

刘卮洲, 沈佳慧, 乔俊卿, 等. 芽孢杆菌嗜铁素研究进展[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(1): 266-276.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2023.01.030

芽孢杆菌嗜铁素研究进展

刘卮洲, 沈佳慧, 乔俊卿, 左 杨, 刘永锋
(江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 嗜铁素(Siderophore)是微生物为适应自然界高氧低铁环境,产生的一类能特异性螯合三价铁离子的小分子化合物。绝大多数细菌和真菌都能通过非核糖体肽合成酶途径(NRPS)或非依赖 NRPS 途径(NIS)合成一种或几种嗜铁素。芽孢杆菌是目前研究与生产上应用最多的一类生防细菌,但芽孢杆菌嗜铁素的生防贡献国内外鲜有报道。本文对芽孢杆菌嗜铁素的种类、合成与调控机制、功能与应用(包括竞争作用、抗生作用、毒力作用、环境污染修复作用以及在医药研发上的应用等)进行了系统概述,为解析自然界中芽孢杆菌具有广谱抗菌活性的生防机制提供理论依据,同时对研发嗜铁素和药物偶联的新型靶向农药具有重要指导意义。

关键词: 芽孢杆菌; 嗜铁素; 嗜铁素药物耦合剂

中图分类号: S482.3⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2023)01-0266-11

Research progress of siderophore produced by *Bacillus* spp.

LIU You-zhou, SHEN Jia-hui, QIAO Jun-qing, ZUO Yang, LIU Yong-feng
(Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Iron is an essential element for the growth of almost all living microorganisms because it acts as a cofactor in enzymatic processes, oxygen metabolism, electron transfer, and RNA syntheses. Although iron is abundant in the earth's crust, it exists primarily as insoluble hydroxides in aerobic aqueous solution, making its acquisition difficult for microorganisms. To overcome this challenge, many microorganisms secrete low molecular weight iron chelators called siderophores. Most bacteria and fungi can synthesize one or more siderophores through nonribosomal peptide synthetases (NRPS) pathway or NRPS-independent siderophore (NIS) pathway. *Bacillus* spp. is considered the most successful biological control agent. However, there are few reports on the research of siderophore produced by *Bacillus* spp. In this paper, the types, biosynthesis and regulation mechanisms, functions and applications of siderophore produced by *Bacillus* spp. were systematically summarized, including competition, antibiosis, virulence, environmental pollution remediation and pharmaceutical research and development. Our results will reveal the new biological control mechanism of *Bacillus* spp. based on siderophore, which will help to expand the biocontrol application of siderophore and develop new target biological pesticides.

Key words: *Bacillus* spp.; siderophore; siderophore-drug conjugate

收稿日期: 2022-05-18

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(21)3096]; 国家自然科学基金项目(32272624)

作者简介: 刘卮洲(1975-), 女, 江苏高邮人, 博士, 研究员, 主要从事芽孢杆菌生物防治与农药开发应用研究。(E-mail) shito-uren88888@163.com

通讯作者: 刘永锋, (E-mail) liuyf@jaas.ac.cn

铁是所有生命有机体维持生长发育的必需元素,铁元素是细胞氧化还原反应过程中各种酶的重要辅助因子,在细胞氧代谢、电子转移和 RNA 合成等诸多方面发挥重要作用^[1-2]。自然界中铁元素含量极为丰富,占地壳金属元素含量的 5%。但由于铁元素特殊的活泼性,在自然条件下 Fe²⁺ 极易被氧化成 Fe³⁺, 形成稳定的、不可溶的氧化铁,不能被生

物体利用^[3]。据报道,在自然环境中可供微生物利用的自由铁浓度仅有 1×10^{-18} mol/L,远低于大部分微生物正常生活所需的 1×10^{-6} mol/L^[4]。为了满足自身铁元素需求,生物体在不断进化过程中形成高效的铁吸收转运机制,主要包括:螯合机制(Chelation)、还原机制(Reduction)以及质子化机制(Protonation)^[5],其中利用嗜铁素(Siderophore,别名铁载体)来转运外界铁离子是微生物较为重要的一种螯合机制^[6]。

嗜铁素,是生物体在长期进化过程中,应对低铁环境产生的一类能特异性螯合三价铁离子的小分子化合物,与 Fe^{3+} 的结合能力非常强(生成常数可达 $1.0 \times 10^{23} \sim 1.0 \times 10^{52}$)^[7]。研究报道较多的嗜铁素包括:黑粉菌属(*Ustilago*)和脉胞菌属(*Neurospora*)真菌产生的铁色素(Ferrichrome family)、红酵母属(*Rhodotorula*)真菌产生的玫红酵母酸(Rhodotorulic acid)、水稻稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)产生的粪生素(Coprogen)、链霉菌属(*Streptomyces*)细菌产生的铁草胺(Ferrioxamine family)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)细菌产生的荧光性嗜铁素(Pyoverdine)等^[2-4,6]。

芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)因其抑菌谱广、繁殖速度快、定殖能力强、能产生内生芽孢应对高温、干旱、紫外线等逆境,是目前研究与生产上应用最多的一类生防细菌。已报道的生防芽孢杆菌有贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、蜡状芽孢杆菌(*B. cereus*)、多黏芽孢杆菌(*B. polymyxa*)、巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)、短小芽孢杆菌(*B. pumilus*)等^[8]。目前芽孢杆菌嗜铁素在生防中的贡献国内外鲜有报道,本文对芽孢杆菌嗜铁素的种类、合成与调控机制、功能与应用进行系统概述,为芽孢杆菌嗜铁素的合成、调控及生防应用提供理论依据。

1 嗜铁素的种类

目前,国内外报道的嗜铁素种类已超过 500 种^[9]。按照不同的 Fe^{3+} 螯合基团,嗜铁素可分为 4 类:儿茶酚型(Catecholate)嗜铁素、异羟肟酸型(Hydroxamate)嗜铁素、羧酸盐型(Carboxylate)嗜铁素及混合型嗜铁素(图 1)^[10]。真菌主要分泌异羟肟酸型嗜铁素,接合菌门真菌(如毛霉菌)和少数细菌(如根瘤菌)能产生羧酸盐型嗜铁素,细菌主要分泌儿茶酚型和异羟肟酸型嗜铁素^[11],其中儿茶酚型

嗜铁素结构特征是以多个 2,3-二羟基苯甲酸(Dihydroxybenzoate, DHB)相邻的 2 个羟基作为螯合基团,羧基部分连接不同氨基酸,形成不同结构的儿茶酚型嗜铁素,并且这些氨基酸可能参与细胞膜受体蛋白的识别与结合^[12]。

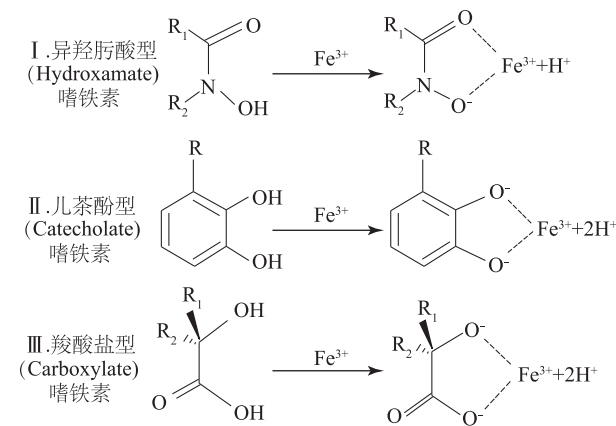


图 1 嗜铁素对 Fe^{3+} 的螯合基团类型^[13]

