

· 专论与综述 ·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2021.0192

致病杆菌属细菌代谢物抑菌活性研究进展

韩云飞¹, 他永全¹, 王 勇^{1,2}, 冯俊涛^{1,2}, 王永红^{*1,2}

(1. 西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西省生物农药工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 致病杆菌属 (*Xenorhabdus*) 细菌是一类存在于昆虫病原线虫肠道内的共生菌, 能够产生多种具有不同生物活性的次级代谢产物, 其中一些化合物具有开发成为新农药的潜力。本文综述了致病杆菌属细菌中可产生抑菌活性物质的代表性菌株, 较为全面地总结了近几十年来在致病杆菌属细菌代谢物中发现的抑菌活性化合物; 对致病杆菌属细菌产生的部分抑菌活性化合物的抑菌作用机理进行了讨论, 认为影响蛋白质合成是某些化合物发挥抑菌作用的重要途径。基于抑菌活性化合物的生物合成途径及相关调控因子, 总结了从致病杆菌属细菌代谢物中发掘新化合物和提高特定活性化合物产量的方法。针对现阶段致病杆菌属细菌及其次级代谢产物研究应用中存在的问题提出了相应的对策, 并简要概述了未来致病杆菌属细菌的研究发展方向。本文可为如何合理有效利用致病杆菌属细菌活性代谢物提供参考, 对于促进致病杆菌属细菌及其次级代谢产物的应用具有重要意义。

关键词: 致病杆菌; 昆虫病原线虫共生菌; 代谢物; 抑菌活性; Xenocoumacin

中图分类号: S476.1; S482.292 文献标志码: A

Advances in antimicrobial substances from genus *Xenorhabdus*

HAN Yunfei¹, TA Yongquan¹, WANG Yong^{1,2}, FENG Juntao^{1,2}, WANG Yonghong^{*1,2}

(1. College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 2. Shaanxi Research Center of Biopesticide Engineering & Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China)

Abstract: *Xenorhabdus* is a kind of symbiotic bacteria living in the intestinal tract of entomopathogenic nematodes and produces a variety of secondary metabolites with different biological activities, some of which have the potential to develop new pesticides. Antimicrobial compounds found in the secondary metabolites from *Xenorhabdus* genus in recent decades and representative strains that produced antimicrobial secondary metabolites were summarized in this paper. The mechanisms of some antimicrobial compounds produced by *Xenorhabdus* were discussed and the inhibition of protein synthesis was an important way for some compounds against microorganisms. The methods of exploring new compounds and improving the yield of specific antimicrobial compounds from secondary metabolites of genus *Xenorhabdus* were summarized based on their biosynthesis pathway and related regulatory factors. The research prospects of *Xenorhabdus* were generalized and some countermeasures

收稿日期: 2021-09-27; 录用日期: 2021-11-04; 网络首发日期: 2021-12-24.

Received: September 27, 2021; Accepted: November 4, 2021; Published online: December 24, 2021.

URL: <https://doi.org/10.16801/j.issn.1008-7303.2021.0192>

<http://www.nyxxb.cn/cn/article/doi/10.16801/j.issn.1008-7303.2021.0192>

基金项目: 国家自然科学基金 (32072474); 国家重点研发计划 (2017YFD0201203).

Funding: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32072474), the National Key Research and Development Program of China (2017YFD0201203).

第一作者 (First author): 韩云飞, hanyunfei@nwfau.edu.cn. *通信作者 (Corresponding author): 王永红, yhwang@nwfau.edu.cn.

The authors declare that they have no competing interests.



were put forward in this article in view of the current problems in the research and application of *Xenorhabdus* and its secondary metabolites. This paper provides a reference for the reasonable and effective application of antimicrobial secondary metabolites of *Xenorhabdus*, which is of great significance in promoting the utilization of *Xenorhabdus* and its secondary metabolites.

Keywords: *Xenorhabdus*; symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes; metabolite; antimicrobial activity; Xenocoumacin

农药是重要的农业生产资料之一，在保障粮食安全中发挥着重要作用，但其不合理使用也带来了一系列问题，例如杀菌剂过量使用引起的病原菌耐药性增强等。为了治理病原菌耐药性的问题，新型杀菌剂的研究与开发显得尤为重要。自然界中几乎所有的微生物都能够产生抑菌物质，这既是一种生存策略，也是一种防御机制^[1]，因此从微生物代谢产物中寻找具有抑菌活性的化合物是一种可行的方法。目前我国已经研发成功包括多效霉素、多抗霉素、公主岭霉素、井冈霉素、春雷霉素、申嗟霉素、中生菌素及宁南霉素等在内的多种农用抗生素，其中由放线菌产生的春雷霉素以及由链霉菌产生的中生菌素、井冈霉素等抗生素已被广泛用于农作物病害的防治^[2-3]。近年研究发现，摩根菌科 (*Morganellaceae*) 的致病杆菌属 (*Xenorhabdus*) 和发光杆菌属 (*Photorhabdus*) 细菌能够产生多种具有不同活性的次级代谢产物，这些次级代谢产物分别具有抑菌^[4]、杀虫^[5]、杀螨^[6-7]、杀线虫^[8]、抗溃疡^[4] 以及抗肿瘤^[9] 等活性。本文主要围绕致病杆菌属细菌代谢产物抑制真菌、细菌和卵菌的活性展开，综述了可产生抑菌活性物质的代表性菌株、所产生活性化合物的种类、活性化合物的抑菌作用机理、抑菌活性化合物的生物合成与调控、提高抑菌活性的方法、致病杆菌属细菌的实际应用及如何应对现阶段存在的问题等方面的内容，以期为促进致病杆菌属细菌在农业中的应用提供参考。

1 致病杆菌属细菌研究概况

致病杆菌属细菌是一类存在于昆虫病原线虫肠道内的共生菌，与斯氏线虫属 (*Steinernema*) 的线虫共生，其模式菌株为嗜线虫致病杆菌 *Xenorhabdus nematophila*^[10]。昆虫病原线虫共生菌存在于侵染期线虫的肠道中，可跟随线虫进入昆虫体内，在昆虫的血腔中大量繁殖，产生毒素和抑菌物质，与线虫共同作用杀死寄主昆虫，待寄

主死后继续取食，直至营养耗尽，再跟随线虫寻找下一寄主^[11]。嗜线虫致病杆菌具有两种生活形态，在添加了溴百里酚蓝和氯化三苯基四氮唑的营养琼脂培养基 (NBTA) 上，初生型菌株呈绿色 (图 1)，次生型呈近似暗红色，其具体颜色和培养条件存在一定的关系；初生型菌株能够产生具有抑菌活性的次级代谢产物，而次生型菌株则不能。

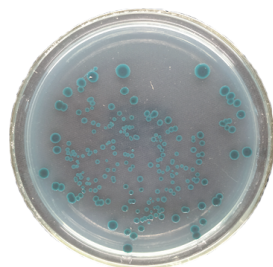


图 1 嗜线虫致病杆菌 YL001 初生型菌株在 NBTA 培养基上的形态特征

Fig. 1 Characteristics of primary phenotypic *X. nematophila* YL001 on NBTA medium

近几十年来，关于致病杆菌属细菌抑菌活性的研究备受瞩目。美国、德国、加拿大、澳大利亚、南非及土耳其等相继开展了一系列研究，其中，美国、加拿大和澳大利亚较早开始了其代谢产物抑菌活性的研究，德国主要致力于相关代谢物的生物合成及调控，南非和土耳其的研究涉及代谢物的分离与活性。国内则主要有西北农林科技大学、中国农业科学院、沈阳农业大学和河北农业大学等单位开展了相关研究。其中，中国农业科学院是国内最早进行昆虫病原线虫共生菌相关活性研究的单位，成功分离到了一些高活性的化合物，并初步探索了其抗细菌的作用机理^[12-14]；西北农林科技大学较为系统地分离了嗜线虫致病杆菌的次级代谢产物，在一定程度上探索了次级代谢产物的抑菌作用机理，初步研究了相关代谢物的调控，并探索了发酵液的应用^[15-19]；沈阳农业大学近些年开始大量分离昆虫病原线虫共生菌，并进行了代谢产物的分离研究^[20-23]；河北农业大学主要研究了致病杆菌代谢物的杀虫作用，对其

抑菌活性也有所涉及^[24-25]；南开大学近年主要探索了利用致病杆菌代谢物防治土传病害的问题^[26]。

2 致病杆菌属细菌代谢物的抑菌活性

2.1 可产生抑菌活性物质的致病杆菌属细菌

多种昆虫病原线虫共生菌都具有产生抑菌活性物质的能力。在已报道的文献(见表1)中，

主要有伯氏致病杆菌 *X. bovienii*、*X. budapestensis*、*X. cabanillasii*、*X. doucetiae*、*X. khoisanae*、嗜线虫致病杆菌 *X. nematophila*、*X. romanii* 和 *X. szentirmaii* 这8种细菌的代谢物具有抑菌活性，其抑菌谱包括多种细菌、真菌和卵菌。值得注意的是，致病杆菌属细菌发酵液对卵菌的抑制效果尤为明显，抑菌率显著高于对真菌的。

表1 致病杆菌属细菌发酵液的抑菌活性

Table 1 Antimicrobial activities of the fermentation liquid of genus *Xenorhabdus*

菌株 Strains	菌株发现地 Places of <i>Xenorhabdus</i> discovered	抑菌谱 Bacteriostatic spectrum	文献 References
伯氏致病杆菌 YL002 <i>Xenorhabdus bovienii</i> YL002	中国杨凌 Yangling, China	真菌、细菌、卵菌 Fungi, bacteria, oomycetes	[11]
<i>Xenorhabdus budapestensis</i> C72	中国北京 Beijing, China	真菌 Fungi	[27]
<i>Xenorhabdus cabanillasii</i>	土耳其 Turkey	真菌 Fungi	[28]
<i>Xenorhabdus doucetiae</i> IBSC n15	巴西 Brazil	真菌 Fungi	[29]
<i>Xenorhabdus khoisanae</i> J194	南非 South Africa	细菌 Bacteria	[30]
<i>Xenorhabdus khoisanae</i> SB10	南非 South Africa	真菌、细菌 Fungi, bacteria	[31]
嗜线虫致病杆菌 CB6 <i>Xenorhabdus nematophila</i> CB6	中国北京 Beijing, China	真菌、细菌、卵菌 Fungi, bacteria, oomycetes	[14, 32]
嗜线虫致病杆菌 YL001 <i>Xenorhabdus nematophila</i> YL001	中国杨凌 Yangling, China	真菌、细菌、卵菌 Fungi, bacteria, oomycetes	[11, 17]
<i>Xenorhabdus romanii</i> CER129	巴西 Brazil	真菌 Fungi	[29]
<i>Xenorhabdus</i> sp. strain Q1	澳大利亚 Australia	真菌、细菌 Fungi, bacteria	[4]
<i>Xenorhabdus szentirmaii</i> DSM 16338	阿根廷 Argentina	真菌 Fungi	[33]

