

食线虫菌物次级代谢物的研究进展

常凡凡,赵天宇,刘新宇,蔺国珍*

西北民族大学生命科学与工程学院,兰州 730100

摘要:线虫危害严重,它不仅给人类和动植物带来严重的疾病,尤其给畜牧业带来巨大的经济损失。目前控制线虫所致疾病的主要方法是使用驱虫剂和化学疗法,但随着这些药物耐药性不断的增加,治疗效果也变得非常差。近年来随着人类环保意识的增强,对线虫的生防日益成为重点和焦点问题,因此需要一种新的治疗方法来代替传统方法,于是越来越多的人开始关注菌株次生代谢产物的研究与开发,而且这种生防制剂是一种低毒、环保的方法,是实现绿色防控的有效手段。本文主要对部分食线虫菌物产生的次级代谢物进行综述。

关键词:食线虫菌物;次级代谢产物;耐药性;生物防治剂

中图分类号:Q936

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)Suppl-0206-04

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.S.030

Research progress on secondary metabolites of nematophagous fungi

CHANG Fan-fan, ZHAO Tian-yu, LIU Xin-yu, LIN Guo-zhen*

College of Life Science and Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730100, China

Abstract: The nematodes were seriously endangered. It not only brought serious diseases to humans, animals and plants, but also brought huge economic losses to the livestock industry. At present, the main methods for controlling diseases caused by nematodes are the use of insect repellents and chemotherapy, but as the drug resistance of these drugs continues to increase, the treatment effect becomes very poor. In recent years, with the increase of human environmental awareness, the prevention and control of nematodes has become a key issue and focus. Therefore, a new treatment method is needed to replace the traditional method, so more and more people are paying attention to the secondary metabolites of the strain. Research and development, and this biocontrol agent is a low-toxic, environmental friendly method and an effective means to achieve green prevention and control. This article reviews the secondary metabolites produced by some nematophagous organisms.

Key words: nematophagous fungi; secondary metabolites; drug resistance; biological control agents

真菌是具有高度化学结构多样性的生物活性天然化合物的主要来源,数以万计的天然产品源自真菌,用于医疗、营养、农业和工业用途。对大多数真菌来说产生次生代谢产物的能力是必不可少的。与初级代谢物相反,次级代谢产物是单独产生的化合物,通常是针对单一物种或有限种群的特定化合物^[1]。食线虫菌物作为线虫天敌的最大一组群体,能够产生大量的次级代谢产物,在维持线虫种群密度方面有重要作用,在实验中证明是寄生性线虫的潜在生物防治剂。

根据侵害线虫的习性将食线虫菌物分为捕食菌

物、内寄生菌物、机会菌物和产毒菌物四大类,它主要通过形成特殊的捕食器官或产生毒素等方式来捕捉和杀死线虫。在食线虫菌物中捕食菌物是应用比较广泛的一类菌,它是一种可以捕食、寄生或定殖于线虫上的真菌的总称,对其已有了彻底的研究,它可以产生复杂的捕食器官从而将线虫捕获,它的捕食器官是特殊化的菌丝,其比一般菌丝更粗更坚固且有着捕食功能^[2],捕食过程分为吸引、识别、粘附、侵染和消解等几个阶段。近年巴西以厚垣孢普可尼亚菌(*Pochonia chlamydosporia*)的厚垣孢子为基础的商业生物杀线剂已被用于管理香蕉、胡萝卜和莴苣中的线虫。一种基于强力节丛孢(*Arthrobotrys robusta*),少孢节丛孢(*Arthrobotrys oligospora*),弯孢节丛孢(*Arthrobotrys musiformis*),长孢隔指孢(*Dactylella leptospora*)和厚皮单顶孢(*Monacrosporium*)

收稿日期:2019-06-03 接受日期:2019-06-06

基金项目:西北民族大学中央高校基本科研业务费专项(31920190044,31920180007)

