

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.06.023

陈红娟, 庄绪会, 邹海杰, 等. 一株抗小麦赤霉病菌的白莲蒿内生真菌的筛选及代谢产物质谱分析[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(6): 238-246.

CHEN H J, ZHAUNG X H, ZOU H J, et al. Analysis on the screening of an endophytic fungi from artemisia sacrorum ledeb against wheat scab and mass spectrographic analysis[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(6): 238-246.

一株抗小麦赤霉病菌的白莲蒿 内生真菌的筛选及代谢产物质谱分析

陈红娟, 庄绪会, 邹海杰, 李光涛, 韩伟, 苗海江, 杜传林, 罗晓宏✉

(国家粮食和物资储备局科学研究院, 北京 100037)

摘要:采用表面消毒法和尖端菌丝挑取法从白莲蒿中分离纯化 12 株内生真菌菌株; 采用菌丝生长速率法研究 8 株内生菌发酵液的抗小麦赤霉病活性; 采用形态学结合 ITS rDNA 区基因序列鉴定活性最好菌株为芳香镰刀菌 *Fusarium redolens*, 并建立质谱方法分析其主要代谢产物。结果表明: 白莲蒿内生真菌 (No: 20202707) 对小麦赤霉病病原菌禾谷镰刀菌的抑菌作用最强, 抑菌率在 65.27%。其主要代谢产物主要有 3,4-二氢香豆素、5'脱氧核糖核苷、Harmala 生物碱、苯并呋喃、苯并噻唑等。

关键词:白莲蒿; 内生真菌; 生物活性; 次级代谢产物

中图分类号: TS201.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)06-0238-09

Analysis on the Screening of an Endophytic Fungi from Artemisia Sacrorum Ledeb Against Wheat Scab and Mass Spectrographic Analysis

CHEN Hong-juan, ZHUANG Xu-hui, ZOU Hai-jie, LI Guang-tao, HAN Wei,
MIAO Hai-jiang, DU Chuan-lin, LUO Xiao-hong✉

(Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China)

Abstract: Twelve endophytic fungus strain from artemisia sacrorum ledeb were isolated and purified with the method of surface disinfection and tip mycelium selection. The activity of eight strains of endophytic fermentation broth against wheat scab were studied by mycelial growth rate method. Most active strain were identified as *Fusarium Redolens* by the combination of morphology and ITS rDNA gene sequence. A mass spectrometry method was established to analyze the main metabolites. The results showed that the endophytic fungus (No: 20202707) from artemisia sacrorum ledeb demonstrated the strongest inhibitory effect on *Fusarium graminearum*, and the inhibitory rate was 65.27%. Its main metabolites were 3, 4-dihydrocoumarin, 5' deoxyribonucleoside, Harmala alkaloid, benzofuran and benzothiazole.

Key words: artemisia sacrorum ledeb; endophytic fungi; biological activity; secondary metabolites

收稿日期: 2021-07-21

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (ZX1941)

Supported by: Fundamental Research Funds of non-profit Central Institutes (No. ZX1941)

作者简介: 陈红娟, 1989 年出生, 科研助理, 研究方向为粮油检测分析。E-mail: chj@ags.ac.cn.

通讯作者: 罗晓宏, 1986 年出生, 硕士, 助理研究员, 研究方向为小分子化合物结构解析和生物活性研究。E-mail: lxh@ags.ac.cn.

小麦赤霉病是禾谷镰刀菌引发的真菌性病害^[1], 严重威胁我国小麦的安全生产和粮食安全, 而生物防治是一种绿色高效且相对安全的防治措施, 契合农业可持续发展的要求, 近年来逐渐受到重视。本研究旨在从药用植物内生菌中筛选出小麦赤霉病拮抗菌, 为植物生防提供理论依据。药用植物白莲蒿, 系菊科蒿属植物, 除高寒地区外, 广泛分布于我国各地, 具有清热、解毒、凉血止血等药理活性^[2]。目前关于白莲蒿研究多集中在倍半萜内酯、薁类、挥发油等化学成分^[3-5]和保肝、抗炎、抗过敏、杀螨^[6-9]等药理学研究。然而, 有关其内生真菌及其次生代谢产物研究较少, 截止目前还未见有关白莲蒿内生真菌及次生代谢产物的相关报道。微生物次生代谢产物是天然产物库的重要组成部分, 是新型治疗药物先导化合物开发的重要源泉^[10], 本文首次报道了该植物内生菌分离, 纯化, 抗粮食病原菌禾谷镰刀菌的活性和质谱分析代谢产物, 旨在为医药生产、植物病虫害生物防治和绿色农药的研究提供有价值菌种资源和活性物质。

