

张 健, 曹成亮, 蒋继宏, 等. 毛泡桐内生放线菌及根际放线菌的筛选、鉴定及代谢产物分析[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(4): 775-782.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.04.009

毛泡桐内生放线菌及根际放线菌的筛选、鉴定及代谢产物分析

张 健, 曹成亮, 蒋继宏, 鞠秀云

(江苏师范大学生命科学学院, 江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116)

摘要: 以 5 种植物病原真菌为靶标菌, 采用平板对峙法和生长速率法对分离自河南省新乡市毛泡桐及根际的 41 株放线菌进行筛选; 通过生理生化特征、培养特征、形态特征和基于 16S rRNA 基因序列的分析, 对活性菌株进行鉴定; 利用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对活性菌株发酵液的乙酸乙酯提取物进行分析。结果表明: 从 41 株放线菌中筛选出 2 株高活性菌株, 菌株 6002 为淀粉酶链霉菌一个亚种(*Streptomyces diastaticus* subsp. *diastaticus*), 菌株 6026 为浅紫链霉菌(*Streptomyces violascens*)。通过 GC-MS 分析从菌株 6002 和菌株 6026 发酵液乙酸乙酯相中分别鉴定出 15 种和 14 种化合物。鉴定出的成分中 3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮、3-异丁基-六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,4-二酮具有很好的生物活性, 邻苯二甲酸二丁酯是重要化工原料。

关键词: 病原真菌; 放线菌; 毛泡桐; GC-MS 分析

中图分类号: S482.2⁺92

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2018)04-0775-08

Screening, identification and metabolite analysis of actinomycetes isolated from *Paulownia tomentosa* and rhizosphere

ZHANG Jian, CAO Cheng-liang, JIANG Ji-hong, JU Xiu-yun

(Key Laboratory of Biotechnology for Medicinal Plant of Jiangsu Province, School of Life Science, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, China)

Abstract: To obtain new antagonistic strains against plant pathogenic fungi, five different plant pathogenic fungi were used as flag fungi, and 41 actinomycetes strains isolated from *Paulownia tomentosa* and rhizosphere soil in Xinxiang, Henan province were screened via traditional plate confrontation and growth rate methods. Of these strains, the active strains were identified according to the physiological and biochemical characteristics, cultural characteristics, morphological characteristics, phylogenetic analyses based on 16S rRNA gene sequence. In addition, the liquid fermentation of active actinomycetes was measured by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Results showed that two strains with the capability of antifungal activity were screened from the 41 actinomycetes strains, which one strain was identified as *Streptomyces diastaticus* subsp. *diastaticus* and the other was *Streptomyces violascens*. Fifteen compounds from the fermentation broth of strain 6002 and 14 compounds from the fermentation broth of strain 6026 were identified by GC-MS. Of these compounds, 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone and 3-isobutyl hexahydro pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione had good biological activity. Dibutyl phthalate was an important raw material for chemical industry.

Key words: pathogenic fungi; actinomycetes; *Paulownia tomentosa*; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis

收稿日期: 2017-11-06

基金项目: 江苏师范大学硕士研究生创新科研项目(2016YYB092)

作者简介: 张 健(1992-), 男, 安徽宿州人, 硕士研究生, 研究方向为

微生物代谢产物, (E-mail) 2442516833@qq.com

通讯作者: 鞠秀云, (E-mail) juxiuyun@jnsu.edu.cn

植物病害是农作物大量减产的重要因素之一, 而在植物病害中大约有 70%~80% 的病害是由植物病原真菌引起的^[1-2]。目前, 防治植物真菌病害的主

要方法是使用化学农药。但随着化学农药的长期大量使用,其对环境的负面影响越来越明显,产生了一系列令人担忧的问题。例如越来越多的致病菌产生了抗药性,导致原先有效的化学农药对其防治效果大大降低;同时化学农药大多有毒且不易降解,影响人类健康和生态平衡^[3]。因此,现代农业发展迫切需求替代化学农药的防治植物病害的方法^[4]。随着微生物学研究的发展,利用微生物及其代谢产物防治植物病害成为一个应用前景良好的领域,受到人们的关注。

放线菌是一种重要的微生物资源,能够产生多种生物活性物质,是筛选拮抗植物病原真菌的生防菌及制备生防制剂的研究热点^[5-10]。Gurovic 等从巴塔哥尼亚安第斯山脉的放线菌中,筛选出 4 株具有抗菌活性的链霉菌属和 1 株能够合成安莎类抗生素的小单孢菌^[11]。Himaman 等从桉树及其根际土壤中分离得到 3 株对桉树叶枯病具有强大抑制能力的放线菌^[12]。程亮等从海洋放线菌 Y 12-26 发酵液中分离得到一种具有广谱抗真菌活性的化合物伊枯草菌素,其对水稻纹枯病菌的最小抑菌浓度为 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ^[13]。这些研究结果表明,从放线菌中筛选抗植物病原真菌的生防菌株具有可行性。

