

东乡野生稻内生放线菌 *Streptomyces* sp. PRh5 抑菌活性次级代谢产物研究

包建莹¹, 张志斌¹, 肖依文², 汪 涯², 颜日明¹, 朱 笃^{1,2*}¹江西师范大学生命科学学院 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室;²江西科技师范大学生命科学学院 江西省生物加工过程重点实验室, 南昌 330013

摘要: 从东乡野生稻中分离到一株生产较强抑菌活性代谢产物的内生放线菌菌株 *Streptomyces* sp. PRh5, 利用活性追踪法结合正相硅胶、凝胶柱层析等色谱技术从 PRh5 菌株发酵液中分离到 4 种抑菌活性化合物, 经 ¹H NMR、¹³C NMR 和 MS 等波谱分析鉴定为邻苯二甲酸二丁酯(1)、尼日利亚菌素(2)、13-Docosenamide(3)、诺卡胺素(4)。这表明菌株 PRh5 具有开发为新型抑菌生物制剂的潜力。

关键词: 内生放线菌; *Streptomyces* sp. PRh5; 抑菌活性; 次级代谢产物

中图分类号: R914.4; R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.11.014

Antibacterial and Antifungal Secondary Metabolites Produced by Endophytic Actinomycete *Streptomyces* sp. PRh5 from Dongxiang Wild Rice

BAO Jian-ying¹, ZHANG Zhi-bin¹, XIAO Yi-wen², WANG Ya², YAN Ri-ming¹, ZHU Du^{1,2*}¹Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropic Plant Resources of Jiangxi Province,Jiangxi Normal University; ²Key Laboratory of bioprocess of Jiangxi Province, Jiangxi

Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, China

Abstract: An endophytic actinobacterial *Streptomyces* sp. PRh5 isolated from Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon*) showed markedly antibacterial and antifungal bioactivities. Guided by antibacterial assay, the bioactive components in fermentation broth of the strain PRh5 were separated by various chromatographic methods including silica gel column and Sephadex LH-20. Four monomer compounds were purified and identified as dibutyl phthalate (1), nigericin (2), 13-docosenamide (3), nocardamin (4) respectively on the basis of ¹H NMR, ¹³C NMR and MS analyses. It was concluded that strain PRh5 could be potentially developed as a new antimicrobial agent.

Key words: endophytic actinomycetes; *Streptomyces* sp. PRh5; antimicrobial activity; secondary metabolites

放线菌广布于自然界, 种类繁多, 生物活性丰富。目前从微生物中发现的 8 000 多种生物活性物质中, 近 2/3 是由放线菌产生的^[1]。过去的思路通常是从土壤中筛选放线菌并分离其代谢产物, 但随着对土壤放线菌研究的深入, 再从土壤中发现新放线菌和新活性化合物显得更为困难。因此, 许多学者把注意力转向植物内生微生态系统, 以求发现新菌种资源和新活性化合物^[2,3]。大量研究表明, 植物内生放线菌种类丰富, 产生活性化合物的潜力巨大, 包括抗生素、抗肿瘤、抗感染物质、促植物生长因子、特殊活性的酶等。随着研究的深入, 许多结构特

殊或者活性新颖的化合物不断在植物内生放线菌中发现。此外, 植物内生放线菌存在于宿主植物内, 能有效提升宿主植物抗逆抗病虫害能力, 对开发生防剂意义重大^[4]。

东乡野生稻 (*Oryza rufipogon*) 是我国三大普通野生稻之一, 仅分布于江西省东乡区岗上积镇庵家山地区 (28°14' N, 116°36' E), 是迄今在中国乃至世界分布最北的珍贵野生稻种质资源, 被列为国家二级保护植物。由于历经各种灾害及不良环境的自然选择, 东乡野生稻拥有许多优良特性, 如耐贫瘠、耐寒、耐旱以及抗病虫害等, 具有重要的研究和利用价值。迄今为止, 有关东乡野生稻的研究主要集中于种质资源保护与利用、优良基因的挖掘等方面, 而其根际及内生微生物分离及其促宿主活性方面的研