1 材料与方法

1.1 实验材料

活性测试菌种(小麦赤霉病菌), 编号 113713; 科研物资采购平台;

白莲蒿, 采摘时间 2019 年 11 月 5 日: 北京西山国家森林公园(北纬 39°57'59", 东经 116°11'29", 海拔 214.1 m);

色谱乙腈: 默克股份两合公司; 色谱甲酸: 西格玛中国上海贸易有限公司; 去离子水, 马铃薯葡萄糖琼脂培养基: 北京奥博星生物技术有限责任公司。

1.2 仪器与设备

R-100 旋转蒸发仪: 瑞士步琦有限公司; CJ-10 超净工作台: 天津市泰斯特仪器有限公司; XS105 电子天平: 梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司; TS-211B 恒温摇床: 常州中诚仪器制造有限公司; LDZF-75L-III 高压灭菌锅: 海申安医疗器械厂; MJX-50 霉菌培养箱: 绍兴苏珀仪器有限公司; Ultimate 3000&Q Exactive HF LC-MS: 赛默飞世尔科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 培养基配制

PDB 培养基配方: 1 000 mL 蒸馏水后加入马铃薯块 200 g, 煮沸 30 min, 三层纱布过滤后, 滤渣继续用水稀释, 最终补水值 1 000 mL, 再加葡萄糖 20 g 趁热搅拌溶解, 最后分装三角瓶中, 于 121 °C 蒸汽灭菌 20 min。所有菌种培养均采用 PDA 培养基。

1.3.2 植物内生菌分离、纯化

取新鲜白莲蒿用自来水冲洗干净, 晒干水分后, 用灭菌刀片将根、茎、叶切成 0.5×1 cm 的小段, 叶切成 0.5×0.5 cm 的方块状, 用 75% 消毒酒精浸泡 1 min 后, 无菌水洗 3 次, 转移至无菌超净台, 用无菌纸擦干表面水分后移入 PDA 培养基中分离培养。28 °C 下培养 5 d, 采用尖端菌丝挑取法^[11], 取边缘新长出的菌丝, 及时转移至新鲜 PDA 培养基上培养, 观察记录菌落的形态和做编号, 同时要做无菌对照。

1.3.3 内生真菌代谢产物的制备和提取

对培养好的内生真菌打 5 mm 的菌饼, 接种于 600 mL PD 液体培养基的三角瓶(3 个菌饼/瓶), 于 26 °C, 140 r/min 摆床培养 20 d, 分离菌丝和发酵液, 菌丝乙酸乙酯浸泡, 提取浸膏; 发酵液无菌过滤于冰箱 4 °C 保存备用。

1.3.4 内生真菌代谢产物抑菌活性测试

各菌株抑菌活性测定采用菌丝生长速率法^[12], 以供试植物病原菌为检测菌, 测定白莲蒿内生菌发酵液中活性代谢产物的抑菌作用, 将无菌发酵液 2、18 mL 冷却到 45 °C 左右 PDA 培养基混匀, 倒入 9 cm 无菌培养皿中, 待凝固后将供试病原真菌菌饼(5 mm) 倒置于平板中央, 每处理三次重复, 以 PDA 培养液和无菌水处理为对照。培养 72 h 后, 用十字交叉法测量供试菌落生长直径, 取其平均值, 计算抑制率。

$$\text{菌丝生长抑制率} =$$

$$\frac{(\text{对照菌落生长直径} - \text{处理菌落生长直径})}{(\text{对照菌落生长直径} - \text{菌柄直径})} \times 100\%$$

1.3.5 液/质谱分析

样品前处理: 将发酵液 10 000 r/min 离心 5 min, 过滤, V(甲醇) : V(滤液) = 1 : 1, 取混合液过 0.22 μm 无菌滤膜。

色谱条件: Zorbax Eclipse C₁₈ 色谱柱(1.8 μm*2.1*100 mm); 柱温为 30 °C; 流速 0.3 mL/min; 流动相组成 A: (水+0.1%甲酸), B: 纯乙腈; 进样量为 2 μL, 自动进样器温度 4 °C, 流速为 0.3 mL/min; 采用梯度洗脱。

质谱条件: 正模式: 加热器温度 325 °C; 鞘气流速: 45 arb; 辅助气流速: 15 arb; 吹扫气流速: 1 arb; 电喷雾电压: 3.5 KV; 毛细管温度: 330 °C; S-Lens RF Level: 55%。扫描模式: 一级全扫描 (Full Scan, m/z 100~1 500) 与数据依赖性二级质谱扫描 (dd-MS2, TopN=10); 分辨率: 120 000 (一级质谱) & 60 000 (二级质谱)。碰撞模式: 高能量碰撞解离 (HCD)。