2.2 具有抑菌活性的次级代谢产物

致病杆菌属细菌可产生多种具有抑菌活性的次级代谢产物，其中最值得研究的有以下几种化合物(图2和图3)：Xenocoumacin 1 (Xcn1, **1**) 和 PAX 系列抗菌肽，兼具抗卵菌、抗真菌和抗细菌活性；Nematophin (**13**)、Xenorxide 1 (**24**)、Xenorxide 2 (**25**) 和 Xenofuranone B (**62**)，具有抗真菌和抗细菌活性；Xenorhabdin 2 (**15**) 和 Odilorhabdin 衍生物，具有抗细菌活性。

2.2.1 Xenocoumacin 类化合物 Xenocoumacin 类化合物(**1**~**6**)最早是从嗜线虫致病杆菌的代谢物中分离得到的，其主要代表为 Xcn1，Xcn1 含有精氨酸残基和二氢异香豆素结构，Xcn2 (**2**) 碳链的末端不含胍基^[4]。嗜线虫致病杆菌还可通过自身解毒作用分解 Xcn1，在代谢过程中产生抑菌活性低于 Xcn1 的5种新化合物——Xcn2~Xcn6 (**2**~**6**)，通

过改变菌株的培养条件，研究者成功检测到了 Xcn3~Xcn6 (**3**~**6**)^[34]。中国农业科学院是我国最早成功分离得到 Xcn1 的单位，并发现了其优异的抗卵菌活性，Xcn1 对苎麻疫霉 *Phytophthora boehmeria* 和辣椒疫霉 *P. capsici* 的 EC₅₀ 值分别为 0.25 和 2.44 μg/mL^[35]。西北农林科技大学的张淑静^[36]也成功分离到了 Xcn1，并发现了其在防治油菜菌核病中的作用，测得 Xcn1 对油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 的 EC₅₀ 值为 3.0 μg/mL；此外，质量浓度为 10.0 μg/mL 的 Xcn1 对水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*、玉米大斑病菌 *Exserohilum turcicum* 和葡萄灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 的抑制率均能达到 80% 以上^[36]。总之，Xcn1 因其抑菌活性良好，具有开发成为农用杀菌剂的潜力。

2.2.2 吡啶类化合物 从致病杆菌属细菌代谢产物中分离到的一些吡啶类衍生物对多种细菌和

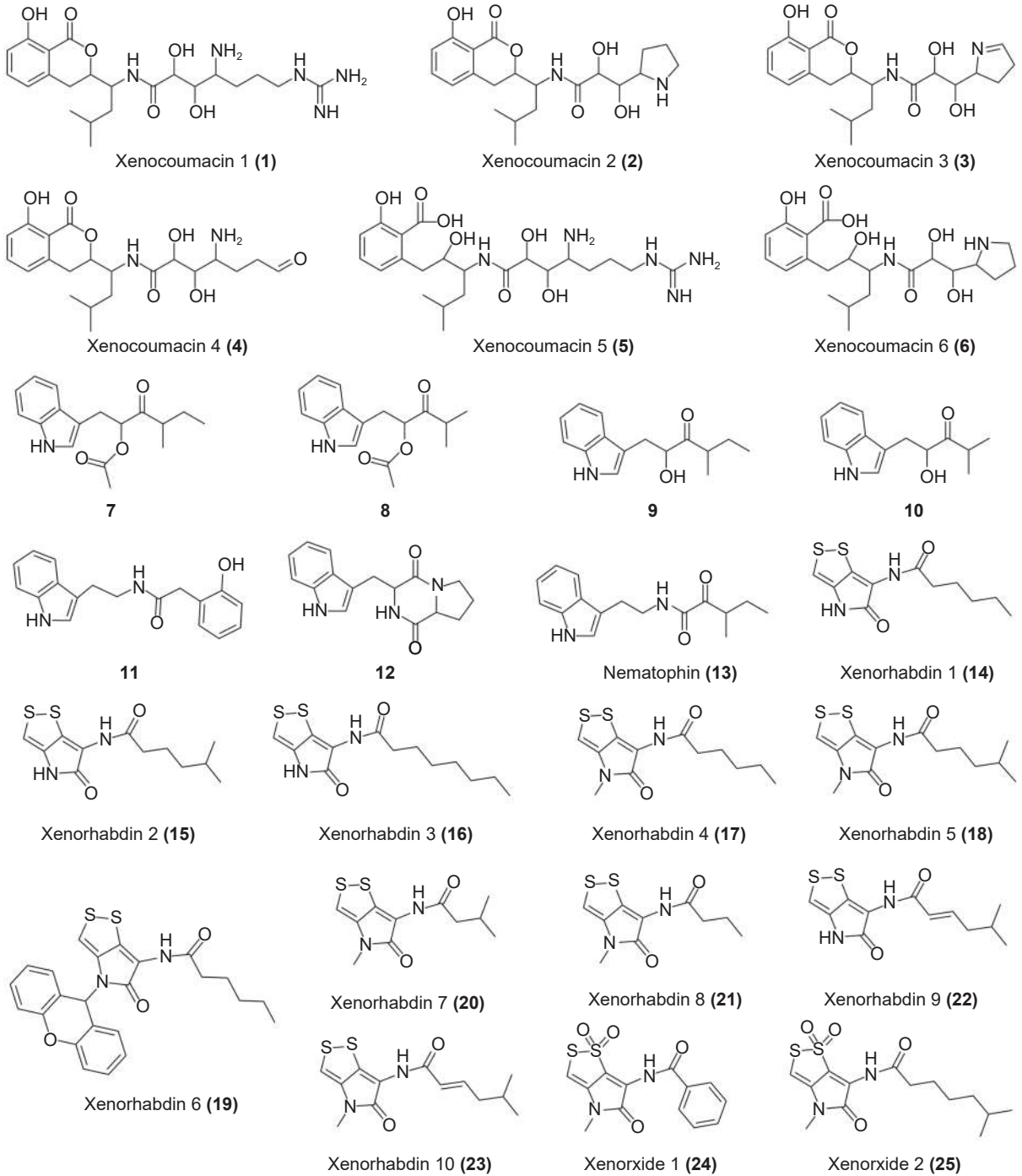


图 2 致病杆菌属细菌产生的抑菌活性化合物 (1~25)

Fig. 2 Antimicrobial compounds (1-25) produced by genus *Xenorhabdus*

真菌具有较好的抑制活性。在伯氏致病杆菌 A2 菌株的发酵液中发现了 4 种吲哚类化合物 (7~10)，其中化合物 7 和 8 对新型隐球菌 *Cryptococcus neoformans* 的最低抑制浓度 (MIC) 值分别为 50 和 25 $\mu\text{g/mL}$ ，化合物 9 和 10 对灰霉病菌的 MIC 值为 12 $\mu\text{g/mL}$ ，化合物 10 对致病疫霉 *Phytophthora infestans* 的 MIC 值为 50 $\mu\text{g/mL}$ ^[37]。李凤麟等^[38]在嗜线虫致病杆菌 SN313 菌株的发酵液中发现了

2 种吲哚类化合物，其中首次发现的化合物 11 对辣椒疫霉的 IC_{50} 值为 11.20 $\mu\text{g/mL}$ ，化合物 12 对番茄灰霉病菌的 IC_{50} 值为 41.58 $\mu\text{g/mL}$ 。Nematophin (NEP, 13) 最早由 Li 等^[39]从嗜线虫致病杆菌 BC1 菌株的代谢产物中分离得到，能够抑制细菌、真菌和卵菌，NEP 对金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 的 MIC 值为 0.75 $\mu\text{g/mL}$ ，对枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*、致病疫霉和灰霉病菌的 MIC 值

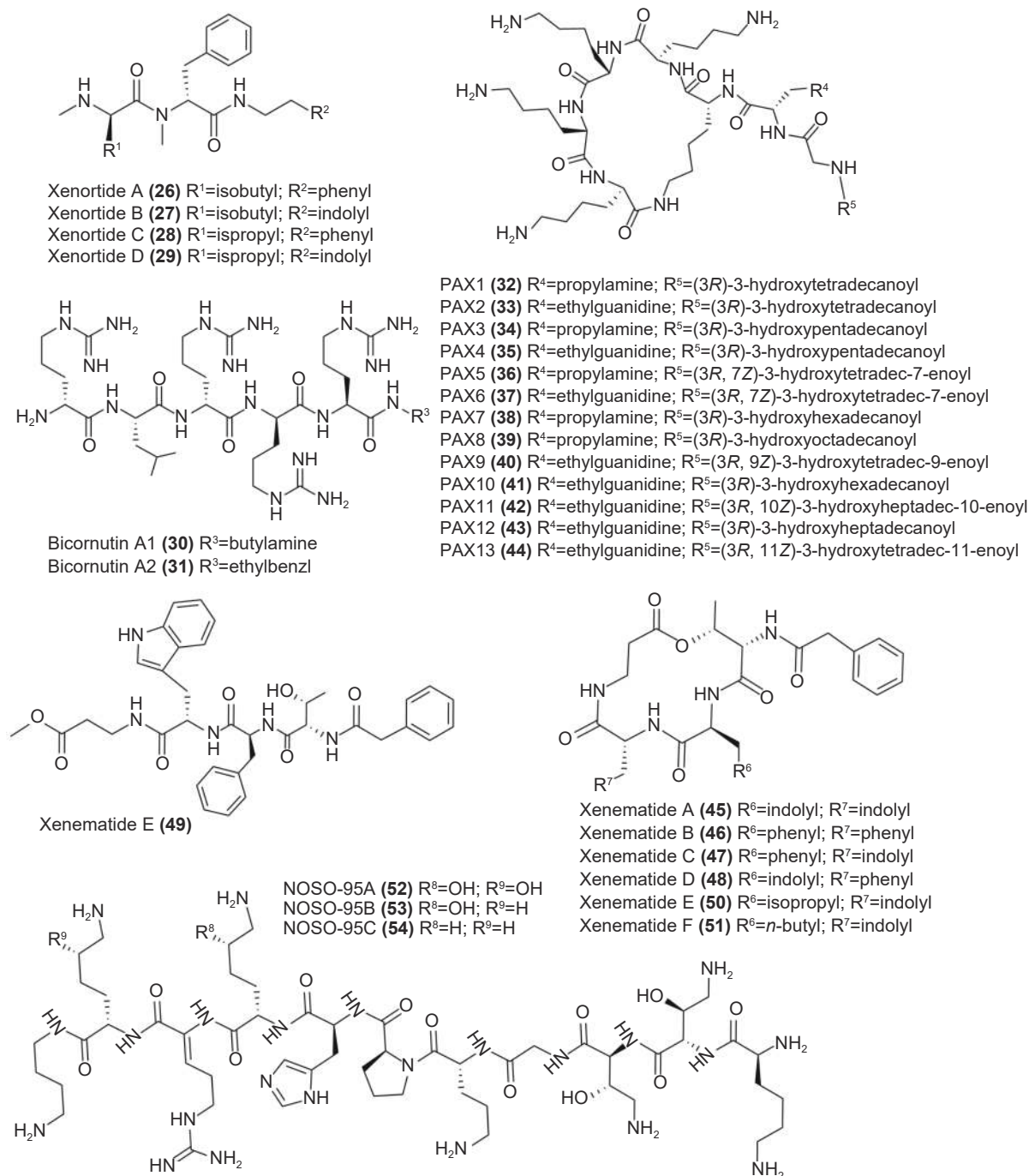


图3 致病杆菌属细菌产生的多肽类抑菌活性化合物 (26~54)

