

# 海洋放线菌阿维丁链霉菌次生代谢产物 研究及杀线虫活性筛选\*

刘杰阳, 程琪, 唐相琴, 范琴玉, 王莹, 何江波\*\*

(昆明学院 医学院, 云南 昆明 650214)

**[摘要]** 为研究海洋放线菌杀线虫活性物质, 通过液体发酵对 81 株海洋放线菌进行杀线虫活性筛选, 然后对活性菌株的发酵液进行分离纯化, 并对单体化合物进行杀线虫筛选. 筛选出一株海洋放线菌具有较高杀线虫活性, 线虫死亡率达到 89.9%. 该菌株经鉴定为 *Streptomyces avidinii*, 并从其发酵液次级代谢产物中得到 7 个化合物, 分别为 pyrrole-2-carboxamide (1)、N-(3-(1H-indole-3-yl) propyl) acetamide (2)、p-hydroxybenzyl alcohol (3)、N-acetyltyramine (4)、4-methyl-1-phenylpentane-2, 3-diol (5)、1H-indole-3-aldehyde (6) 以及 zarzissine (7), 其中化合物 3 和 4 的杀线虫活性较好.

**[关键词]** 线虫; 海洋放线菌; 次生代谢产物; 发酵液

**[中图分类号]** Q939 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5639(2024)03-0082-06

**DOI:** 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2024.03.011

植物寄生线虫对全球范围内蔬菜、水果、树木、草业等造成较大危害<sup>[1]</sup>. 其中, 根结线虫属于植物根部的内寄生虫, 宿主广泛, 可寄生植物高达 3 000 多种. 据统计, 根结线虫会使世界范围内的农作物减产 10%~15%, 造成全球约 1 730 亿美元的农业经济损失<sup>[2]</sup>. 目前, 线虫的主要防治方法是应用化学杀线虫剂, 而频繁地使用杀线虫剂不仅会使线虫产生耐药性, 还会对生态环境造成一定污染, 故较多高毒性、难降解、环境不友好的化学杀线虫剂被禁用. 因此, 开发环境友好型微生物菌剂是当下线虫生物防治研究开发的重点方向之一<sup>[3]</sup>. 近年来, 线虫生物菌剂的研究目标较多, 而利用次级代谢产物丰富的放线菌研发生物防治线虫菌剂成为开发的首选. Park 等<sup>[4]</sup>从富士山土壤样品中分离出链霉菌 KRA-24 和 KRA-28, 其培养液分别表现出约 75% 和 85% 的杀虫活性. Hu 等<sup>[5]</sup>发现放线菌 *S. albogriseolus* ND41 和 *S. fimicarius* D153 的发酵液在 12 h 后对南方根结线虫的杀线虫活性分别为 82.13% 和 86.96%. 盆栽试验 30 d 后, 菌株 ND41 的生防效率达到 68.89%, 菌株 D153 的生防效率达到 74.44%.

2021 年, 课题组从中国科学院昆明植物研究所曹明明研究员课题组提供的南海海洋来源的 81 株链霉菌中筛选到一株编号 210 的菌株, 具有较强杀线虫活性, 经 16S rDNA 确定为阿维丁链霉菌 (*Streptomyces avidinii*). 关于 *S. avidinii* 研究的资料较少, 2014 年, 张玲研究的青藏高原土壤中发现, 该菌株为优势菌株<sup>[6]</sup>. 同年, 王东胜在秦岭主峰太白山岩石中得到 *S. avidinii*<sup>[7]</sup>. 本文对上述南海海洋来源的菌株 210 进行了鉴定, 并分离鉴定了其次生代谢成分, 筛选单体化合物的杀根结线虫活性, 相关研究结果可为该菌株进一步用于根结线虫防治与农药开发提供依据.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品来源

供试 81 株南海海洋放线菌菌株保存于甘油管中, 由中国科学院昆明植物所曹明明研究员课题组提供;

\* [收稿日期] 2023-10-23

[作者简介] 刘杰阳, 女, 山东青岛人, 昆明学院在读硕士研究生, 研究方向为植物资源利用与保护.

\*\* [通信作者] 何江波, 男, 四川绵阳人, 昆明学院教授, 博士, 研究方向为天然产物化学成分分析与利用, E-mail: 147976602@qq.com.

[基金项目] 云南省教育厅科学研究基金项目 (2023J0832, 2023Y0870); 昆明市春城计划青年拔尖人才项目 (C201914001).