毛泡桐 [*Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud.] 是玄参科泡桐属植物^[14],其花、叶、皮、根、果古时就有药用记载。有关毛泡桐根、叶等提取物的研究结果^[15-16]表明,泡桐含有环烯醚萜类、黄酮类、木脂素类、苯丙素类、倍半萜类等活性物质。但有关毛泡桐及其根系土壤放线菌的研究却鲜有报道。本研究以 5 种常见的植物病原真菌作为供试菌,对分离自河南新乡泡桐及根际土壤的 41 株放线菌进行筛选,对筛选到的活性菌株进行种属鉴定,并通过 GC-MS 技术分析活性菌株发酵液的乙酸乙酯提取物,以期挑选出拮抗活性高、代谢产物丰富的菌株。

1 材料与方法

1.1 材料

41 株放线菌:分离自河南省新乡市毛泡桐及其根系土壤,保存于江苏师范大学江苏省药用植物生物技术重点实验室。

植物病原真菌:稻曲病真菌 [*Ustilaginoidea virens* (Cooke) Takah], 番茄早疫病真菌 (*Alternaria solani* Jones et Grouet), 苹果轮纹病真菌 (*Botryospha-*

eria berengeriana de Not. f. sp. *Parabola* Nise Koganezawa et Sakuma)、水稻恶苗病真菌 (*Fusarium moniliforme* Sheld.)、青椒褐斑病真菌 [*Cladosporium capsici* (Marchal et Steyaert) Kovacevski.] 由江苏师范大学江苏省药用植物生物技术重点实验室提供及保存。

试剂和仪器:PCR 扩增试剂盒、通用引物 PA 和 PB 购自生工生物工程(上海)股份有限公司;TPProfessional 高性能梯度 PCR 仪,德国 Biometra 公司产品;3400 N 扫描电子显微镜,日本 HITAC HI 公司产品;乙酸乙酯为国产分析纯。

培养基:ISP2 培养基、高氏一号改良培养基、PDA 培养基、营养琼脂培养基、燕麦培养基、察氏培养基、M10 培养基和 LB 培养基配制方法参照文献^[17]。

1.2 抗植物病原真菌的活性菌株初筛

初筛采用平板对峙法,首先将病原真菌的菌饼(直径 6 mm)置于 PDA 培养基中央,同时在距离病原真菌菌饼 25 mm 的周围等距离接种 4 株不同种类的放线菌菌苔。28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 4~5 d,观察结果。

1.3 抗植物病原真菌的放线菌发酵液复筛

将初筛所得菌株接种于 ISP2 液体培养基中,28 $^{\circ}\text{C}$ 、130 r/min 培养 6 d,所得发酵液 4 000 r/min 离心 10 min,上清液用 0.22 μm 的无菌滤膜过滤,备用。采用生长速率法测定放线菌发酵液对指示真菌的抑制作用,将灭菌后的 PDA 培养基按照培养基:无菌发酵液=9:1(体积比)的比例混合制备平板,以无菌水作为对照。将培养 7 d 的病原菌菌饼(直径 6 mm)接种于平板中间,每个处理重复 3 次,培养 4~5 d 后,测量病原菌菌落直径,计算抑制率。抑制率=[(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-6)] $\times 100\%$,菌落直径单位为 mm。

1.4 拮抗放线菌的鉴定

形态学观察采用埋片法:将菌株接种于 ISP2 固体培养基,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3~15 d,取出盖玻片,利用扫描电镜进行观察。

培养特征观察:将菌株分别接种在 8 种不同培养基上,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 10 d 后观察记录生长状况、基内菌丝、气生菌丝和可溶性色素的颜色。

生理生化测定:参照《链霉菌鉴定手册》^[18]对活性菌株进行生理生化试验。

16S rRNA 序列扩增和分析:挑取 0.05 g 菌体用微波法提取 DNA,用正向引物 PA (5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3') 和反向引物 PB (5'-TTAAG-

GTGATCCAGCCGCA-3')扩增放线菌 16S rRNA。PCR 扩增条件:95 ℃预变性 5 min,1 个循环;95 ℃变性 1 min,55 ℃退火 1 min,72 ℃延伸 2 min,35 个循环;72℃延伸 10 min,1 个循环。PCR 产物由上海生工生物技术有限公司进行纯化和测序。将测得的序列利用 EzTaxon 进行序列比对,根据比对结果选择相似性较高的菌株序列,利用 MEGA5.01 软件以 Neighbor-Joining 计算方式生成系统发育进化树。