Fig. 3 Polypeptide antimicrobial compounds (26-54) produced by genus *Xenorhabdus*

为 12 $\mu\text{g/mL}$ 。Zhang 等^[17]从嗜线虫致病杆菌 YL001 菌株的代谢产物中也分离得到了 NEP, 并测定了其农用抑菌活性, 发现其对水稻纹枯病菌的 EC_{50} 值为 40.00 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ 的 NEP 对水稻纹枯病的治疗作用防效可达 83.59%, 与多菌灵的防效相当。综上所述, NEP 能够抑制多种病原菌, 具有良好的应用前景。

2.2.3 二硫吡咯类化合物 从致病杆菌属细菌

代谢物中发现的二硫吡咯类化合物主要包括 *Xenorhabdins* 和 *Xenorxides* 两类 (14~25)。在嗜线虫致病杆菌和伯氏致病杆菌的代谢物中都发现了 *Xenorhabdins* (14~23), 且这类化合物都具有抑菌活性。McInerney 等^[40]在嗜线虫致病杆菌和伯氏致病杆菌的代谢物中发现了 *Xenorhabdin* 1~*Xenorhabdin* 6 (14~19), 其中 *Xenorhabdin* 2 (15) 对藤黄微球菌 *Micrococcus luteus*、化脓性链球菌

Streptococcus pyogenes、蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 和金黄色葡萄球菌的 MIC 值分别为 0.156、1.25、3.13 和 20 $\mu\text{g/mL}$ ，且其他几种化合物的抑菌谱与 Xenorhabdin 2 类似。Li 等^[37] 在伯氏致病杆菌 A2 菌株代谢物中首次发现了 Xenorhabdin 7 (**20**) 和 Xenorhabdin 8 (**21**)。Xenorhabdin 9 (**22**) 和 Xenorhabdin 10 (**23**) 则是沈阳农业大学的张文波等^[22] 从伯氏致病杆菌 SN52 菌株代谢产物中发现的新化合物，这两种化合物对枯草芽孢杆菌和蜡状芽孢杆菌的 IC_{50} 值在 10~21 $\mu\text{g/mL}$ 之间。

Chen^[41] 在伯氏致病杆菌的代谢物中发现了 Xenorxide 类化合物 (**24**~**25**)，并发现其具有抗真菌和抗细菌活性。其中，Xenorxide 1 (**24**) 对烟曲霉 *Aspergillus fumigatus* 的 MIC 值为 0.75 $\mu\text{g/mL}$ ，对金黄色葡萄球菌的 MIC 值为 3 $\mu\text{g/mL}$ 。有趣的是，对于在临床上已产生多重抗药性的金黄色葡萄球菌菌株，Xenorxide 1 的 MIC 值反而降低了 4 倍；同样的现象也发生在 Xenorxide 2 (**25**) 中，但 Xenorxide 1 的抑菌效果强于 Xenorxide 2，Xenorxide 2 对烟曲霉的 MIC 值为 1.5 $\mu\text{g/mL}$ ，对金黄色葡萄球菌的 MIC 值为 3 $\mu\text{g/mL}$ ，对于在临床上已产生多重抗药性的金黄色葡萄球菌菌株，其 MIC 值降低了 2~4 倍^[41]。该结果表明，Xenorxides 或许可用于治理已产生抗药性的菌株。烟曲霉可引起食品腐烂，导致人和其他动物患病^[42]，而 Xenorxides 对烟曲霉效果较好，因此可考虑探索其在食品防腐中的应用。总之，无论在医学还是农业领域，致病杆菌属细菌产生的含硫吡咯烷类代谢物都具有一定的应用价值与开发潜力。

2.2.4 多肽类化合物 由致病杆菌属细菌产生的多肽类抗生素主要有 5 大类，分别是 Odilorhabdins (ODLs)、Xenematides、Bicornutins、Peptide-antimicrobial-Xenorhabdus (PAXs) 和 Xenortides。多肽类抗生素的相对分子质量较大，如 Xenematides 和 Bicornutins 的相对分子质量在 600~1 000 之间，ODLs 和 PAXs 在 1 000 以上。

Xenortide A (**26**) 和 Xenortide B (**27**) 最早由 Lang 等^[43] 发现于嗜线虫致病杆菌的代谢物中，而 Reimer 等^[44] 在嗜线虫致病杆菌的代谢物中发现了 Xenortide C (**28**) 和 Xenortide D (**29**)。Xenortides 的 4 个化合物都具有抗微生物活性。

Böszörményi 等^[45] 发现了 Bicornutins (**30**~**31**)

的抗卵菌活性，在 25 $\mu\text{g/mL}$ 时，Bicornutins 化合物的混合物几乎可完全抑制烟草疫霉 *Phytophthora nicotianae* 的孢子萌发。

PAXs 同时兼具抗真菌、抗卵菌和抗细菌活性。Gualtieri 等^[46] 从嗜线虫致病杆菌 F1 菌株的代谢物中发现了 PAX1~PAX5 (**32**~**36**)，在质量浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 条件下，PAX1~PAX3 (**32**~**34**) 对枝孢霉属 *Cladosporium* sp. 和黄色镰孢菌 *Fusarium culmorum* 的抑制率均能达到 90% 以上，20 $\mu\text{g/mL}$ 的 PAX2 (**33**) 对疫霉 *Phytophthora myc* 的抑制率可达 81%；PAX1~PAX3 对尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 的抑制活性最强，其 MIC 值为 1.56 $\mu\text{g/mL}$ ，PAX4 (**35**) 对表皮葡萄球菌 *Staphylococcus epidermidis* 的 MIC 值为 12.5 $\mu\text{g/mL}$ ，PAX5 (**36**) 对大肠埃希菌和表皮葡萄球菌的 MIC 值为 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 。Fuchs 等^[47] 在嗜线虫致病杆菌 HGB081 菌株的代谢产物中发现了 13 个 PAXs 化合物 (**32**~**44**)。Dreyer 等^[31] 首次在致病杆菌属的 *X. khoisanae* SB10 菌株代谢物中发现了 PAXs 化合物，其中 PAX1 对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和假丝酵母菌 *Candida albicans* 均具有抑制作用。

目前已发现 7 种 Xenematides 化合物 (**45**~**51**)，这些化合物兼具医用和农用抑菌活性。美国哈佛大学医学院最早在嗜线虫致病杆菌 ATCC19061 菌株的无细胞发酵液中发现 Xenematide A (**45**)，之后又相继发现了 Xenematide B (**46**)、Xenematide C (**47**) 和 Xenematide D (**48**)^[48-49]。卢星忠等^[50] 发现了 Xenematide E (**49**)，并测定了 Xenematide C 和 Xenematide E 对植物病原真菌的抑制作用，测得 Xenematide C 和 Xenematide E 对番茄灰霉病菌的 EC_{50} 值分别为 22.71 和 85.31 $\mu\text{g/mL}$ 。Xi 等^[51] 发现了 Xenematide F (**50**) 和 Xenematide G (**51**)，并测定了其抑菌活性，其中 Xenematide B 对枯草芽孢杆菌的 MIC 值为 64 $\mu\text{g/mL}$ ，Xenematide F 对绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa* 和肠炎沙门菌 *Salmonella enteritidis* 的 MIC 值分别为 32 和 64 $\mu\text{g/mL}$ ，Xenematide G 的抑菌活性最好，对枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌的 MIC 值为 16 $\mu\text{g/mL}$ 。

Odilorhabdin 类 (ODLs) 化合物最早是由美国学者发现的。Pantel 等^[52] 在嗜线虫致病杆菌 CNCM I-4530 菌株的代谢物中发现了一类新的多肽类抗生素 (**52**~**54**)，分别将其命名为 NOSO-95A (**52**)、NOSO-95B (**53**) 和 NOSO-95C (**54**)，这类抗

生素能够抑制革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌, 也包括已对碳青霉烯类抗生素产生抗性的肠杆菌科细菌。Pantel 等^[52]研究发现, ODLs 的衍生物 NOSO-95179 对肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumoniae* 的抑制活性最强, 其 MIC 值为 4 $\mu\text{g/mL}$, 对粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* 和大肠埃希菌 *Escherichia coli* 的 MIC 值为 8 $\mu\text{g/mL}$ ^[52]。ODLs 及其衍生物抑菌活性好且对抗药性菌株有效, 在医学领域有着较好的开发应用前景, 但有关 ODLs 的农用抑菌活性目前还未见明确报道。

综上所述, 多肽类化合物种类较多, 结构变化多样, 大多兼具农用和医用活性, 其中 PAXs 的农用活性较为突出, ODLs 的医用潜力较大。

2.2.5 酰胺类化合物 因其长链上含有酰胺结构, 有学者也将吡啶类衍生物 NEP 归为酰胺类化合物。刘霞^[53]从嗜线虫致病杆菌 YL001 的发酵液

中发现了几种酰胺类化合物 (55~57, 图 4), 并发现这几种化合物对番茄灰霉病菌均有一定的抑制活性。Zhang 等^[17]在嗜线虫致病杆菌 YL001 菌株发酵液的石油醚萃取物中发现了化合物 58, 其在 50 $\mu\text{g/mL}$ 下对玉米大斑病菌的抑制率为 67.70%^[17]; 同时在该菌株发酵液的乙酸乙酯萃取物中还发现了化合物 59, 但该化合物的抑菌活性较弱。张春珍等^[23]在伯氏致病杆菌 SN269 菌株的发酵液中发现了化合物 Madumycin II (60), 该化合物具有抗真菌活性, 对番茄灰霉病菌、辣椒疫霉及玉米大斑病菌的 EC_{50} 值分别为 35.40、35.32 和 47.43 $\mu\text{g/mL}$ 。酰胺类化合物结构多样, 相对分子质量较小, 便于化学合成, 因此对这些具有抑菌活性的天然产物进行合理的结构改造将有助于拓宽其应用范围。