供试秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) N2 型由昆明学院农学与生命科学学院实验室提供, 供试南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*)、爪哇根结线虫 (*Meloidogyne javanica*) 由云南大学省部共建云南生物资源保护与利用国家重点实验室提供.

### 1.1.2 试验试剂

甲醇、乙酸乙酯等 (分析纯) 有机溶剂均购于天津市风船化学试剂科技有限公司; 甲醇、乙腈 (色谱级) 购于上海星可高纯溶剂有限公司; 二甲基亚砜 (DMSO, 分析纯) 购于湖南九典制药有限公司.

### 1.1.3 试验仪器

柱色谱用硅胶 (200 ~ 300 目)、薄层色谱用硅胶 GF 254 均为青岛海洋化工厂生产; Sephadex LH-20 (25 ~ 100  $\mu\text{m}$ ) 为 pharmacia 公司产品; RP-18 (40 ~ 60  $\mu\text{m}$ ) 为日本 Daiso 产品; 超高压液相色谱三重四级杆串联质谱联用仪器 (英国 waters 公司, Xevo TQ-S); Avance 600 MHz 核磁共振仪 (TMS 作为内标,  $\delta$  为  $10^{-6}$ ,  $J$  为 Hz); 岛津 UV-2401 紫外分光光度计; Hanbon-NP 7000C 制备液相 (汉邦仪器公司), 制备柱 (Zorbax XDB-C-18, 21.2 mm  $\times$  150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 旋转蒸发器 (东京理化, N-1100); 摇床 (上海智城分析仪器制造有限公司, ZWY-2102).

### 1.1.4 放线菌供试培养基

高氏一号培养基: 培养基 A (可溶性淀粉 20 g, 葡萄糖 10 g, 蛋白胨 5 g, 酵母提取物 5 g, NaCl 4 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g,  $\text{CaCO}_3$  2 g, pH 7); 培养基 B (糊精 40 g, 番茄酱 7.5 g, 酶水解酪蛋白 2.5 g, 酵母 5 g); 培养基 C (甘油 50 g, 玉米粉 25 g, 酵母自溶物 5 g); 培养基 D (蔗糖 100 g, 葡萄糖 10 g, 酪蛋白氨基酸 0.1 g, 酵母提取物 5 g, 3-(N-吗啡啉)乙磺酸 21 g, 微量元素 1 mL,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0.25 g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  10 g); 线虫生长培养基: 蛋白胨 2.5 g, NaCl 3 g. 土豆培养基 (PDA): 土豆 200 g, 葡萄糖 20 g, 自来水 1 000 mL. 所有固体培养基在上述液体培养基的基础上补充 20 g/L 琼脂.

## 1.2 方法

### 1.2.1 试验菌株的活化与鉴定

用接种针从保藏的试管培养基斜面上挑取少许放线菌菌丝体, 接种到高氏一号固体培养基上, 28  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养 3 ~ 7 d, 活化菌株. 观察菌落特征, 根据菌落大小、形态、颜色、边缘整齐度以及色素等进行初步去重复后, 采用酶法提取菌株 DNA 后, 以细菌通用引物 (上游引物 PA: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCT-CAG-3', 下游引物 PB: 5'-AGGAGGTGATCCAGCCGCA-3') 进行 16S rDNA 基因的特异扩增, 然后由上海生工生物工程股份有限公司进行测序. 测序结果利用 EZBioCloud 网站进行比对后确定.

### 1.2.2 发酵液制备

种子液制备 (海洋放线菌菌株的种子培养): 挑取纯化菌株至培养液 A、B、C、D 中, 28  $^{\circ}\text{C}$ , 200 r/min, 振荡培养 3 d.

发酵液制备 (配制发酵培养基): 将种子液按 1:10 比例转接至培养液 A、B、C、D 中, 28  $^{\circ}\text{C}$ , 200 r/min, 每种培养基发酵 400 mL, 振荡培养 7 d.

