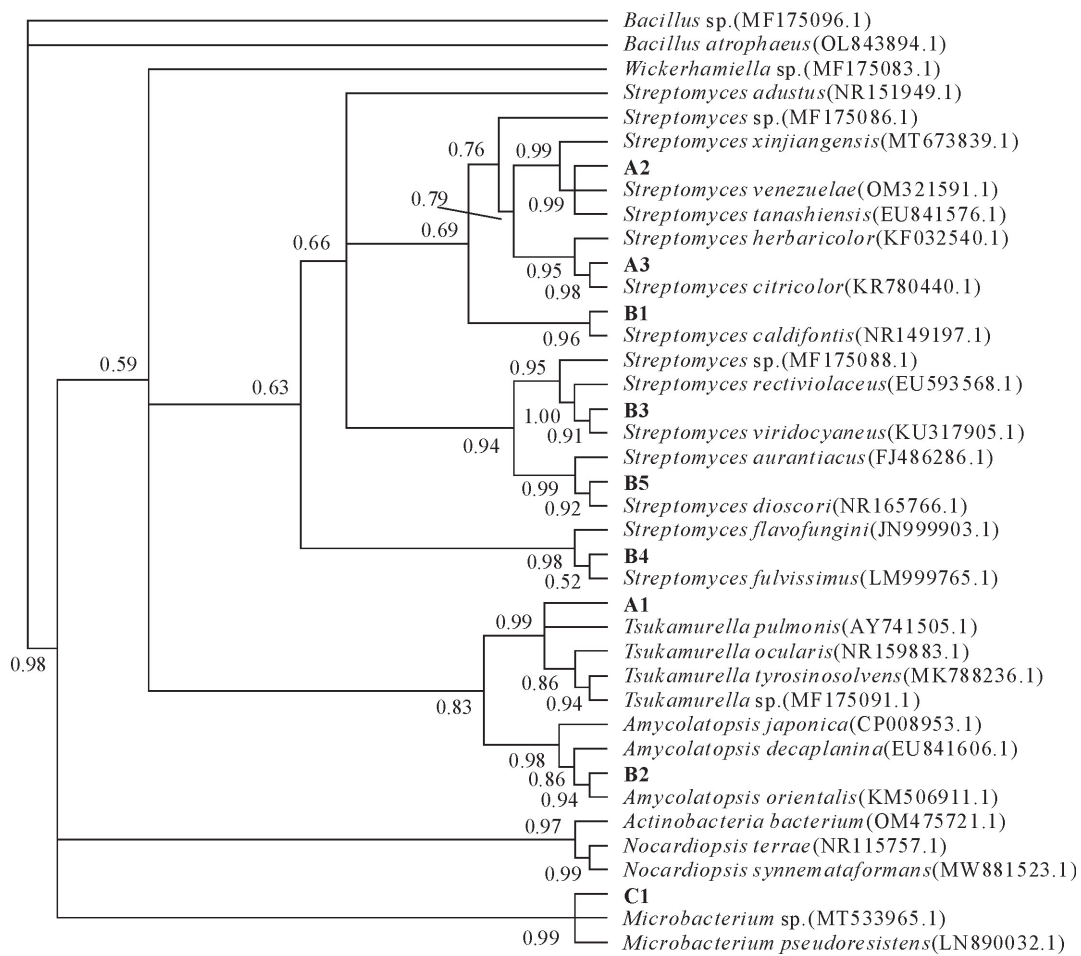


图 2 爪哇扁头猛蚁颊下囊中可培养放线菌的系统发育分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of culturable actinomycetes isolated from the infrabuccal pocket of *E. javanus* workers

表 3 9 株放线菌对 8 种病原真菌的抑菌活性结果

Table 3 Antimicrobial activity of nine actinomycetes stains to eight pathogenic fungi