1.4 数据分析

使用 WPS 软件整理数据和绘图。

2 结果与分析

2.1 活性菌株筛选

将从白莲蒿内生菌中优选的 8 株内生菌并进行活性测试, 研究发现菌株 (No: 20202707) 发酵液对禾谷镰刀菌抑制率最好, 抑制率达到 65.27% (表 1)。选择该菌株为测试菌株。

表 1 白莲蒿内生真菌来源及拮抗效果

Table 1 Sources of endophytic fungi from *Artemisia Sacrorum* Ledeb and antagonistic effects %

供试菌株编号	药用植物来源	菌丝生长抑制率	%
20202703	叶	4.46	
20202704	叶	37.60	
20202705	叶	15.41	
20202707	根	65.27	
20202708	根	1.93	
20202709	叶	15.41	
20202710-2	叶	9.72	
20202711	根	32.60	

2.2 植物内生菌鉴定

将纯化好内生菌接种 PDA 培养基, 25 °C 培养 7 d, 菌落长满全皿, 白色, 质地丝绒状; 反面浅黄色; 无渗出液产生, 无可溶性色素产生 (图 1)。菌丝壁平滑、透明, 具分隔; 分生孢子梗分枝明显; 瓶梗单生或 2~3 个轮生, 长 12~30 μm; 分生孢子梭形或椭圆形, 两端尖细, 大小 (5~15) × (2.5~4.5) μm, 壁平滑; 未见大分生孢子 (图 2)。

将该菌测试序列与 NCBI 的 Gen Bank 数据库中的已知序列进行比对, 取相似度较高的序列, 利用 MEGA 5.0 软件和邻位连接法 (neighbor-joining methods) 构建系统发育树 (图 3)。结合菌株的形态学特征和系统发育树分析, 菌株 (No: 20202707) 鉴定为 *Fusarium redolens*。

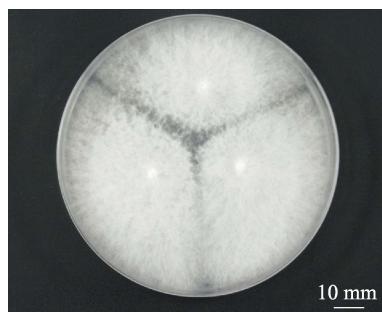


图 1 宏观形态
Fig.1 Macro morphology



图 2 微观形态
Fig.2 Micro morphology

2.3 质谱分析

使用 Compound Discoverer 3.1 进行保留时间矫正、峰识别、峰提取、等工作, 根据二级质谱信息利用 Thermo mzCloud 在线数据库, Thermo mzValut 本地数据库等, 对内生菌株 (No: 20202707) 发酵液进行物质鉴定, 分析结果 (表 2), 代谢产物共有 178 个, 经鉴定结构类型产物有 43 种。菌株 *Fusarium redolens* 代谢产物在阳离子模式下总离子流图 (图 4)。

3 结论

本文首次分离报道了白莲蒿内生真菌的代谢产物抗菌活性和分析主要代谢产物, 通过生长速率法测试研究发现, 白莲蒿内生真菌 (No: 20202707) 对小麦赤霉病病原菌禾谷镰刀菌的抑菌作用最强, 抑菌率在 65.27%, 经鉴定该菌株为芳香镰刀菌真菌; 并利用液质联用技术和 Compound