Fig.1 Several types of Fe^{3+} chelating groups in the structure of siderophore

多数芽孢杆菌能分泌儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin,如炭疽芽孢杆菌(*B. anthracis*)、苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*)、蜡质芽孢杆菌(*B. cereus*)、解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)等^[8,14-15]。儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin 最早是从枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)培养液中分离获得的嗜铁素^[16],由 3 个组合单元(甘氨酸、苏氨酸、DHB)环化形成,质合比值(m/z)为 881。此外,部分芽孢杆菌还可以分泌产生羧酸盐型嗜铁素 Pertrobactin^[14-15]。Wilson 等^[17]报道炭疽芽孢杆菌(*B. anthracis*) USAMRIID 不同生长阶段依次分泌儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin 和羧酸盐型嗜铁素 Pertrobactin 两种嗜铁素。在缺铁培养基中,菌株首先产生羧酸型嗜铁素 Pertrobactin,几小时后开始分泌儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin。这 2 种嗜铁素在炭疽芽孢杆菌中各自发挥独立作用;羧酸盐型嗜铁素 Pertrobactin 是在炭疽芽孢杆菌侵染初期(即芽孢萌发阶段)产生,与菌株致病性密切相关;而儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin 则是在炭疽芽孢杆菌侵染后期(即细胞的营养生长阶段)产生,关于儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin 在炭疽芽孢杆菌中的代谢功能目前还未知,推测其可能在细胞营养生长阶段起控制和调节作用。进一步研究发现:羧酸型

嗜铁素 Pertrobactin 合成基因缺失突变株虽然可以产生儿茶酚型嗜铁素,但突变株不能正常生长,表明羧酸盐型嗜铁素 Pertrobactin 对炭疽芽孢杆菌的生长和分裂至关重要;儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin 合成基因缺失突变株的生长能力和毒力强弱均未发生明显变化。同时培养温度会直接影响炭疽芽孢杆菌 USAMRIID 两种嗜铁素的产生,以室温培养为参照,37 °C 培养条件下,羧酸盐型嗜铁素 Pertrobactin 产生量明显增加,儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin 产生量明显下降^[17]。

越来越多的研究结果表明:大多数微生物能合成至少一种嗜铁素^[18]。Patzner 等^[19]报道缺铁条件下,灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*) ATCC 700974 除了分泌常见的嗜铁素-去铁胺 Desferrioxamines 之外,还可以分泌一种儿茶酚型嗜铁素 Griseobactin,儿茶酚合成基因缺失突变体不能合成 2, 3-dihydroxybenzoate (DHBA) 和儿茶酚型嗜铁素 Griseobactin,证实了儿茶酚合成基因簇在嗜铁素 Griseobactin 生物合成中的重要作用。铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) PAO1 可以分泌 2 种嗜铁素 Pyoverdine 和 Pyochelin,低铁条件下,铜绿假单胞菌 PAO1 会立即合成嗜铁素 Pyochelin,维持细菌的生命活动;进一步降低铁离子浓度后,菌株 PAO1 才会产生螯合能力更强的嗜铁素 Pyoverdine^[20]。丁香假单胞菌(*P. syringae*) B728a 除了能产生嗜铁素 Pyoverdine 之外,还可以产生嗜铁素 Achromobactin^[13]。伯克氏霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*) R456 可以在缺铁培养基中合成 Ornibactin 和 Pyochelin 两种已知嗜铁素和一种具有嗜铁素活性的多肽^[21]。

2 嗜铁素的合成及调控机制

嗜铁素的合成机制主要分为 2 种:一种由非核糖体肽合成酶途径(Nonribosomal peptide synthetases, NRPS)产生,如枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)分泌的 Bacillibactin,大肠杆菌(*Escherichia coli*)分泌的 Enterobactin,假单胞菌分泌的 Pyoverdine 等;另一种由非依赖 NRPS 途径(Nonribosomal peptide synthetases-independent siderophore, NIS)产生,如大肠杆菌(*E. coli*)分泌的 Aerobactin,炭疽芽孢杆菌(*B. anthracis*)分泌的 Pertrobactin,假单胞菌分泌的 Achromobactin 等^[13]。

2.1 NRPS 途径合成嗜铁素 Bacillibactin

缺铁条件下,多数芽孢杆菌可通过 NRPS 途径合成以 DHB 为前体的儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin。芽孢杆菌基因组中普遍含有 DHB 合成基因 *dhbABCEF*。Bacillibactin 的合成包括以下 3 个过程:DHB 配体的合成、Bacillibactin 的组装和转运。DHB 配体的最初来源是细菌糖代谢途径产生的莽草酸与磷酸烯醇式丙酮酸(Phosphoenolpyruvic acid, PEP)作用,形成 3-烯醇丙酮酸莽草酸-5-磷酸,在磷酸酶的作用下脱去磷酸根离子,形成分支酸。在异分支酸合成酶 *DhbC* 和异分支酸裂解酶 *DhbB* 的作用下,形成 2,3-DHB 配体。随后通过基因 *dhbBEF* 编码的合成酶进行 Bacillibactin 的组装,其中 *DhbE* 蛋白是一个大小为 5.99×10^4 的独立腺苷化结构域,在 ATP 依赖性反应中激活 DHB 配体,DHB 随后被转移到 *DhbB* 蛋白(具有双功能的异分支酸裂解酶/芳基载体蛋白)的辅因子磷酸泛酰巯基乙胺的游离巯基上。*DhbF* 蛋白大小为 2.64×10^5 ,是一种含有双模块的非核糖体肽合成酶,专一性地腺苷酸化苏氨酸和甘氨酸,并将两种氨基酸共价连接后加载到相应的肽基上,通过硫酯酶 *TE* 作用催化形成二聚体、三聚体,进而发生环化反应,Bacillibactin 从合成酶上释放(图 2)^[16]。芽孢杆菌嗜铁素 Bacillibactin 的转运分为吸收与输出两个方向:Bacillibactin 的吸收由细胞膜上嗜铁素结合蛋白和跨膜 ABC 转运蛋白协助完成,包括 *feuABC* 基因簇编码形成的蛋白 *FeuA*、*FeuB* 和 *FeuC* 组成的 Feu-ABC 型转运体、基因 *feuD* 编码的 ATP 酶以及三内酯水解酶 *YuiI* (*Be-sA*),其中 *FeuA* 已被证实对嗜铁素- Fe^{3+} 复合物的形成具有纳摩尔级的亲和力。*YuiI* 的主要功能是在细胞质中将 Fe^{3+} 从嗜铁素- Fe^{3+} 复合物中释放出去。Bacillibactin 的输出由基因 *ymfD* 编码的 MFS 型转运体以及转运调节蛋白 *Mta* 完成^[16]。