究仅见本实验室报道^[5,6]。本实验室前期对采自江西省东乡野生稻原位保护区的东乡野生稻样品进行拮抗内生放线菌的大量筛选,并从中获得一株具有强抑菌活性的菌株 PRh5。本研究对该菌株抑菌活性进行了分析,对其抑菌活性代谢产物进行分离鉴定,旨在为新型生物农药的研发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物样品与指示菌

本实验所用的内生放线菌 PRh5 分离自江西省东乡区岗上积镇东乡野生稻原位保护区内东乡野生稻健康植株,保藏于中国典型培养物保藏中心(CCTCC M2013487)。实验使用的病原细菌包括大肠杆菌(*Escherichia Coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphy-*

lococcus aureus)、水稻细菌性条斑病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*)和藤黄八叠球菌(*Sarcina luteus*);病原真菌包括油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、芝麻枯萎菌(*sesame Fusarium wilt*)、小麦赤霉(*Fusarium graminearum*)、辣椒疫霉菌(*Phytophthora capsici*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*),均由江西农业大学农学院植保室赠送。

1.2 培养基及主要试剂

实验所需培养基见表 1。PCR 试剂购自上海生物工程技术有限公司。GF254 薄层层析硅胶板购自青岛海洋化工有限公司。

表 1 培养基
Table 1 Culture medium

名称及用途 Name and use	配方 Prescription (g/L)
高氏 1 号培养基 (PRh5 纯化及斜面保存)	可溶性淀粉 20、NaCl 0.5、KNO ₃ 1.0、K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O 0.5、MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.5、FeSO ₄ · 7H ₂ O 0.01、琼脂 15~25、pH 7.4~7.6;
发酵培养基 (PRh5 的发酵培养)	玉米粉 44.0、淀粉 34、黄豆饼粉 10.0、K ₂ HPO ₄ 0.5、KNO ₃ 1.0、NaCl 0.5g、CaCO ₃ 6.0g、pH 8.0
马铃薯-葡萄糖固体培养基(PDA) (病原真菌培养)	马铃薯 200、葡萄糖 20、琼脂 15~20、自然 pH
牛肉膏-蛋白胨(NM)固体培养基 (病原细菌培养)	牛肉膏 3.0、蛋白胨 10.0、NaCl 5.0、琼脂 15~25 g、pH 7.4~7.6。

1.3 发酵液的制备

采用 500 mL 摇瓶进行培养,装液量 120 mL,接种量 10%,摇床转速 140 rpm,28 °C 旋转培养 10 天后将发酵培养基 8000 rpm 离心 20 min,经无菌微孔滤膜(0.22 μm)滤去菌体得上清液,置于 4 °C 备用。

1.4 菌株 PRh5 的发酵液预处理

发酵培养结束后,对发酵液进行离心,离心转速 8000 rpm,取上清液,三层纱布过滤,滤液依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、水饱和正丁醇分别萃取三次,45 °C 减压旋蒸浓缩,得到浸膏。

1.5 内生放线菌 PRh5 抑菌活性的测定

抑制细菌活性采用“管碟法”。将供试菌株的无菌发酵液与 45 °C 适量 NA 培养基充分混匀,制成混菌平板,以“+”字对称打孔位置放上牛津杯,将 150 μL 无菌发酵液注入牛津杯中,以等体积 25 μg/ml 的氯霉素为阳性对照,等体积的无菌发酵培养基为阴性对照,37 °C 培养 24 h 后,观察并测量抑菌圈直径。

抑制真菌活性采用“菌丝生长抑制法”。无菌滤膜过滤发酵液,加入未凝固的 PDA 培养基中,取 20 mL 含发酵液培养基倒入灭菌培养皿内,制成平板,用灭菌打孔器将病原菌菌饼(Φ = 5 mm)置于平板中央,以加等量无菌水培养基的 PDA 平板为对照;28 °C 培养 3~7 天,测量真菌菌落生长直径。根据下面公式计算菌丝生长抑制率:

$$\text{菌落生长直径(mm)} = \text{测量直径} - \text{牛津杯直径}$$

$$\text{菌丝生长抑制率} = \frac{\text{对照菌落生长直径} - \text{处理菌落生长直径}}{\text{对照菌落生长直径}} \times 100\%$$