病原真菌	抑菌率(%)								
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	B4	B5	C1
F1	—	—	—	—	—	21.4	53.5	—	—
F2	—	—	—	—	—	35.6	49.3	—	—
F3	—	—	—	—	—	25.3	43.0	—	—
F4	—	—	—	—	19.3	36.9	47.7	34.9	—
F5	—	—	—	—	—	31.7	41.6	—	—
F6	—	—	—	—	—	—	66.0	—	—
F7	—	—	—	—	—	40.7	57.7	—	—
F8	—	—	—	—	34.5	51.4	58.2	—	—

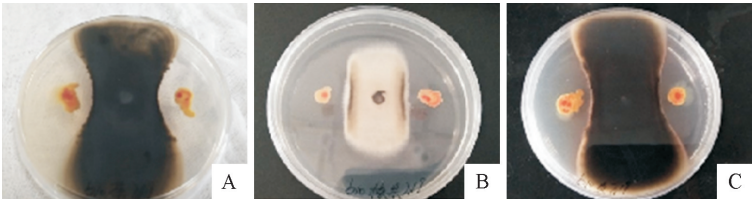


图 3 放线菌 B4 对 3 种病原真菌(F2、F3、F4)的抑菌图

Fig. 3 Photos of the antibacterial experiment of actinomycetes B4 against three pathogenic fungi (F2, F3, F4)

因此,通过平板对峙法对放线菌抑菌活性进行初筛试验,确定 4 株放线菌 B2、B3、B4 和 B5 对 8 种植物病原真菌具有较好的抑菌活性。

2.2.2 生长速率法对放线菌发酵液抑菌活性的研究结果 针对前期筛选出的具有较好抑菌活性的 4 株放线菌(B2、B3、B4、B5),采用其发酵液继续开展

抑菌活性研究。结果发现,4 种放线菌的发酵液对 8 种病原菌具有一定抑菌活性(表 4),每组 3 个重复,进行数据的统计分析。

菌株 B2 的发酵液只对苹果腐烂病菌 F8 有抑制作用,抑菌率为 64.82%;菌株 B3 的发酵液仅对 2 种病原真菌表现出一定的抑菌活性,其中对苹果腐烂

病菌 F8 的抑菌率最高为 71.67%,对核桃枝枯病菌 F7 的抑菌率仅为 27.60%。菌株 B4 的发酵液对 8 种病原真菌都表现出较强的抑菌活性,对杨树溃疡病菌 F1、水稻纹枯病菌 F5、核桃枝枯病菌 F7 和苹果腐烂病 F8 的抑菌率达到 100%,显示出极强的抑菌效果。菌株 B5 的发酵液基本上没有抑菌活性。

表 4 4 种放线菌菌株发酵液对 8 种病原真菌的抑菌率

Table 4 Antibacterial rate of four actinomycete fermentation broths against eight pathogenic fungi																	%
病原真菌		B2			平均值		B3		平均值		B4		平均值		B5		平均值
F1	0	0	0	—	0	0	0	—	100.00	100.00	100.00	100	0	0	0	—	
F2	0	0	0	—	0	0	0	—	65.85	66.83	66.83	66.50	0	0	0	—	
F3	—	—	—	—	—	—	—	—	70.08	72.44	70.87	71.13	—	—	0	—	
F4	0	0	0	—	—	—	—	—	76.53	78.40	75.59	76.84	—	—	—	—	
F5	0	0	0	—	0	0	0	—	100.00	100.00	100.00	100	—	—	—	—	
F6	0	0	0	—	0	0	0	—	57.08	53.42	59.82	56.77	0	0	0	—	
F7	0	0	0	—	21.88	32.81	28.13	27.60	100.00	100.00	100.00	100	0	0	0	—	
F8	50.00	72.78	71.67	64.82	73.33	71.67	70.00	71.67	100.00	100.00	100.00	100	75.56	37.22	12.22	—	
注：“—”代表无活性。																	