余贤美等^[22]报道 *dhbC* 是 DHB 合成过程中最重要的酶,*dhbC* 缺失突变后芽孢杆菌丧失了产生嗜铁素 Bacillibactin 的能力。Rowland 等^[23]报道枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)中含有 2 个异分支酸合成酶基因 *menF* 和 *dhbC*,两者在 DNA 水平和氨基酸水平上分别具有 47% 和 35% 的同源性,*menF* 是 Menakinone (MK,呼吸链成分之一)的合成基因。突变株 ΔmenF 依旧可以正常产生 MK 和 DHB,而突变株 ΔdhbC 则丧失合成 DHB 的功能,保留了 MK 的合成

能力,因此 *dhbC* 对于嗜铁素合成起着决定性的调控作用。Abe 等^[24]报道嗜铁素 Bacillibactin 合成途径中的非核糖体肽合成酶 *DhbE*,作为酰基-*O*-AMP 的中间体,负责选择性识别底物 DHB 并激活底物。反应底物中加入 DHB 和 *L*-半胱氨酸时,*DhbE* 会识别

底物,形成 *N*-DHB-*L*-半胱氨酸。合成酶 *DhbE* 以苯甲酸和 *L*-半胱氨酸为底物,可合成 *N*-苯甲酰-*L*-半胱氨酸。因此,生产上可利用合成酶 *DhbE* 的 *N*-酰化反应,合成 *N*-芳香酰基化合物。

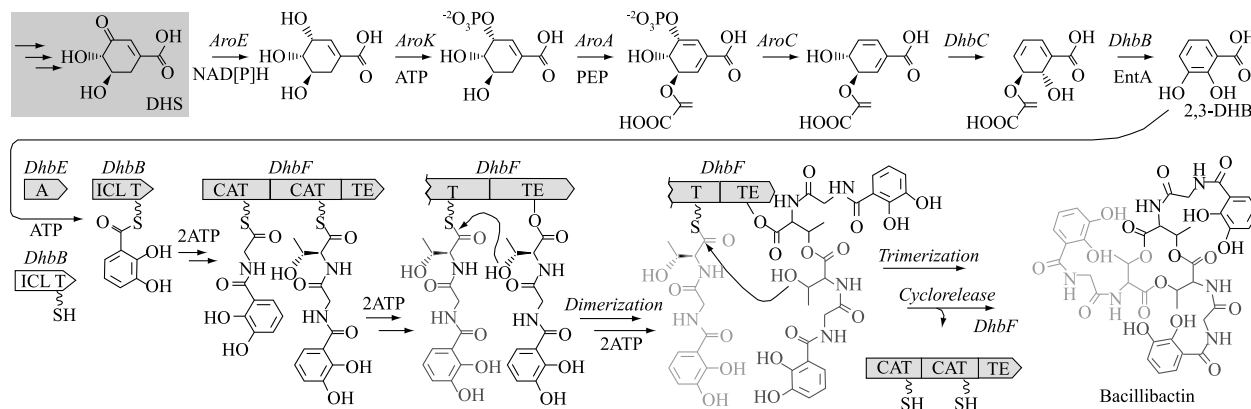


图2 嗜铁素 Bacillibactin 生物合成代谢途径^[15]

Fig.2 Metabolic route for the biosynthesis of bacillibactin

2.2 NIS 途径合成嗜铁素

NIS 途径合成嗜铁素是独立于 NRPS 途径的另一种合成机制,该途径一般产生异羟肟酸型或羧酸盐型嗜铁素。根据其激活底物的类型,NIS 合成酶被划分为 3 类:A 类可识别柠檬酸手性酸根基团,B 类可识别 α -酮戊二酸酸根基团,C 类可识别羧酸的酯化或酰胺化衍生物^[13]。据报道,炭疽芽孢杆菌和部分蜡质芽孢杆菌除了通过 NRPS 途径产生嗜铁素 Bacillibactin 之外,还可以通过 NIS 途径产生嗜铁素 Petrobactin^[15]。

羧酸盐型嗜铁素 Petrobactin 是由柠檬酸、亚精胺和 DHB 组成的线性分子,其合成基因簇 *asbABCDEF* 分别编码 2 类不同的酶:NRPS 合成酶(*asbCDE*)和 NIS 合成酶(*asbAB*),协同作用后形成产物 Petrobactin。与儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin 生物合成途径类似,羧酸盐型嗜铁素 Petrobactin 的生物合成途径同样可以分为以下 3 个过程:DHB 配体的形成、Petrobactin 的组装与转运。但是嗜铁素 Petrobactin 中 DHB 配体的形成过程与嗜铁素 Bacillibactin 不同,莽草酸在脱水酶 *AsbF* 的作用下,直接形成 3,4-DHB 配体,随后在 NRPS 合成酶 *AsbCD* 的作用下被激活,通过合成酶 *AsbE* 转移至柠檬酰基亚精胺骨架上。A 型 NIS 合成酶 *AsbA* 专一催化亚精胺和柠檬酸的共价连接,产生 (3*S*)-*N*⁸-柠檬酰基亚

精胺,随后出现分叉:一种是上述的通过合成酶 *AsbE*,将 3,4-DHB 从 *AsbD* 转移到 *N*⁸-柠檬酰基亚精胺;另一种是通过 C 型 NIS 合成酶 *AsbB* 的作用,产生柠檬酰基双亚精胺。上述 2 种中间体分别通过合成酶 *AsbB* 或 *AsbE* 的作用进行拼接,最后通过合成酶 *AsbE* 添加第 2 个 3,4-DHB 配体完成 Petrobactin 的生物合成(图 3)。

嗜铁素 Petrobactin 的转运通过膜上的底物结合蛋白和转运蛋白共同作用完成。Zawadzka 等^[25]研究发现,蜡质芽孢杆菌中基因簇 *fpuA/fhuB* 和 *fatB-CD/fhuC* 编码的结合蛋白 FpuA 和 FatB 对嗜铁素 Petrobactin 和 Fe-Petrobactin 复合物均表现出较强的亲和力,FatB 蛋白及其同源物在蜡质芽孢杆菌中普遍存在。枯草芽孢杆菌中,FatB 蛋白的同系物 YclQ 也能紧密结合嗜铁素 Petrobactin 和 Fe-Petrobactin 复合物^[26]。Carlson 等^[27]报道在炭疽芽孢杆菌嗜铁素 Petrobactin 的转运过程中,蛋白 FpuA 比 FatB 更能发挥重要作用。与野生型菌株或 *fatB* 缺陷型菌株相比,*fpuA* 缺失突变株嗜铁素 Petrobactin 的合成能力并没有减弱,但是突变株生长缓慢,培养基中积累较多的嗜铁素 Petrobactin。与 *fpuA* 缺失突变株相比,*fpuA/fatB* 双缺失菌株生长速度更慢,因此推测 FatB 蛋白可能在嗜铁素 Petrobactin 螯合铁的过程中起辅助作用。此外,科学家们还陆续发现了其他