1.6 PRh5 产物分离及结构解析

采用 TLC-生物自显影法追踪抑菌活性:分别将石油醚、氯仿、乙酸乙酯、水饱和正丁醇萃取液点于 TLC 板上,或选择具活性的萃取液在 TLC 上进行薄层层析(展开剂为氯仿:甲醇 = 9:1),自然吹干,紫外灭菌后,在无菌条件下用喷样器将制备好的金黄色葡萄球菌悬液均匀喷洒到层析后的硅胶板上。将

硅胶板置于培养皿中于 4 °C 的冰箱中放置 1 h, 然后将其置于 37 °C 下保湿培养, 24 h 后, 取出硅胶板, 往上面喷加外源显色剂噻唑蓝 (MTT), 约 10 min 后, 即可观察实验结果。试菌正常生长处, 经 MTT 显色呈蓝色, 而非正常生长处呈现抑菌白斑。每个处理均设 3 个重复。

选择出活性最佳的石油醚层、氯仿层萃取相, 经减压浓缩依次得到石油醚萃取物浸膏 A (2.3 g) 和氯仿萃取物浸膏 B (1.9 g)。浸膏 A 的分离采用常规硅胶柱层析 (石油醚-乙酸乙酯, 50: 50 ~ 0: 100), 最后用甲醇将柱内所有物质洗脱。合并相同馏分得 6 个组份 (Fr. 1 ~ Fr. 6)。组分 Fr. 2 采用硅胶柱层析, 以石油醚/乙酸乙酯 (90: 10) 体系单梯度洗脱, 得化合物 1 (40 mg) 和化合物 2 (300 mg); 浸膏 B 经硅胶柱梯度洗脱 (石油醚-乙酸乙酯, 10: 90 ~ 0: 100) 甲醇冲洗脱硅胶柱上剩余物质, 得 17 个组份 (Fr. 1 ~ Fr. 17)。Fr. 13 进一步精制采用硅胶柱层析 (石油

醚-乙酸乙酯, 30: 70 ~ 0: 100), 合并相同馏分得到化合物 3 (6 mg)。Fr. 16 的进一步分离采用 Sephadex LH-20 柱层析方法, 得到化合物 4 (76 mg)。用质谱仪测定单体化合物的分子量, Bruker AVANCE-400 MHz 核磁共振仪对活性物质的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 谱进行分析, 结合数据库对所得纯品进行结构推断。

2 结果与分析

2.1 内生放线菌 PRh5 的抑菌活性测定

采用管碟法检测菌株 PRh5 发酵液抑细菌活性, 结果表明: 菌株 PRh5 发酵液对革兰氏阳性病原细菌具有明显的抑菌活性, 抑菌圈直径均大于 10 mm, 对革兰氏阴性病原细菌的抑菌活性较弱 (表 2); 采用菌丝生长抑制法检测菌株 PRh5 发酵液对 5 种植物病原真菌抑制活性, 结果显示对病原真菌均具有明显的抑制活性 (表 3), 其中对油菜核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 抑制率高达 86%。

表 2 菌株 PRh5 对病原细菌的抑菌活性

Table 2 Antimicrobial activity result of PRh5 against pathogenic bacteria

病原细菌 Tested pathogenic bacteria	抑菌圈直径 Inhibitory diameters
革兰氏阳性菌 Gram-positive bacteria	
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	+++
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	+++
苏云金芽孢杆菌 <i>B. thuringiensis</i>	++
藤黄八叠球菌 <i>Sarcina luteus</i>	+++
革兰氏阴性菌 Gram-negative bacteria	
水稻细菌性条斑病菌 <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>Oryzicola</i>	+
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	+
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	-

注: 抑菌圈直径: -, 0 mm; +, 10-15 mm; ++, 20-25 mm; +++, >25 mm。

Note: Inhibition diameters: -, 0 mm; +, 10 ~ 15 mm; ++, 20 ~ 25 mm; +++, >25 mm.