### 1.2.3 放线菌粗提物触杀初筛

将发酵液加入等量的甲醇浸泡 24 h, 过滤, 浓缩至 100 mL, 然后采用等量乙酸乙酯萃取 3 次, 浓缩得到粗提物. 将粗提物用 DMSO 溶液溶解, 取粗提物 0.1 mL 至 96 孔板中, 加入 0.1 mL 秀丽隐杆线虫悬液 (约含有 20 ~ 40 条线虫即可), 于 40 倍光镜下数出根结线虫总数, 把 96 孔板置于 20  $^{\circ}\text{C}$  培养箱中静置 24 h (混匀后粗提物的浓度为 1 mg/mL, DMSO 的质量分数为 1%), 同时设置 1% 的阿维菌素阳性对照和 DMSO 溶液阴性对照. 之后在 96 孔板中加入 0.1 mL 的 1 mol/L 的氢氧化钠溶液, 使用移液枪轻轻吹吸均匀后, 迅速于 40 倍光镜下计数, 计数死亡根结线虫数, 并计算死亡率及校正死亡率. 将初筛死亡率在 50% 以上的放线菌粗提物用 DMSO 溶液溶解, 配置 3 个浓度梯度 (0.1, 0.3, 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 然后进行复筛.

死亡率和校正死亡率按照下式计算:

$$\text{死亡率} (\%) = \frac{\text{死亡线虫数}}{\text{供试线虫数}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{校正死亡率}(\%) = \frac{(\text{处理组线虫死亡率} - \text{对照组线虫死亡率})}{(1 - \text{对照组线虫死亡率})} \times 100\% \quad (2)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 放线菌对根结线虫的活性筛选结果

对81株菌株、4种培养基发酵条件下的次生代谢产物进行杀线虫活性初筛,得到11株具有杀线虫活性的菌株。再次经过复筛,确定菌株编号为210的菌株在培养基A中杀线虫活性较好,对秀丽隐杆线虫致死率达89.9%。因此决定采用培养基A对菌株210进行扩大发酵。

### 2.2 菌株鉴定

菌株210的16S rDNA测序结果及系统发育树构建以菌株210的DNA为模板,扩增16S rDNA序列,提取210的16S rDNA序列进行测序,菌株210的16S rDNA序列总长1447 bp。将菌株210的16SrDNA序列与EzBioCloud数据库进行比对,采用MEGA7进行同源性分析并构建系统发育树,如图1所示,菌株210与*S. avidinii*在同一个遗传分支上,相似性99.65%。综合分析,将菌株210鉴定为*S. avidinii*。