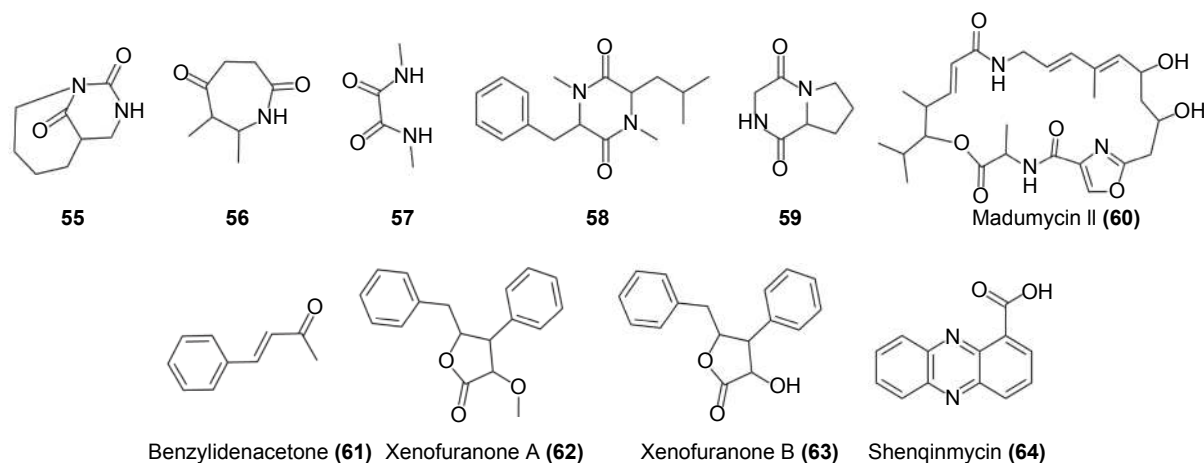


图 4 致病杆菌属细菌产生的酰胺类及其他抑菌活性化合物 (55~64)

Fig. 4 Amides and others antimicrobial compounds (55-64) produced by genus *Xenorhabdus*

2.2.6 其他类型化合物 Ji 等^[54]在嗜线虫致病杆菌代谢物中发现的 Benzylidenacetone (61) 具有一定的抑菌活性, 能够抑制冠瘿病菌 *Agrobacterium vitis*、胡萝卜软腐病菌 *Pectobacterium carotovorum* 及茄科青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* 等多种植物病原细菌, 但在质量浓度为链霉素 4 倍的情况下, 其抑菌活性仍低于对照链霉素, 因此该化合物在农业领域的应用前景不大。

致病杆菌属细菌还能够产生具呋喃酮结构的抑菌活性化合物, 这类化合物最早由 Brachmann 等^[55]从 *X. szentirmaii* 菌株的代谢物中分离得到。Xenofuranone A (62) 和 Xenofuranone B (63) 对铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*、粪肠球菌 *Enterococcus faecalis*、假丝酵母菌和大肠杆菌均

具有一定的抑制活性^[55-56]。此外, Xenofuranone B 对金黄色葡萄球菌和假丝酵母菌的 MIC 值分别为 64 和 2 $\mu\text{g/mL}$ ^[57]。针对 Xenofuranone A 和 Xenofuranone B 的农用活性目前暂无相关报道, 研究者可尝试测定其对植物病原菌的抑制作用。因其对假丝酵母菌的抑制活性较好, Xenofuranone B 具有开发成为医药的潜力。

2018 年, 西北农林科技大学的刘启^[58]和沈阳农业大学的李凤麟等^[38]分别在嗜线虫致病杆菌 YL001 菌株和 SN313 菌株的发酵液中发现了申喹毒素 (64)。传统的申喹毒素是从假单胞菌属 (*Pseudomonads*) 的代谢物中分离得到的^[59], 嗜线虫致病杆菌为天然申喹毒素生产提供了新的来源。

综上, 致病杆菌属细菌能够产生多种具有抑

菌活性的次级代谢产物, 其中研究最多的是嗜线虫致病杆菌, 其次是伯氏致病杆菌。一些抑菌活性化合物(如 *Xenorhabdins*) 在嗜线虫致病杆菌和伯氏致病杆菌的代谢物中都能够被发现, 这是由于这两种菌的生物学关系较近, 由此推测其他化合物也应当可以在生物学关系相近的菌株中被发现, 但还需进一步研究。关于从细菌的代谢物中分离获取单一化合物目前还没有统一的方法, 获得所需化合物存在一定的难度, 因此其他人不易开展相关研究, 一般都是某个课题组发现一种或几种活性化合物后, 团队自己再进行后续研究。仅少数化合物如 *Xcn1* 等, 由于抑菌活性好、发现时间较早、抑菌谱较广等原因研究相对较多。总之, 新活性与新化合物的发现依然极为重要。

3 抑菌活性化合物的作用机理

致病杆菌属细菌代谢产物中具有抑菌活性的化合物种类较多, 其作用机理也存在差异。相关研究表明, 一些来源于致病杆菌属细菌的天然产物能够抑制蛋白质的合成, 但不同化合物抑制蛋白质合成过程中的具体步骤存在些许差异。如 *Xcn1* 可能是通过与精氨酰 tRNA 结合来抑制肽链的延伸, ODLs 衍生物 NOSO-95179 通过增加 tRNA 与核糖体的亲和力而抑制翻译过程的起始阶段, 而 *Madumycin II* 则通过阻止 tRNA 的 CCA 末端与肽基转移酶中心结合而抑制第一个肽键的形成。

3.1 *Xenocoumacin 1* 的作用机理

现有研究表明, *Xenocoumacin* 类化合物中以 *Xcn1* 的抑菌活性最强, 且其作用机理主要在影响蛋白质合成方面。*Xcn1* 对疫霉 (*Phytophthora*) 的活性最强, 可影响辣椒疫霉孢子囊形成、游动孢子萌发和菌丝生长, 并可引起菌丝发生明显的形态变化^[60]。Zhou 等^[14] 研究发现, *Xcn1* 可引起与氨基酸合成、物质转运及氨酰 tRNA 合成等相关基因的下调。张淑静^[36] 发现, *Xcn1* 可引起油菜菌核病菌的菌丝畸形及细胞内部结构紊乱, 通过分子对接发现, *Xcn1* 能够与精氨酰-tRNA 合成酶上的 4 个氨基酸残基形成氢键, 从而抑制精氨酰-tRNA 合成酶的活性。灭瘟素 (*Blasticidin S*) 具有与 *Xcn1* 相似的长链结构, 且二者长链末端都含有胍基, 其作用机理在于通过抑制携带多肽的 tRNA 的水解, 使得新合成的肽链片段无法释放, 即抑制翻译过程的终止阶段^[61-62]。Polikanov

等^[63] 在短小芽孢杆菌 *Bacillus pumilus* 中发现的 *Amicoumacin A* (AMI) 与 *Xcn1* 的结构也极为相似, 其能够结合到核糖体上, 通过稳定 mRNA-核糖体的相互作用而影响翻译的延伸过程。Zumbrunn 等^[64] 指出, *Xcn1* 的作用机理和 AMI 相同, 但目前尚无法充分证明, 因为 AMI 的长链结构可与 16S rRNA 和 mRNA 结合形成氢键, 而 *Xcn1* 的碳链比 AMI 长, 可能会影响其进入 16S rRNA 和 mRNA 之间的空腔中, 此外, 二者的相同结构苯并吡喃环在抑制翻译的过程并未显示出作用。综上, *Xcn1* 的长链结构和胍基结构可能在影响蛋白质翻译的过程中发挥着重要作用, 但 *Xcn1* 具体如何影响蛋白质的翻译仍需进一步确定。

3.2 *Nematophin* 的作用机理

Zhang 等^[17] 研究发现, NEP 能够引起水稻纹枯病菌菌丝表面皱缩、菌丝体畸形、细胞器显著受损以及线粒体数量明显减少, 此外还能够显著减少水稻纹枯病菌菌核的产生, 但上述影响并无剂量效应。现有研究仅显示了 NEP 抑菌作用的表现机理, 其分子机理仍需进一步研究。

3.3 *Odilorhabdin* 类化合物的作用机理

Odilorhabdin 类 (ODLs) 化合物主要通过作用于核糖体而抑制蛋白质的合成, 且与四环素和链霉素的作用机理显著不同。Pantel 等^[52] 通过冷冻电镜研究发现, ODLs 衍生物 NOSO-95179 作用于核糖体解码中心的 A 位点, 并与 16S rRNA 残基形成多重氢键, 增加氨酰-tRNA 与核糖体的亲和力, 使核糖体不能释放, 从而抑制翻译过程的起始阶段。

3.4 *Madumycin II* 的作用机理

Madumycin II 可结合到 70S 核糖体的大亚基上, 迫使肽基转移酶中心进入非活性状态, 进而抑制肽键的形成。Osterman 等^[65] 研究发现, 在 *Madumycin II* 浓度为 3.2 $\mu\text{mol/L}$ 条件下, 甲硫氨酸-苯丙氨酸二肽的形成率降低至 40%; 当该化合物浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 甲硫氨酸-苯丙氨酸二肽的形成率仅为 10% 左右。在肽键形成的第一周期之前, *Madumycin II* 即可结合到核糖体上, 其虽然不会影响 tRNA 与核糖体 A 和 P 位点的结合, 但能够阻止 tRNA 的 CCA 末端正确定位到肽基转移酶中, 导致 tRNA 携带的甲硫氨酸无法与下一个氨基酸之间形成肽键, 使蛋白质无法正常合成^[65]。

4 抑菌活性化合物的生物合成与调控

致病杆菌属细菌的次级代谢产物中, 关于 Xcn1、NEP、OLDs 和 Xenematides 的生物合成研究较多, 由于申喙霉素最早不是在致病杆菌代谢物中发现的, 故本文不再涉及。Xcn1 的结构较为复杂, 且是通过先生成无活性的前体物质再裂解为 Xcn1 的过程得到的, 故有别于其他活性化合物。上述几种化合物中, 关于 Xcn1 代谢调控方面的研究较多, 对 NEP、OLDs 和 Xenematides 代谢调控的研究较少, 其中 NEP 的生物合成途径较为简单, 因此 OLDs 和 Xenematides 的代谢调控将是一个重要的研究方向。近年的研究揭示了一种新型调控因子在天然产物生物合成中的作用, 认为一种依赖于调控蛋白 Hfq 的名为 ArcZ 的小 RNA 是产生某些特定天然产物所必需的^[66]。这类新型调控因子的发现将有助于提高某些天然产物的含量。

4.1 Xenocoumacin 类化合物的生物合成与调控

非核糖体肽合成酶 (NRPS) 和聚酮合成酶 (PKS) 参与了 Xcn1 的生物合成。Xcn1 的生物合成与转化共涉及 14 个基因, 分别为 *xcnA*、*xcnB*、*xcnC*、*xcnD*、*xcnE*、*xcnF*、*xcnG*、*xcnH*、*xcnI*、*xcnJ*、*xcnK*、*xcnL*、*xcnM* 和 *xcnN*, 其中 *xcnA*~*xcnL* 基因负责 Xcn1 的生物合成, *xcnM* 和 *xcnN* 负责 Xcn1 向 Xcn2 的转化^[67]。XcnA 和 XcnK 为非核糖体肽合成酶, XcnF、XcnH 和 XcnL 为聚酮合酶^[68]。嗜线虫致病杆菌在细胞质中先按照 XcnA→XcnH→XcnK→XcnL→XcnF 的催化顺序合成没有活性的前体物质, 随后 XcnG 催化裂解 Xcn1 前体上酰基化的天冬酰胺残基而形成有活性的 Xcn1, 最后被 ABC 转运蛋白转运到细胞外^[69]。