1.5 拮抗放线菌乙酸乙酯粗提物的 GC-MS 分析

对发酵液复筛得到的活性放线菌采用 ISP2 液体培养基,在 28 ℃、130 r/min 下培养 6 d,然后将发酵产物 4 000 r/min 离心 10 min。上清液用乙酸乙酯萃取,浓缩乙酸乙酯相得浸膏,利用 GC-MS 法进行分析。

气相色谱条件:TR SMS 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 mm),载气为高纯氦气,柱流量 50 ml/min,气化室温度 280 ℃,毛细管柱程序升温从

150 ℃开始,保持 3 min,以 5 ℃/min 的速度上升到 200 ℃保持 5 min,再以 10 ℃/min 的速度升到 280 ℃并保持 10 min。

质谱条件:EI 离子源,电离电压 70 eV,离子源温度为 230 ℃,相对分子质量扫描范围 50~550 AMU,分流比 50:1,扫描周期 0.2 s,进样量为 2.0 μl。

2 结 果

2.1 平板对峙法初筛出的拮抗植物病原真菌放线菌

以 5 种植物病原真菌作为供试菌的平板对峙筛选结果显示,从河南新乡毛泡桐及根际土壤中分离出的 41 株放线菌中有 8 株对供试菌有不同程度的抑制作用(表 1)。8 株活性菌株中有 3 株对 5 种病原真菌均具有拮抗作用,其中菌株 6002 和 6026 对苹果轮纹病真菌、稻曲病真菌和番茄早疫病真菌的活性均较强。

表 1 平板对峙法筛选出的拮抗病原真菌放线菌

Table 1 Actinomycetes against plant pathogenic fungi screened by plate confrontation method

菌株编号	苹果轮纹病真菌 (<i>B.berengeriana</i>)	水稻恶苗病真菌 (<i>F.moniliform</i>)	稻曲病真菌 (<i>U.virens</i>)	番茄早疫病真菌 (<i>A.solani</i>)	青椒褐斑病真菌 (<i>C.capsici</i>)
6001	-	-	+	-	-
6002	+++	++	+++	+++	++
6005	++	+	+++	+	++
6013	-	-	+	+	-
6019	+	+	++	+	-
6021	+	-	+	-	-
6023	-	-	+	-	-
6026	+++	++	+++	+++	+++

-;没有抑菌活性;+,抑菌圈直径 0.1~6.0 mm;++,抑菌圈直径 6.1~16.0 mm;+++,抑菌圈直径≥16.1 mm。

2.2 拮抗植物病原真菌的放线菌发酵液复筛

利用生长速率法对菌株 6002、6005 和 6026 发酵液进行复筛,结果显示菌株 6002 和 6026 的发酵液对 5 种植物病原真菌均具有抑制作用。其中菌株 6002 发酵液对苹果轮纹病真菌的抑制效果较好,抑菌率达 73.0%;菌株 6026 发酵液对番茄早疫病真菌抑制率高达 80.2%,对苹果轮纹病真菌的抑菌率达到 74.1%(图 1)。菌株 6005 发酵液对 5 种病原菌的活性较差或没有活性。

2.3 拮抗放线菌菌株 6002 和 6026 的鉴定

在选定的 8 种培养基上,菌株 6002 在 PDA 和营养琼脂培养基上产生色素,在其余 6 种培养基上不产生色素;菌株 6026 在 8 种培养基上都不产生可

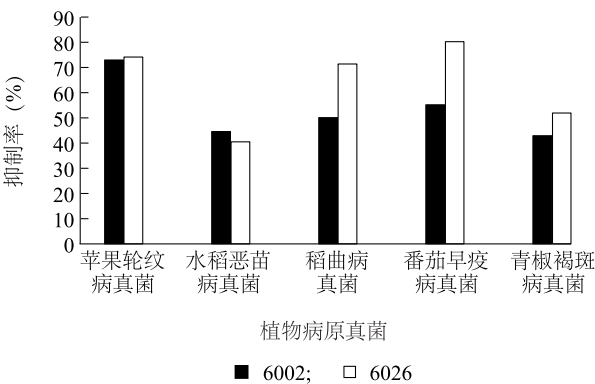


图 1 放线菌菌株 6002 和 6026 发酵液对 5 株植物病原真菌的抑制率

Fig.1 Inhibitory rates of actinomycete strains 6002 and 6026 fermentation broth on five plant pathogenic fungi