表 3 菌株 PRh5 发酵液对植物病原真菌的抑菌活性

Table 3 Antimicrobial activity from PRh5 fermentation liquor against plant pathogenic fungi

植物病原真菌 Tested pathogenic fungus	抑制率 Inhibitory rates
水稻纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	30%
辣椒疫霉菌 <i>Phytophthora capsici</i>	70%
芝麻枯萎菌 <i>Sesame Fusarium wilt</i>	65%
油菜核病菌 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	86%
小麦赤霉 <i>Fusarium graminearum</i>	66%

2.2 PRh5 发酵液中抑菌次级活性产物追踪分离

菌株 PRh5 发酵上清液经过石油醚、氯仿、乙酸乙酯及水饱和正丁醇梯度萃取后, MTT 染色法初步检测发酵液不同萃取组分的抑菌活性结果显示, 发酵液中抑菌物质主要分布于石油醚与氯仿两相(图

1A)。采用 TLC-生物自显影法进一步检测石油醚相与氯仿相萃取物对金黄色葡萄球菌的抑制活性, 发现抑菌活性部位都集中在 R_f 值 0.62 ~ 0.65 之间(图 1B)。

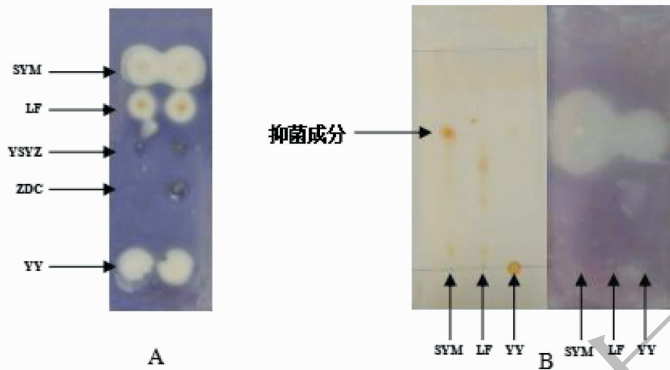


图 1 TLC-生物自显影法检测菌株 PRh5 提取物中的抗菌成分

Fig. 1 Antimicrobial component screening of the strain PRh5 extracts by TLC-bioautography

注: A. 各有机试剂萃取液生物自显影; B. 菌株 PRh5 碘-氯仿显色的 TLC 结果与 TLC-生物自显影结果; SYM 为石油醚提取物; LF 为氯仿提取物; YSYZ 为乙酸乙酯提取物; ZDC 为水饱和正丁醇提取物; YY 为发酵液原液。抑菌活性组分 R_f 范围: 0.62 ~ 0.65。

Note: A. Bioautography of extract liquor from each organic reagent; B. TLC results of the extracts colour-developing agent of Iodine chloroform and TLC-bioautography; SYM was the extract of petroleum leve; LF was the extract of Chloroform; YSYZ was the extract of ethyl acetate; ZDC was extract of water saturation n-butyl alcohol; YY was the extract of fermentation broth. R_f range of of the antimicrobial substances component is 0.62~0.65.

浸膏 A 的分离得到化合物 **1** (40 mg) 和化合物 **2** (300 mg), 由浸膏 B 得到化合物 **3** (6 mg) 和化合物 **4** (76 mg)。对所得的单体化合物进行质谱和核磁共振谱分析, 其数据如下:

化合物 1 淡黄色油状液体(氯仿); mp. -35 ~ 340 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.71 (2H, dd, J = 3.2, 5.6 Hz, H-3, H-6), 7.53 (2H, dd, J = 3.2, 5.6 Hz, H-4, H-5), 4.30 (4H, t, J = 6.6 Hz, H-8, H-8'), 1.72 (4H, m, H-9, H-9'), 1.44 (4H, m, H-10, H-10'), 0.97 (6H, t, J = 7.3 Hz, H-11, H-11'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 167.2 (C-7, C-7'), 131.8 (C-1, C-2), 130.4 (C-4, C-5), 128.3 (C-3, C-6), 65.0 (C-8, C-8'), 30.0 (C-9, C-9'), 18.6 (C-10, C-10'), 13.2 (C-11, C-11'); ESI-MS m/z 301.1 [M + Na]⁺, C₁₆H₂₂O₄。与文献值^[7]报道一致, 确定化合物 **1** 为邻苯二甲酸二丁酯(图 2)。