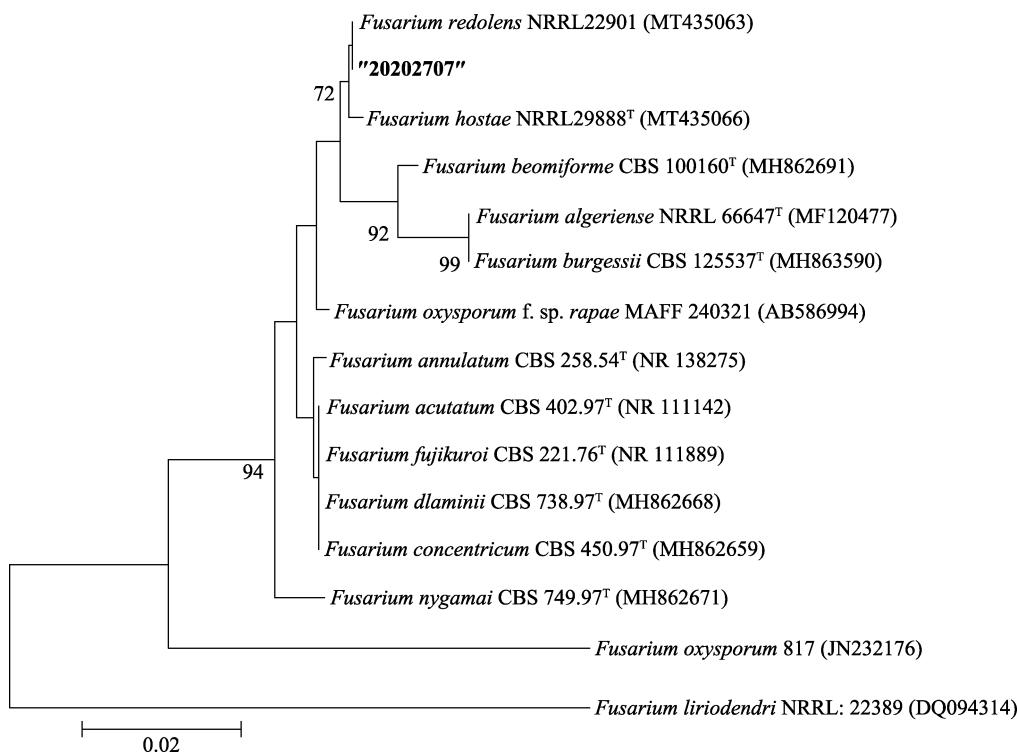


图3 内生真菌(No: 20202707)的TIS的序列系统发育树
Fig.3 Sequence phylogenetic tree of TIS of endophytic fungi (No: 20202707)

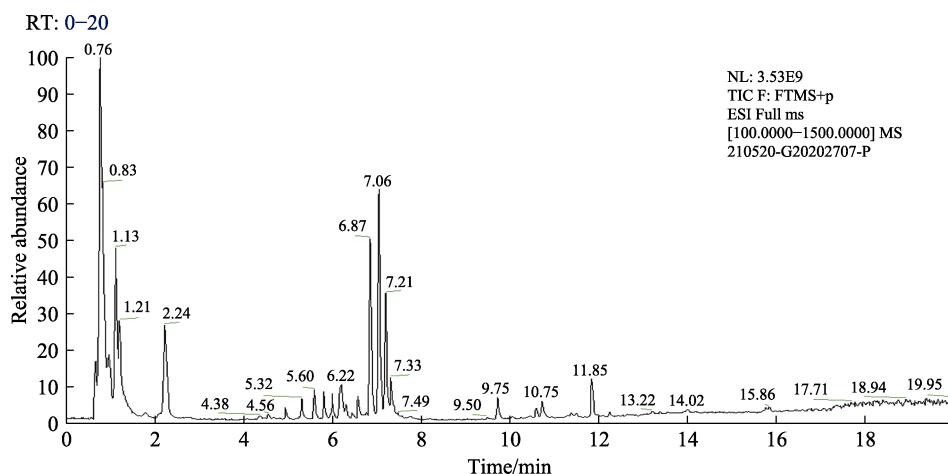


图4 菌株Fusarium redolens代谢产物在阳离子模式下总离子流图
Fig.4 Complete ion chromatogram of extracts of Fusarium redolens in positive ion mode

表2 白莲蒿内生菌(No: 20202707)代谢物定性分析结果

Table 2 Qualitative analysis results of MS from metabolites of endophytic fungi (No: 20202707) from Artemisia Sacrorum Ledeb

类别	代谢物名称	分子式	保留时间/min	分子量	分子量(理论值)	△ppm
3,4-二氢香豆素	3,4-Dihydrocoumarin	C ₉ H ₈ O ₂	2.235	148.052 31	148.052 43	0
5'脱氧核糖核苷	5'-S-Methyl-5'-thioa denosine	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	4.503	297.089 31	297.089 56	0
生物碱及其衍生物	Guvacoline	C ₇ H ₁₁ NO ₂	0.842	141.078 92	141.078 98	0
	Arecoline	C ₈ H ₁₃ NO ₂	4.595	155.094 53	155.094 63	0
鱼腥藻毒素类	Homo-anatoxin	C ₁₁ H ₁₇ NO	12.043	179.130 89	179.131 01	0
唑	4-Methyl-5-thiazoleethanol	C ₆ H ₉ NOS	1.688	143.040 51	143.040 48	0
	Methylimidazoleacetic acid	C ₆ H ₈ N ₂ O ₂	4.781	140.058 47	140.058 58	0
	Desthiobiotin	C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₃	6.386	214.131 62	214.131 74	0
	1-Acetylimidazole	C ₅ H ₆ N ₂ O	1.437	110.048 22	110.048 01	1
氮杂环戊烷	1,3-Divinyl-2-imidazolidinone	C ₇ H ₁₀ N ₂ O	5.528	138.079 26	138.079 31	0