2.3 菌株 B4 的鉴定

对筛选出的具有高抑菌活性的 1 株链霉菌菌株 B4 进行理化特性分析。

B4 菌株在高氏 1 号固体培养基上生长良好,菌落生长紧密,气生菌丝呈白色绒毛状,基内菌丝橙黄色。生理生化鉴定结果显示(表 5):B4 菌株不能分解利用纤维素,能水解淀粉,可使明胶液化、牛奶凝固和牛奶酪化,但不能产生硫化氢气体。从图 2 各个菌株的系统发育可以看出,该菌株的序列与极暗黄链霉菌 *Streptomyces fulvissimus* (LM999765.1) 比较相似,相似度为 99%。因此,参照放线菌鉴定标准,结合菌落生长特征、理化特性分析和序列的系统发育分析,将 B4 菌株初步鉴定为极暗黄链霉菌。

表 5 B4 菌株的生理生化鉴定结果

Table 5 Physiological and biochemical identification results of B4 strain			
试验项目	试验结果	试验项目	试验结果
纤维素分解	—	牛奶凝固	++
明胶液化	+++	牛奶酪化	++
淀粉水解	+	硫化氢产生	—

注:“—”表示负反应,“+”,“++”,“+++”表示反应的强弱程度。

3 结论与讨论

本研究采用传统的微生物分离培养方法对爪哇扁头猛蚁工蚁颊下囊中的放线菌进行了分离培养,利用 3 种培养基从 3 个蚁巢的 90 头工蚁的颊下囊中共分离得到 9 株菌落形态不同的放线菌,其中优势类群为链霉菌,包括 6 个菌株(A2、A3、B1、B3、B4、B5),其他 3 个菌株属于微杆菌属、拟无枝酸菌

属和冢村氏菌属。菌株 B1、A3、C1 和 A1 的分离频率高达 80% 以上,在 3 个蚁巢的工蚁颊下囊中均有,应该是颊下囊中的优势放线菌类群。这与张凯旋等^[11]对日本弓背蚁颊下囊中放线菌的研究结果基本一致,蚂蚁的颊下囊中分布着丰富的放线菌,并且链霉菌为优势菌群。

国外的一系列研究表明,培养真菌的切叶蚁在整理修饰菌圃的过程中,利用颊下囊收集、压实一些碎片和致病菌 *Escovopsis* 孢子,使其形成小球堆放在菌圃之外的垃圾堆,可阻止微生物和致病菌感染其菌圃^[7-8]。并且 Attini 蚂蚁颊下囊中的链霉菌可产生抗生素,能够杀死菌圃中的致病菌^[8]; *Allomerus* 蚂蚁体表的链霉菌可抑制菌圃中的其他杂菌,以此来维护菌圃的清洁,进而保证蚁巢的稳定^[8-9],因此在培养真菌的蚂蚁中颊下囊中的微生物具有杀菌消毒的功能。结合本研究,可以明确颊下囊除了过滤固体食物的功能外,应该还具有清洁蚁巢、保护群体的功能。

放线菌是一类重要的微生物资源,目前已发现了超过 2 万种微生物源生物活性物质,其中 1/2 来自放线菌。而在医药临床和农业生产中长期使用的 150 余种抗生素中,70% 源于放线菌^[27]。一些学者也从蚂蚁身体上分离到一些新的放线菌,如在亮毛蚁(*Lasius fuliginosus*)的头部分离到珊瑚放线菌 *Actinocorallia lasicapitis*^[28],在日本弓背蚁的头部分离到链霉菌属的一个新种 *Streptomyces campanoticapitis*^[29]。这些研究表明,蚂蚁身体上蕴含丰富的放线菌资源,在蚂蚁的群体免疫中起着重要的作用,可能为新药剂和抗生素的开发提供新途径。