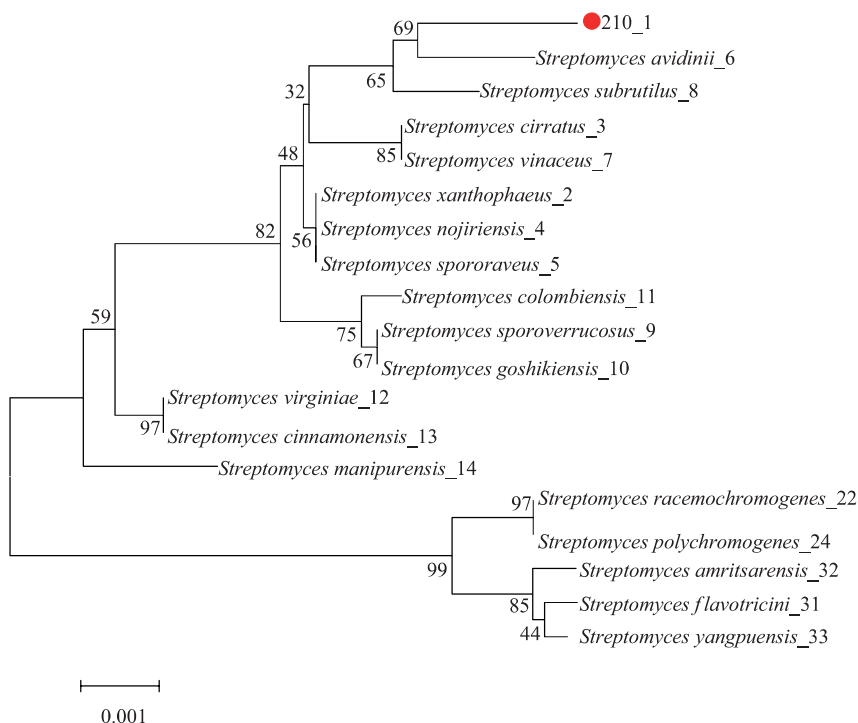


图1 基于16S rDNA基因序列构建的菌株210的系统进化树

### 2.3 提取与分离

菌株210采用培养基A发酵60 L,然后浓缩,并使用乙酸乙酯萃取3次,浓缩得到乙酸乙酯浸膏3.5 g。浸膏采用甲醇溶解过滤,然后利用凝胶柱色谱进行初步分离,根据薄层色谱(TLC),10%硫酸乙醇溶液显色合并相似组分得到Fr. A~F组分。Fr. A(13 mg)经过Sephadex LH-20凝胶柱色谱(甲醇)分离得到组分Fr. A-1, Fr. A-1采用硅胶柱色谱(二氯甲烷:甲醇10:1→2:1, V/V)梯度洗脱得到化合物2(5.2 mg); Fr. B(25.5 mg)经过硅胶柱色谱(二氯甲烷:甲醇10:1→5:1, V/V)梯度洗脱得Fr. B-1,采用制备液相分离纯化,以10%~100%色谱甲醇梯度洗脱(流速10 mL/min)得化合物1(6 mg,  $t_R = 7$  min), Fr. B-2通过硅胶柱色谱(二氯甲烷:甲醇100:1→80:1, V/V)梯度洗脱得到化合物3(1.2 mg); Fr. C经过Sephadex LH-20凝胶柱色谱(甲醇)分离得到组分Fr. C1~Fr. C5, Fr. C3采用硅胶柱色谱(二氯甲烷:甲醇10:1→2:1, V/V)梯度洗脱得到化合物4(5.6 mg); Fr. D(8.7 mg)经过Sephadex LH-20凝胶柱色谱(甲醇)分离得到组分Fr. D-1,通过硅胶柱色谱(二氯甲烷:甲醇50:1→30:1, V/V)梯度洗脱得到化合物5(2.4 mg); Fr. E经过Sephadex LH-20凝胶柱色谱(甲醇)分离得到组分Fr. E-1,采用制备液相分离纯化,以10%~100%色谱甲醇梯度洗脱(流速10 mL/min)

得化合物 **6** (2.9 mg,  $t_R = 9$  min); Fr. F 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇) 分离得到组分 Fr. F-1, 采用制备液相分离纯化, 以 10% ~ 100% 色谱甲醇梯度洗脱 (流速 10 mL/min) 得化合物 **7** (3.2 mg,  $t_R = 8$  min).

#### 2.4 结构鉴定

通过对放线菌 *S. avidinii* 采用培养基 A 的次生代谢产物进行分离纯化, 分离鉴定了 7 个化合物 (图 2)

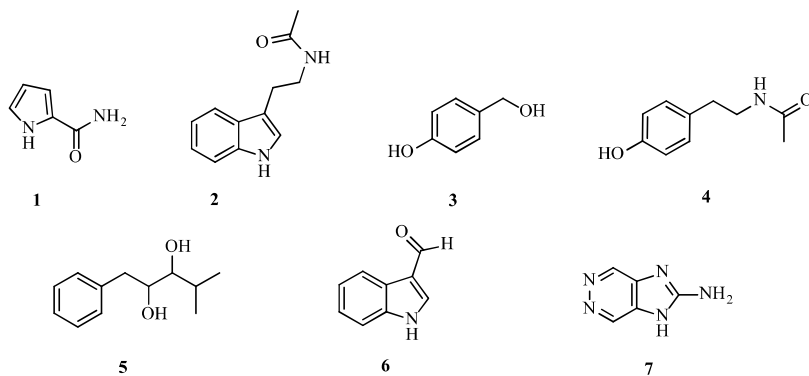


图 2 放线菌阿维丁链霉菌中鉴定的次生代谢产物结构

化合物 **1**: 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  111  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$ : 6.81 (1H, dd,  $J = 3.8, 1.4$  Hz, H-3), 6.92 (1H, dd,  $J = 2.0, 0.8$  Hz, H-5), 6.17 (1H, dd,  $J = 2.9, 0.9$  Hz, H-4);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_C$ : 166.1 (C-6), 126.5 (C-2), 123.5 (C-5), 113.1 (C-3), 110.5 (C-4). 以上数据与文献 [8] 对照基本一致, 鉴定化合物 **1** 为 pyrrole-2-carboxamide.

