

黄瑞环, 韩小斌, 刘京, 等. 海洋曲霉和海洋木霉抗植物病原菌活性次级代谢产物研究进展[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(5): 1332-1341.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.05.033

## 海洋曲霉和海洋木霉抗植物病原菌活性次级代谢产物研究进展

黄瑞环<sup>1</sup>, 韩小斌<sup>2</sup>, 刘京<sup>2</sup>, 祝乾湘<sup>2</sup>, 张远淑<sup>2</sup>, 王丹<sup>3</sup>, 张成省<sup>1</sup>, 赵栋霖<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院烟草研究所, 山东 青岛 266101; 2. 贵州省烟草公司遵义市公司, 贵州 遵义 563000; 3. 山东省植物保护总站, 山东 济南 250100)

**摘要:** 植物病原菌是引起植物病害的主要因素之一, 给农业生产造成了巨大的经济损失。真菌病害是植物病害中最大的一类, 占植物病害的70%~80%; 细菌病害发生面积广、危害性极其严重, 并且难以防治。长期以来, 植物病原菌的防治依赖于化学农药, 造成了病原菌的抗药性增强、农药残留和环境污染等问题。近年来, 研发环境友好、高效、低毒和不易产生抗药性的生物农药成为热点。由于海洋真菌生活在生境独特的海洋环境中, 能够产生许多结构新颖、生物活性高的次级代谢产物, 因而成为具有新颖结构的农用活性天然产物的重要来源。其中, 海洋曲霉和海洋木霉是海洋真菌天然产物领域研究较多的属。本文综述了1992年至今海洋曲霉和海洋木霉来源的具有抗植物病原菌活性的42个新天然产物, 包括聚酮类、萜类、肽类和生物碱类等结构类型, 以为生物农药的研发提供先导化合物方面的资料。

**关键词:** 海洋曲霉; 海洋木霉; 次级代谢产物; 植物病原菌; 抗菌活性

**中图分类号:** S432.2<sup>+</sup>9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)05-1332-10

## Research progress on secondary metabolites with anti-phytopathogenic activities of marine-derived *Aspergillus* sp. and *Trichoderma* sp.

HUANG Rui-huan<sup>1</sup>, HAN Xiao-bin<sup>2</sup>, LIU Jing<sup>2</sup>, ZHU Qian-xiang<sup>2</sup>, ZHANG Yuan-shu<sup>2</sup>, WANG Dan<sup>3</sup>, ZHANG Cheng-sheng<sup>1</sup>, ZHAO Dong-lin<sup>1</sup>

(1. Institute of Tobacco Research of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao 266101, China; 2. Zunyi Branch of Guizhou Provincial Tobacco Company, Zunyi 563000, China; 3. Plant Protection Station of Shandong Province, Jinan 250100, China)

**Abstract:** Phytopathogen is one of the main factors that cause plant diseases, resulting in tremendous economic losses in agricultural production. Fungal diseases account for the largest category of all phytopathogens, with a ratio of 70% to 80%. Bacterial diseases occur in a wide area with extreme harmfulness, and are difficult to control. For a long time, the

收稿日期: 2020-03-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(41806194); 中国烟草总公司贵州省公司科技项目(201710); 贵州省烟草公司遵义市公司项目(2018-03)

作者简介: 黄瑞环(1993-), 男, 江西上饶人, 硕士研究生, 研究方向为植物病理学。(E-mail) 18779368572@163.com。韩小斌为共同第一作者。

通讯作者: 张成省, (E-mail) zhangchengsheng@caas.cn; 赵栋霖, (E-mail) zhaodonglin@caas.cn

control of phytopathogens relied on chemical pesticide, resulting in problems such as the strengthening of pesticide resistance of phytopathogens, pesticide residues and environmental pollution. In recent years, research and development of biopesticides that are environmentally friendly, efficient, low-toxic and hard to get pesticide resistance have become the hot spots. As marine-derived fungus live in unique marine environment, they can produce many secondary metabolites with novel structures and high biological

activities, thus they have become important sources for active natural products with novel structures in agriculture. Among them, the genus of marine-derived *Aspergillus* sp. and marine-derived *Trichoderma* sp. have been studied a lot in the field of marine fungus-derived natural products. This article summarized 42 new natural products with anti-phytopathogenic activities of marine-derived *Aspergillus* sp. and the genus of marine-derived *Trichoderma* sp. since 1992, including structure types like polyketones, terpenes, peptides and alkaloids, so as to provide lead compounds data for biopesticides development.

**Key words:** marine-derived *Aspergillus* sp.; marine-derived *Trichoderma* sp.; secondary metabolites; phytopathogens; antimicrobial activity

植物病害会阻碍农作物正常生长,导致农作物大量减产、质量下降,从而给农业生产造成重大经济损失。据统计,全球每年因植物病害造成的农作物产量减幅达10%~16%<sup>[1]</sup>。植物病原真菌和细菌是引起植物病害的两大主要因素,真菌病害是植物病害中最大的一类,引起的植物病害多达 $3\times 10^4$ 种,占植物病害总数的70%~80%<sup>[2]</sup>。据Fisher等<sup>[3]</sup>估算,真菌病害每年造成水稻、小麦、玉米、马铃薯和大豆等5大粮食作物的产量在全球范围内减少 $1.25\times 10^8$  t,仅玉米、小麦和水稻,每年就因真菌病害减产给全球带来 $6.00\times 10^{10}$ 美元的经济损失,严重威胁着粮食安全。虽然由细菌引起的植物病害种类、受害植物种类及危害程度不及真菌,但植物细菌病害发生面积广、难以防治<sup>[4]</sup>。目前已知的植物细菌病害有500种以上,其中作物青枯病、软腐病、溃疡病、叶枯病、叶斑病、根癌病和环腐病都是世界性的重要细菌病害<sup>[5]</sup>。目前,植物真菌病害和细菌病害的防治主要依赖于化学农药。近年来,中国农药的总使用量迅速增加,由2001年的 $1.275\ 0\times 10^6$  t迅速增加至2014年的 $1.807\ 0\times 10^6$  t,农药的单位面积使用量约为世界平均水平的2.5倍<sup>[6]</sup>。化学农药长期和大量使用导致病原菌的抗药性增强,并造成农药残留、环境污染以及土壤理化性质和微生物群落破坏等一系列问题<sup>[7]</sup>,因此亟待开发新型生物农药。与化学农药相比,微生物农药来源于自然界,对环境友好、高效、低毒且不易产生抗药性,因此相关研究越来越受到人们的关注<sup>[8]</sup>。