大量的铁转运体,如 YfjY 蛋白、FhuBDG 蛋白等,但其底物的特异性和功能未知。值得注意的是,与基因簇 *fatBCD* 不同,基因簇 *asbABCEF* 和 *fpuA/fhuB* 均不包含细菌全局转录调控因子-铁摄取调节蛋白 (Ferric uptake regulator, Fur) 元件,表明嗜铁素 Petrobactin 的生物合成和 FpuA 介导的 Petrobactin 转运之间存在更加紧密的关联性^[15]。

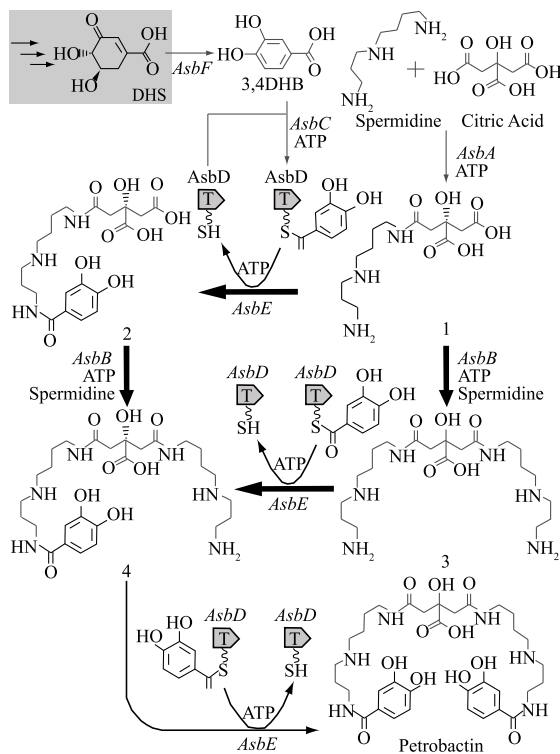


图3 嗜铁素 Petrobactin 生物合成代谢途径^[15]

Fig.3 Metabolic route for the biosynthesis of petrobactin

2.3 嗜铁素合成与转运的调控机制

细菌一方面在缺铁胁迫环境下必须迅速作出反应(如嗜铁素运输系统等)获取足够的铁元素;另一方面,细菌胞内过量的铁会引发芬顿反应(Fenton/Haber-Weiss),产生有害的活性氧和羟基自由基,导致DNA损伤、细菌突变,甚至死亡^[28]。为此,细菌演变出多种铁代谢调控系统,严格控制胞内铁离子浓度,维持体内铁平衡。铁摄取调节蛋白Fur,是铁代谢过程中的重要调控因子,属于FUR超家族成员之一^[29]。Fur蛋白是由2个Fur单体形成的同源二聚体,分为无金属离子apo-Fur结构和与金属配体结合的holo-Fur结构,其中holo-Fur结构对称性强,稳定性好^[30]。

Fur蛋白在细菌铁代谢中具有核心调控作用,主要包括嗜铁素的合成和运输、铁运输、铁储存及铁外排相关酶的合成等^[28]。如在大肠杆菌中,Fur通过可逆地结合铁硫簇,感知细胞内游离 Fe^{2+} 含量,调控细胞内铁代谢稳态^[31]。在枯草芽孢杆菌中,有超过50个基因受Fur蛋白的调控^[28]。Pi等^[28]利用李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)与 Fe^{2+} 高亲和力的外排转运体作为诱导工具来消耗枯草芽孢杆菌的胞内铁,结果表明:当胞内铁从充足过渡到铁缺乏时,Fur首先诱导铁运输系统基因*efeUOB*、柠檬酸铁运输系统基因*fecCDEF*等相关基因的表达,从周围环境中直接吸收、运输可利用的铁元素;其次在Fur蛋白调控下,枯草芽孢杆菌合成儿茶酚型嗜铁素Bacillibactin,开启嗜铁素摄取系统,从环境中“掠夺”铁元素,运输到胞内加以利用;随着细胞内铁浓度的继续降低,由Fur调控的小RNA和3个小蛋白质介导的枯草芽孢杆菌“铁保留”反应(iron-sparing response)相关基因*fssA*、*fssABC*等被诱导激活,阻止细胞体内大量利用铁的蛋白质(如三羧酸循环中的琥珀酸脱氢酶、细胞色素以及血红素等)翻译,保证最重要的铁依赖性酶的铁需求^[28-29]。此外,Fur还可以参与氧化应激反应、细菌毒力因子或生物表型的调控作用。如Fur通过抑制枯草芽孢杆菌中PerR蛋白(Peroxide response regulator,氧化应激调节蛋白,FUR超家族成员)的活性,激活铁外排蛋白编码基因*pfeT*的表达^[32]。Fur可以调控霍乱弧菌毒素协同菌毛(Toxin coregulated pilus,TCP)合成基因*tcpA*、*tcpP*和*toxT*的表达和大肠杆菌六型分泌系统*T6SS*基因簇的表达^[33-34]。在枯草芽孢杆菌中,Fur除了调控嗜铁素的合成和运输外,还可以影响细菌的产孢和生物膜形成^[35-37]。

Fur蛋白调节机制主要包括holo-Fur的“高铁抑制”和“高铁激活”、apo-Fur的“低铁抑制”和“低铁激活”以及Fur蛋白的自调节模式^[38]。经典学说认为:holo-Fur负调控嗜铁素的合成,即当细菌体内铁离子充足时,Fur蛋白感应细胞体内铁离子浓度,与铁离子形成复合物。该复合物可以识别嗜铁素合成基因启动子区的特殊序列(Fur box),阻止RNA聚合酶与DNA结合,抑制嗜铁素合成基因的转录,不能产生嗜铁素。当细菌体内铁离子匮乏时, Fe^{2+} 从holo-Fur结构中解离,使得靶标基因正常转录,合成嗜铁素^[30]。除了Fur蛋白之外,细菌还可以通过

σ 因子和群体感应 (Quorum sensing, QS) 信号调控嗜铁素的合成。例如铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) 两种嗜铁素 (Pyoverdine 和 Pyochelin) 的合成受 σ 因子 Fpvl 和 PvdS 调控^[39]。通常情况下细菌体内 QS 信号分子的积累会抑制嗜铁素的合成,防止嗜铁素积累过多,超过细菌的铁吸收能力,造成伤害。如在哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 中嗜铁素 Amphi-enterobactins 只在细胞密度低的情况下才会产生,细胞密度高时,嗜铁素 Amphi-enterobactins 的合成受到抑制^[40]。

3 嗜铁素的功能及应用

嗜铁素的功能具有多样性,在工业、农业、医药、生物等多个领域均具有极大的应用价值,除了可以作为生物体中高亲和性的铁运转载体,还具有竞争作用、抗生作用、毒力作用、环境污染修复作用。