化合物 **2**: 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  203  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta_H$ : 8.14 (1H, s, H-1), 7.61 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-4), 7.38 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-7), 7.22 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-5), 7.13 (1H, t,  $J = 7.3$  Hz, H-6), 7.05 (1H, s, H-2), 5.53 (1H, s, H-12), 3.60 (2H, q,  $J = 6.5$  Hz, H-11), 2.98 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz, H-10), 1.92 (3H, s, H-14);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta_C$ : 170.3 (C-13), 136.6 (C-9), 127.6 (C-8), 122.5 (C-6), 122.2 (C-2), 119.7 (C-5), 118.9 (C-4), 113.3 (C-3), 111.5 (C-7), 40.0 (C-11), 25.5 (C-10), 23.6 (C-14). 以上数据与文献 [9] 对照基本一致, 鉴定化合物 **2** 为 N-acetyltryptamine.

化合物 **3**: 白色粉末, EI-MS:  $m/z$  147  $[M + Na]^+$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$ : 7.17 (2H, dt,  $J = 8.4, 2.8$  Hz, H-3, 5), 6.75 (2H, dt,  $J = 8.6, 2.0$  Hz, H-2, 6), 4.48 (2H, s, H-7);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_C$ : 158.0 (C-1), 133.7 (C-4), 129.9 (C-3, 5), 116.2 (C-2, 6), 65.2 (C-7). 以上数据与文献 [10] 对照基本一致, 鉴定化合物 **3** 为 p-hydroxybenzyl alcohol.

化合物 **4**: 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  180  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$ : 7.05 (2H, dt,  $J = 8.6, 3.0$  Hz, H-2, 6), 6.73 (2H, dt,  $J = 8.6, 2.9$  Hz, H-3, 5), 2.70 (2H, m, H-7), 3.35 (2H, m, H-8), 1.93 (3H, s, H-Me);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_C$ : 173.4 (C=O), 157.0 (C-1), 116.4 (C-2, 6), 130.9 (C-3, 5), 131.4 (C-4), 35.8 (C-7), 42.6 (C-8), 22.7 (-CH<sub>3</sub>). 以上数据与文献 [11] 对照基本一致, 鉴定化合物 **4** 为 N-acetyltyramine.

化合物 **5**: 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  217  $[M + Na]^+$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$ : 7.25 ~ 7.31 (4H, m, H-2', 3', 5', 6'), 7.20 (1H, m, H-4'), 3.86 (1H, m, H-2), 2.99 (1H, dd,  $J = 7.7, 2.6$  Hz, H-3), 2.88 (1H, dd,  $J = 13.6, 6.1$  Hz, H-1b), 2.81 (1H, dd,  $J = 13.6, 7.7$  Hz, H-1a), 1.87 (1H, m, H-4), 0.98 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-5), 0.88 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-6);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_C$ : 140.8 (C-1'), 130.7 (C-3', 5'), 129.4 (C-2', 6'), 127.2 (C-4'), 79.2 (C-3), 73.9 (C-2), 41.7 (C-1), 31.8 (C-4), 19.9 (C-6), 19.3 (C-5). 以上数据与文献 [12] 对照基本一致, 鉴定化合物 **5** 为 4-methyl-1-phenylpentane-2, 3-diol.

化合物 **6**: 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  146  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$ : 9.89 (1H, s, H-

8), 8.16 (1H, d,  $J=7.6$  Hz, H-7), 8.10 (1H, s, H-2), 7.48 (1H, d,  $J=8.1$  Hz, H-4), 7.28 (1H, td,  $J=7.3, 0.7$  Hz, H-6), 7.24 (1H, td,  $J=7.7, 0.7$  Hz, H-5);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 187.6 (C-8), 139.9 (C-2), 139.1 (C-7a), 125.9 (C-3a), 125.2 (C-6), 123.8 (C-5), 122.5 (C-4), 120.3 (C-3), 113.3 (C-7). 以上数据与文献 [13] 对照基本一致, 鉴定化合物 **6** 为 1H-indole-3-aldehyde.

化合物 **7**: 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  136  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 7.08 (2H, s,  $\text{NH}_2$ ), 8.10 (2H, d,  $J=7.4$  Hz, H-3/6), 12.78 (1H, brs, NH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 155.4 (C-8), 152.4 (C-3, 6), 139.1 (C-4, 5). 以上数据与文献 [14] 对照基本一致, 鉴定化合物 **7** 为 zarzissine.

### 2.5 杀秀丽隐杆线虫活性测定

放线菌 *S. avidinii* 菌株在培养基 A 中的发酵液粗提物对线虫具有杀线虫活性, 作用时间 24~72 h, 粗提物导致 80% 以上秀丽隐杆线虫的死亡; 在培养基 B、C、D 中的粗提物活性较差. 其具体活性如图 3 所示.