随着陆地环境污染和菌株资源重复利用研究的深入,研究者将寻找微生物农药的目光转向了海洋。与陆地微生物相比,海洋微生物生活在高压、高盐、低温、寡营养、有限光照等极端环境中,其代谢方式和途径不同于陆地微生物,因此海洋微生物的次级代谢产物往往结构新颖、生物活性高,成为新颖活性天然产物的重要来源<sup>[9]</sup>。海洋真菌由于遗传背景复杂、代谢产物种类多且产量

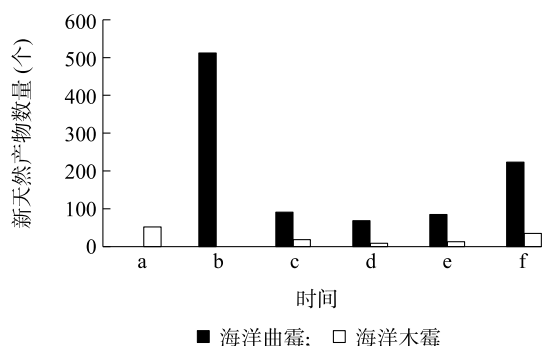
高,因而成为海洋微生物天然产物研究的焦点<sup>[10]</sup>,其中海洋曲霉和海洋木霉是海洋真菌新天然产物来源的2个重要属。本文综述1992年至今海洋曲霉和海洋木霉中具有抗植物病原菌活性的次级代谢产物,以期为进一步开发微生物天然产物农药提供依据。

## 1 海洋曲霉属(*Aspergillus* sp.)和木霉属(*Trichoderma* sp.)真菌次级代谢产物研究现状

海洋曲霉来源的天然产物研究始于1992年,Numata等报道了首个海洋曲霉来源的新天然产物<sup>[11]</sup>,揭开了海洋曲霉次级代谢产物研究的篇章。截至2018年,研究报道的海洋曲霉来源的新天然产物数量已经超过了979个,包括生物碱类、聚酮类、萜类、甾体类、卤代物类、脂肪酸类、肽类、糖苷类等多种类型,这些天然产物具有抗癌、抗菌、清除自由基和抗虫等多种生物活性<sup>[10,12-15]</sup>。由图1可以看出,2018年发现的海洋曲霉来源的新天然产物数量多达233个,表明海洋曲霉来源的新天然产物较丰富,并且具有很强的可挖掘性,今后仍是海洋真菌类新天然产物的重要来源属之一。海洋木霉来源的天然产物的研究始于1993年,但在此后的几年发展较为缓慢,自2010年以来的相关研究报道占总数的一半以上,是近年来比较活跃的研究领域,仅次于曲霉、青霉来源的天然产物研究<sup>[16]</sup>。截至2018年,累计发现的海洋木霉来源的海洋木霉新天然产物数量已经超过了127个,且2018年发现的海洋木霉新天然产物数量达35个,其化合物结构类型包括聚酮类、肽类、萜类、脂类等,其中包括一些特殊的三环结构物质、三硫衍生物结构等特殊的骨架结构物质,并且具有抗细菌、抗真菌、杀虫及对肿瘤细胞具有毒性等生物活性<sup>[12-15,17]</sup>。

目前,海洋曲霉和海洋木霉来源的天然产物研

究主要集中在医药领域,关于其防治植物病原菌的报道相对较少。因此,加强海洋曲霉和海洋木霉来源的天然产物在农用抗菌方面的研究,进而用其研发微生物天然产物农药具有很大潜力。



a:1993-2014年7月;b:1992-2014年8月;c:2015年;d:2016年;e:2017年;f:2018年。

图1 1993-2018年发现的海洋曲霉和海洋木霉来源的新天然产物数量

Fig.1 Number of new natural products of marine-derived *Aspergillus* sp. and *Trichoderma* sp. from 1993 to 2018

## 2 海洋曲霉属真菌抗植物病原菌活性次级代谢产物

### 2.1 抗植物病原真菌活性次级代谢产物

海洋曲霉次级代谢产物农用抗菌活性的研究主要集中在抗植物病原真菌方面。海洋曲霉次级代谢产物丰富、结构类型多样,海洋曲霉属是海洋真菌中具有抗植物病原真菌活性的优势属之一<sup>[18]</sup>。目前已有较多报道表明,海洋曲霉活体菌株、菌株提取物及单体化合物具有抑制植物病原真菌的作用。

2010年,沈硕<sup>[19]</sup>从福建沿海海滩采集的生物样品中分离到1株海洋曲霉(*Aspergillus* sp. 1002F<sub>2</sub>),其水溶性提取物对高粱炭疽病病菌(*Colletotrichum graminicola*)和番茄早疫病病菌(*Alternaria solani*)的抑制活性较高,半最大效应质量浓度( $EC_{50}$ )分别为1.34 g/L和0.94 g/L。黄庶识等<sup>[20]</sup>从广西北部湾海泥中分离得到短棒曲霉(*A. clavatoranicus*) MF-13,发现其对荔枝霜疫霉(*Peronophythora litchi*)、荔枝炭疽病病菌(*C. gloeosporioides*)、水稻纹枯病病菌(*Rhizoctonia solani*)和水稻稻瘟病病菌(*Magnaporthe grisea*)等4种植物病原菌丝的生长均有强的抑制作用。2011年,许兰兰等<sup>[21]</sup>进一步研究发现,MF-13的发酵滤液对荔枝霜疫霉(*P. litchi*)