对分离到的放线菌进行抑菌活性研究结果发现,大部分菌株都对一些林木病原菌具有一定的抑菌活性,具有进一步开发利用的价值。特别是菌株 B4 对绝大多数被试林木病原菌都有强烈的抑菌活性,初步将其鉴定为极暗黄链霉菌 *Streptomyces fulvissimus*。张贝贝等^[30]从海洋放线菌中分离得到极暗黄链霉菌,并通过抑菌试验和抗肿瘤试验表明其代谢产物抑菌和抗肿瘤作用效果明显。陈丹等^[31]在研究对水稻纹枯病有抑菌活性的放线菌时,从土壤中分离筛选出抑菌活性效果最好的是极暗黄链霉菌,其产生的生物活性物质具有一定的杀菌活性和稳定性。爪哇扁头猛蚁颊下囊中的放线菌可能来自其栖息的环境中,蚂蚁身体上的放线菌资源将是人类疾病控制和农林业病害防治领域的新方向,具有极大的开发利用空间。

参考文献:

- [1] HÖLDOBLER B, WILSON E O. The ants [M]. Harvard: Cambridge University press, 1990: 1-10.
- [2] 吴坚, 王常禄 [M]. 中国蚂蚁. 北京: 中国林业出版社, 1995: 1-10.
- [3] FEBVAY G, KERMARREC A. Morphologie et fonctionnement du filtre infrabuccal chez une attine *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera: Formicidae): rôle de la poche infrabuccale [J]. International Journal of Insect Morphology & Embryology, 1981, 10 (5): 441-449.
- [4] EISNER T, HAPP G M. The Infrabuccal pocket of a Formicine ant: a social filtration device [J]. Psyche, 1962, 69 (3): 107-116.
- [5] HANSEN L D, SPANGENBERG W J, GAVER M M. The infrabuccal chamber of *Camponotus modoc* (Hymenoptera: Formicidae): Ingestion, digestion, and survey of bacteria [C]. In: Proceedings 3rd International Conference on Urban Pests. Prague, 1999: 211-219.
- [6] MANKOWSKI M E, MORRELL J J. Yeasts associated with the infrabuccal pocket and colonies of the carpenter ant *Camponotus vicinus* [J]. Mycologia, 2004, 96 (2): 226-231.
- [7] QUINLAN R J, CHERRETT J M. Studies on the role of the infrabuccal pocket of the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hym., Formicidae) [J]. Insectes Sociaux, 1978, 25 (3): 237-245.
- [8] LITTLE A E, MURAKAMI T, MUELLER U G, et al. The infrabuccal pellet piles of fungus-growing ants [J]. Naturwissenschaften, 2003, 90 (12): 558-562.
- [9] SEIPKE R F, MARIJ B, RUIZ-GONZALEZ X, et al. Fungus-growing *Allomerus* ants are associated with antibiotic-producing actinobacteria [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2012, 101 (2): 443-447.
- [10] 张君, 南小宁, 魏琮, 等. 日本弓背蚁颊下囊内含物中细菌的组成研究 [J]. 应用昆虫学报, 2016, 53 (1): 164-173.
ZHANG J, NAN X N, WEI C, et al. Bacterial composition of the infrabuccal pocket of *Camponotus japonicus* Mayr [J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2016, 53 (1): 164-173. (in Chinese)
- [11] 张凯旋, 魏琮, 南小宁, 等. 日本弓背蚁颊下囊微生物的组成及多样性 [J]. 昆虫学报, 2018, 61 (6): 686-697.
ZHANG K X, WEI C, NAN X N, et al. Composition and diversity of microbes in the infrabuccal pocket of *Camponotus japonicus* (Hymenoptera: Formicidae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2018, 61 (6): 686-697. (in Chinese)
- [12] 郭丽枫. 日本弓背蚁共生放线菌的多样性分析及抑菌活性研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [13] 刘铭汤, 魏建荣, 魏琮, 等. 陕西省蚂蚁区系研究 [J]. 西北林学院学报, 1999, 14 (3): 39-44.
LIU M T, WEI J R, WEI C, et al. Studies of ants fauna in Shaanxi province [J]. Journal of Northwest Forestry University, 1999, 14 (3): 39-44. (in Chinese)
- [14] 贺虹, 刘铭汤, 魏琮, 等. 太白山蚂蚁及其生态分布的研究 [J]. 西北林学院学报, 2000, 15 (1): 32-36.
HE H, LIU M T, WEI C, et al. A study on ants of Taibai Mts. with dominant population research [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2000, 15 (1): 32-36. (in Chinese)
- [15] 徐正会. 中国厚结猛蚁属记述 (膜翅目蚁科猛蚁亚科) [J]. 西南林学院学报, 1998, 18 (4): 209-220.
- [16] 潘星燃, 南小宁, 郭新荣, 等. 爪哇厚结猛蚁 *Ectomomyrmex javanus* (Mayr) 觅食活动规律研究 [J]. 西北林学院学报, 2019, 34 (6): 147-151.
PAN X R, NAN X N, GUO X R, et al. Foraging activity rhythms of *Ectomomyrmex javanus* (Mayr) [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34 (6): 147-151. (in Chinese)
- [17] WANG C, BILLEN J, PAN X R, et al. Morphology and ultra-structure of the infrabuccal pocket and its lining epithelium in workers of *Ectomomyrmex javanus* (Hymenoptera: Formicidae) [J]. Micron, 2018, 115: 50-53.
- [18] WANG C, BILLEN J, WEI C, et al. Morphology and ultra-structure of the infrabuccal pocket in *Camponotus japonicus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) [J]. Insectes Sociaux, 2019, 66: 637-646.
- [19] 房保柱. 四种农业生境昆虫内生放线菌的筛选、鉴定及抗菌活性研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015.
- [20] 刘少华, 陆金萍, 朱瑞良, 等. 一种快速简便的植物病原真菌基因组 DNA 提取方法 [J]. 植物病理学报, 2005, 35 (4): 362-365.
LIU S H, LU J P, ZHU R L, et al. A rapid and simple method for genomic DNA extraction of plant pathogenic fungi [J]. Journal of Plant Pathology, 2005, 35 (4): 362-365. (in Chinese)
- [21] 周双清, 黄小龙, 黄东益, 等. Chelex-100 快速提取放线菌 DNA 作为 PCR 扩增模板 [J]. 生物技术通报, 2010 (2): 123-125.
ZHOU S Q, HUANG X L, HUANG D Y, et al. Rapid extraction of actinomycetes DNA by Chelex-100 as a template for PCR amplification [J]. Biotechnology Bulletin, 2010 (2): 123-125. (in Chinese)
- [22] PRYCE T M, PALLADINO S, KAY I D, et al. Rapid identification of fungi by sequencing the ITS1 and ITS2 regions using an automated capillary electrophoresis system [J]. Medical Mycology, 2003, 41 (5): 369-381.