续表1

类别	代谢物名称	分子式	保留时间/min	分子量	分子量(理论值)	△ppm
苯及其取代衍生物	Benzocaine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	9.075	165.078 92	165.078 98	0
	3,5-Dimethoxyaniline	C ₈ H ₁₁ NO ₂	1.190	153.078 89	153.078 98	0
	Dibenzylamine	C ₁₄ H ₁₅ N	6.615	197.120 26	197.120 45	0
	2-Phenylacetamide	C ₈ H ₉ NO	4.820	135.068 42	135.068 41	0
	DEET	C ₁₂ H ₁₇ NO	10.453	191.130 82	191.131 01	0
	4-Methylbenzophenone	C ₁₄ H ₁₂ O	12.606	196.088 67	196.088 82	0
	Norfentanyl	C ₁₄ H ₂₀ N ₂ O	10.573	232.157 23	232.157 56	-1
	4-Phenylbutyric acid	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	10.622	164.083 62	164.083 73	0
	Daimuron	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O	12.053	268.157 24	268.157 56	-1
	Crotamiton	C ₁₃ H ₁₇ NO	13.208	203.130 84	203.131 01	0
	Phenylacetylene	C ₈ H ₆	2.237	102.047 05	102.046 95	0
	N-(2,4-Dimethylphenyl)formamide	C ₉ H ₁₁ NO	5.288	149.084 00	149.084 06	0
	5-Nitroisophthalic acid	C ₈ H ₅ NO ₆	9.742	211.012 29	211.011 69	2
	Phenacetin	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	6.207	179.094 38	179.094 63	-1
	Phenacetin	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	10.752	179.094 38	179.094 63	-1
	N-Benzylformamide	C ₈ H ₉ NO	0.967	135.068 41	135.068 41	0
	Isovanillic acid	C ₈ H ₈ O ₄	2.745	168.042 23	168.042 25	0
	Diethyl phthalate	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	11.407	222.088 96	222.089 21	-1
	Phthalamic acid	C ₈ H ₇ NO ₃	1.370	165.042 57	165.042 59	0
	Butyl 4-aminobenzoate	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	11.862	193.110 09	193.110 28	0
	MDPPB	C ₁₅ H ₁₉ NO ₃	13.585	261.136 13	261.136 49	-1
	N3-(4-Methylbenzyl)pyridin-3-amine	C ₁₅ H ₁₄ N ₂	5.187	198.115 63	198.115 70	0
	Actrarit	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	1.533	193.073 82	193.073 89	0
	Aminobutyl benzamide	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O	4.144	192.126 31	192.126 26	0
	clofenamide	C ₆ H ₇ CIN ₂ O ₄ S ₂	0.747	269.954 21	269.953 58	2
	N-(2-Fluorobenzyl)-N',N'-dimethyl-N-[2-(4-morpholinyl)ethyl]sulfuric diamide	C ₁₅ H ₂₄ FN ₃ O ₃ S	0.773	345.153 15	345.152 24	2
苯并呋喃	Phthalic anhydride	C ₈ H ₄ O ₃	11.412	148.015 99	148.016 04	0
	Phthalic anhydride	C ₈ H ₄ O ₃	13.946	148.015 99	148.016 04	0
	Phthalic anhydride	C ₈ H ₄ O ₃	6.187	148.015 99	148.016 04	0
苯并噻唑	2-Mercaptobenzothiazole	C ₇ H ₅ NS ₂	9.738	166.986 16	166.986 34	-1
羧基亚胺酸及其衍生物	Stearamide	C ₁₈ H ₃₇ NO	18.954	283.286 94	283.287 51	-2
	Valpromide	C ₈ H ₁₇ NO	9.569	143.130 91	143.131 01	0
羧酸及其衍生物	Betaine	C ₅ H ₁₁ NO ₂	0.780	117.079 09	117.078 98	0
	N-Acetyl-L-leucine	C ₈ H ₁₅ NO ₃	6.009	173.104 98	173.105 19	-1
	Boc-Asp-OH	C ₉ H ₁₅ NO ₆	0.771	233.089 60	233.089 94	-1
	2-Aminoctanedioic acid	C ₈ H ₁₅ NO ₄	1.800	189.100 04	189.100 11	0
	N-Acetylphenylalanine	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	6.738	207.089 36	207.089 54	0
	Y-Aminobutyric acid (GABA)	C ₄ H ₉ NO ₂	0.791	103.063 61	103.063 33	2
	E-N-Deoxyfructosyllsine	C ₁₂ H ₂₄ N ₂ O ₇	0.748	308.157 88	308.158 35	-1
	Aspartame	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅	5.177	294.121 48	294.121 57	0
	3-Methylhippuric acid	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	1.883	193.073 82	193.073 89	0
	Cyclo(leucylprolyl)	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂	6.135	210.136 58	210.136 83	-1
	4-ACETAMIDO BUTANOATE	C ₆ H ₁₁ NO ₃	1.446	145.073 85	145.073 89	0
	L(-)-Pipecolinic acid	C ₆ H ₁₁ NO ₂	0.845	129.078 98	129.078 98	0
	DL-Pipecolinic acid	C ₆ H ₁₁ NO ₂	1.101	129.078 98	129.078 98	0
	N-Acetyl-L-tyrosine	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄	4.818	223.084 33	223.084 46	0
	L-Tyrosine	C ₉ H ₁₁ NO ₃	1.913	181.073 82	181.073 89	0