的抑制效果较好,菌丝生长抑制率达到94%以上,对荔枝炭疽病病菌(*C. gloeosporioides*)的抑制效果次之,菌丝生长抑制率在70%以上。2013年,祝耀华<sup>[22]</sup>在福建漳江口的红树样品中分离到135株真菌,其中共有22株对茶叶病原真菌有抑菌活性,曲霉属是主要属类,占4.3%。王丹<sup>[23]</sup>从海南海域样品中分离的杂色曲霉(*A. versicolor*) D5、烟曲霉(*A. fumigatus*) D17、曲霉(*Aspergillus* sp.) D20对甘蓝黑斑病病菌(*A. brassicicola*)、茶轮斑病病菌(*Pestalotiopsis theae*)、金橘沙皮病病菌(*Diaporthe medusaea*)、赤星病病菌(*A. alternata*)等4种植物病原真菌具有不同程度的抑制作用。

孙好芬<sup>[24]</sup>从热带马尾藻中分离出1株内生真菌文氏曲霉(*A. wentii* EN-48),并从中分离得到1个双核蒽醌类化合物 Physcion-10, 10'-bianthrone (编号:1)(图2),发现其对白菜黑斑病病菌(*A. brassicae*)有一定的抑制活性,抑菌圈直径为6.0 mm。Cohen等<sup>[25]</sup>从海绵中分离了1株奇突曲霉(*A. insuetus* OY-207),其代谢产物混源萜类 Insuetolides A (编号:2)有抑制粗糙链孢霉(*Neurospora crassa*)的活性,最小抑菌浓度(MIC)为140  $\mu$ mol/L。陈卓<sup>[26]</sup>从海水中分离到1株黄曲霉(编号: MCCC3A00246),采用刃天青显色法对其代谢产物进行活性跟踪,结果表明,从该黄曲霉代谢产物中分离到的化合物 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -三羟基-(22E, 24R)-麦角甾-7, 22-二烯-6-酮(编号:3)和2, 6-二甲氧基苯甲酸(编号:4)对黑曲霉(*A. niger*)有显著的抑菌作用,抑制率均在90%以上。2016年,Li等<sup>[27]</sup>从深海海泥中分离到1株文氏曲霉(*A. wentii* SD-310),并从中鉴定出2个萜类化合物(编号:5、6),结果表明,这2个萜类化合物对禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)具有显著的抑菌效果,MIC分别为2.0  $\mu$ g/ml、4.0  $\mu$ g/ml,优于阳性对照两性霉素B(MIC为8.0  $\mu$ g/ml)。Wang等<sup>[28]</sup>从深海海泥中分离出1株杂色曲霉(*A. versicolor* SCSIOO 05879),其产物生物碱化合物 Versicolides QA(编号:7)和B(编号:8)对植物炭疽病病菌(*C. acutatum*)的MIC为1.6  $\mu$ mol/L(阳性对照放线菌酮对植物炭疽病病菌的MIC为6.4  $\mu$ mol/L)。5个聚酮类新化合物4,4'-二甲氧基-5,5'-二甲基-7,7'-二豆香豆素(编号:9)、双香豆素类(Kotanin,编号:10)、Orlandin(编号:11)、色酮衍生物(编号:12)和24-羟基麦角甾-4, 6, 8,



22-四烯-3-酮(编号:13)分离自红树内生真菌棒曲霉(*A. clavatus*) R7<sup>[29]</sup>,其中化合物13对植物病原真菌尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、香蕉炭疽病病菌(*C. musae*)和青霉菌(*Penicillium italicum*)具有显著的抑制作用,*MIC*分别为224.73  $\mu\text{mol/L}$ 、195.79  $\mu\text{mol/L}$ 和61.18  $\mu\text{mol/L}$ ,优于阳性对照三唑酮(*MIC*分别为340.43  $\mu\text{mol/L}$ 、272.39  $\mu\text{mol/L}$ 和170.24  $\mu\text{mol/L}$ );化合物12对香蕉炭疽病病菌(*C. musae*)的抑菌效果显著(*MIC*为203.07  $\mu\text{mol/L}$ ),优于阳性对照;化合物9~11极大地抑制了尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*),对尖孢镰刀菌的*MIC*分别为253.81  $\mu\text{mol/L}$ 、235.85  $\mu\text{mol/L}$ 和252.47  $\mu\text{mol/L}$ ,其抗真菌活性均优于阳性对照。二氢喹啉酮类化合物(编号:14)和喹诺喹啉酮类化合物(编号:15)分离自红树榄李新鲜叶中的内生真菌杂色曲霉(*A. versicolor*) MA-229<sup>[30]</sup>,化合物14对小麦全蚀病病菌(*Gaeumannomyces graminis*)具有同阳性对照(两性霉素B)相同的抑菌效果,*MIC*均为32  $\mu\text{g/ml}$ ;在对小麦赤霉病病菌(*F. graminearum*)的抑菌效果上,化合物15(*MIC*为16.0  $\mu\text{g/ml}$ )要优于阳性对照(*MIC*为64.0  $\mu\text{g/ml}$ )。2018年,Li等<sup>[31]</sup>从海洋藻类内生真菌(*A. tennesseensis*)中分离到2个具有异戊二烯基二苯醚结构的新化合物Diorcinol L(编号:16)、(*R*)-diorcinol B(编号:17)和7个已知化合物(*S*)-diorcinol B(编号:18)、9-acetyldiorcinol B(编号:19)、Diorcinol C(编号:20)、Diorcinol D(编号:21)、Diorcinol E(编号:22)、Diorcinol J(编号:23)、Dihydrobenzofuran derivative(编号:24),这些化合物对赤星病病菌(*A. alternata*)、玉米小斑病病菌(*Cochliobolus heterostrophus*)、小麦全蚀病病菌(*G. graminis*)、围小丛壳真菌(*Glomerella cingulata*)、毛霉(*Mucor hiemalis*)和根黑腐烂病病菌(*Thielaviopsis basicola*)分别显示出不同程度的抗菌活性,*MIC*为2~64  $\mu\text{g/ml}$ 。杨遂群<sup>[32]</sup>在青岛海域的海藻和红树中分离鉴定得到3株海洋曲霉:阿拉巴马曲霉(*A. alabamensis*)、聚多曲霉(*A. sydowii*)和构巢曲霉(*A. nidulans*),并采用发酵优化和共培养等方法对其次级代谢产物进行研究,新的吡啶二酮吗啉类衍生物AL1(编号:25)和AL2(编号:26)分离自阿拉巴马曲霉EN-547,新的化合物橘青霉素类衍生物SC1(编号:27)和SC2(编号:28)通过将聚多曲霉EN-534和橘青霉EN-535进行共培养后分离鉴定得到,氧杂蒽酮类