化合物 2 白色晶体(甲醇); mp. 183.5 ~ 185 °C; [α]_D²⁵ 0.842, CHCl₃; ESI-MS: m/z 747.6 [M + Na]⁺, C₄₀H₆₈O₁₁; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 4.31 (1H, m, H-9), 4.13 (1H, m, H-7), 3.90 (1H, dd, J = 3.6, 7.6 Hz, H-24), 3.60 (3H, s, CH₃O-40),

1.50 (3H, s, Me-35), 1.08 (3H, s, Me-34), 1.04 (3H, d, J = 6.0 Hz, Me-31), 0.99 (3H, J = 6.8 Hz, Me-37), 0.97 (3H, J = 4.0 Hz, Me-39), 0.93 (6H, J = 4.0 Hz, Me-33, Me-36), 0.87 (6H, d, J = 4.0 Hz, Me-32, Me-38); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 177.0 (C-1), 44.0 (C-2), 73.1 (C-3), 27.5 (C-4), 26.3 (C-5), 23.1 (C-6), 69.2 ((C-7), 35.3 (C-8), 60.2 (C-9), 32.2 (C-10), 78.6 (C-11), 35.5 (C-12), 108.0 (C-13), 39.0 (C-14), 41.8 (C-15), 82.1 (C-16), 82.2 (C-17), 25.9 (C-18), 30.7 (C-19), 83.6 (C-20), 86.1 (C-21), 35.3 (C-22), 32.9 (C-23), 75.1 (C-24), 78.6 (C-25), 31.8 (C-26), 37.0 (C-27), 37.2 (C-28), 96.9 (C-29), 68.8 (C-30), 16.2 (C-31), 17.4 (C-32), 15.6 (C-33), 22.9 (C-34), 27.5 (C-35), 13.1 (C-3), 12.9 (C-37), 10. (C-38), 13.1 (C-39), 58.0 (C-40)。以上数据与文献值^[8]报道一致, 确定化合物 **2** 为尼日利亚菌素 (Nigericin, 图 2)。

化合物 3 白色粉末; mp. 79 ~ 81 °C; ESI-MS: m/z 336.3 [M-H]⁻, C₂₂H₄₃NO; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.35 (s, 2H), 2.31 (s, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.63 (s, 1H), 1.42 (m, 26H), 0.88 (s, 2H); ¹³C

NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 175.6 (C-1), 129.9 (C-2, C-3), 35.9 (C-4), 31.9 (C-5), 29.8 (C-6), 30.1 (C-8), 29.6 (C-11), 29.3 (C-14), 27.3 (C-18), 25.6 (C-20), 22.7 (C-21), 14.2 (C-22)。以上数据与文献值^[9]报道结构一致, 故鉴定为 13-Docosenamide (图 2)。

化合物 4 白色粉末; mp. 192.5 ~ 194.5 °C; ESI-MS: m/z 623.3 [M + Na]⁺ 和 m/z 599.3 [M - H]⁻, C₂₇H₄₈N₆O₉; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 2.27 (6H, d, J = 6 Hz, H-2, 11, 20), 2.59 (6H, s, H-3, 12, 21), 3.46 (6H, t, J = 6.4 Hz, H-5, 14, 23), 1.49

(6H, s, H-6, 15, 24), 1.20 (6H, m, H-7, 16, 25), 1.39 (6H, t, J = 6.4 Hz, H-8, 17, 26), 3.01 (6H, d, J = 5.6 Hz, H-9, 18, 27), 9.60 (3H, s, N-OH), 7.73 (3H, s, NH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 171.9 (C-1, 10, 19), 30.4 (C-2, 11, 20), 27.9 (C-3, 12, 21), 172.5 (C-4, 13, 22), 47.3 (C-5, 14, 23), 26.3 (C-6, 15, 24), 23.6 (C-7, 16, 25), 29. (C-8, 17, 26), 38.7 (C-9, 18, 27)。以上数据与文献值^[10]报道一致, 确定该结构与已知化合物诺卡胺素 (Nocardamine) 结构一致 (图 2)。