3.1 竞争作用

目前普遍认为,细菌产生的嗜铁素能竞争螯合环境中的 Fe^{3+} ,造成病原菌缺铁,生长发育受到抑制^[41]。产嗜铁素的枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) CAS15 在缺铁条件下对辣椒枯萎病的盆栽防效为 44.4%,添加外源 Fe^{3+} 后的盆栽防效仅为 12.5%^[42]。贝莱斯芽孢杆菌 (*B. velezensis*) YL2021 缺铁条件下能产生 3 种有抑菌作用的儿茶酚型嗜铁素,培养基中添加铁离子后,菌株分泌嗜铁素的能力显著降低^[43]。类似的报道还有很多,如在缺铁条件下,绿针假单胞菌 (*P. chlororaphis*) YL-1 产生的主要抑菌物质是嗜铁素 Pyoverdine,菌株 YL-1 分泌嗜铁素的能力与环境中铁离子浓度呈负相关性。当培养基中不添加铁离子或相同浓度铁离子时,随着嗜铁素纯品使用剂量加大,对水稻白叶枯病菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) 的抑制作用增强,当培养基中添加铁离子时,使用相同剂量的嗜铁素对水稻白叶枯病菌的抑制作用明显下降^[44],该结果与 Chen 等^[45] 的报道基本一致。

3.2 抗生作用

有报道细菌产生的嗜铁素不仅可以通过铁竞争作用抑制病原菌的生长,也可以作为抗生素直接抑制病原菌的生长,发挥生防功效。解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliquefaciens*) MBI600 缺铁条件下产生儿茶酚型嗜铁素 Bacillibactin,室内外试验结果表明,嗜铁素 Bacillibactin 对病原细菌——丁香假单胞菌 (*P.*

syringae) 的生长具有直接抑制作用^[8]。绿针假单胞菌 YL-1 产生的嗜铁素 Pyoverdine,无论是在铁营养丰富的 LB 平板还是缺铁的 LB 平板上,对 4 种测试细菌的生长具有较强的抑制作用,随后发现嗜铁素在缺铁培养基和无铁培养基中对测试细菌的室内抑制作用几乎无差异,推测嗜铁素 Pyoverdine 除了传统学说认为的“铁竞争作用原理”之外,还可作为抗生素直接抑制病原细菌的生长^[44]。Abo-Zaid 等^[46] 采用优化补料分批发酵工艺,大量提取荧光假单胞菌 (*P. aeruginosa*) F2 和铜绿假单胞菌 (*P. fluorescens*) JY3 产生的嗜铁素制备生物杀菌剂,结果表明,用嗜铁素制备的生物杀菌剂可有效防治尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 和立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 引起的小麦苗期猝倒病,其中 F2 和 JY3 对尖孢镰刀菌引起的病害防效达 80%,对立枯丝核菌引起的病害防效分别为 87.49% 和 62.50%。

3.3 毒力因子

多数芽孢杆菌是无害的,但少部分芽孢杆菌对人和哺乳动物是有致病性的,如炭疽芽孢杆菌和一些蜡质芽孢杆菌。目前已知的对人和动物有潜在致病性的芽孢杆菌都会产生嗜铁素 Petrobactin,虽然嗜铁素 Petrobactin 自身并没有毒性,但它是所有致病芽孢杆菌的一个共同特征^[47]。蜡质芽孢杆菌中一些无毒菌株,如 ATCC 10987,缺乏嗜铁素 Petrobactin 合成基因簇和转运相关基因 *fpuA*。蜡样芽孢杆菌群体基因组的比较分析结果表明,大多数非致病性菌株缺乏嗜铁素 Petrobactin 转运相关基因 *fpuA* 或 *fatB*,只有少数例外^[15]。Carlson 等^[27] 报道炭疽芽孢杆菌中 *fpuA* 缺失突变株生长缓慢,与野生型菌株或 *fatB* 缺陷型菌株相比,培养基中积累较多的嗜铁素 Petrobactin。有趣的是,尽管炭疽芽孢杆菌合成嗜铁素 Petrobactin 的能力并没有减弱,但是在小鼠致病性实验中 *fpuA* 缺失突变株毒力降低,试验结果表明嗜铁素 Petrobactin 吸收蛋白 FpuA 在炭疽芽孢杆菌致病过程中起重要作用。Zawadzka 等^[25] 报道蜡质芽孢杆菌 (*B. cereus*) 侵染初期产生嗜铁素 Petrobactin,由于宿主(人和哺乳动物)体内的先天免疫蛋白 Sidercalin(可以结合一般嗜铁素及其复合物,使其不能被病原细菌利用,并通过肾脏排出体外)无法结合嗜铁素 Petrobactin,因此嗜铁素 Petrobactin 可以保留在宿主体内,被称为“隐形”嗜铁素,是宿主的关键致病因子。

3.4 环境污染修复

石油类化合物污染是海洋生态环保的一个重要难题,微生物嗜铁素可促进石油降解微生物对铁的获取和自身生长,从而间接促进石油类化合物的生物降解。嗜铁素 Petrobactin 是石油降解菌 (*Marinobacter hydrocarbonoclasticus*) 产生的嗜铁素,在炭疽芽孢杆菌和蜡质芽孢杆菌中广泛存在^[48]。赵碧洁等^[49]研究发现铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) NY3 产生的嗜铁素 Pyochelin 通过乳化石油,促进菌株对石油烃的降解。

嗜铁素不仅对于 Fe^{3+} 有着高效的特异螯合能力,对多种金属离子如 Cr^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 等也有着较强的结合能力。环境中重金属影响微生物嗜铁素的产量,有报道在铜污染的土壤中产嗜铁素的微生物丰度多,嗜铁素产量高^[50]。嗜铁素和重金属离子螯合后,将重金属离子转化为生物可利用的形式,促进植物对重金属的吸收和对重金属的耐受性,进而实现植物对重金属污染土壤的修复。目前植物修复重金属污染被认为是最安全、最具有创新性和最有效的方法之一^[11]。Khan 等^[51]通过计算机模拟、生物信息学分析和蛋白质组学研究,发现构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 产生的异羟羧酸型嗜铁素与枯草芽孢杆菌受体之间存在特异性相互作用。随后原子吸收光谱测定结果表明,枯草芽孢杆菌可利用外源异羟羧酸型嗜铁素螯合环境中 Cd^{2+} ,实现重金属污染的生物修复。Cao 等^[52]报道包括芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.) FFQ2 在内的 6 株细菌产生的嗜铁素能在重金属镉、铅污染环境下促进长根金钱菌的菌丝生长,提高菌丝体内 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 的积累,菌丝体内抗氧化酶 (*SOD* 和 *POD*) 活性显著降低,说明细菌产生的嗜铁素可以降低重金属对菌丝体的毒性,进而缓解重金属离子诱导的氧化应激反应。随后利用细菌产生的嗜铁素对重金属 Cd 和 Pb 污染土壤进行处理,发现土壤中的可溶性重金属 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 浓度增加,表明嗜铁素可以提高土壤中重金属的可溶性,对土壤中重金属的迁移起到积极作用。其他细菌如铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) 分泌的嗜铁素 Pyoverdine 和 Pyochelin 能促进玉米对重金属 Cr^{2+} 和 Pb^{2+} 的吸收^[53]。伯克氏霍尔德氏菌 (*B. cepacia*) SX9 在缺铁条件下产生儿茶酚型嗜铁素,可以高效结合重金属污染土壤中的 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 等,减轻重金属离子对植物种子萌发的毒性,促进植株生