衍生物ND2(编号:29)分离自构巢曲霉MA-143,化合物25~29对多种植物病原菌均具有显著的抑菌效果,其中化合物25和26对小麦纹枯病病菌(*R. cerealis*)、苹果炭疽病病菌(*C. gloeosporioides*)等5种病菌的*MIC*为16~64  $\mu\text{g/ml}$ ;化合物SC1(编号:27)和SC2(编号:28)对小麦赤霉病病菌(*F. graminearum*)等3种病菌的*MIC*为16~64  $\mu\text{g/ml}$ ;化合物ND2(编号:29)对番茄枯萎病病菌(*F. oxysporum*)等3种病原菌的*MIC*为8~64  $\mu\text{g/ml}$ 。

## 2.2 抗植物病原细菌活性次级代谢产物

目前,具有抗植物病原细菌活性的海洋曲霉相关报道与抗植物病原真菌的海洋曲霉相关报道相比较少。Swathi等<sup>[33]</sup>以印度海水为材料,通过连续稀释法从中分离到1株曲霉属(*Aspergillus* sp.)真菌,在10  $\mu\text{g/ml}$ 质量浓度下,其乙酸乙酯提取物对野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)具有明显的抑菌效果,抑菌圈直径为11 mm,进一步提高其乙酸乙酯提取物质量浓度至20  $\mu\text{g/ml}$ 、30  $\mu\text{g/ml}$ 、40  $\mu\text{g/ml}$ 后,发现抑菌圈直径与10  $\mu\text{g/ml}$ 质量浓度的相比并无显著差异。2种新型抗生素针茅酸类似物(编号:30、31)(图3)分离自海胆来源的曲霉菌株*A. candidus* HDf2<sup>[34]</sup>,其对革兰氏阴性的青枯假单胞菌(*Pseudomonas solanacearum*)具有一定的抑菌活性。Li等<sup>[31]</sup>从海洋藻类内生真菌*A. tennesseensis*中分离到2个具有异戊二烯基二苯醚结构的新化合物Diorcinol L(编号:16)、(*R*)-diorcinol B(编号:17)和4个已知化合物(*S*)-diorcinol B(编号:18)、9-acetyldiorcinol B(编号:19)、Diorcinol E(编号:22)、Diorcinol J(编号:23),以上6个化合物同时也对青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)具有良好的抗菌活性,*MIC*为8~32  $\mu\text{g/ml}$ 。王丹<sup>[23]</sup>从海南海域样品中分离得到89株海洋真菌,其中有1株曲霉D20对黄瓜角斑病病菌(*Pseudomonas syringae*)和果斑病菌(*Acidovorax avenae*)具有良好的抑制作用,抑菌圈直径分别为7.33 mm、8.20 mm。

在以上总结的31个海洋曲霉来源的抗植物病原菌化合物中,有29个抗真菌化合物,8个抗菌化合物,有6个化合物对植物病原细菌和植物病原真菌均具有良好的抑制效果。31个化合物来源于12株曲霉,包括温特曲霉、文氏曲霉、杂色曲霉等10个不同种(图4),表明海洋曲霉抗植物病原菌的种类丰富,在农业病害防治中具有巨大潜力。