*通信作者 Tel:86-018093181992; E-mail:lgzh18@163.com

eudermatum)混合物的实验配方也被用于控制桔子园中的松材线虫(*Pratylenchus jaehni*),食线虫菌物在控制线虫的非化学策略中占据越来越重要的地位^[3]。在上世纪60年代,Olthof就提出食线虫菌物在捕食过程中能够产生杀死线虫代谢物的假说,后又有人提出毒素可能参与线虫的固定和杀灭,但是它们尚未被分离和表征。1987年Barron和Thorn发现在平菇培养基中分离出一种产生液滴的物质,能够杀死并且消化线虫,但不产生捕食环,后被证明平菇培养基中的液滴是脂肪酸,即亚油酸和S-缬氨酸,两种酸对秀丽隐杆线虫均有较高的活性^[4]。实验发现节丛孢属菌丝体在诱导捕食环形成的培养基上产生了高食线虫活性的提取物,通过分析在有线虫诱导和没有线虫诱导的培养物中菌丝体提取物的组成,发现在其中亚油酸参与了诱捕秀丽隐杆线虫的过程。早前已经广泛研究了捕食线虫菌物参与线虫角质层降解的蛋白酶^[5],后从食线虫菌物分离到的几种天然丝氨酸蛋白酶具有降解线虫角质层的生物学活性,但此产物的量相对较少。接着Huang等表明细胞外枯草素样丝氨酸蛋白酶可能是捕获线虫过程中参与渗透,固定和消化过程的关键毒性因子。

在食线虫菌物半知菌类中节丛孢是研究得较多的一类,它种类丰富且分布广泛,Wang等在2013年在少孢节丛孢中(*Arthrobotrys oligospora*,AO)中分离出一种成熟的丝氨酸蛋白酶XAoz1,它通过固定化和降解线虫的角质层,对自由生活线虫秀丽隐杆线虫和动物寄生线虫捻转血矛线虫具有明显的杀虫活性。近年又研究出AO中聚酮合酶基因AOL-s00215g282参与了许多次级代谢物的产生和真菌捕食环的形成,同时表明代谢物6-甲基水杨酸和间甲酚对根结线虫也有显著的杀虫活性^[6],也有人从AO中分离到节孢菌素,对全齿复活线虫具有杀虫活性^[7]。Dowsett等对AO的捕食环的超微结构进行了广泛的研究,发现捕食环中存在许多致密体,并且随着捕食环的成熟而增加,后来表明致密体可以为新细胞物质和渗透过程中排泄的水解酶提供能量并且具有过氧化物酶功能。对宿主表面的强粘附是食线虫菌物穿透线虫的先决条件。捕食结构的另一个共同特点是存在大量的胞外聚合物层,对捕食环陷阱与线虫表面的粘附非常重要。AO粘附机制的研究表明了凝集素参与了其中的作用。最近,在AO中鉴定并破坏了乙醛酸循环中的关键酶苹果酸合成酶(MIs),捕食环形成在Ao MIs突变体中被延迟,其仅产生含有一个或两个未成熟捕食环,说明苹果酸

合成酶在诱捕线虫过程中参与诱捕环的形成。还在其中鉴定了Rgs1信号蛋白,基因Ao Rgs1的破坏消除了诱捕环的形成^[8]。食线虫菌物(*Duddingtonia flagrans*,*D. f*)作为动物胃肠线虫和肺线虫等优良生物防治菌种也被广泛研究,JFernhdez等^[9]表明*D. f*能够有效的减少马体内圆线虫幼虫的数量,后来发现*D. f*真菌中产生杀死马体内的线虫幼虫的是丝氨酸蛋白酶。Dias在2012年表明*D. f*产生食线虫活性的蛋白酶并认为它也产生了一种几丁质酶,对蝇有一定的昆虫病原活性,后来实验还发现来自Df的蛋白酶和几丁质酶单独或合用24h后能显著减少完整的三期幼虫的数量,说明这两种酶有杀虫活性。其中的渗透是由于机械活性和水解酶的结合,后指出这些酶是蛋白酶,几丁质酶和胶原酶。Schwarz^[10]在拟茎点霉(*Phomopsis phaseoli*)深层培养物中提取出3-羟基丙酸,并得出它能够选择性的杀死植物寄生虫线虫南方根结线虫,其半数致死量(LD₅₀)为12.5~151 g/mL。