长^[54]。放射农杆菌 (*Agrobacterium radiobacter*) D14 产生的嗜铁素可以螯合土壤中砷元素,细菌接种处理提高了杨树对砷的耐受性和吸收效率,促进杨树生长,植株根、茎和叶中砷含量显著增加^[55]。

3.5 药物和医学应用

医学领域里嗜铁素最早应用于地中海贫血患者输血期间铁或铝过载中毒的治疗,著名的例子是由链球菌产生的嗜铁素-去铁胺 (DFO-B)。缺铁条件下,部分细菌除了能分泌自身嗜铁素外,还能利用其他微生物分泌的外源嗜铁素^[56]。这方面医学领域有很多研究报道和实际应用,例如,淋病奈瑟菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) 自身不能产生嗜铁素,但可以利用大肠杆菌 (*E. coli*)、沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 及其他一些肠杆菌分泌的外源嗜铁素来摄取铁离子维持自身生长^[57]。医学研究人员利用外源嗜铁素摄取机制,将药物和嗜铁素偶联,使药物更容易进入靶向病原微生物,同时还不会产生抗药性,这种特殊的杀菌方式被称为“特洛伊木马策略”^[58-60]。Neumann 等^[61]开发了一种对致肾盂肾炎的大肠埃希菌株具有抗菌活性的肠杆菌素-环丙沙星复合物 (Enterobactin-ciprofloxacin),该复合物具有与未经修饰的环丙沙星相当的抗菌活性。近年来,慕尼黑工业大学 Arne Skerra 教授提出了一个创新策略:重新编程人类嗜铁素免疫蛋白 siderocalin,建立新型免疫蛋白“petrocalin”靶向“捕获”炭疽芽孢杆菌产生的嗜铁素 Petrobactin,阻遏炭疽芽孢杆菌吸收赖以生存的铁离子,从而抑制炭疽芽孢病菌的繁殖,保护人类健康^[62]。

3.6 其他功能

除了上述功能外,嗜铁素还具有促进植株生长、改善细菌自身生理学和生物表型等作用。Ferreira 等^[63]报道枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) DSM10 能产生儿茶酚型嗜铁素,对植株具有明显的促生作用,碱性土壤中可以改善植株由于缺铁导致的褪绿。Rizzi 等^[64]报道枯草芽孢杆菌需要生物膜和嗜铁素共同作用才能从培养基中获得活性铁,维持正常生长。生物膜的形成能增强儿茶酚型嗜铁素与铁的螯合能力,显著提高嗜铁素的利用效率。Qin 等^[37]报道枯草芽孢杆菌生物膜的形成需要大量的铁,比细菌正常生长所需的铁含量高数百倍。究其原因,与枯草芽孢杆菌生物膜基质的形成有关:生物膜是导电的,嗜铁素前体——DHB 螯合的胞外铁作为电子受

体,是形成生物膜基质的关键因子。枯草芽孢杆菌中,与生物膜结合的铁至少具有2个重要功能;一是协助胞外代谢,如电子转移;二是在不损害生物膜铁稳态(即维持生物膜最低铁浓度)的情况下,利用嗜铁素和生物膜结合的铁进行铁吸收^[65]。Grandchamp等^[36]报道多种细菌产生的嗜铁素(如大肠杆菌产生的肠杆菌素 Enterobactin)作为补源嗜铁素能促进枯草芽孢杆菌产孢相关基因的表达,嗜铁素不仅为细菌提供赖以生存的铁元素,还可能在细菌种属间信号传递(产孢)中发挥重要作用。

4 小结

芽孢杆菌产生的抑菌物质种类较多,主要包括脂肽类化合物、抗菌蛋白和聚酮类化合物等,其中脂肽类化合物是大家公认的芽孢杆菌发挥生防作用的主要抑菌物质^[8]。但是芽孢杆菌产生嗜铁素的种类及其作用(特别是生防贡献)鲜有报道。刘卹洲等^[43]报道贝莱斯芽孢杆菌 YL2021 (CGMCC No. 24302)基因组中含有完整的DHB合成基因簇。营养正常的条件下,贝莱斯芽孢杆菌 YL2021 能产生脂肽类化合物,不能产生嗜铁素;缺铁条件下,YL2021 几乎不能产生脂肽类化合物,但能产生3种不同抑菌谱的儿茶酚型嗜铁素。有趣的是,无论在营养条件正常还是缺铁条件,芽孢杆菌 YL2021 对很多病原真菌和细菌的生长均表现出较强的抑制作用。上述结果表明,贝莱斯芽孢杆菌 YL2021 产生的嗜铁素能抑制病原真菌或细菌的生长,具有生防作用。

据报道,微生物产生多种嗜铁素吸收转运铁系统并不是冗余的,不同嗜铁素之间存在复杂的调控机制,保证微生物铁代谢的高效稳定^[21]。首先,Sathe等^[66]报道嗜铁素之间存在替补作用,当一种铁摄取途径失去作用时,其他嗜铁素转运途径发挥替补作用。其次,微生物在特定环境中会选择合成最适合的嗜铁素,避免能量的浪费^[67]。假单胞菌(*P. aeruginosa*) PAO1 从铁限制环境转换到严重铁限制环境时,细菌就会合成螯合能力较强的嗜铁素 Pyoverdine,帮助微生物适应恶劣的外界环境,这种转换机制可能与嗜铁素的螯合能力有关,也可能依赖于一些调控因子^[38]。缺铁条件下,部分细菌除了能分泌自身嗜铁素外,还能利用其他微生物分泌的嗜铁素。模式菌株枯草芽孢杆菌 *Bs168* 基因组的功

能注释结果显示该菌株可以结合并利用外源异羟尿酸型嗜铁素,如 Storey 等^[68-69]。此外,有报道说嗜铁素可以作为公共物品被微生物群体共享。部分微生物可以在不消耗自身能量合成嗜铁素的情况下,利用公共嗜铁素获取铁离子维持自身生长,而产生嗜铁素的微生物也会进化出相应的保护机制,阻遏这种“偷窃嗜铁素”行为^[70]。

随着人们生活水平的提高,对农产品安全性的要求也越来越高。2015年农业部制定了化肥农药“零增长行动方案”,为达到这一目标,迫切需求开发环保、安全、种类新颖、功能多样的生物农药,实现从传统的“大药大肥”向环境友好型生物治理的技术变革。基于嗜铁素在医药研发上的“特洛伊木马策略”,可以首先体外筛选病原微生物优先利用的外源嗜铁素,利用外源嗜铁素介导的 Fur 蛋白阻遏自身嗜铁素合成的新机制,“诱骗”病原微生物体将更多的外源嗜铁素与药物的耦合物运输至体内,发挥药物杀菌作用。上述设想对研发外源嗜铁素和药物偶联的新型靶向农药具有重要指导意义。

参考文献:

- [1] SCHWYN B, NEILANDS J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 160(1): 47-56.
- [2] AHMED E, HOLMSTROM S J M. Siderophores in environmental research: roles and applications [J]. *Microbial Biotechnology*, 2014, 7(3): 196-208.
- [3] SCHALK I J. Metal trafficking via siderophores in Gram-negative bacteria: specificities and characteristics of the Pyoverdine pathway [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2008, 102(5): 1159-1169.
- [4] RAYMOND K N, DERTZ E A, KIM S S. Enterobactin: An archetype for microbial iron transport [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(7): 3584-3588.
- [5] GUERINOT M L. Microbial iron transport [J]. *Annual Review of Microbiology*, 1994, 48: 743-772.
- [6] DE SERRANO L O, CAMPER A K, RICHARDS A M. An overview of siderophores for iron acquisition in microorganisms living in the extreme [J]. *BioMetals*, 2016, 29(4): 551-571.
- [7] CRICHTON R R, CHARLOTEAUX-WAUTERS M. Iron transport and storage [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1987, 164(3): 485-506.
- [8] DIMOPOULOU A, THEOLOGIDIS L, BENAKI D, et al. Direct antibiotic activity of Bacillibactin broadens the biocontrol range of *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600 [J]. *mSphere*, 2021, 6(4):

- e00376-21.
- [9] CORNELIS P, MATTHIJS S. Diversity of siderophore-mediated iron uptake systems in fluorescent pseudomonads: not only Pyoverdines [J]. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(12): 787-798.
- [10] BOUKHALFA H, CRUMBLISS A L. Chemical aspects of siderophore mediated iron transport [J]. *BioMetals*, 2002, 15(4): 325-339.
- [11] 董子阳,胡佳杰,胡宝兰. 微生物铁载体转运调控机制及其在环境污染修复中的应用[J]. *生物工程学报*, 2019, 35(11): 2189-2200.
- [12] BAAKZA A, VALA A K, DAVE B P, et al. A comparative study of siderophore production by fungi from marine and terrestrial habitats [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, 311(1): 1-9.
- [13] BERTI A D, THOMAS M G. Analysis of achromobactin biosynthesis by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* B728a [J]. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(14): 4594-4604.
- [14] WILSON M K, ABERGEL R J, RAYMOND K N, et al. Siderophores of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 348(1): 320-325.
- [15] HOTTA K, KIM C Y, FOX D T, et al. Siderophore-mediated iron acquisition in *Bacillus anthracis* and related strains [J]. *Microbiology*, 2010, 156(7): 1918-1925.
- [16] MAY J J, WENDRICH T M, MARAHIEL M A. The *dhb* operon of *Bacillus subtilis* encodes the biosynthetic template for the catecholic siderophore 2, 3-dihydroxybenzoate-glycine-threonine trimeric ester Bacillibactin [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(10): 7209-7217.
- [17] WILSON B R, BOGDAN A R, MIYAZAWA M, et al. Siderophores in iron metabolism: from mechanism to therapy potential [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2016, 22(12): 1077-1090.
- [18] 孙 萌. 铁载体高产菌株的 ARTP 选育及其铁载体产量提高机理的初步分析[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [19] PATZER S I, BRAUN V. Gene cluster involved in the biosynthesis of griseobactin, a catechol-peptide siderophore of *Streptomyces* sp. ATCC 700974 [J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(2): 426-435.
- [20] DUMAS Z, ROSS-GILLESPIE A, KUMMERLI R. Switching between apparently redundant iron-uptake mechanisms benefits bacteria in changeable environments [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, 280: e20131055.
- [21] 王晓璇. 拮抗细菌 *Burkholderia seminalis* R456 的铁代谢及其调控机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- [22] 余贤美,林 超,郑服丛,等. 枯草芽孢杆菌 CAS15 嗜铁素基因 *dhbC* 的克隆、表达及功能鉴定[J]. *生物工程学报*, 2009, 25(6): 819-825.
- [23] ROWLAND B M, TABER H W. Duplicate isochorismate synthase genes of *Bacillus subtilis*: regulation and involvement in the biosyntheses of menaquinone and 2,3-dihydroxybenzoate [J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(3): 854-861.
- [24] ABE T, HASHIMOTO Y, SUGIMOTO S, et al. Amide compound synthesis by adenylation domain of Bacillibactin synthetase [J]. *The Journal of Antibiotics*, 2017, 70(4): 435-442.
- [25] ZAWADZKA A M, ABERGEL R J, NICHIPORUK R, et al. Siderophore-mediated iron acquisition systems in *Bacillus cereus*: identification of receptors for anthrax virulence-associated Petrobactin [J]. *Biochemistry*, 2009, 48(16): 3645-3657.
- [26] ZAWADZKA A M, KIM Y, MALTSEVA N, et al. Characterization of a *Bacillus subtilis* transporter for Petrobactin, an anthrax stealth siderophore [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(51): 21854-21859.
- [27] CARLSON JR P E, DIXON S D, JANES B K, et al. Genetic analysis of Petrobactin transport in *Bacillus anthracis* [J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 75(4): 900-909.
- [28] PI H, HELMANN J D. Sequential induction of Fur-regulated genes in response to iron limitation in *Bacillus subtilis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(48): 12785-12790.
- [29] GABALLA A, ANTELMANN H, AGUILAR C, et al. The *Bacillus subtilis* iron-sparing response is mediated by a Fur-regulated small RNA and three small basic proteins [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(33): 11927-11932.
- [30] 于欣冉,李颖杰,陈冠军,等. 铁摄取调节蛋白 Fur 功能和作用模式的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2021, 48(6): 618-636.
- [31] FONTENOT C R, TASNIM H, VALDES K A, et al. Ferric uptake regulator (Fur) reversibly binds a [2Fe-2S] cluster to sense intracellular iron homeostasis in *Escherichia coli* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, 295(46): 15454-15463.
- [32] PINOCHET-BARROS A, HELMANN J D. *Bacillus subtilis* Fur is a transcriptional activator for the PerR-repressed *pfeT* gene, encoding an iron efflux pump [J]. *Journal of Bacteriology*, 2020, 202(8): e00697-19.
- [33] GAO H, ZHANG J, LOU J, et al. Direct binding and regulation by Fur and HapR of the intermediate regulator and virulence factor genes within the ToxR virulence regulon in *Vibrio cholera* [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: e00709.
- [34] BRUNET Y R, BERNARD C S, CASCALES E. Fur-dam regulatory interplay at an internal promoter of the enteroaggregative *Escherichia coli* type VI secretion *sci1* gene cluster [J]. *Journal of Bacteriology*, 2020, 202(10): 00075-20.
- [35] PISITHKUL T, SCHROEDER J W, TRUJILLO E A, et al. Metabolic remodeling during biofilm development of *Bacillus subtilis* [J]. *mBio*, 2019, 10(3): e00623-19.
- [36] GRANDCHAMP G M, CARO L, SHANK E A. Pirated siderophores promote sporulation in *Bacillus subtilis* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(10): e03293-16.