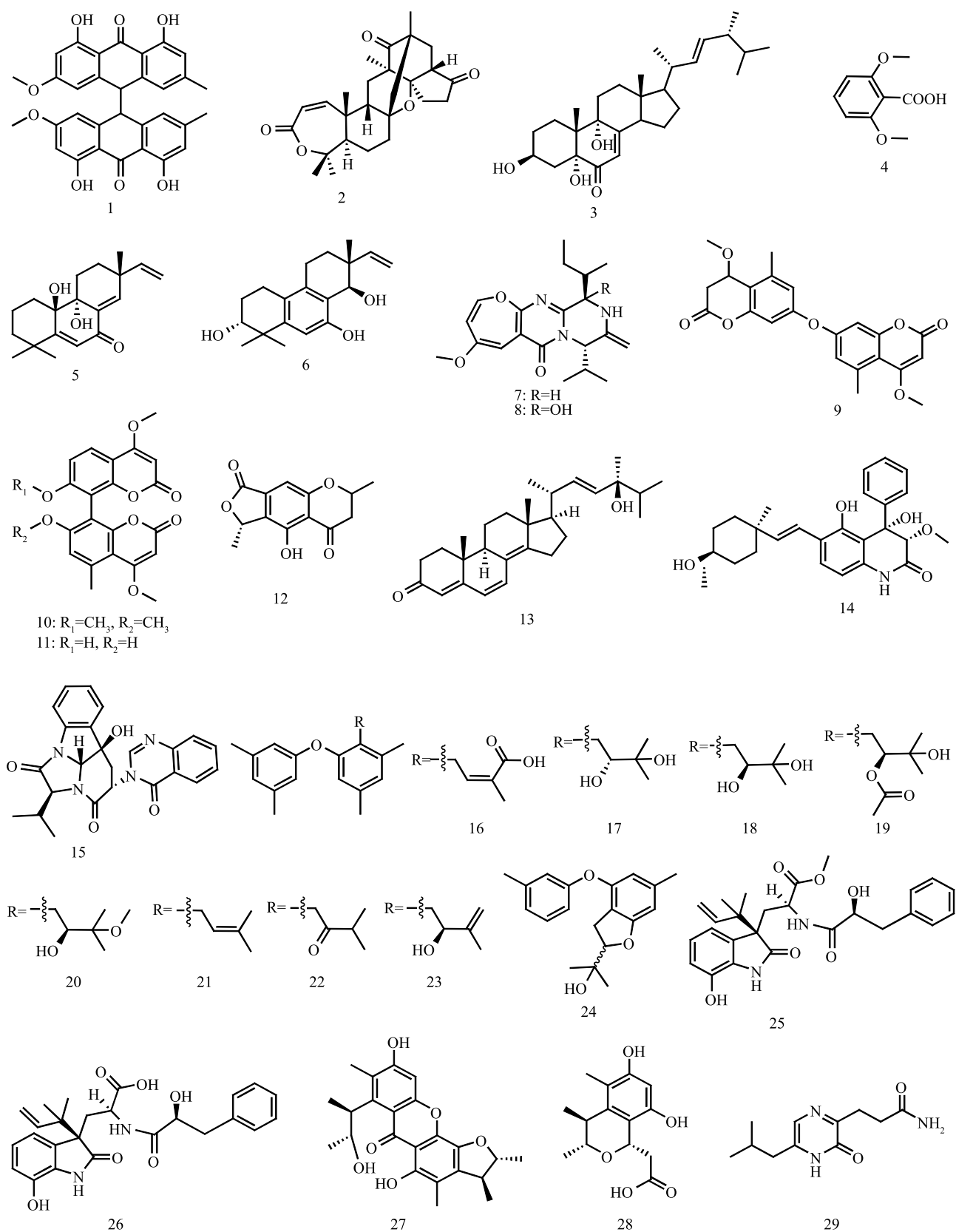


图2 海洋曲霉来源的抗植物病原真菌化合物

Fig.2 Phytopathogenic fungi-resistant compounds from marine-derived *Aspergillus* sp.

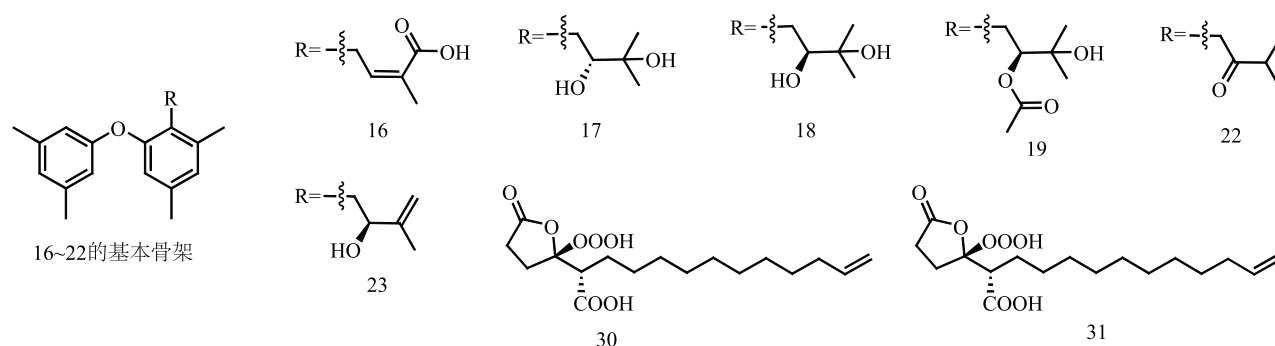
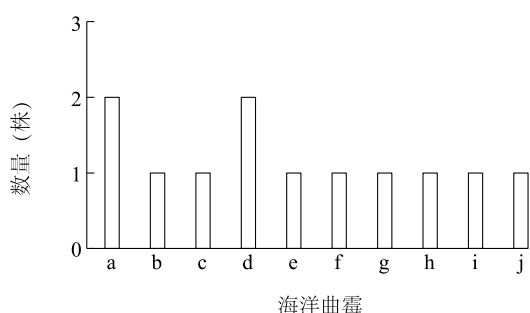


图3 海洋曲霉来源的抗植物病原细菌化合物

Fig.3 Phytopathogenic bacteria-resistant compounds from marine-derived *Aspergillus* sp.

a: 文氏曲霉 (*A. wentii*); b: 奇突曲霉 (*A. insuetus*); c: 黄曲霉 (*Aspergillus flavus*); d: 杂色曲霉 (*A. versicolor*); e: 棒曲霉 (*A. clavatus*); f: *Aspergillus tennesseensis*; g: 阿拉巴马曲霉 (*A. alabamensis*); h: 聚多曲霉 (*A. sydowii*); i: 构巢曲霉 (*A. nidulans*); j: 亮白曲霉 (*Aspergillus candidus*)。

图4 具有抗植物病原菌活性化合物的海洋曲霉种类

Fig.4 Species of marine-derived *Aspergillus* sp. with compounds carrying anti-phytopathogenic activities

### 3 海洋木霉属真菌抗植物病原菌活性次级代谢产物

目前,从海洋木霉中分离鉴定的单体化合物数量与从海洋曲霉中分离鉴定的单体化合物相比较少,在农用抗菌活性上的报道也主要集中在植物病原真菌领域,关于在植物病原细菌领域的相关报道很少。并且海洋木霉具有抗植物病原真菌活性的研究大多为活体菌株和提取物,关于单体化合物的研究尚不多。

2006年,解树涛等<sup>[35]</sup>研究发现,从康宁木霉 (*Trichoderma koningii*) SMF2 中分离鉴定的抗菌肽 trichokonins 对多种植物病原菌具有抑菌活性,其中对小麦根腐病病菌的抑制效果最好,抑菌圈直径为 13~17 mm,对西瓜炭疽菌、玉米弯孢菌、苹果黑腐