通过初步活性研究, 各化合物对秀丽线虫的致死率呈时间依赖关系 (表 1), 在高浓度 (0.5 mg/mL) 下, 化合物作用于线虫第 72 h 时的线虫致死率最高, 其中化合物 **3** 能达到 59%, 化合物 **4** 达到 88.9%.

课题组对分离得到的化合物再次进行杀根结线虫活性筛选, 发现化合物 **3**, **4**, **7** 具有一定的杀线虫活性, 并呈现时间依赖. 其中化合物 **3** 和 **4** 具有较好的杀线虫活性, 而其他化合物无明显活性. 在相同浓度下, 我再次测试化合物 **3**, **4**, **7** 对南方根结线虫和爪哇根结线虫触杀, 在 72 h 下, 化合物 **4** 杀爪哇根结线虫的活性达到 60.21% (表 2).

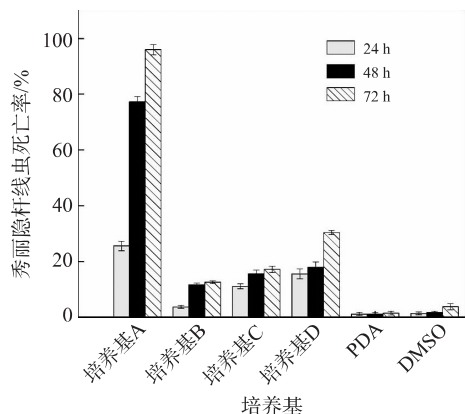


图 3 *S. avidinii* 菌株在不同培养基中的杀秀丽隐杆线虫活性及其与 PDA 和 DMSO 的对比

表 1 各化合物在不同时间段的杀线虫活性对比 %

化合物	不同时间段的杀南方根结线虫率			不同时间段的杀爪哇根结线虫率		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
p-hydroxybenzyl alcohol ( <b>3</b> )	13.90	34.10	52.20	10.34	25.65	40.00
N-acetyltyramine ( <b>4</b> )	7.23	10.57	41.80	10.20	20.34	60.21
zarzissine ( <b>7</b> )	2.10	8.10	34.50	2.33	8.13	34.50
DMSO 溶液	2.54	3.32	5.00	1.41	2.92	3.95
1% 阿维菌素	96.00	97.10	100.00	95.20	97.00	97.92

表 2 杀南方根结线虫和爪哇根结线虫活性化合物时间梯度 %

化合物	不同时段秀丽隐杆线虫死亡率		
	24 h	48 h	72 h
p-hydroxybenzyl alcohol ( <b>3</b> )	37.25	40.10	59.30
N-acetyltyramine ( <b>4</b> )	45.45	52.33	88.90
zarzissine ( <b>7</b> )	2.00	10.20	24.48
DMSO 溶液	2.10	4.90	4.90
1% 阿维菌素	97.00	100	100

## 3 讨论与结论

### 3.1 讨论

本试验利用特殊生境菌株进行生防菌株开发, 采用 4 种培养基对 81 株南海海洋放线菌进行发酵, 发酵液的乙酸乙酯提取物再用模式生物秀丽隐杆线虫进行筛选. 从 324 种提取物中发现菌株 210 在培养基 A 中杀线虫活性较好, 且呈现了时间依赖性和提取物浓度依赖性的特点. 因此, 对 210 进行鉴定, 并确定其为阿维丁链霉菌 (*Streptomyces avidinii*). 对于该菌的研究, Sudha<sup>[15]</sup> 等发现该菌的代谢产物具有抑制 Hep-2 和 VERO 细胞的作用, 而本文还是将研究目标聚集在防治线虫活性方面.

再次对该菌扩大发酵, 通过高效液相色谱检测, 该菌的代谢产物相当丰富, 但是含量偏低. 采用天然产物研究的方法获得了 7 个单体化合物, 大部分化学成分较为简单, 主要为苯环衍生物及含氮衍生物成分. 采用秀丽隐杆线虫对分离得到的化合物进行杀线虫活性筛选, 发现化合物 **3** 和 **4** 活性较好, 均为苯酚类成分. 化合物 **7** 具有微弱活性. 在采用化学单体对秀丽隐杆线虫筛选杀线虫活性过程中, 发现秀丽隐杆线虫的死亡率与化合物的浓度和作用时间呈现正相关关系, 这两个化合物的活性机制也未见深入报道. 2022 年, Ran 等<sup>[11]</sup>从 *Micromonospora* sp. WH06 菌株中也分离得到化合物 **4**, 并报道了其南方根结线虫具有较好的活性, 并在 72 h 后能抑制其线虫虫卵孵化的作用. 其余化合物均未在秀丽隐杆线虫上筛选出较好活性, 后期课题组还将在发酵条件优化等方面进行深入研究. 结合目前的研究结果, 在发酵优化方面需要深入研究的工作还有较多, 例如: 诱导产生大量的活性化合物, 且能获得高产菌株; 通过对南方根结线虫、爪哇根结线虫的筛选, 去寻找阿维丁链霉菌的应用前景.