在食线虫的担子菌中,从发光类脐菇的培养液中分离得到的一种新的环肽一环十二缩肽物质,对植物病原南方根结线虫具有很强的选择性杀虫活性,但环十二缩肽物质对秀丽隐杆线虫有较弱的活性。Stadler等从木腐真菌(*Cheimonophyllum crantidissimum*)发酵滤液中分离得到6个倍半萜化合物,分别为cheimonophyllon E、cheimonophyllon A-D和cheimonophyllal。其中化合物cheimonophyllon A和cheimonophyllon D对线虫的LD₅₀值分别为10 μg/mL,化合物cheimonophyllon B和cheimonophyllal对线虫的LD₅₀值为25 μg/mL,cheimonophyllon C对线虫的LD₅₀值为50 μg/mL。在培养条件下,毛头鬼伞形成棘球能够机械地破坏线虫的角质层来增强其食线虫活性外,还能产生7种食线虫性化合物,其中5-甲基咪喃-3-羧酸和5-羟基-3,5-二甲基咪喃-2(5H)-酮对根结线虫和全齿复活线虫都非常有效。后又在毛头鬼伞琼脂培养物的有机提取物进一步产生了氧杂萘酮和2-(1H-pyrrol-1-yl)-ethanol食线虫代谢产物,对南方根结线虫和全齿复活线虫也有一定的杀虫活性^[11]。

对部分食线虫的半知菌类也进行了研究,从曲霉菌中分离得到几个大环内酯类化合物,分别compoundββ、γ-dehydrocurvularin和3个已知化合物αβ-dehydrocurvularin、8-β-hydroxy-7-oxocurvularin和7-oxocurvularin。这几种大环内酯类化合物对穿透性根结线虫均表现出一定的食线虫活性,对秀丽隐杆

线虫均无明显作用^[12]。Nafuredin 是从黑曲霉 FT-0554 发酵液中分离到的一种厌氧电子转运蛋白的抑制剂,在绵羊体内的试验表明,其具有明显的食线虫活性,其中对红血球吸虫有明显的食线虫活性。弱碱性处理可使 mafuredin 很容易转化为 nafuredin- γ 。Shimada 等^[13]从半知菌玫烟色拟青霉和镰刀菌属中分离出白藜芦素,其对南方根结线虫的活性较弱,对秀丽隐杆线虫和松材线虫有一定杀虫活性。Kanai 等从拟青霉的发酵液中分离得到一种新的吡咯啉啉骨架的大环内酯衍生物吡咯啉,生物活性测定表明,该化合物在 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下,对小杆线虫属 (*Rhabditis pseudoelongata*) 有较强的杀灭活性。从另一株拟青霉中分离得到食线虫性化合物脑苷脂 A 和 B^[14]。Liu 等^[15]从拟青霉中鉴定出一种新的食线虫化合物 4-(4'-carboxy-2'-ethyl-hydroxypenty)-5,6-dihydro-6-methyl-cyclobuta [b] pyridine-3,6-dicarboxylic 酸,该化合物在 48h 内对南美白对虾、南方根结线虫和松材线虫的 LD₅₀ 值分别为 50.86、47.1、167.7 mg/L。Khambay 等^[16]采用生物活性测定的方法,从黄萎菌中分离得到一种食线虫性化合物茎点霉内酯 (phomalactone),当其浓度为 500 mg/L 时,96 h 内对南方根结线虫的杀灭率达 84%。