具有抑菌活性的 Xcn1 对嗜线虫致病杆菌自身也有一定的毒性, 若其积累过高会引起 *xcnM* 和 *xcnN* 的大量表达, 导致 Xcn1 转化为活性较低的 Xcn2, 且 Xcn1 和 Xcn2 还可以分别转化为 Xcn5 和 Xcn6^[34]。当环境中碱性过强时, Xcn1 中呈弱碱性的长链胍基会被分解, 因此, 发酵液的 pH 值对 Xcn1 的代谢调控具有很重要的影响。研究显示, 在接近中性的条件下, 嗜线虫致病杆菌发酵液的抑菌活性将得到增强, 其菌株生长和产生抑菌活性物质的最适 pH 值在 6.5~7.5 之间^[70]。在 5.5~8.5 范围内, 当 pH 值逐渐升高时, *xcnA*~*xcnL* 基因的表达量随之升高, 从而促进 Xcn1 的

生物合成, 使得 Xcn1 的产量得到较大幅度提升^[5]。此外, 李忞珍等^[71]研究发现, 低浓度的 NaCl 有利于嗜线虫致病杆菌 YL001 菌株的生长以及 Xcn1 的生物合成。

双组分调控系统中的 OmpR 和 CpxR 可负向调控 Xcn1 的合成, 敲除 *cpxR* 基因后, 嗜线虫致病杆菌发酵液的抑菌活性可提高 1.4~1.7 倍^[18], 而在 *ompR* 基因缺失的突变体中, *xcnA*~*xcnL* 基因的表达量上调, 抑菌活性得到提高^[67]。全局转录调控因子 Lrp 和 FliZ 可正向调控 Xcn1 的生物合成, LeuO 则负向调控 Xcn1 的生物合成^[72-73]。然而, 通过操控这几种调控因子虽然能够显著提高 Xcn1 的产量, 但仍无法达到大量应用的要求, 因此还需要继续深入研究 Xcn1 的调控机制。

4.2 Nematophin 的生物合成

NEP 的化学结构较为简单, 通过异源表达的方式已经明确其生物合成途径, NEP 的生物合成是由一种名为 RdpD 的非核糖体肽合成酶完成的, 不存在多个重复的模块^[74]。目前尚未见关于调控 NEP 生物合成的相关报道。因其结构较为简单, Wesche 等^[75]采用化学方法合成了 NEP 及其类似物, 但 NEP 衍生物的抑菌活性相比母体而言有所降低。此外, Zhang 等^[17]发现, 化学合成所得同时含有两种构型的 NEP 和从发酵液中分离得到的 NEP 在抑菌活性上并无显著性差异, 这也说明了天然产物 NEP 可能是两种构型的混合物。

4.3 Odilorhabdin 类化合物的生物合成

Odilorhabdin 类化合物的生物合成由 *odl1*、*odl2*、*odl3* 和 *odl4* 4 个编码基因控制, 含有 m1~m10 共 10 个模块, 包含有缩合结构域 (C)、腺苷酰化结构域 (A) 和肽酰载体蛋白 (T), 在 m10 模块的后面存在一个硫酯酶结构域 (TE), 该结构域负责终止肽链的延伸^[52]。

4.4 Xenematide 类化合物的生物合成

非核糖体肽合成酶负责 Xenematide 类化合物的生物合成, 与 OLDs 的生物合成相比, Xenematide 类化合物由 4 个 CAT 模块组成, 并在最末端含有一个 TE 模块^[49]。

5 存在的问题与对策

5.1 如何提高杀菌活性以及活性化合物的产量

尽管致病杆菌属细菌的代谢物中包含多种抑菌活性较好的化合物, 但产率较低仍是限制其进

一步开发利用的重要因素。为促进其更好地应用,一方面可以采用化学方法合成这些活性化合物,另一方面就是采取适当的策略以提高菌株代谢物中活性化合物的产量。相关策略包括发酵工艺优化、操控调控因子、操控启动子及操控关键酶等手段。

采用化学合成的方法合成一些天然产物及其相关衍生物,能够提高这些天然产物的应用潜力,但其衍生物并非总能提高抑菌活性。例如,OLDs的衍生物中出现了活性更高的化合物^[52],申喹霉素的衍生物中也出现了一些高活性化合物^[76],但Xcn1的多种衍生物的抑菌活性却均不如母体^[64],NEP衍生物的抑菌活性也不如母体^[75]。

菌株类型、营养物质及环境条件等都会影响微生物代谢物的种类和含量,因此通过发酵工艺的优化能够提高一些抑菌活性物质的产量。NEP的产量与菌株种类有关,嗜线虫致病杆菌BC1菌株的NEP产量显著高于ATCC19061菌株和D1菌株^[39];Xcn1的产量也与菌株的种类有关,比如嗜线虫致病杆菌All菌株的Xcn1产量明显高于YL001菌株^[19]。此外,Xcn1和NEP都能在48 h时达到最高产量,并在后续表现出产量下降趋势^[19, 39]。张易等^[77]采用紫外、微波处理等方法对嗜线虫致病杆菌CB6菌株进行诱变,筛选到了能够提高Xcn1产量的菌株,但提高量只有10%左右。魏明敏^[78]通过对嗜线虫致病杆菌CB6菌株的发酵过程进行优化,将发酵液中Xcn1的产量从146 $\mu\text{g/mL}$ 提高到了312 $\mu\text{g/mL}$,但由于该研究中是通过建立抑菌圈大小与浓度关系的标准曲线来评价发酵液中Xcn1的含量,试验误差较大,因此其结果的有效性仍需进一步评价。Dong等^[32]采用原位产物转移的办法提高Xcn1的产量,该方法最大优势在于减少了Xcn1的代谢降解。该研究与魏明敏^[78]采用的是同一菌株,但是Xcn1的产量并未达到魏明敏研究中所提及的产量,因此,以抑菌圈大小评价化合物含量的方法并不够精确。高江涛^[19]对嗜线虫致病杆菌YL001菌株的发酵过程进行了优化,发酵液中Xcn1的产量最高可达170 $\mu\text{g/mL}$ 。该研究采用高效液相色谱法检测Xcn1的含量,是检测单一化合物含量的一种较为可靠的方法,因此其结果更为可靠。以嗜线虫致病杆菌YL001菌株为研究对象,陕西省生物农药工程技术研究中心进行了多项相关研究,发现了不同培养基、pH值、

渗透压、通氧模式及其他发酵条件对抑菌活性物质产量的影响^[15, 71, 79-81],但是,这些方法对化合物产量的提高仍然是有限的,目前来看并不能达到生产应用所需要的水平。

现代分子生物学技术的发展为提高天然产物的产量提供了可能,基因敲除、异源表达、过表达、启动子交换与激活等各种遗传操控手段均可用于提高微生物的一些特定代谢物的产量。定向敲除负调控基因可以提高微生物代谢物的产量。在嗜线虫致病杆菌YL001菌株中,双组分调控系统CpxA/CpxR中的CpxR能够负调控 $xcnA\sim xcnL$ 基因,敲除 $cpxR$ 基因后,Xcn1的产量可提高至3倍以上^[18]。双组分调控因子OmpR和全局调节因子LeuO负调控Xcn1的生物合成,而全局调节因子FliZ和Lrp正调控Xcn1的生物合成^[72-73]。因此,如果能将几个负调控基因敲除,并使正调控基因过表达,则Xcn1的产量很可能会得到较大的提升。Liu等^[82]将Holrhizin A和Rhizoxins在短叶石勒菌*Schlegelella brevitalea*中进行异源表达后,其产量得到了显著的提高。此外,将嗜线虫致病杆菌的 lrp 基因采用阿拉伯糖诱导型启动子过表达后发现,Xcn1、Xenematide A和Rhabdopeptide 1等几个化合物的产量都得到了显著的提高^[83]。启动子激活的方法可用于定向生产某种代谢产物,该方法省去了大量的纯化步骤,减少了分离过程中化合物的损耗,因此可视为提高特定代谢物产量的一种有效的方法^[83]。

此外,酶工程学和合成生物学的发展为提高特定天然产物的产量提供了新方法。Bozhüyük等^[84]在NRPS的缩合结构域中发现了一种交换单元缩合结构域(XUC),该结构域能够产生高含量的非核糖体肽,且比化学合成的方法更加环保,其中一些人造肽的含量可达到280 mg/L。Liu等^[82]通过改造底盘菌株,发现了一批能够提高异源表达时天然产物相对产量的高效底盘菌株,例如在短叶石勒菌的一些突变株中,Rhizomide A和Icosalise A1等几种化合物的产量显著提高。因此,将致病杆菌属细菌代谢物中高活性化合物的生物合成基因簇在短叶石勒菌中进行表达,也是提高抑菌活性化合物产量的一种可行的方法。

5.2 发掘新化合物

微生物产生的代谢产物多种多样,我们不一定能够分离出所有的活性物质,因此,如何发掘

新化合物依然是嗜线虫致病杆菌研究中存在的问题。除了传统的分离手段外,一些新技术,如微生物共培养、异源表达、基因敲除、改造启动子以及改造关键酶等也可用于协助发掘新的致病杆菌活性代谢产物。

微生物共培养技术可用于发掘新的微生物次级代谢产物。跨物种共培养系统创造了接近自然环境的状态,促进了共培养微生物之间的相互作用,从而有可能激活一些天然产物的生物合成^[85]。采用共培养技术,在海洋微生物的代谢物中已经发现了多种新化合物,对一些真菌也能通过模块化共培养工程发现新的天然产物^[86-87]。将曲霉 *Aspergillus sydowii* 和枯草芽孢杆菌共培养,目前已发现 25 种新代谢物,其中有 4 种是新化合物^[88]。因此,对致病杆菌属的细菌也可考虑采用共培养技术来促进新型天然产物的发现。

将特定基因簇进行异源表达也能够发现新的化合物,这一方法已在致病杆菌属细菌天然产物发掘中得到应用。通过将抗菌肽 *Xenortide* 的生物合成基因簇 *kj12ABC* 异源表达至大肠杆菌中,发现了 7 种含有甲硫氨酸的新型肽类化合物,且这类新化合物表现出了与原有化合物不同的生物活性^[89-90]。Crawford 等^[91] 已成功将嗜线虫致病杆菌产生的 *Rhabduscin* 在大肠埃希菌中进行表达,致病杆菌属细菌产生的其他天然产物也可参照此方法进行新化合物的发掘。

挖掘隐藏的生物合成基因簇有助于新化合物的发现。Liu 等^[92] 通过基因组挖掘和异源表达的方法,发现了一系列结构新颖的大环内酯类化合物。Liu 等^[82] 将几丁质单胞菌 *Chitinimonas koreensis* 中不表达的生物合成基因簇 *chm* 在短叶石勒菌突变株中异源表达,发现了一系列新型天然产物 *chitinimides A~chitinimides H*。通过基因组分析发现,嗜线虫致病杆菌 YL001 菌株含有多种天然产物的生物合成基因簇,但是目前并不能分离到相对应的所有化合物^[36],而将这些生物合成基因簇在短叶石勒菌突变株中异源表达,或许能发现一些新的化合物。