续表 1

类别	代谢物名称	分子式	保留时间/min	分子量	分子量(理论值)	△ppm
羧酸及其衍生物	L-Phenylalanine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	6.735	165.078 86	165.078 98	0
	N-Acetylmethionine	C ₇ H ₁₃ NO ₃ S	4.732	191.061 50	191.061 61	0
	N6-Acetyl-L-lysine	C ₈ H ₁₆ N ₂ O ₃	0.836	188.115 94	188.116 09	0
	Valine	C ₅ H ₁₁ NO ₂	1.098	117.079 10	117.078 98	1
	L-Isoleucine	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1.297	131.094 64	131.094 63	0
	N-acetyl-2-phenylethylamine	C ₁₀ H ₁₃ NO	7.415	163.099 57	163.099 71	0
	L-Pyroglutamic acid	C ₅ H ₇ NO ₃	1.128	129.042 53	129.042 59	0
	N-Fructosyl isoleucine	C ₁₂ H ₂₃ NO ₇	1.240	293.147 02	293.147 45	-1
	N-Fructosyl phenylalanine	C ₁₅ H ₂₁ NO ₇	2.125	327.131 46	327.131 80	-1
	N-Fructosyl tyrosine	C ₁₅ H ₂₁ NO ₈	1.150	343.126 18	343.126 72	-1
	L-beta-Homomethionine	C ₆ H ₁₃ NO ₂ S	1.960	163.066 67	163.066 70	0
	N-Methylproline	C ₆ H ₁₁ NO ₂	1.547	129.079 03	129.078 98	0
	S-succinylcysteine	C ₇ H ₁₁ NO ₆ S	0.823	237.030 41	237.030 71	-1
肉桂醛	4-Methoxycinnamaldehyde	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	10.428	162.067 95	162.068 08	0
肉桂酸及其衍生物	2-Hydroxycinnamic acid	C ₉ H ₈ O ₃	1.212	164.047 27	164.047 34	0
香豆素及其衍生物	7-Hydroxycoumarine	C ₉ H ₆ O ₃	4.467	162.031 56	162.031 69	0
二氮杂萘	Quinoxalinedione + 2Methyl + C ₅ H ₁₁ O ₄	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O ₆	5.588	324.131 58	324.132 14	-1
二嗪	4,6-Dimethyl-2(1H)-pyrimidinone	C ₆ H ₈ N ₂ O	1.738	124.063 80	124.063 66	1
	Thymine	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	1.422	126.043 02	126.042 93	0
	Dihydrothymine	C ₅ H ₈ N ₂ O ₂	0.782	128.058 58	128.058 58	0
	Cytosine	C ₄ H ₅ N ₃ O	0.772	111.043 46	111.043 26	1
二恶烷	Bis(4-ethylbenzylidene)sorbitol	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	11.886	414.203 56	414.204 24	-1
脂肪酰类	Oleamide	C ₁₈ H ₃₅ NO	16.941	281.271 50	281.271 86	-1
	α-Eleostearic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	13.097	278.224 26	278.224 58	-1
	Hexadecanamide	C ₁₆ H ₃₃ NO	16.438	255.255 88	255.256 21	-1
甘油磷脂	1-palmitoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphoethanolamine	C ₂₁ H ₄₄ NO ₇ P	12.431	453.285 17	453.285 54	0
	LPC 18:2	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	12.359	519.332 26	519.332 49	0
Harmala 生物碱	1-acetyl beta carboline	C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O	10.814	210.079 03	210.079 31	-1
咪唑嘧啶类	Hypoxanthine	C ₅ H ₄ N ₄ O	2.674	136.038 51	136.038 51	0
	Guanine	C ₅ H ₅ N ₅ O	1.400	151.049 38	151.049 41	0
	1-Methylguanine	C ₆ H ₇ N ₅ O	1.594	165.064 90	165.065 06	0
吲哚及其衍生物	L-5-Hydroxytryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₃	1.540	220.084 64	220.084 79	0
	NCGC00015088-09_C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O_N-[2-(1H-Indol-3-yl)ethyl]acetamide	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O	7.791	202.110 31	202.110 61	-1
	4-Indolecarbaldehyde	C ₉ H ₇ NO	7.480	145.052 66	145.052 76	0
	4-Indolecarbaldehyde	C ₉ H ₇ NO	4.573	145.052 69	145.052 76	0
	trans-3-Indoleacrylic acid	C ₁₁ H ₉ NO ₂	4.567	187.063 21	187.063 33	0
	Indole	C ₈ H ₇ N	2.238	117.057 99	117.057 85	1
	Indole	C ₈ H ₇ N	4.568	117.057 93	117.057 85	0
	Indole	C ₈ H ₇ N	7.480	117.057 97	117.057 85	1
	Indole-3-lactic acid	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	7.074	205.073 58	205.073 89	-1
	Methyl indole-3-acetate	C ₁₁ H ₁₁ NO ₂	10.271	189.078 78	189.078 98	-1
	4-Hydroxyindole	C ₈ H ₇ NO	11.859	133.052 62	133.052 76	-1
	5-Methoxyindoleacetic acid	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	1.287	205.073 78	205.073 89	0
	2,3,4,9-Tetrahydro-1H-β-carboline-3-carboxylic acid	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂	5.452	216.089 75	216.089 88	0
	Indoline	C ₈ H ₉ N	6.252	119.073 58	119.073 50	0
	3-(2-Hydroxyethyl)indole	C ₁₀ H ₁₁ NO	6.572	161.083 88	161.084 06	-1
	Indole-3-acetic acid	C ₁₀ H ₉ NO ₂	7.891	175.063 26	175.063 33	0