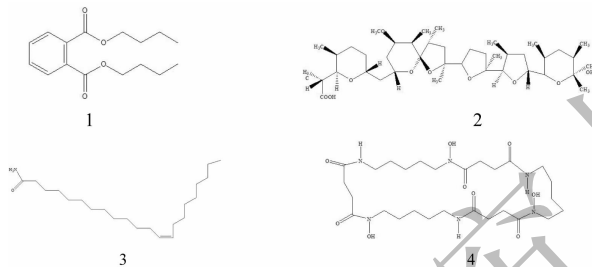


图 2 化合物 1~4 结构

Fig. 2 Chemical structures of compounds 1-4

2.3 抑菌活性

此前本实验室已报道了化合物 1 (邻苯二甲酸二丁酯) 相关抑菌试验数据^[11], 因此我们开展了化

合物 2 (Nigericin)、化合物 3 (13-Docosenamide) 和化合物 4 (Nocardamine) 对 5 种指示菌的生长抑制作用 (表 4)。

表 4 化合物 2, 3 和 4 的抑菌活性

Table 4 Antimicrobial activities of compounds 2, 3 and 4

化合物 Compound	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter of growth (mm)				抑制率 Inhibition rate (%)
	枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	水稻细菌性条斑病菌 <i>X. oryzae pv. Oryzicola</i>	水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i>
化合物 2 Compound 2	17.53 ± 1.02	22.31 ± 1.35	0	0	25.89 ± 2.46
化合物 3 Compound 3	0	0	0	0	54.59 ± 2.78
化合物 4 Compound 4	0	0	0	0	0
氯霉素 Chloramphenicol	21.05 ± 1.54	20.51 ± 1.22	22.14 ± 1.13	20.21 ± 1.36	-

注: 表中数据为平均数 ± 标准差, - : 未检测。

Note: Data in the table are $\bar{x} \pm s$, - : No test.

从表 4 可知, 在供试浓度为 100 μ g/mL 时, 以氯霉素 (50 μ g/mL) 作为阳性对照, 发现化合物 2 对两株革兰氏阳性菌有较好的抑菌活性, 而对另外两株革兰氏阴性菌均无抑制效果, 同时对水稻纹枯病菌具一定的抑制活性; 化合物 3 对 4 株细菌均无抑

制作用, 但对水稻纹枯病菌具有较好活性; 化合物 4 对所有供试菌均无活性。

3 结论

迄今, 有关水稻内生菌的研究多集中在内生细

菌方面,并发现大量内生固氮菌新种,而水稻内生放线菌研究较少报道^[11]。本文在对东乡野生稻内生放线菌 PRh5 发酵液抑菌活性测定中,发现其对革兰氏阳性病原细菌和植物病原真菌表现出明显的抑制活性。对 PRh5 发酵液采用梯度萃取结合生物自显影方法对不同萃取相的活性进行检测,发现抑菌活性最强部位分布于石油醚相及氯仿相。从石油醚相及氯仿相中分离到 4 种化合物,分别为邻苯二甲酸二丁酯(1)、尼日利亚菌素(2)、13-Docosenamide(3)、诺卡胺素(4)。