过表达某些基因也可促进新化合物的发现。将嗜线虫致病杆菌的 *leuO* 基因在 *X. szentirmaii* 菌株中过表达后,不仅发现了一些已知结构但之前未被发现的化合物,还发现了一些具有新结构的化合物^[72]。此外,定向敲除某个基因也可能得

到新的化合物。将构巢曲霉 *Aspergillus nidulans* 中全局调节因子 *LaeB* 的基因敲除后,发现了 8 种之前在其代谢物中未发现过的化合物,其中 4 种是新化合物^[93]。

插入启动子激活沉默的基因簇也可得到一些之前未被发现的代谢物。目前这一方法已在唐菖蒲伯克霍尔德菌 *Burkholderia gladioli* 中得到应用,通过激活其 *bgdd* 和 *hgdd* 基因簇,发现了一些新的脂肽类化合物^[94]。启动子激活技术也可用于帮助发掘新化合物,例如缺失 *hfq* 基因的 *X. szentirmaii* 菌株本身不能产生任何已知的天然产物,但使用阿拉伯糖诱导型启动子激活 *hfq* 突变株中相应的生物合成基因簇后,可以使发酵液中只产生相应的化合物,而无其他次级代谢产物的干扰,便于对特定化合物甚至是新化合物的分离和检测^[83]。

采用酶工程学的方法对非核糖体肽合成酶进行设计,也有助于新化合物的发现。Bozhüyük 等^[95] 通过对非核糖体肽合成途径中不同模块的可交换单元 (XUs) 进行拼接改造,建立了新型非核糖体肽合成酶,从而发现了一系列新化合物。该研究中的一部分 XUs 即来自于致病杆菌属细菌,因此,该方法有助于致病杆菌属细菌代谢物中新化合物的发现。对 NRPS 缩合结构域中的 XUC 结构域进行重新编程,能够产生包含非天然氨基酸的新型肽类化合物,这也有助于发现有活性的新型天然产物^[84]。Zhong 等^[96] 通过对几种多肽的起始缩合结构域进行修饰,将乙酰基链延长至十六烷酰基,从而生成了由特定酰基链组成的新化合物。

5.3 现阶段如何科学合理利用致病杆菌属细菌

针对同一菌株,不同人不同时期按相同的分离流程进行试验,不一定能分离得到相同的化合物,而采用不同的分离方法却有可能分离出同一化合物,由此可见,以分离得到的单一化合物纯品进行应用研究显得捉襟见肘,因此,利用分离过程中的半成品、粗制品以及直接利用发酵液是解决现阶段致病杆菌属细菌应用问题的一个可行办法。通过发酵工艺优化可以提高发酵液的抑菌活性,高活性的发酵液可以直接应用到生产实际中。此外,采用一些工艺进行浓缩,提高发酵液中有效成分的含量并将其配成制剂也能够解决嗜线虫致病杆菌的应用难题。目前,嗜线虫致病杆菌中的高活性化合物 *Xcn1* 是此类细菌代谢物作为

农用制剂开发的热点。石延霞等^[97]通过盆栽和小区药效试验发现, 0.25%的 Xcn1 水剂对黄瓜白粉病防效明显, 其 40 倍液施用 7 d 后防效可达 98.30%。高江涛^[19]研制的 1.2% Xcn1 水剂对油菜菌核病具有较好的防治效果。本课题组通过对发酵液进行除糖、浓缩等预处理以提高母液中 Xcn1 的含量, 配制了一系列制剂, 在防治苹果轮纹病、苹果腐烂病和猕猴桃溃疡病的离体枝条试验中显示出了良好的效果, 且在防治猕猴桃溃疡病的田间药效试验中取得了显著的效果(未发表)。

总之, 启动子激活的方法已成功用于 Xcn1 的生产, 为获得高纯度或高含量的 Xcn1 产品提供了一条可行的道路。Incedayi 等^[7]使用阿拉伯糖诱导型启动子激活 Xcn1 的生物合成基因簇, 获得了含有高纯度 Xcn1 的发酵液。同时, 酶工程学方法也可用于生产较高纯度的特定化合物, 在非核糖体肽合成过程中, 对 XUC 结构域进行重新编程可用于生产副产物较少的特定化合物, 以简化特定化合物的纯化步骤^[84]。

6 结语与展望

发现具有活性的菌株及化合物是致病杆菌属抑菌活性研究的重要基础。本文列举了其中可产生抑菌活性物质的代表性菌株, 较为全面地总结了近几十年来在致病杆菌属细菌代谢物中发现的抑菌活性化合物, 并对其中部分抑菌活性化合物的抑菌作用机理进行了讨论, 认为影响蛋白质合成是多数化合物发挥抑菌作用的重要途径。同时, 基于抑菌活性化合物的生物合成途径及相关调控因子, 总结了从致病杆菌属细菌代谢物中发掘新化合物和提高活性化合物产量的方法, 以期为致病杆菌属细菌活性代谢物的科学合理应用提供参考。此外, 本文还介绍了几种来自于嗜线虫致病杆菌主要抑菌活性化合物 Xcn1 的制剂。

在国家“化肥农药减量增效”等相关政策的引导下, 生物农药将拥有更广阔的应用前景, 致病杆菌抑菌活性代谢物的研究应用也有望得到进一步发展。笔者认为, 未来致病杆菌属细菌抑菌活性代谢物的研究将在以下 5 个方向有所突破: 1) 以提高特定代谢物产量为目标的遗传操控研究; 2) 以治理抗药性为目标的作用机理研究; 3) 以发现新化合物为目标的天然产物分离研究; 4) 以直接利用为目标的相关产品开发研究; 5) 以拓宽其应用

范围为目标的新活性筛选研究。

以提高高活性化合物产量为目标的研究应是当下的重要研究方向, 不仅可以研究多种调控因子对活性化合物的调节, 深入探讨各种调控因子发挥作用的分子机理, 还可以对特定生物合成基因簇中的关键酶进行改造。目前德国法兰克福歌德大学的 Bode 课题组在该领域研究较为深入, 他们解析了 Xcn1^[67]、NEP^[74]和 Xenortides^[44]等化合物的生物合成过程, 发现了一些新型调控因子^[66], 并通过引入诱导型启动子激活特定的生物合成基因簇, 提高了特定化合物的产量^[83]。以俄罗斯和美国研究者为代表进行的作用机理研究, 揭示了一些细菌代谢物类抗生素抑制蛋白质合成的分子机理^[52, 63]。相信随着冷冻电镜技术的普及, 抗生素发挥抑菌活性的分子机理将得到更为清晰明确的阐述。

随着致病杆菌属细菌代谢物中的活性化合物不断被发现, 在发酵液中寻找新型化合物的难度越来越大。微生物共培养和分子水平的遗传操控为发掘新化合物提供了新思路。同时, 探索抑菌化合物的其他生物活性将是一个可行的方向, 且目前已取得一定的进展。以 Xcn1 为例, 最早发现它是因其优异的抑菌活性^[4], 近年的研究又发现了其显著的杀螨活性。Incedayi 等^[7]发现, 用药 48 h 后, Xcn1 对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 的 LC₅₀ 值为 60 μg/mL, 但其田间试验效果还有待评价。Xenoxide 1 和 Xenoxide 2 两种化合物已被发现可用于食品防腐和医药开发, 进一步提高了致病杆菌的应用价值。目前针对致病杆菌相关产品的研发仍集中于单一活性化合物为主体的研究, 倘若能够集中更多的有效成分联合进行产品开发, 将多种活性成分协同作用, 有望延缓抗药性的产生, 延长相关制剂的使用周期。

参考文献 (References):

- [1] BOOYSEN E, DICKS L M T. Does the future of antibiotics lie in secondary metabolites produced by *Xenorhabdus* spp. ? A review[J]. *Probiotics Antimicro*, 2020, 12(4): 1310-1320.
- [2] 张兴, 马志卿, 冯俊涛, 等. 中国生物农药 70 年发展历程与展望[J]. *中国农药*, 2019(10): 73-83.
ZHANG X, MA Z Q, FENG J T, et al. Review and prospect of biopesticides in China in the past 70 years[J]. *J China Agrochem*, 2019(10): 73-83.
- [3] 刘刚, 杨传新, 刘子昂, 等. 生物农药在我国小麦病虫害防治中的登记情况、研究现状及发展建议[J]. *农药科学与管理*, 2020, 41(2): 15-20.