- MA S J, WANG Q C, CUI D H, *et al.* Effect of thinning on stand structure and plant species diversity in natural *Fraxinus mandschurica* forest stands[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2019, 47(2): 1-7. (in Chinese)
- [15] 夏富才, 赵秀海, 张春雨, 等. 长白山红松阔叶林及其次生林早春植物群落特征研究[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(2): 166-171.
- XIA F C, ZHAO X H, ZHANG C Y, *et al.* Community characteristics of early-spring herbs in Korean Pine broad-leaved forest and relative secondary forest of Changbai Mountain [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2008, 30(2): 166-171. (in Chinese)
- [16] 张屹岩, 杨利民. 不同生境中猴腿蹄盖蕨种群调查[J]. 中国野生植物资源, 2011, 30(2): 5-8, 50.
- [17] 孙勇, 吕伟伟, 陈小波. 不同间伐强度对水曲柳次生林胸径生长的影响[J]. 防护林科技, 2015, 15(11): 39-40, 43.
- [18] 董莉莉, 赵济川, 汪成成, 等. 抚育间伐后蒙古栎阔叶混交林径级结构及生长动态研究[J]. 西南林业大学学报: 自然科学, 2019, 39(6): 98-104.
- DONG L L, ZHAO J C, WANG C C, *et al.* Study on diameter structure and growth dynamics of mixed *Quercus mongolica* broad-leaved natural stands after tending thinning[J]. Journal of Southwest Forestry University: Natral Science, 2019, 39(6): 98-104. (in Chinese)
- [19] 尤文忠, 赵刚, 张慧东, 等. 抚育间伐对蒙古栎次生林生长的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(1): 56-64.
- YOU W Z, ZHAO G, ZHANG H D, *et al.* Effects of thinning on growth of Mongolian oak (*Quercus mongolica*) Secondary forests [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(1): 56-64. (in Chinese)
- [20] 赵丽娜, 孙广玉, 尹鹏达, 等. 小兴安岭天然白桦林植物物种多样性的多尺度分析[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(6): 46-48.
- ZHAO L N, SUN G Y, YIN P D, *et al.* Multi-scale analysis of plant species diversity of Natural *Betula platyphylla* forests in Xiaoxing'an Mountain [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2010, 38(6): 46-48. (in Chinese)
- [21] 杨爱芳, 韩有志, 杨秀清, 等. 不同密度云杉林下草本植物多样性[J]. 浙江农林大学学报, 2014, (31)5: 676-682.
- YANG A F, HAN Y Z, YANG X Q, *et al.* Diversity of under-story herbs in *Picea* forests with different stand densities [J]. Journal of Zhejiang A & F University, 2014, (31)5: 676-682. (in Chinese)