溶性色素。两株拮抗菌在察氏培养基、高氏一号改良培养基和 M10 培养基上生长一般,在其他培养基

上生长较好(表 2)。

表 2 放线菌菌株 6002 和 6026 的培养特征

Table 2 Cultural characteristics of actinomycete strains 6002 and 6026

培养基	气生菌丝颜色		基内菌丝颜色		可溶性色素		生长状况	
	6002	6026	6002	6026	6002	6026	6002	6026
ISP2 培养基	深灰色	黄白色	黑褐色	灰色	-	-	++	++
高氏一号改良培养基	灰白色	黄白色	黄白色	灰紫色	-	-	+	+
PDA 培养基	灰黑色	灰白色	黑色	黑色	+	-	++	++
营养琼脂培养基	淡紫色	淡黄色	棕褐色	紫色	+	-	++	++
燕麦培养基	棕色	黄白色	棕褐色	黄色	-	-	++	++
察氏培养基	黄白色	黄白色	灰白色	淡黄色	-	-	+	+
M10 培养基	灰白色	黄白色	黄白色	黄白色	-	-	+	+
LB 培养基	灰白色	灰色	褐色	紫灰色	-	-	++	++

+:表示生长或有该种物质;+:表示生长旺盛;-:表示不生长或无该种物质。

在电子显微镜下观察,两株菌株成熟孢子丝形成的孢子链均呈串珠状,孢子为圆柱形,表面光滑无刺,两端方正(图 2)。对照《链霉菌鉴定手册》,两菌株均具有链霉菌属特征。

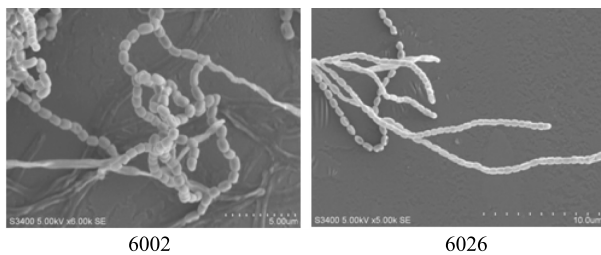


图 2 放线菌菌株 6002 和 6026 在扫描电镜下的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of actinomycete strains 6002 and 6026 under scanning electron microscope

两株菌株的生理生化特征见表 3。菌株 6002 能够利用 α -乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖、麦芽糖、脯氨酸、赖氨酸、和组氨酸等碳氮源;6026 则能够利用木糖、葡萄糖、阿拉伯糖、纤维二糖、精氨酸、组氨酸和丝氨酸等碳氮源。在酶学特征上两株菌株都能使明胶液化,产生过氧化氢酶和淀粉酶。

对菌株 6002 和 6026 进行 16S rRNA 的 PCR 扩增,将测序结果与 EzTaxon 数据库中的有效菌株进行同源性比对,用 MEGA5.01 软件利用 Neighbor-Joining 法构建系统发育树。结果显示:菌株 6002 与淀粉酶链霉菌一个亚种(*Streptomyces diastaticus* subsp.

diastaticus) 在同一个进化分支上,且序列的相似度为 98.6%,结合菌株形态特征、培养特征和生理生化特征,将其确定为 *S. diastaticus* subsp. *Diastaticus* 的 1 个菌株。菌株 6026 与浅紫链霉菌(*Streptomyces violascens*) 在同一个进化分支上,序列的相似度为 98.8%,结合菌株形态特征、培养特征和生理生化特征,将其确定为 *S. violascens* 的 1 个菌株(图 3)。

表 3 放线菌菌株 6002 和 6026 的生理生化特性

Table 3 Physiological and biochemical properties of actinomycete strains 6002 and 6026

项目	结果		项目	结果	
	6002	6026		6002	6026
α -乳糖	+	+	组氨酸	+	+
木糖	-	+	缬氨酸	+	-
甘露糖	-	+	丙氨酸	-	-
葡萄糖	+	+	甘氨酸	-	-
山梨糖	-	+	丝氨酸	+	+
阿拉伯糖	+	+	甲硫氨酸	+	+
果糖	-	-	精氨酸	+	+
木糖醇	+	-	明胶液化	+	+
纤维二糖	-	+	过氧化氢酶	+	+
麦芽糖	+	-	纤维素酶	-	-
肌醇	-	-	淀粉酶	+	+
脯氨酸	+	-	脲酶	-	-
赖氨酸	+	+			