菌、立枯丝核菌和尖孢镰刀菌等 5 种植物病原菌的抑菌效果次之,抑菌圈直径均为 8~12 mm。2011 年,Gal 等<sup>[36]</sup>报道了 2 种海绵来源的木霉——深绿木霉 (*T. atroviride* 和 *T. asperelloides*),发现这 2 种木霉可以有效抑制豆类上的茄枯萎病,并能诱导黄瓜幼苗对丁香假单胞菌的防御反应。陶晶晶<sup>[37]</sup>研究了不同海域的 209 株海洋微生物菌株,通过抑菌活性筛选,获得了 7 株海洋木霉,其中 P23-11 对青枯病病菌等 7 种植物病原菌的抑制率均在 70% 以上,NTYM-0012、G20-12、YZ48-08、P23-11、HTt2-2 等 5 株木霉对赤霉病病菌、灰霉病病菌、稻瘟病病菌等 8 种植物病原菌的抑制率均达 50% 以上。贾炜等<sup>[38]</sup>从南极苔藓中分离到 1 株棘孢木霉 (*T. asperellum*) NTYM-0112,该菌株对 7 种供试植物病原菌的抑制率均在 50% 以上,其中对稻瘟病病菌 (*M. grisea*) 的抑制效果最好,抑制率为 77.5%,对枯萎病病菌 (*F. oxysporum*) 的抑制作用最低,抑制率为 53.33%。2013 年,孙健健<sup>[39]</sup>分离筛选得到 3 株海洋木霉,其中 NJ-01 和 FL-12 的发酵液对黄瓜白粉病具有较好的防治效果,防效均在 60% 以上。祝耀华<sup>[22]</sup>在福建漳江口红树中分离得到 135 株真菌,发现共有 22 株对茶叶病原真菌具有抑菌活性,其中木霉属是主要属之一,占总数的 6.4%。2016 年,宋银平<sup>[16]</sup>研究发现,10 株海洋藻栖木霉的细胞内外分泌物对香蕉枯萎病病菌 (*F. oxysporum*) 和黄瓜枯萎病病菌 (*F. oxysporum*) 均表现出不同程度的抑菌活性。何海兵<sup>[40]</sup>在潮间带泥土样品中筛选得到 1 株对禾谷镰刀菌具有明显抑制作用的拮抗真菌,鉴定为 *Trichoderma* sp. NB-F14,但是从其提取物中分离得到的化合物在对病原菌菌丝生长抑制和孢子萌发试验中均未观察到稳定的抑制作用,原因可能是其中的

活性化合物结构不稳定或产量不足,亦或是活性化合物在分离过程中损失。2017 年,李闯<sup>[41]</sup>从 109 株海洋木霉中筛选出了里氏木霉(*T. reesei*) M3-2、康宁木霉(*T. koningiopsis*) Y5-1、猬木霉(*T. erinaceum*) X20-1 等 3 株菌株,对峙试验结果表明,经紫外-微波复合诱变获得的 3 株木霉(X20-lxy3、M3-2xy1 和 Y5-lxy2)对 6 种供试植物病原菌均具有显著的抑菌效果,其中对核盘菌的抑菌率最高,分别达到 92.6%、90.7%、82.6%;盆栽试验结果表明,经紫外-微波复合诱变获得的 3 株木霉(X20-lxy3、M3-2xy1 和 Y5-lxy2)对黄瓜灰霉病、白粉病及炭疽病具有良好的防治效果,其中 M3-2xy1 对黄瓜白粉病的防治效果最好,防效为 87.7%,Y5-lxy2 对黄瓜灰霉病、炭疽病的防治效果最好,防效分别为 65.8%、75.5%。黄瑞环等<sup>[42]</sup>分离得到 25 株红树林来源的海洋木霉,研究发现,它们对 3 种病原菌具有不同程度的抑制效果,其中 13 株对烟草黑胫病病菌(*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*)的抑制率达到 60.0%以上,最高抑制率为 84.1%,5 株对烟草赤星病病菌的抑制率达到 40.0%,2 株对青枯病病菌有弱抑制作用。

1 株棘孢木霉(*T. asperellum*)分离自南极沉积物<sup>[43]</sup>,从中分离鉴定的 6 个抗菌肽类代谢产物 Asperelines A~F(编号:32~37)(图 5)具有乙酰化的 N 末端,并含有不常见的脯氨酸残基的 C 末端新颖结构,抗菌活性结果表明,这 6 个抗菌肽类代谢产物对稻瘟病病菌(*M. grisea*)和番茄早疫病病菌(*A. solani*)有弱抑菌活性。2010 年,刘旭<sup>[44]</sup>研究了分离自山东威海海域的鸭毛藻共生真菌哈茨木霉(*T. harzianum*) EN-85 的次级代谢产物,并对其粗提物和单体化合物进行了活性筛选,结果表明,该粗提物对白菜黑斑病病菌(*A. brassicae*)和苹果轮纹病病菌(*Botryosphaeria dothidea*)具有中等抑制作用,分离的化合物中已知化合物 Cyclonerodiol FS3(编号:38)和新化合物 FS4(编号:39)对苹果轮纹病病菌(*B. dothidea*)和棉花枯萎病病菌(*F. oxysporium*)有弱抑制活性。2019 年,邹积雪等<sup>[45]</sup>对分离自大连海域松节藻的长枝木霉(*T. longibrachiatum*) DL5-4 进行实验室规模化发酵培养,从中分离到 3 个化合物 2',3'-dihydrosorbicillin(编号:40)、Sohirones A(编号:41)和 Sorbicillin(编号:42),发现这 3 个化合物对围小丛壳真菌(*G. cingulata*)有显著的抑制作用,抑菌圈直径分别为 13.3 mm、12.5 mm 和 12.6

mm,均强于阳性对照(两性霉素 B 的抑菌圈直径为 12.3 mm)。

在以上总结的 11 个具有抗植物病原真菌活性的海洋木霉次级代谢产物(单体化合物)中,包括 6 个肽类化合物、2 个倍半萜类衍生物和 3 个聚酮类化合物,分别来源于棘孢木霉、哈茨木霉和长枝木霉。

## 4 展望

本文共总结了具有抗植物病原菌活性的海洋曲霉和海洋木霉,其中红树来源的最多,占 54.1%,其次是海藻来源的,占 27.8%,海洋动物、海泥来源的均占 6.6%。从具有抗植物病原菌活性的海洋曲霉和海洋木霉来源看,海藻、红树是这 2 种海洋真菌的重要宿主。在海洋曲霉和海洋木霉次级代谢产物中,据报道具有抗植物病原菌活性的化合物有 42 个,其结构类型多样,包括聚酮类、萜类、肽类、生物碱类等,其中聚酮类(占比为 57.1%)、萜及混源萜类(占比为 14.3%)和肽类(占比为 14.3%)是被报道具有抗植物病原菌活性较多的结构类型。