### 3.2 结论

海洋放线菌资源丰富, 是一个较好的基因库与化学成分代谢库, 也是开发生防菌株的宝贵资源. 本文以秀丽隐杆线虫作为模式生物, 从 81 株南海海洋放线菌中筛选出一株杀线虫活性较高的阿维丁链霉菌菌株, 并确定了阿维丁链霉菌杀线虫的主要活性成分, 较好地解释了阿维丁链霉菌杀线虫的化学机制, 同时为后期深入研究阿维丁链霉菌奠定了研究基础.

### [参考文献]

- [1] RUANPANUN P, TANGCHITSOMKID N, HYDE K D, et al. Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010, 26 (9): 1569-1578.
- [2] NADEEM H, KHAN A, GUPTA R, et al. Aseinhorstmodel determined the host-parasite relationships of *Meloidogyne javanica* infecting fenugreek cv. UM202 [J]. *Journal of Nematology*, 2023, 55 (1): 20230005.
- [3] SAHARAN R, PATIL J A, YADAV S, et al. Thenematicidal potential of novel fungus, *Trichoderma asperellum* FbMi6 against *Meloidogyne incognita* [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13: 6603.
- [4] PARK E J, JANG H J, PARK C S, et al. Evaluation of nematocidal activity of *Streptomyces yatensis* KRA-28 against *Meloidogyne incognita* [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2020, 30 (5): 700-707.
- [5] HU Q R, YANG M M, BO T T, et al. Soluble macromolecules from two *Streptomyces* strains with potent nematocidal activity against *Meloidogyne incognita* [J]. *Rhizosphere*, 2022, 22: 100529.
- [6] 张玲. 青藏高原土壤链霉菌的分离鉴定及其抗菌活性研究 [D]. 兰州: 兰州交通大学硕士学位论文, 2014.
- [7] 王东胜. 秦岭主峰太白山北坡 5 种生境中微生物区系及拮抗放线菌资源研究 [D]. 西安: 西北农林科技大学博士学位论文, 2014.
- [8] 陈明华, 巫晔翔, 董飏, 等. 链霉菌 CICC 202950 的化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40 (7): 1320-1324.
- [9] 王举涛, 张培良, 王刚, 等. 凤丹内生真菌 *Fusarium oxysporum* 次生代谢产物的研究 [J]. *中草药*, 2018, 49 (22): 5247-5253.
- [10] 刘美凤, 韩芸, 邢东明, 等. 竹叶兰化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2004, 29 (2): 147-149.
- [11] RAN Y, ZHANG Y, WANG X, et al. Nematicidal metabolites from the actinomycete *Micromonospora* sp. WH06 [J]. *Microorganisms*, 2022, 10 (11): 2274-2286.
- [12] JIANG L, PU H, QIN X, et al. Syn-2, 3-diols and anti-inflammatory indole derivatives from *Streptomyces* sp. CB09001 [J]. *Natural Product Research*, 2021, 35 (1): 144-151.
- [13] INOUE H, YAJIMA Y, KAWANO G, et al. Isolation of indole-3-aldehyde as a growth inhibitor of *Legionella pneumophila* from diaion HP-20 resins used to culture the bacteria [J]. *Biocontrol Science*, 2004, 9: 39-41.
- [14] BOUAICHA N, AMADE P, PUEL D, et al. Zarzissine, a new cytotoxic guanidine alkaloid from the mediterranean sponge *Anchinoe paupertas* [J]. *Journal of Natural Products*, 1994, 57 (10): 1455-1457.
- [15] SUDHA S, MASILAMANI S M. Characterization of cytotoxic compound from marine sediment derived actinomycete *Streptomyces avidinii* strain SU4 [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012, 2 (10): 770-773.

(下转第 123 页)