+:表示反应为阳性;-:表示反应为阴性。

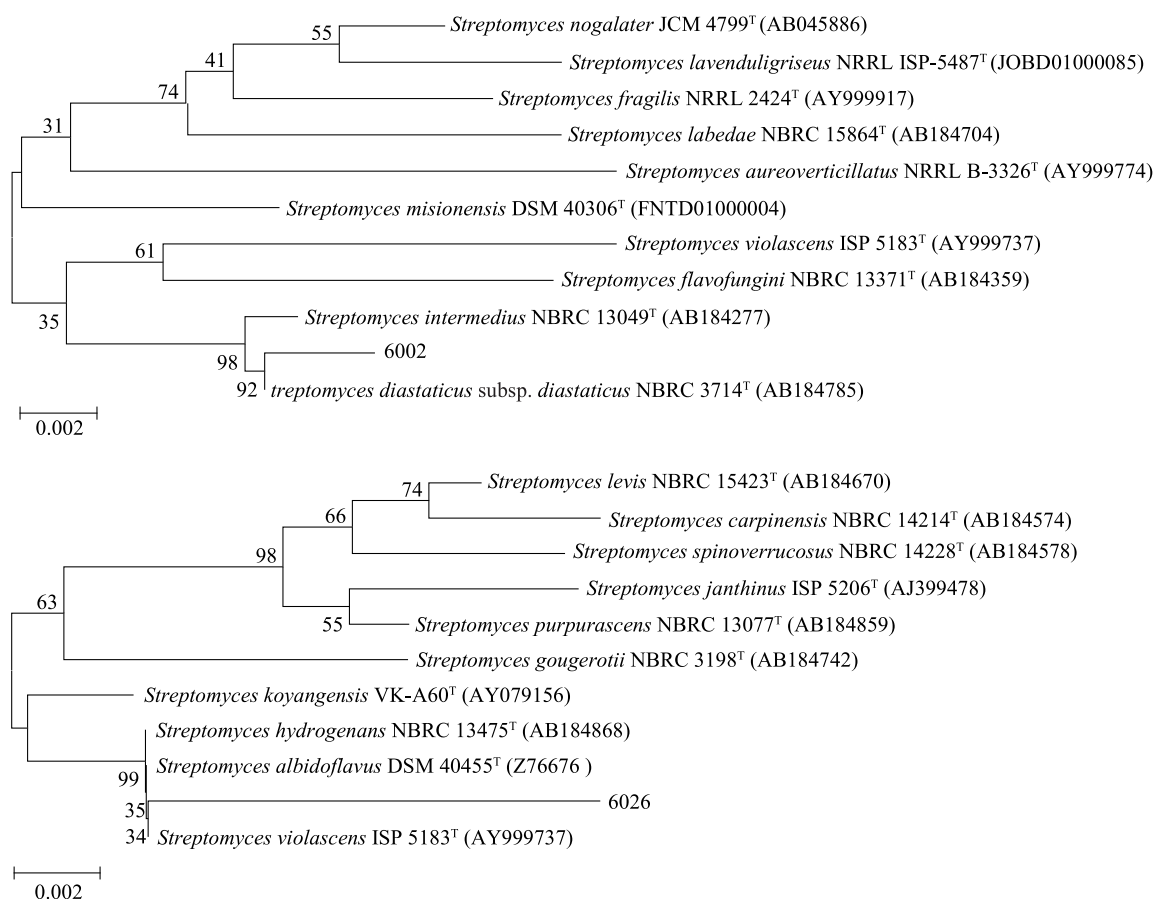


图 3 基于 16S rRNA 的放线菌菌株 6002 和 6026 系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of actinomycete strains 6002 and 6026 based on the 16S rRNA

2.4 拮抗放线菌菌株 6002 和 6026 发酵液乙酸乙酯粗提物的 GC-MS 分析

菌株 6002 发酵液提取物乙酸乙酯相 GC-MS 分析总离子流见图 4。将所得质谱信息与质谱数据库标准图谱对照分析,对基峰、相对丰度和保留时间进

行直观比较,对比后去除重复得到 20 种不同化合物的质谱图,鉴定出 15 种成分(表 4),保留时间为 23.61 min、26.63 min、27.39 min、27.99 min 和 28.38 min 的化合物没能鉴定出来。鉴定出来的化合物主要为酯类、酮类、萜类和烷类。