海洋曲霉次级代谢产物在对植物病原真菌抗性上的报道相对于对植物病原细菌抗性上的报道来说较多,但与目前从海洋曲霉中发现的新天然产物的数量相比,占比很小,不足 5%。其主要原因可能是目前海洋曲霉天然产物研究的侧重点在医药领域,在农用抗菌活性上的研究不够深入;相对于已知化合物而言,科学家们对新化合物的兴趣更大,对一些已知化合物的活性筛选也大多停留在抗癌和抗人体病原菌等方面,对其农用抗菌活性筛选的研究较少。海洋木霉在农用抗菌上的报道更多的是在活性菌株和提取物层面,对单体化合物的报道还停留在浅层,还需要结合抑菌机制和田间试验等进行多层次、多方面的深入研究。笔者所在课题组近年来致力于海洋真菌农用活性物质的研究,从山东、海南沿海分离获得 300 余株海洋真菌,针对果斑病病菌(*A. avenae*)、番茄溃疡病病菌(*Clavibacter michiganensis*)、白菜软腐病病菌(*Erwinia carotovora*)、黄瓜角斑病病菌(*P. syringae*)、青枯雷尔氏菌(*R. solanacearum*)、柑橘溃疡病病菌(*Xanthomonas campestris*)和水稻白叶枯病病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)等主要植物病原细菌,以及烟草赤星病病菌(*A. alternata*)、甘蓝黑斑病病菌(*A. brassicicola*)、花生冠腐病病菌





*gloeosporioides*)、金橘沙皮病病菌(*D. medusaea*)、稻  
瘟病病菌(*M. grisea*)、茶轮斑病病菌(*P. theae*)、烟



草黑胫病病菌(*P. parasitica* var. *nicotianae*)、苹果腐烂病病菌(*Valsa mali*)、小麦纹枯病病菌(*R. cerealis*)等植物病原真菌进行了抗菌活性筛选,发现获得的曲霉属真菌和木霉属真菌对不同植物病原菌均表现出不同程度的抗菌活性,对植物病原真菌的抗菌活性更为明显。而对于植物病原细菌而言,具有抗青枯病病菌和水稻白叶枯病病菌活性的海洋真菌提取物则更难筛选,与之相反的是,黄瓜角斑病病菌、黄瓜果斑病病菌和番茄溃疡病病菌对海洋真菌提取物更为敏感<sup>[46-47]</sup>。虽然海洋真菌在防治植物病原菌上具有巨大潜力,但不可否认的是,其应用也具有一定的限制因素。首先,部分植物病原菌活性模型需要的样品量较大,而海洋微生物活性物质的产量较小,无法满足实验室和盆栽试验所需的产量,对于田间试验更是“望洋兴叹”;其次,海洋生物资源的采集、纯化和制备等成本较高,需要足够的经费支持,而农药研发对于成本要求尤其苛刻,这是阻碍其产业化发展的另一难题。以上问题并不是没有解决办法,农药研发与医药研发有很大的不同,不需要极高的纯度和各种异构体的拆分,发酵产物经过简单纯化即可使用<sup>[48]</sup>。基于此,可以通过生物合成方法提高活性菌株产生活性成分的产量,并结合有机合成扩大其应用前景。

海洋面积辽阔,海洋曲霉和海洋木霉资源丰富,而目前被分离鉴定的只是很少一部分。随着对海洋资源的大力开发和利用,海洋曲霉和海洋木霉将为微生物天然产物农药的研发提供重要的先导化合物来源。

## 参考文献:

- [1] CHAKRABORTY S, NEWTON A C. Climate change, plant diseases and food security: an overview[J]. *Plant Pathology*, 2011, 60(1): 2-14.
- [2] 向梅梅. 植物病原真菌分子生物学研究进展[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2001, 14(4): 52-58.
- [3] FISHER M C, HENK D A, BRIGGS C J, et al. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health[J]. *Nature*, 2012, 484(7393): 186-194.
- [4] 彭 炜. 植物细菌性病害和病原细菌分类研究进展[C]//中国植物保护学会. 2010年中国植物保护学会学术年会论文集. 鹤壁:中国植物保护学会, 2010: 166-175.
- [5] 何晨阳, 陈功友. 我国植物病原细菌学的研究现状和发展策略[J]. *植物保护*, 2010, 36(3): 12-14.
- [6] 王佳新, 李 媛, 王秀东, 等. 中国农药使用现状及展望[J]. 农业展望, 2017, 13(2): 56-60.
- [7] 陈晓明, 王程龙, 薄 瑞. 中国农药使用现状及对策建议[J]. *农药科学与管理*, 2016, 37(2): 4-8.
- [8] 袁 瑞. 微生物农药在植物病虫害防治中的应用策略探讨[J]. *农业与技术*, 2017, 37(10): 17.
- [9] 李俊峰, 韩晓红, 段效辉. 海洋微生物活性物质研究进展[J]. *氨基酸和生物资源*, 2014, 36(4): 12-16.
- [10] 赵成英, 刘海珊, 朱伟明. 海洋曲霉来源的新天然产物[J]. *微生物学报*, 2016, 56(3): 331-362.
- [11] NUMATA A, TAKAHASHI C, MATSUSHITA T, et al. Fumiquinazoles, novel metabolites of a fungus isolated from a saltfish[J]. *Tetrahedron Letters*, 1992, 33(12): 1621-1624.
- [12] CARROLL A R, COPP B R, DAVIS R A, et al. Marine natural products[J]. *Natural Product Reports*, 2020, 37(2): 175-233.
- [13] CARROLL A R, COPP B R, DAVIS R A, et al. Marine natural products[J]. *Natural Product Reports*, 2019, 36(1): 122-173.
- [14] BLUNT J W, CARROLL A R, COPP B R, et al. Marine natural products[J]. *Natural Product Reports*, 2018, 35(1): 8-53.
- [15] BLUNT J W, COPP B R, KEYZERS R A, et al. Marine natural products[J]. *Natural Product Reports*, 2017, 34(3): 235-294.
- [16] 宋银平. 海洋藻栖木霉次生代谢调控的研究[D]. 烟台:中国科学院烟台海岸带研究所, 2016.
- [17] 朱统汉, 陈正波, 王文玲, 等. 非曲霉和青霉来源的海洋真菌新天然产物研究进展[C]//中国药学会. 中国药学会大会暨第十四届中国药师周论文集. 石家庄:中国药学会, 2014: 3222-3225.
- [18] 王 丹, 苟剑渝, 韩小斌, 等. 海洋真菌次级代谢产物在植物保护中的研究与应用[J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(1): 146-158.
- [19] 沈 硕. 活性海洋真菌的鉴定及其次级代谢产物的研究[D]. 福州:福建农林大学, 2009.
- [20] 黄庶识, 许兰兰, 黄 曦, 等. 3株抗水稻和荔枝病原菌的海洋真菌的分离鉴定[J]. *基因组学与应用生物学*, 2010, 29(4): 63-70.
- [21] 许兰兰, 黄 曦, 李昆志, 等. 海洋真菌的筛选及其对离体荔枝果霜霉病和炭疽病的防效[J]. *中国生物防治学报*, 2011, 27(2): 214-220.
- [22] 祝耀华. 红树林沉积物的真菌多样性及其代谢产物的生物活性研究[D]. 汕头:汕头大学, 2013.
- [23] 王 丹. 海洋真菌农用生物活性筛选及木贼镰刀菌 D39 次级代谢产物研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2019.
- [24] 孙好芬. 两株热带马尾藻内生真菌次生代谢产物研究[D]. 青岛:中国科学院海洋研究所, 2012.
- [25] COHEN E, KOCH L, THU K M, et al. Novel terpenoids of the fungus *Aspergillus insuetus* isolated from the mediterranean sponge *Psammocinia* sp. collected along the coast of Israel[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2011, 19(22): 6587-6593.
- [26] 陈 卓. 高通量抗菌活性筛选模型的构建及两株海洋真菌次级代谢产物的研究[D]. 厦门:厦门大学, 2014.
- [27] LI X D, LI X M, LI X, et al. Aspewentins D-H, 20-nor-isopima-