邻苯二甲酸二丁酯(又称 DBP,化合物 1)在真菌、放线菌等微生物的次级代谢产物中多次分离得到,并显示出一定的生物活性^[12]。侯柄竹等^[7]在对桃根癌病菌拮抗放线菌 G-19 发酵产物的小分子活性组分分离纯化中,获得活性物质邻苯二甲酸二丁酯,其对根癌土壤杆菌有较强的抑制活性。ROY 等^[13]报道了链霉菌 *S. albidoflavus* 产生的 DBP 对 G⁺ 细菌、G⁻ 细菌及单细胞和丝状真菌都有较强的抑制作用。本实验室也曾用所分离的邻苯二甲酸二丁酯对小麦赤霉菌、水稻纹枯病菌等多种农作物常见致病菌进行了体外抑制活性测定,结果均表现出一定程度的抑制效果^[11]。化合物 2(尼日利亚菌素)含量较高,从抑菌活性实验可看出尼日利亚菌素具有抗革兰氏阳性菌和真菌活性,这与此前卓锦明等^[14]的报道一致。尼日利亚菌素属于 I 型 PKS 基因产生的聚醚类抗生素(Polyethers),聚醚类抗生素主要作用于细胞膜,干涉离子的转运,引起细胞体内离子排尽而造成细胞的死亡^[15]。Nigericin 与其它药物协同,具有较好的抗耐药性菌、抗疟原虫、抗病毒、抑制肿瘤细胞的作用,生物学和医学的研究正在扩大其用途^[16]。化合物 3(13-Docosenamide)广泛存在于植物挥发油以及微生物表面活性剂中,虽然研究表明,含有 13-Docosenamide 的挥发油及表面活性剂具有广谱抑菌性、抗病毒、抗肿瘤活性以及驱虫、杀虫活性,但就 13-Docosenamide 单体化合物生物活性研究鲜见报道^[17,18]。本研究表明,13-Docosenamide 对细菌没有抑制活性,但首次发现其具有较好的抑制水稻纹枯病菌的活性。化合物 4(诺卡胺素)是一种非常强的铁络合剂,微生物通过分泌其进入环境中,通过形成诺卡胺素-铁-铬合物与其它微生物争夺铁元素,从而实现间接抑制病原菌的目的。除对普通变形杆菌(*Proteus vulgaris*)有抑制作用外,对其它细菌、真菌没有直接的抑制活性^[19,20]。综上分析表明,内生菌 PRh5 的抑菌活性

是通过多种化合物的共同作用来实现的。

参考文献

- Zhao SL(赵淑莉), Ren FE(任飞娥), Liu JL(刘金亮), et al. Screening, identification and optimization of fermentation conditions of an antagonistic actinomycetes strain to *Setosphaeria turcica* [J]. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2012, 52: 1228-1236.
- Tian XL(田新莉), Cao LX(曹理想), Yang GW(杨国武), et al. Studies on communities of endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities *in vitro* [J]. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2004, 44: 641-646.
- Lu X(卢轩), Wei L(魏磊), Feng(冯宝民). Review on metabolites of endophytic microbe of rare medicinal plants [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 1062-1069.
- Brader G, Compant S, Mitter B, et al. Metabolic potential of endophytic bacteria [J]. *Curr Opin Biotech*, 2014, 27(5): 30-37.
- Zeng QG, Luo F, Zhang ZB, et al. Phosphate solubilizing rhizospherebacterial T21 isolated from Dongxiang wild rice species promotes cultivated rice growth [J]. *Appl Mech Mater*, 2011, 108: 167-175.
- Luo F(罗菲), Wang Y(汪滢), Zeng QG(曾庆桂), et al. Diversity and plant growth promoting activities of the cultivable rhizobacteria of Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon*) [J]. *Biodivers Sci* (生物多样性), 2011, 19: 476-484.
- Hou BZ(侯柄竹), Wang SF(王树芳), Ma HP(马焕普), et al. Identification of antimicrobial composition isolated and purified from antagonistic actinomycetes against *Agrobacterium tumefaciens* of peach [J]. *Microbiol China* (微生物学通报), 2013, 40: 1186-1192.
- Berrada R, Dauphin G, David L. Epinigericin, a new polyether carboxylic antibiotic. structural determination by 2D NMR methods [J]. *J Org Chem*, 1987, 18: 2388-2391.
- Cravatt BF, Lerner RAL, Boger DL. Structure determination of an endogenous sleep-inducing lipid, cis-9-octadecenamide (oleamide): a synthetic approach to the chemical analysis of trace quantities of a natural product [J]. *J Am Chem Soc*, 1996, 118: 580-590.
- Meyer JM, Abdallah MA. The siderochromes of non-fluorescent pseudomonads: production of nocardamine by *Pseudomonas stutzeri* [J]. *Microbiol*, 1980, 118: 125-129.
- Zhang ZB(张志斌), Ao W(敖武), Xiong YY(熊瑶瑶), et al. Identification of antagonistic endophytic actinomycete FRo2 and isolation of its antimicrobial composition [J]. *Microbiol China* (微生物学通报), 2014, 41: 1574-1581.