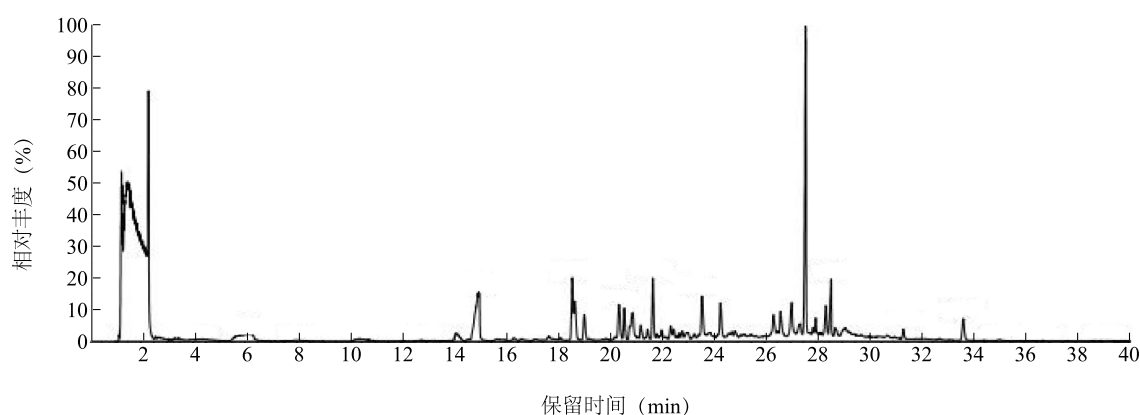


图 4 放线菌菌株 6002 发酵液提取物 GC-MS 图谱

Fig.4 GC-MS chromatogram of actinomycete strain 6002 fermentation extract

表 4 GC-MS 分析鉴定的放线菌菌株 6002 发酵液提取物成分

Table 4 Compounds identified by GC-MS analysis of strain 6002 fermentation extract

序号	保留时间 (min)	化合物名称	分子式
1	14.16	十二烷	C ₁₂ H ₂₆
2	15.01	3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮	C ₆ H ₆ O ₃
3	18.62	十四烷	C ₁₄ H ₃₀
4	18.71	1-甲基萘	C ₁₁ H ₁₀
5	19.08	2-甲基萘	C ₁₁ H ₁₀
6	20.42	8,8a-二甲基十氢-1-萘酚	C ₁₂ H ₂₂ O
7	20.62	2,6-二甲基萘	C ₁₂ H ₁₂
8	21.71	十六烷	C ₁₆ H ₃₄
9	22.40	1,4,5-三甲基萘	C ₁₃ H ₁₄
10	24.32	十九烷	C ₁₉ H ₄₀
11	26.36	邻苯二甲酸二异丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄
12	27.06	十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
13	27.59	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄
14	28.57	3-异丁基-六氢吡咯并[1,2-a]吡 嗪-1,4-二酮	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂
15	33.67	邻苯二甲酸二异辛酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄

将菌株 6026 发酵液乙酸乙酯相的 GC-MS 分析总离子流图(图 5)与质谱数据库标准图谱进行对照分析,直观比较基峰、相对丰度和保留时间等,对比后去除重复得到 17 种不同化合物的质谱图,鉴定出 14 种成分(表 5),保留时间在 23.61 min、27.41 min 和 28.75 min 的化合物没能鉴定出来。鉴定出来的化合物主要为酯类、酮类、有机酸类、萘类和烷类。

3 讨论

近年来,随着人们环保和健康意识的增强,无毒且对环境兼容性好的农用抗生素受到越来越多人的青睐。无毒且对环境兼容性好的农用抗生素符合现代农业的发展理念,将创造出巨大的经济和生态效益^[19]。高活性生防菌株是获得无毒且对环境兼容性好的农用抗生素的前题和基础,因此,活性菌株的筛选受到科研工作者的关注^[20]。史晓晶等从红景天分离得到 1 株变异链霉菌,该菌对番茄早疫病菌和玉米小斑病菌都具有较高拮抗作用^[21]。吴艳辉等从杭州地区的土壤中分离到 1 株淡紫灰链霉菌,其发酵滤液对西瓜枯萎病菌的抑制率达到 80% 以上^[22]。Goudjal 等从阿尔及利亚撒哈拉本土植物根中分离到 6 株能够降低番茄立枯病发病率的内生放线菌^[23]。