续表1

类别	代谢物名称	分子式	保留时间/min	分子量	分子量(理论值)	△ppm
酮酸及其衍生物	NCGC00381347-01!5-acetamido-4-oxohexanoic acid	C ₈ H ₁₃ NO ₄	1.377	187.084 39	187.084 46	0
内酰胺	Caprolactam	C ₆ H ₁₁ NO	4.564	113.084 22	113.084 06	1
萘类	3-Amino-2-naphthoic acid	C ₁₁ H ₉ NO ₂	5.602	187.063 22	187.063 33	0
有机碳酸及其衍生物	Diethylpyrocarbonate	C ₆ H ₁₀ O ₅	0.788	162.052 64	162.052 82	-1
	N,N'-Dicyclohexylurea	C ₁₃ H ₂₄ N ₂ O	10.873	224.188 54	224.188 86	-1
有机磷酸及其衍生物	Triphenyl phosphate	C ₁₈ H ₁₅ O ₄ P	13.024	326.070 30	326.070 80	-1
有机氮化合物	Spermidine	C ₇ H ₁₉ N ₃	0.684	145.157 85	145.157 90	0
	N,N-Dimethyldodecylamine N-oxide	C ₁₄ H ₃₁ NO	10.384	229.240 30	229.240 56	-1
	Acetylcholine	C ₇ H ₁₅ NO ₂	0.837	145.110 16	145.110 28	0
	2-Amino-1,3,4-octadecanetriol	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	10.381	317.292 56	317.292 99	-1
	α-Linolenoyl ethanolamide	C ₂₀ H ₃₅ NO ₂	15.522	321.266 28	321.266 78	-1
	N,N-Diisopropylethylamine (DIPEA)	C ₈ H ₁₉ N	5.003	129.151 77	129.151 75	0
	MFCID18431507	C ₇ H ₈ N ₂ O ₃ S ₂	0.774	231.998 28	231.997 63	2
有机氧化物	3-Aminoacetophenone	C ₈ H ₉ NO	1.213	135.068 42	135.068 41	0
	4'-Methoxyacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	1.682	150.068 10	150.068 08	0
	4-Hydroxybenzaldehyde	C ₇ H ₆ O ₂	1.213	122.036 86	122.036 78	0
	4-Hydroxybenzaldehyde	C ₇ H ₆ O ₂	6.070	122.036 86	122.036 78	0
	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	13.231	234.161 64	234.161 98	-1
	PEG n6	C ₁₂ H ₂₆ O ₇	4.960	282.167 36	282.167 85	-1
	Chlorogenic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	5.262	354.094 72	354.095 08	-1
	Nonaethylene Glycol	C ₁₈ H ₃₈ O ₁₀	5.821	414.246 01	414.246 50	-1
	3-Acetylpyridine	C ₇ H ₇ NO	1.756	121.052 92	121.052 76	1
	D-Mannoheptulose	C ₇ H ₁₄ O ₇	0.845	210.073 66	210.073 95	-1
	PEG n5	C ₁₀ H ₂₂ O ₆	4.383	238.141 36	238.141 64	-1
	PEG n8	C ₁₆ H ₃₄ O ₉	5.600	370.219 66	370.220 28	-1
	D-Gluconic acid	C ₆ H ₁₂ O ₇	0.773	196.057 95	196.058 30	-1
	MFCID00698693	C ₂₀ H ₄₂ O ₁₁	6.009	458.271 99	458.272 71	-1
	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	0.773	342.115 70	342.116 21	-1
	4-(Trifluoroacetyl)benzoic acid	C ₉ H ₅ F ₃ O ₃	0.760	218.019 09	218.019 08	0
	undecaethylene glycol	C ₂₂ H ₄₆ O ₁₂	6.174	502.298 21	502.298 93	-1
	Isophorone	C ₉ H ₁₄ O	9.693	138.104 46	138.104 47	0
	Pantothenic acid	C ₉ H ₁₇ NO ₅	2.803	219.110 56	219.110 67	0