- [37] QIN Y, HE Y, SHE Q, et al. Heterogeneity in respiratory electron transfer and adaptive iron utilization in a bacterial biofilm [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): e3702.
- [38] 马 玥,宋楠楠,李冰清. 细菌铁摄取调节蛋白 Fur 的研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(1): 117-121,126.
- [39] BASHYAM M D, HASNAIN S E. The extracytoplasmic function sigma factors: role in bacterial pathogenesis [J]. Infection, Genetics and Evolution, 2004, 4(4): 301-308.
- [40] MCROSE D L, BAARS O, SEYEDSAYAMDOST M R, et al. Quorum sensing and iron regulate a two-for-one siderophore gene cluster in *Vibrio harveyi* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(29): 7581-7586.
- [41] NAGSTA T, OOB T, AOZASA O. Efficacy of a bacterial siderophore, Pyoverdine, to supply iron to *Solanum lycopersicum* plants [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2013, 115(6): 686-690.
- [42] YU X, AI C, XIN L, et al. The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on Fusarium wilt and promotes the growth of pepper [J]. European Journal of Soil Biology, 2011, 47(2): 138-145.
- [43] 刘卹洲,刘永峰,乔俊卿,等. 贝莱斯芽孢杆菌 YL2021 高产嗜铁素的发酵培养方法及嗜铁素的应用; CN202210200634.6 [P]. 2022.
- [44] LIU Y Z, DAI C, ZHOU Y Q, et al. Pyoverdines are essential for the antibacterial activity of *Pseudomonas chlororaphis* YL-1 under low-iron conditions [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(7): e02840-20.
- [45] CHEN W J, KUO T Y, HSIEH F C, et al. Involvement of type VI secretion system in secretion of iron chelator Pyoverdine in *Pseudomonas taiwanensis* [J]. Scientific Reports, 2016, 6: e32950.
- [46] ABO-ZAID G A, SOLIMAN N A M, ABDULLAH A S, et al. Maximization of siderophores production from biocontrol agents, *Pseudomonas aeruginosa* F2 and *Pseudomonas fluorescens* JY3 using batch and exponential fed-batch fermentation [J]. Processes, 2020, 8: e8040455.
- [47] CASADEVALL A. Cards of virulence and the global virulome for humans [J]. Microbe, 2006, 1(8): 359-364.
- [48] KURTH C, KAGE H, NETT M. Siderophores as molecular tools in medical and environmental applications [J]. Organic and Biomolecular Chemistry, 2016, 14(35): 8212-8227.
- [49] 赵碧洁,聂麦茜,聂红云,等. 绿脓杆菌螯铁蛋白分泌及其对铜绿假单胞菌 NY3 降解烃类的影响作用[J]. 微生物学杂志, 2018, 38(1): 76-82.
- [50] HESSE E, O'BRIEN S, TROMAS N, et al. Ecological selection of siderophore-producing microbial taxa in response to heavy metal contamination [J]. Ecology Letters, 2018, 21(1): 117-127.
- [51] KHAN A, GUPTA A, SINGH P, et al. Siderophore-assisted cadmium hyperaccumulation in *Bacillus subtilis* [J]. International Microbiology, 2020, 23(2): 277-286.
- [52] CAO Y, ZHANG X, DENG J, et al. Lead and cadmium-induced oxidative stress impacting mycelial growth of *Oudemansiella radicata* in liquid medium alleviated by microbial siderophores [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(4): 1727-1737.
- [53] ULLAH A, HENG S, MUNIS M F H, et al. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review [J]. Environ Environmental and Experimental Botany, 2015, 117: 28-40.
- [54] WANG Y, HUANG W, LI Y, et al. Isolation, characterization, and evaluation of a high-siderophore-yielding bacterium from heavy metal-contaminated soil [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 29(3): 3888-3899.
- [55] WANG Q, XIONG D, ZHAO P, et al. Effect of applying an arsenic-resistant and plant growth-promoting rhizobacterium to enhance soil arsenic phytoremediation by *Populus deltoides* LH05-17 [J]. Journal of Applied Microbiology, 2011, 111(5): 1065-1074.
- [56] PAGE M G P. Siderophore conjugates [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2013, 1277: 115-126.
- [57] STRANGE H R, ZOLA T A, CORNELISSEN C N. The *fbpABC* operon is required for ton-independent utilization of xeno-siderophores by *Neisseria gonorrhoeae* strain FA19 [J]. Infection and Immunity, 2011, 79(1): 267-278.
- [58] WENCEWICZ T A, MÖLLMANN U, LONG T E, et al. Is drug release necessary for antimicrobial activity of siderophore-drug conjugates? Syntheses and biological studies of the naturally occurring salmycin 'Trojan Horse' antibiotics and synthetic desferri-danoxamine-antibiotic conjugates [J]. BioMetals, 2009, 22(4): 633-648.
- [59] GORKA A, SLODERBACH A, MARSZALL M P, et al. Siderophore-drug complexes: potential medicinal applications of the 'Trojan horse' strategy [J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2014, 35(9): 442-449.
- [60] SCHALK I J. Siderophore-antibiotic conjugates: exploiting iron uptake to deliver drugs into bacteria [J]. Clinical Microbiology and Infection, 2018, 24(8): 801-802.
- [61] NEUMANN W, SASSONE-CORSI M, RAFFATELLU M, et al. Esterase-catalyzed siderophore hydrolysis activates an enterobactin-ciprofloxacin conjugate and confers targeted antibacterial activity [J]. Journal of the American Chemical Society, 2018, 140(15): 5193-5201.
- [62] DAUNER M, EICHINGER A, LÜCKING G, et al. Reprogramming human siderocalin to neutralize Petrobactin, the essential iron scavenger of *Anthrax Bacillus* [J]. Angewandte Chemie-International Edition, 2018, 57(44): 14619-14623.
- [63] FERREIRA C M H, VILAS-BOAS Â, SOUSA C A, et al. Comparison of five bacterial strains producing siderophores with ability to chelate iron under alkaline conditions [J]. AMB Express, 2019, 9: e78.
- [64] RIZZI A, ROY S, BELLENGER J P, et al. Iron homeostasis in

- Bacillus subtilis* requires siderophore production and biofilm formation [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2019, 85(3): e02439-18.
- [65] RIZZI A, LEROUX J, CHARRON-LAMOUREUX V, et al. *Bacillus subtilis* modulates its usage of biofilm-bound iron in response to environmental iron availability [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(22): e00944-20.
- [66] SATHE S, MATHEW A, AGNOLI K, et al. Genetic architecture constrains exploitation of siderophore cooperation in the bacterium *Burkholderia cenocepacia* [J]. Evolution Letters, 2019, 3(6): 610-622.
- [67] CROSA J H, WALSH C T. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2002, 66(2): 223-249.
- [68] STOREY E P, BOGHOZIAN R, LITTLE J L, et al. Characterization of 'Schizokinen'; a dihydroxamate-type siderophore produced by *Rhizobium leguminosarum* IARI 917 [J]. Biometals, 2006, 19: 637-649.
- [69] BORRIS R, DANCHIN A, HARWOOD C R, et al. *Bacillus subtilis*, the model Gram-positive bacterium: 20 years of annotation refinement [J]. Microbial Biotechnology, 2018, 11: 3-17.
- [70] OZKAYA O, BALBONTIN R, GORDO I, et al. Cheating on cheaters stabilizes cooperation in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Current Biology, 2018, 28(13): 2070-2080.

(责任编辑:张震林)