- LIU G, YANG C X, LIU Z A, et al. Registration, research status and development suggestions of biopesticides in control of wheat diseases and insect pests in China[J]. *Pestic Sci Adm*, 2020, 41(2): 15-20.
- [4] MCINERNEY B V, TAYLOR W C, LACEY M J, et al. Biologically active metabolites from *Xenorhabdus* spp., part 2. benzopyran-1-one derivatives with gastroprotective activity[J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(3): 785-795.
- [5] MOLLAH M M I, ROY M C, CHOI D Y, et al. Variations of indole metabolites and NRPS-PKS loci in two different virulent strains of *Xenorhabdus hominickii*[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 583594.
- [6] CEVIZCI D, ULUG D, CIMEN H R, et al. Mode of entry of secondary metabolites of the bacteria *Xenorhabdus szentirmai* and *X. nematophila* into *Tetranychus urticae*, and their toxicity to the predatory mites *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*[J]. *J Invertebr Pathol*, 2020, 174: 107418.
- [7] INCEDAYI G, CIMEN H R, ULUG D, et al. Relative potency of a novel acaricidal compound from *Xenorhabdus*, a bacterial genus mutualistically associated with entomopathogenic nematodes[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 11253.
- [8] BI Y H, GAO C Z, YU Z G. Rhabdopeptides from *Xenorhabdus budapestensis* SN84 and their nematocidal activities against *Meloidogyne incognita*[J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(15): 3833-3839.
- [9] ERKOC P, SCHMITT M, INGELFINGER R, et al. Xenocoumacin 2 reduces protein biosynthesis and inhibits inflammatory and angiogenesis-related processes in endothelial cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 140: 111765.
- [10] 庞在堂, 杨怀文. 昆虫病原线虫共生菌的分类[J]. *微生物学报*, 2003, 43(4): 527-533.
PANG Z T, YANG H W. Taxonomy of entomopathogenic nematophilic bacteria[J]. *Acta Microbiol Sin*, 2003, 43(4): 527-533.
- [11] 王永宏. 昆虫病原线虫共生菌培养与活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2004.
WANG Y H. Studies on the bioactivity and culture of bacterial symbiont of entomopathogenic nematodes[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2004.
- [12] 黄武仁, 朱昌雄, 杨秀芬, 等. 嗜线虫致病杆菌代谢产物 CB6-1 的分离、纯化与结构鉴定[J]. *中国抗生素杂志*, 2005, 30(9): 513-515.
HUANG W R, ZHU C X, YANG X F, et al. Isolation and structural identification of main component CB6-1 produced by *Xenorhabdus nematophilus* var. *Pekingensis*[J]. *Chin J Antibiot*, 2005, 30(9): 513-515.
- [13] 庞在堂. 致病杆菌属 CB6 菌株的鉴定及菌株选育的初探[D]. 北京: 中国农业科学院, 2002.
PANG Z T. Identification of *Xenorhabdus* sp. CB6 and preliminary study on the strain improvement[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2002.
- [14] ZHOU T, ZENG H, QIU D, et al. Global transcriptional responses of *Bacillus subtilis* to xenocoumacin 1[J]. *J Appl Microbiol*, 2011, 111(3): 652-662.
- [15] GUO S Q, ZHANG S J, FANG X L, et al. Regulation of antimicrobial activity and xenocoumacins biosynthesis by pH in *Xenorhabdus nematophila*[J]. *Microb Cell Fact*, 2017, 16(1): 203.
- [16] GUO S Q, WANG Z Y, LIU B L, et al. Effects of *cpxR* on the growth characteristics and antibiotic production of *Xenorhabdus nematophila*[J]. *Microb Biotechnol*, 2019, 12(3): 447-458.
- [17] ZHANG S J, LIU Q, HAN Y F, et al. Nematophin, an antimicrobial dipeptide compound from *Xenorhabdus nematophila* YL001 as a potent biopesticide for *Rhizoctonia solani* control[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1765.
- [18] ZHANG S J, FANG X L, TANG Q, et al. CpxR negatively regulates the production of Xenocoumacin 1, a dihydroisocoumarin derivative produced by *Xenorhabdus nematophila*[J]. *MicrobiologyOpen*, 2019, 8(2): e00674.
- [19] 高江涛. 异香豆素类抗生素 Xenocoumacin 1 发酵工艺及制剂研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
GAO J T. Studies on fermentation process and preparation technique of isocoumarin antibiotic Xenocoumacin 1[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.
- [20] 于峰. 昆虫病原线虫共生菌的分离鉴定及次生代谢产物的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
YU F. Isolation, identification and the secondary metabolites of the symbiotic bacteria from entomopathogenic nematodes[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.
- [21] 王大业. 嗜线虫致病杆菌 SN313 次生代谢产物及其生物活性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
WANG D Y. The research on the secondary metabolites from *Xenorhabdus nematophila* SN313 and their biological activity[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020.
- [22] 张文波, 王宁, 姜义仁, 等. 伯氏致病杆菌 SN52 中的二硫吡咯类物质及其生物活性[J]. *天然产物研究与开发*, 2017, 29(7): 1091-1095, 1203.
ZHANG W B, WANG N, JIANG Y R, et al. Dithiopyrrolone derivatives from *Xenorhabdus bovienii* SN52 and their antibacterial activity[J]. *Nat Prod Res Dev*, 2017, 29(7): 1091-1095, 1203.
- [23] 张春珍, 石丹姝, 张文波, 等. 伯氏致病杆菌 SN269 发酵液中 Madumycin II 的分离与纯化[J]. *农药学报*, 2016, 18(6): 783-786.
ZHANG C Z, SHI D S, ZHANG W B, et al. Isolation and purification of Madumycin II from fermented broth of *Xenorhabdus bovienii* SN269[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2016, 18(6): 783-786.
- [24] 文旭, 南宮自艳, 张园, 等. 2 种昆虫病原线虫共生菌的代谢产物对苹果病原菌真菌的抑菌作用[J]. *中国植保导刊*, 2012, 32(1): 13-16.
WEN X, NANGONG Z Y, ZHANG Y, et al. Antifungal activity of metabolites from *Xenorhabdus nematophila* and *Photorhabdus luminescens* against apple pathogenic fungi[J]. *China Plant Prot*, 2012, 32(1): 13-16.
- [25] 王勤英. 嗜线虫致病杆菌杀虫蛋白的分离纯化及杀虫蛋白基因克隆[D]. 保定: 河北农业大学, 2004.
WANG Q Y. Purification and gene clone of insecticidal proteins from *Xenorhabdus nematophila* HB310[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2004.
- [26] SHAN S J, MA H K, LI Y, et al. Metabolites from symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes have antimicrobial effects against *Pythium myriotylum*[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2020, 158: 35-44.
- [27] LI B, KONG L X, QIU D W, et al. Biocontrol potential and mode of action of entomopathogenic bacteria *Xenorhabdus budapestensis* C72 against *Bipolaris maydis*[J]. *Biol Control*, 2021, 158: 104605.
- [28] HAZIR S, SHAPIRO-ILAN D I, BOCK C H, et al. Relative potency of culture supernatants of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp. on growth of some fungal phytopathogens[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2016, 146(2): 369-381.
- [29] CHACÓN-OROZCO J G, BUENO C J, SHAPIRO-ILAN D I, et al. Antifungal activity of *Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus* spp. against the soybean pathogenic *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 20649.
- [30] BOOYSEN E, RAUTENBACH M, STANDER M A, et al. Profiling the production of antimicrobial secondary metabolites by *Xenorhabdus khoisanae* J194 under different culturing conditions[J]. *Front Chem*, 2021, 9: 626653.
- [31] DREYER J, RAUTENBACH M, BOOYSEN E, et al. *Xenorhabdus khoisanae* SB10 produces Lys-rich PAX lipopeptides and a Xenocoumacin in its antimicrobial complex[J]. *BMC Microbiol*, 2019, 19: 132.
- [32] DONG Y J, LI X H, DUAN J Q, et al. Improving the yield of Xenocoumacin 1 enabled by in situ product removal[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(32): 20391-20398.

- [33] CIMEN H R, TOURAY M, GULSEN S H, et al. Antifungal activity of different *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* species against various fungal phytopathogens and identification of the antifungal compounds from *X. szentirmaii*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2021, 105: 5517-5528.
- [34] REIMER D, LUXENBURGER E, BRACHMANN A O, et al. A new type of pyrrolidine biosynthesis is involved in the late steps of xenocoumacin production in *Xenorhabdus nematophila*[J]. *Chembiochem*, 2009, 10(12): 1997-2001.
- [35] YANG X F, QIU D W, YANG H W, et al. Antifungal activity of Xenocoumacin 1 from *Xenorhabdus nematophilus* var. *pekingensis* against *Phytophthora infestans*[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2011, 27: 523-528.
- [36] 张淑静. 基因组分析指导的 *Xenorhabdus nematophila* YL001 代谢产物 Xenocoumacin 1 的分离、抑菌活性及机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
ZHANG S J. Genomics-guided isolation, bioactivity and mechanism of Xenocoumacin 1, a secondary metabolites from *Xenorhabdus nematophila* YL001[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.
- [37] LI J X, CHEN G H, WEBSTER J M, et al. Antimicrobial metabolites from a bacterial symbiont[J]. *J Nat Prod*, 1995, 58(7): 1081-1086.
- [38] 李凤麟, 刘焕赠, 席雪冬, 等. 嗜线虫致病杆菌 SN313 的次生代谢产物及其抑制植物病原真菌活性研究[J]. *农药学报*, 2018, 20(2): 163-168.
LI F L, LIU H Z, XI X D, et al. Secondary metabolites of *Xenorhabdus nematophila* SN313 and their inhibitory activities against plant pathogenic fungi[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2018, 20(2): 163-168.
- [39] LI J X, CHEN G H, WEBSTER J M. Nematophin, a novel antimicrobial substance produced by *Xenorhabdus nematophilus* (Enterobacteriaceae)[J]. *Can J Microbiol*, 1997, 43(8): 770-773.
- [40] MCINERNEY B V, GREGSON R P, LACEY M J, et al. Biologically active metabolites from *Xenorhabdus* spp., part 1. dithiolopyrrolone derivatives with antibiotic activity[J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(3): 774-784.
- [41] CHEN G H. Antimicrobial activity of the nematode symbionts, *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* (Enterobacteriaceae), and the discovery of two groups of antimicrobial substances, nematophin and xenorxides[D]. Vancouver: Simon Fraser University, 1996.
- [42] 王菲, 冯爱平. 烟曲霉致病因子的研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2007, 31(5): 357-359.
WANG F, FENG A P. Advances in pathogenic factors of *Aspergillus fumigatus*[J]. *Cent China Med J*, 2007, 31(5): 357-359.
- [43] LANG G, KALVELAGE T, PETERS A, et al. Linear and cyclic peptides from the entomopathogenic bacterium *Xenorhabdus nematophilus*[J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(6): 1074-1077.
- [44] REIMER D, NOLLMANN F I, SCHULTZ K, et al. Xenortide biosynthesis by entomopathogenic *Xenorhabdus nematophila*[J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(8): 1976-1980.
- [45] BÖSZÖRMÉNYI E, ÉRSEK T, FODOR A, et al. Isolation and activity of *Xenorhabdus* antimicrobial compounds against the plant pathogens *Erwinia amylovora* and *Phytophthora nicotianae*[J]. *J Appl Microbiol*, 2009, 107(3): 746-759.
- [46] GUALTIERI M, AUMELAS A, THALER J O. Identification of a new antimicrobial lysine-rich cyclolipopeptide family from *Xenorhabdus nematophila*[J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 2009, 62: 295-302.
- [47] FUCHS S W, PROSCHAK A, JASKOLLA T W, et al. Structure elucidation and biosynthesis of lysine-rich cyclic peptides in *Xenorhabdus nematophila*[J]. *Org Biomol Chem*, 2011(9): 3130-3132.
- [48] CRAWFORD J M, KONTEK R, CLARDY J. Regulating alternative lifestyles in entomopathogenic bacteria[J]. *Curr Biol*, 2010, 20(1): 69-74.
- [49] CRAWFORD J M, PORTMANN C, KONTEK R, et al. NRPS substrate promiscuity diversifies the xenematides[J]. *Org Lett*, 2011, 13(19): 5144-5147.
- [50] 卢星忠, 石丹姝, 高淳之, 等. 线虫共生菌 *Xenorhabdus budapestensis* SN19 次生代谢产物的分离纯化与结构鉴定[J]. *天然产物研究与开发*, 2016, 28(6): 828-832.
LU X Z, SHI D S, GAO C Z, et al. Isolation and identification of secondary metabolites from *Xenorhabdus budapestensis* SN19[J]. *Nat Prod Res Dev*, 2016, 28(6): 828-832.
- [51] XI X D, LU X Z, ZHANG X D, et al. Two novel cyclic depsipeptides Xenematides F and G from the entomopathogenic bacterium[J]. *J Antibiot*, 2019, 72: 736-743.
- [52] PANTEL L, FLORIN T, DOBOSZ-BARTOSZEK M, et al. Odilorhabdins, antibacterial agents that cause miscoding by binding at a new ribosomal site[J]. *Mol Cell*, 2018, 70(1): 83-94.
- [53] 刘霞. 昆虫病原线虫共生菌 YL001 菌株的代谢产物及其抑菌活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
LIU X. Studies on the metabolite and antifungal activity of *Xenorhabdus nematophila* YL001 from entomopathogenic nematodes[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2006.
- [54] JI D J, YI Y, KANG G H, et al. Identification of an antibacterial compound, benzylideneacetone, from *Xenorhabdus nematophila* against major plant-pathogenic bacteria[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2004, 239(2): 241-248.
- [55] BRACHMANN A O, FORST S, FURGANI G M, et al. Xenofuranones A and B: phenylpyruvate dimers from *Xenorhabdus szentirmaii*[J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(12): 1830-1832.
- [56] XU Z Y, XIONG B X, XU J. Chemical investigation of secondary metabolites produced by mangrove endophytic fungus *Phyllosticta Capitalensis*[J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(9): 1561-1565.
- [57] YANG H G, LI J J, CHEN S M, et al. Phenylisotertronic acids from the TCM endophytic fungus *Phyllosticta* sp[J]. *Fitoterapia*, 2018, 124: 86-91.
- [58] 刘启. 嗜线虫致病杆菌 YL001 次生代谢产物抑菌活性的分离鉴定及活性评价[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
LIU Q. Isolation and identification of antimicrobial ingredients from *Xenorhabdus nematophila* YL001 secondary metabolites and its biological activities[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2018.
- [59] HU Hongbo, XU Yuquan, CHEN Feng, et al. Isolation and characterization of a new fluorescent *Pseudomonas* strain that produces both phenazine 1-carboxylic acid and pyoluteorin[J]. *J Microbiol Biotech*, 2005, 15(1): 86-90.
- [60] ZHOU T T, YANG X F, QIU D W, et al. Inhibitory effects of Xenocoumacin 1 on the different stages of *Phytophthora capsici* and its control effect on *Phytophthora* blight of pepper[J]. *BioControl*, 2017, 62(2): 151-160.
- [61] SVIDRITSKIY E, LING C, ERMOLLENKO D N, et al. Blasticidin S inhibits translation by trapping deformed tRNA on the ribosome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(30): 12283-12288.
- [62] SVIDRITSKIY E, KOROSTELEV A A. Mechanism of inhibition of translation termination by Blasticidin S[J]. *J Mol Biol*, 2018, 430(5): 591-593.
- [63] POLIKANOV Y S, OSTERMAN I A, SZAL T, et al. Amicoumacin A inhibits translation by stabilizing mRNA interaction with the ribosome[J]. *Mol Cell*, 2014, 56(4): 531-540.
- [64] ZUMBRUNN C, KRÜSI D, STAMM C, et al. Synthesis and structure-activity relationship of Xenocoumacin 1 and analogues as inhibitors of ribosomal protein synthesis[J]. *ChemMedChem*, 2021, 16(5): 891-897.
- [65] OSTERMAN I A, KHABIBULLINA N F, KOMAROVA E S, et al. Madumycin II inhibits peptide bond formation by forcing the peptidyl transferase center into an inactive state[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(12): 7507-7514.