一些子囊菌也是食线虫,从假丝酵母 TA8644 中得到次级代谢物是单萜 1,2-二羟基二甲内酯的无色油脂,对线虫的 LD₅₀ 值为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。Liu 等^[17]在生物测定的基础上,从红曲霉菌提取物中分离得到一种食线虫代谢产物 (3E,5E)-2,5-dihydroxy-2,7-dihydrooxepine-3-carboxylic 酸酐,该化合物对南方根结线虫具有较强的食线虫活性。在其他真菌中,Dong 等^[18]对 *Caryospora callicarpa* YMF1.01026 中具有抗植物寄生线虫活性的代谢产物进行了研究,得到了三种十四内酯类代谢产物-环孢霉素 A~C (*Caryosporin* A-C),在体外试验中,三种化合物对松材线虫均表现出一定的杀灭活。

食线虫菌物所产生的次级代谢物能够抑制线虫,制止其取食和产卵,并对其生长和繁育有延缓作用,在控制动植物寄生性线虫方面有着显著的效果,而且次生代谢产物具有药效高、环境相容性好、不容易造成二次污染等优点,对生态和农业经济带来很大的价值。因此,对次级代谢物的生物功能及其调节的研究增强了对食线虫菌物了解和将进一步帮助理解和提高线虫捕获效率,形成对线虫优良生物防治剂的开发,对病原线虫的生物防控也具有重要的理论和实践意义,更有助于充分利用丰富的自然资源。

参考文献

- Zhen Z, et al. MAP kinase Slt2 orthologs play similar roles in conidiation, trap formation, and pathogenicity in two nematode-trapping fungi [J]. *Fungal Genet Biol*, 2018, 116:42-50.
- Anke H, et al. Secondary metabolites with nematocidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes [J]. *Can J Bot*, 1995, 73:932-939.
- Lopes EA, et al. Eco-friendly approaches to the management of plant-parasitic nematodes [M]. Singapore: Springer, 2019: 167-186.
- Lin MS, Shen SW. A preliminary study on the control of southern root-knot nematodes by thick-walled spores [J]. *Biol Control Bull*, 1994, 1:7-10.
- Meyer WJ, Wiebe MG. Enzyme production by the nematode-trapping fungus, *Duddingtonia flagrans* [J]. *Biotechnol Lett*, 2003, 25:791-795.
- Xu ZF, et al. Nematicidal key precursors for the biosynthesis of morphological regulatory arthrospores in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* [J]. *J Agr Food Chem*, 2016, 64:7949-7956.
- Wei LX, et al. Arthrotrisin A-C, oligosporins from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74:1526-1530.
- Liu YJ, Liu Y, Zhang KQ. Xanthothone, a new nematocidal N-compound from *Coprinus xanthothrix* [J]. *Chem Nat Compd*, 2008, 44:203-205.
- Fernandez AS, et al. A new isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* as biological control agent against free-living larvae of horse strongyles [J]. *Equine Vet J*, 1999, 31:488-491.
- Schwarz, et al. 3-Hydroxypropionic acid as a nematocidal principle in endophytic fungi [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65:2239-2245.
- Degenkolb T, Vilcinskis A. Metabolites from nematophagous fungi and nematocidal natural products from fungi as alternatives for biological control. Part II: metabolites from nematophagous basidiomycetes and non-nematophagous fungi [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2016, 100:3813-3824.
- Hayashi A, et al. Fumiquinones A and B, nematocidal quinones produced by *Aspergillus fumigatus* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2007, 71:1697-1702.
- Shimada A, et al. Nematicidal activity of beauvericin produced by the fungus *Fusarium bulbicola* [J]. *Z Naturforsch C*, 2010, 65:207-210.
- Zhang YG, et al. Isolation and identification of the nematocidal secondary metabolites from one strain of entomogenous fungi [J]. *J Pestic Sci*, 2010, 12:225-228.