- rane derivatives from the deep sea sediment-derived fungus *Aspergillus wentii* SD-310[J]. Journal of Natural Products, 2016, 79(5): 1347.
- [28] WANG J F, HE W J, HUANG X L, et al. Antifungal new oxepine-containing alkaloids and xanthenes from the deep-sea-derived fungus *Aspergillus versicolor* SCSIO 05879[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(14): 2910-2916.
- [29] LI W S, XIONG P, ZHENG W X, et al. Identification and antifungal activity of compounds from the mangrove endophytic fungus *Aspergillus clavatus* R7[J]. Marine Drugs, 2017, 15(8): 259.
- [30] 罗 寒, 李晓栋, 李晓明, 等. 红树林来源内生真菌杂色曲霉 *Aspergillus versicolor* MA-229 次级代谢产物研究[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(4): 334-340.
- [31] LI Z X, WANG X F, REN G W, et al. Prenylated diphenyl ethers from the marine algal-derived endophytic fungus *Aspergillus tennesseensis* [J]. Molecules, 2018, 23(9): 2368.
- [32] 杨遂群. 五株海藻及红树林来源真菌次级代谢产物的分子多样性挖掘与生物活性研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2018.
- [33] SWATHI J, SOWJANYA K M, NARENDRA K, et al. Isolation, identification & production of bioactive metabolites from marine fungi collected from coastal area of Andhra Pradesh, India[J]. Journal of Pharmacy Research, 2013, 6(6): 663-666.
- [34] WANG R, GUO Z K, LI X M, et al. Spiculisporic acid analogues of the marine-derived fungus, *Aspergillus candidus* strain HDf2, and their antibacterial activity[J]. Antonie van Leeuwenhoek; Journal of Microbiology and Serology, 2015, 108(1): 215-219.
- [35] 解树涛, 宋晓妍, 石 梅, 等. 康宁木霉(*Trichoderma koningii*) SMF2 分泌的 Peptaibols 类抗菌肽 Trichokonins 抑菌活性研究[J]. 山东大学学报(理学版), 2006, 41(6): 140-144.
- [36] GAL H I, ATANASOVA L, KOMON Z M, et al. Marine isolates of *Trichoderma* spp. as potential halotolerant agents of biological control for arid-zone agriculture[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(15): 5100-5109.
- [37] 陶晶晶. 几株海洋生境芽孢杆菌和木霉菌农药潜力的研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2011.
- [38] 贾 炜, 田 黎, 陶晶晶, 等. 一株南极生境来源木霉菌株抗菌及诱导植物抗盐抗寒作用的初步研究[J]. 极地研究, 2011, 23(3): 189-195.
- [39] 孙健健. 海洋生境木霉与芽孢杆菌的生防应用潜力研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2013.
- [40] 何海兵. 两株禾谷镰刀菌拮抗真菌的次级代谢产物研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [41] 李 闯. 3 株海洋生境木霉与农药相关性状的研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2017.
- [42] 黄瑞环, 苟剑渝, 韩小斌, 等. 烟草主要病害拮抗菌的筛选鉴定及除草活性分析[J]. 烟草科技, 2019, 52(12): 17-22.
- [43] REN J W, XUE C M, TIAN L, et al. Asperelines A-F, peptaibols from the marine-derived fungus *Trichoderma asperellum* [J]. Journal of Natural Products, 2009, 72(6): 1036-1044.
- [44] 刘 旭. 蒲枝凹顶藻、鸭毛藻及鸭毛藻共生真菌次生代谢产物研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2010.
- [45] 邹积雪, 季乃云. 松节藻来源长枝木霉 DL5-4 化学成分及其生物活性研究[J]. 化学与生物工程, 2019, 36(3): 18-22.
- [46] HUANG R H, GOU J Y, ZHAO D L, et al. Phytotoxicity and anti-phytopathogenic activities of marine-derived fungi and their secondary metabolites [J]. RSC Advances, 2018, 8(66): 37573-37580.
- [47] ZHAO D L, WANG D, TIAN X Y, et al. Anti-phytopathogenic and cytotoxic activities of crude extracts and secondary metabolites of marine-derived fungi[J]. Marine Drugs, 2018, 16(1): 36.
- [48] 吉沐祥, 王晓琳, 黄洁雪, 等. 草莓枯萎病菌拮抗细菌 JX-13 的鉴定及生防效果评价[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(3): 586-593.

(责任编辑: 徐 艳)