- [66] NEUBACHER N, TOBIAS N J, HUBER M, et al. Symbiosis, virulence and natural-product biosynthesis in entomopathogenic bacteria are regulated by a small RNA[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(12): 1481-1489.
- [67] PARK D, CIEZKI K, HOEVEN R, et al. Genetic analysis of xenocoumacin antibiotic production in the mutualistic bacterium *Xenorhabdus nematophila*[J]. *Mol Microbiol*, 2009, 73(5): 938-949.
- [68] 李广悦, 杨秀芬. 嗜线虫致病杆菌抗菌代谢产物Xcn1的研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(1): 1-8.
LI G Y, YANG X F. The research progress of secondary metabolite Xcn1 in *Xenorhabdus nematophila*[J]. *Chin J Biol Control*, 2020, 36(1): 1-8.
- [69] REIMER D, POS K M, THINES M, et al. A natural prodrug activation mechanism in nonribosomal peptide synthesis[J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 888-890.
- [70] WANG Y H, FANG X L, CHENG Y P, et al. Manipulation of pH shift to enhance the growth and antibiotic activity of *Xenorhabdus nematophila*[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 2011: 672369.
- [71] 李珍珍, 张淑静, 刘启, 等. 渗透压对嗜线虫致病杆菌 YL001 生长及抑菌活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2018, 46(11): 46-54, 62.
LI T Z, ZHANG S J, LIU Q, et al. Effect of osmotic stress on *in vitro* growth and antimicrobial active constituents of *Xenorhabdus nematophila* YL001[J]. *J Northwest A F Univ (Nat Sci Ed)*, 2018, 46(11): 46-54, 62.
- [72] ENGEL Y, WINDHORST C, LU X J, et al. The global regulators Lrp, LeuO, and HexA control secondary metabolism in entomopathogenic bacteria[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 209.
- [73] JUBELIN G, LANOIS A, SEVERAC D, et al. FliZ is a global regulatory protein affecting the expression of flagellar and virulence genes in individual *Xenorhabdus nematophila* bacterial cells[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(10): e1003915.
- [74] CAI X F, CHALLINOR V L, ZHAO L, et al. Biosynthesis of the antibiotic nematophin and its elongated derivatives in entomopathogenic bacteria[J]. *Org Lett*, 2017, 19(4): 806-809.
- [75] WESCHE F, ADIHOU H, WICHELHAUS T A, et al. Synthesis and SAR of the antistaphylococcal natural product nematophin from *Xenorhabdus nematophila*[J]. *Beilstein J Org Chem*, 2019, 15: 535-541.
- [76] 朱祥, 吴清来, 李俊凯. 吩嗪-1-羧酸及其类似物研究进展[J]. *有机化学*, 2019, 39(10): 2744-2758.
ZHU X, WU Q L, LI J K. Research progress of phenazine-1-carboxylic acid and its analogue[J]. *Chin J Org Chem*, 2019, 39(10): 2744-2758.
- [77] 张易, 李佳, 钟娟, 等. 96 孔板高通量选育嗜线虫致病杆菌高产帕克素菌株[J]. 中国生物防治学报, 2013, 29(3): 437-442.
ZHANG Y, LI J, ZHONG J, et al. Screening of high yield Pekingmycin-producing strains of *Xenorhabdus nematophila* var. *pekinense* by cultivation in 96-well microtiter plates[J]. *Chin J Biol Control*, 2013, 29(3): 437-442.
- [78] 魏明敏. 抗生素帕克素发酵条件的优化和合成相关基因的初步研究[D]. 西安: 西北大学, 2009.
WEI M M. Optimization of fermentation conditions and preliminary study on synthesis related genes of antibiotic Pekingmycin[D]. Xi'an: Northwest University, 2009.
- [79] WANG Y H, FANG X L, LI Y P, et al. Effects of constant and shifting dissolved oxygen concentration on the growth and antibiotic activity of *Xenorhabdus nematophila*[J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(19): 7529-7536.
- [80] WANG Y H, FENG J T, ZHANG Q, et al. Optimization of fermentation condition for antibiotic production by *Xenorhabdus nematophila* with response surface methodology[J]. *J Appl Microbiol*, 2008, 104(3): 735-744.
- [81] WANG Y H, LI Y P, ZHANG Q, et al. Enhanced antibiotic activity of *Xenorhabdus nematophila* by medium optimization[J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(6): 1708-1715.
- [82] LIU J Q, ZHOU H B, YANG Z Y, et al. Rational construction of genome-reduced Burkholderiales chassis facilitates efficient heterologous production of natural products from proteobacteria[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4347.
- [83] BODE E, HEINRICH A K, HIRSCHMANN M, et al. Promoter activation in *Δhfq* mutants as an efficient tool for specialized metabolite production enabling direct bioactivity testing[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58(52): 18957-18963.
- [84] BOZHÜYÜK K A J, LINCK A, TIETZE A, et al. Modification and de novo design of non-ribosomal peptide synthetases using specific assembly points within condensation domains[J]. *Nat Chem*, 2019, 11(7): 653-661.
- [85] ZHUANG L, ZHANG H R. Utilizing cross-species co-cultures for discovery of novel natural products[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2021, 69: 252-262.
- [86] CHEN J W, ZHANG P Q, YE X Y, et al. The structural diversity of marine microbial secondary metabolites based on co-culture strategy: 2009-2019[J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(9): 449.
- [87] CHEN T T, ZHOU Y Y, LU Y H, et al. Advances in heterologous biosynthesis of plant and fungal natural products by modular co-culture engineering[J]. *Biotechnol Lett*, 2019, 41(1): 27-34.
- [88] SUN Y, LIU W C, SHI X, et al. Inducing secondary metabolite production of *Aspergillus sydowii* through microbial co-culture with *Bacillus subtilis*[J]. *Microb Cell Fact*, 2021, 20: 42.
- [89] ZHAO L, KAISER M, BODE H B. Rhabdopeptide/Xenortide-like peptides from *Xenorhabdus innexi* with terminal amines showing potent antiprotozoal activity[J]. *Org Lett*, 2018, 20(17): 5116-5120.
- [90] ZHAO L, CAI X F, KAISER M, et al. Methionine-containing Rhabdopeptide/Xenortide-like peptides from heterologous expression of the biosynthetic gene cluster kj12ABC in *Escherichia coli*[J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(10): 2292-2295.
- [91] CRAWFORD J M, PORTMANN C, ZHANG X, et al. Small molecule perimeter defense in entomopathogenic bacteria[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(27): 10821-10826.
- [92] LIU Y, ZHOU H B, SHEN Q Y, et al. Discovery of polycyclic macrolide Shuangdaolides by heterologous expression of a cryptic *trans*-AT PKS gene cluster[J]. *Org Lett*, 2021, 23(17): 6967-6971.
- [93] LIN H Z, LYU H N, ZHOU S, et al. Deletion of a global regulator LaeB leads to the discovery of novel polyketides in *Aspergillus nidulans*[J]. *Org Biomol Chem*, 2018, 16(27): 4973-4976.
- [94] CHEN H N, SUN T, BAI X P, et al. Genomics-driven activation of silent biosynthetic gene clusters in *Burkholderia gladioli* by screening recombineering system[J]. *Molecules*, 2021, 26(3): 700.
- [95] BOZHÜYÜK K A J, FLEISCHHACKER F, LINCK A, et al. De novo design and engineering of non-ribosomal peptide synthetases[J]. *Nat Chem*, 2018, 10(3): 275-281.
- [96] ZHONG L, DIAO X T, ZHANG N, et al. Engineering and elucidation of the lipoinitiation process in nonribosomal peptide biosynthesis[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 296.
- [97] 石延霞, 李宝聚, 杨秀芬, 等. 0.25%帕克素水剂防治黄瓜白粉病的研究[J]. *植物保护*, 2004, 30(1): 79-81.
SHI Y X, LI B J, YANG X F, et al. Studies on 0.25% Pekingmycin aqueous solution against cucumber powdery mildew[J]. *Plant Prot*, 2004, 30(1): 79-81.