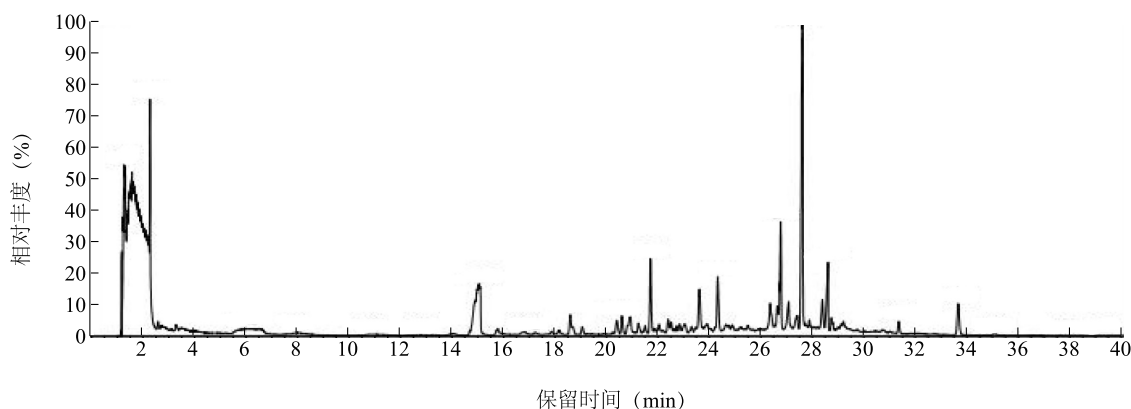


图 5 放线菌菌株 6026 发酵液提取物 GC-MS 图谱

Fig.5 GC-MS chromatogram of actinomycete strain 6026 fermentation extract

虽然人们已筛选出一定量的拮抗病原真菌的活性菌株,但远不能满足农业生产的需求,许多重大植物病害仍严重缺乏相应的生物农药,研发生物农药依然任重而道远。本研究以 5 种常见的植物致病真菌作为供试菌,利用平板对峙法和生长速率法从 41 株放线菌中筛选出对 5 种病原真菌均具有抗菌活性

的菌株 6002 和 6026。其中,菌株 6002 的发酵液对苹果轮纹病菌的抑制效果较强,抑制率达 73.0%;菌株 6026 的发酵液对番茄早疫病菌的抑制率较高,达到 80.2%,对苹果轮纹病菌的抑菌率达到 74.1%。因此,菌株 6002 和 6026 均为极具潜力的生防菌,具有进一步研究的价值。

表 5 GC-MS 分析鉴定的拮抗菌菌株 6026 发酵液提取物成分

Table 5 Compounds identified by GC-MS analysis of strain 6026 fermentation extract

序号	保留时间 (min)	化合物名称	分子式
1	15.05	3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮	C ₆ H ₆ O ₃
2	15.78	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮	C ₆ H ₈ O ₄
3	18.60	十四烷	C ₁₄ H ₃₀
4	20.41	8,8a-二甲基十氢-1-萘酚	C ₁₂ H ₂₂ O
5	20.61	2,6-二甲基萘	C ₁₂ H ₁₂
6	21.72	十六烷	C ₁₆ H ₃₄
7	22.40	1,4,5-三甲基萘	C ₁₃ H ₁₄
8	24.33	十九烷	C ₁₉ H ₄₀
9	26.37	邻苯二甲酸二异丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄
10	26.77	菲	C ₁₄ H ₁₀
11	27.08	十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
12	27.61	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄
13	28.60	3-异丁基-六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,4-二酮	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂
14	33.67	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄

通过菌株生理生化特征、培养特征、形态特征和 16S rRNA 基因序列相似性分析发现,菌株 6002 与淀粉酶链霉菌一个亚种(*S. diastaticus* subsp. *diastaticus*)具有高度相似性,菌株 6026 鉴定为浅紫链霉菌(*S. violaceus*)的一个种。谭力等^[24]从邳州银杏内生放线菌中筛选到 1 株具有拮抗植物病原真菌的浅紫链霉菌,但未进行代谢产物的研究。关于菌株 *S. diastaticus* subsp. *diastaticus* 拮抗植物病原真菌及其代谢产物的研究尚未见报道。

本研究采用 GC-MS 联用技术,分析了两株活性放线菌发酵液的乙酸乙酯提取物。从菌株 6002 发酵液中鉴定出 15 种化合物,有 5 种未能鉴定出来;从菌株 6026 发酵液中鉴定出 14 种化合物,有 3 种没有鉴定出来。在已鉴定的化合物中两株菌共有化合物有 11 种。除此之外,菌株 6002 代谢产物中还含有十二烷、1-甲基萘、2-甲基萘和邻苯二甲酸二异辛酯;菌株 6026 则含有 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮、菲和邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯。查阅相关资料发现,3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮^[25]、3-异丁基-六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,4-二酮^[26]具有很好的生物活性,邻苯二甲酸二异丁

酯^[27]和邻苯二甲酸二丁酯^[28]是重要的化工原料。

综上所述,菌株 6002 的代谢产物较为丰富,菌株 6026 抑制植物病原菌的活性更强。

参考文献:

- [1] LI Z K, YE X F, CHEN P L, et al. Antifungal potential of *Corallococcus* sp. strain EGB against plant pathogenic fungi[J]. Biological Control, 2017, 110: 10-17.
- [2] 康振生. 我国植物真菌病害的研究现状及发展策略[J]. 植物保护, 2010, 36(3): 9-12.
- [3] 卜元卿,孔 源,智 勇,等. 化学农药对环境的污染及其防控对策建议[J]. 中国农业科技导报, 2014, 16(2): 19-15.
- [4] 韩长志. 植物病害生防菌的研究现状及发展趋势[J]. 中国森林病虫, 2015, 34(1): 33-37, 25.
- [5] 张鸿雁,刘 勇,任勇洋. 人参锈腐病及疫病生防放线菌筛选[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(2): 173-176.
- [6] ABDELMOHSEN U R, BAYER K, HENTSCHEL U, et al. Diversity, abundance and natural products of marine sponge-associated actinomycetes[J]. Nat Prod Rep, 2014, 31(3): 381-399.
- [7] 姜素平,张 健,秦 盛,等. 抗茄链格孢菌放线菌的筛选及鉴定[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(3): 543-549.
- [8] BHATTI A A, HAQ S, BHAT R A. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health[J]. Microbial Pathogenesis, 2017, 111: 458-467.
- [9] 林婵春,何冬梅,李佳穗,等. 川芎内生放线菌活性菌的筛选及鉴定[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(3): 76-79.
- [10] TORRES M J, PERREZ B C, PETROSLI G, et al. Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of Fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds [J]. Microbiological Research, 2016, 182: 31-39.
- [11] GUROVIC M S V, OLIVERA N L. Antibacterial producing actinomycetes from Extra Andean Patagonia [J]. Journal of Arid Environments, 2017, 144: 216-219.
- [12] HIMAMAN W, THAMCHAIPENET A, PATHOM-AREE W. Actinomycetes from Eucalyptus and their biological activities for controlling Eucalyptus leaf and shoot blight [J]. Microbiological Research, 2016, 188/189: 42-52.
- [13] 程 亮,罗明明,吴继纲,等. 海洋放线菌 Y12-26 中抗真菌活性代谢产物的分离纯化与结构鉴定[J]. 中国抗生素杂志, 2017(8): 631-638.
- [14] 祁承经. 湖南植物名录[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1987: 36-37.
- [15] CHO J K, RYU Y B, CURTIS-LONG M J, et al. Cholinesterase inhibitory effect of geranylated flavonoids from *Paulownia tomentosa* fruit [J]. Bioorg & Med Chem, 2012, 20(8): 2595-2602.
- [16] 张德丽,李晓强. 毛泡桐叶化学成分研究[J]. 中药材, 2011, 34(2): 232-234.
- [17] 周德庆,徐德强. 微生物学实验教程[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2012: 1-10.

- 育出版社, 2013: 350-353.
- [18] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 链霉菌鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1975: 13-15, 658-661.
- [19] 崔增杰, 张克诚, 折改梅, 等. 抗真菌农用抗生素有效成分研究进展[J]. 中国农学报, 2010, 26(5): 213-218.
- [20] 姜素平, 张健, 秦盛, 等. 抗茄链格孢菌放线菌的筛选及鉴定[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(3): 543-549.
- [21] 史晓晶, 王铁霖, 于春艳, 等. 红景天内生放线菌拮抗菌株的筛选及抗药性标记[J]. 云南农业大学学报, 2017, 32(5): 805-810.
- [22] 吴艳辉, 赵春田, 裴娟萍. 植物病原菌拮抗放线菌的分离筛选与鉴定[J]. 农药, 2010, 49(2): 146-149.
- [23] GOUDJAL Y, TOUMATIA O, YEKKOUR A. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara[J]. Microbiological Research, 2014, 169(1): 59-65.
- [24] 谭力, 袁博, 秦盛, 等. 邳州银杏内生放线菌分离、筛选及活性菌株鉴定[J]. 微生物学通报, 2015, 42(6): 1043-1051.
- [25] 朱琪, 邓振旭. 聚谷氨酸修饰电极测定食品中的麦芽酚[J]. 食品工业科技, 2017, 38(4): 305-308.
- [26] 程举, 李铭刚, 丁章贵, 等. 锡尾矿链霉菌 AE21985 代谢产物的分离与鉴定[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(2): 190-197.
- [27] 凌永泰, 夏先知, 刘月祥. 邻苯二甲酸二异丁酯用量对新型载体催化剂性质和性能的影响[J]. 石油化工, 2017, 46(4): 422-426.
- [28] 胡文凌, 李莉, 庞明, 等. 磁固相萃取-气相色谱/质谱联用法测定环境水中的邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[J]. 分析实验室, 2014, 33(5): 547-549.

(责任编辑: 张震林)