(上接第 202 页)

- [23] LARKIN M A, BLACKSHIELDS G, BROWN N P, *et al.* Clustal W and Clustal X version 2. 0 [J]. Bioinformatics, 2007, 23(21): 2947-2948.
- [24] RONQUIST F, HUELSENBECK J P. MrBayes3: bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. Bioinformatics, 2003, 19: 1572-1574.
- [25] 贺宏伟, 陈彬, 韩立荣, 等. 番茄枯萎病菌拮抗放线菌的筛选及其抑菌活性研究[J]. 河北农业大学学报, 2018, 41(4): 29-33.
- HE H W, CHEN B, HAN L R, *et al.* Screening of antagonistic actinomycetes against *Fusarium oxysporum* and its antimicrobial activity [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2018, 41(4): 29-33. (in Chinese)
- [26] 徐丽华, 李文均, 刘志恒, 等. 2007. 放线菌系统学—原理、方法及实践[M]. 北京: 科学出版社: 24-27.
- [27] 杨宁, 董悦生, 刘文财, 等. 固态培养法提高放线菌次级代谢产物的多样性[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(10): 736-740.
- YANG N, DONG Y S, LIU W C, *et al.* Improving the diversity of secondary metabolites of actinomycetes by solid-state culture [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2013, 38(10): 736-740. (in Chinese)
- [28] LIU C, LI Y, YE L, *et al.* *Actinocorallia lasiacapitis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the head of an ant (*Lasius fuliginosus* L) [J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2017, 67(6): 1529-1534.
- [29] LI Y, YE L, WANG X, *et al.* *Streptomyces camponoticapitis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the head of an ant (*Camponotus japonicus* Mayr) [J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2016, 66(10): 3855-3859.
- [30] 张贝贝, 刘文洪, 李俊峰, 等. 海洋放线菌 NZ1203 菌种鉴定及活性产物研究[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(11): 2657-2660.
- ZHANG B B, LIU W H, LI J F, *et al.* Identification of marine actinomycetes NZ1203 and study on its active products [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 32(11): 2657-2660. (in Chinese)
- [31] 陈丹, 叶波, 刘燕娟, 等. 水稻纹枯病菌拮抗菌 CZB40 的筛选、鉴定及其发酵条件优化[J]. 植物保护, 2015, 41(5): 46-53.
- CHEN D, YE B, LIU Y J, *et al.* Screening and identification of antagonistic strain CZB40 from rice sheath blight and optimization of fermentation conditions [J]. Plant Protection, 2015, 41(5): 46-53. (in Chinese)