	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	5.419	120.057 62	120.057 51	0
	PEG n7	C ₁₄ H ₃₀ O ₈	5.322	326.193 57	326.194 07	-1
其它	Beauvericin	C ₄₅ H ₅₇ N ₃ O ₉	15.868	783.408 93	783.409 48	0
	(1S,3S)-N-Isopropyl-2,2-dimethyl-3-[(5-(phenoxy)methyl)-1,2-oxazol-3-yl]methyl)cyclobutanamine	C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₂	11.325	328.214 49	328.215 08	-1
	(2S)-3-Methyl-2-([(3S,4S,5R)-2,3,4-trihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydro-2-furanyl]methyl)amino)butanoic acid (non-preferred name)	C ₁₁ H ₂₁ NO ₇	0.837	279.131 43	279.131 80	-1
	(2S)-5-Methoxy-2-([(2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl)amino)-5-oxopentanoic acid	C ₁₁ H ₁₉ NO ₆	0.838	261.120 90	261.121 24	-1
	Cyclo(D-leucyl-L-leucyl-L-leucyl-L-leucyl-L-leucyl-L-leucyl-L-leucyl)	C ₃₆ H ₆₆ N ₆ O ₆	6.863	678.503 35	678.504 38	-1
	Cyclo(L-leucyl-L-leucyl-L-leucyl-L-leucyl-L-leucyl)	C ₃₀ H ₅₅ N ₅ O ₅	6.591	565.419 43	565.420 32	-1
	DA9185000	C ₁₂ H ₁₀ OS	0.771	202.045 14	202.045 24	0
拟肽类	Enniatin B1	C ₃₄ H ₅₉ N ₃ O ₉	15.736	653.424 80	653.425 13	0
菲及其衍生物	Noroxymorphone	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	6.741	287.115 31	287.115 76	-1

续表1

类别	代谢物名称	分子式	保留时间/min	分子量	分子量(理论值)	△ppm
苯酚醚	2-(4-Methoxyphenoxy)ethanamine	C ₉ H ₁₃ NO ₂	1.751	167.094 62	167.094 63	0
酚类	Paracetamol	C ₈ H ₉ NO ₂	1.187	151.063 24	151.063 33	0
	Phloroglucinol	C ₆ H ₆ O ₃	4.571	126.031 72	126.031 69	0
	N-Acetyltyramine	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	5.425	179.094 38	179.094 63	-1
	DL-Metanephrine	C ₁₀ H ₁₅ NO ₃	1.380	197.105 12	197.105 19	0
哌啶	Benzylfentanyl	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O	13.126	322.204 02	322.204 51	-1
	1-Piperidineethanamine, 4-[2-(diethylamino)ethoxy]-N,4-diphenyl-	C ₂₅ H ₃₇ N ₃ O	7.055	395.293 93	395.293 67	0
孕烯醇酮脂类	Nootkatone	C ₁₅ H ₂₂ O	13.207	218.166 74	218.167 07	-1
	(3S)-5-[(1R,2R,8aS)-2-hydroxy-2,5,5,8a-tetraamethyl-3,4,4a,6,7,8-hexahydro-1H-naphthalen-1-yl]-3-methylpentanoic acid	C ₂₀ H ₃₆ O ₃	12.265	324.265 95	324.266 44	-1
嘌呤核苷酸	2'-O-Methylguanosine	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₅	1.956	297.107 13	297.107 32	0
	2'-O-Methyladenosine	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₄	1.668	281.112 32	281.112 40	0
	Adenosine	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	1.197	267.096 45	267.096 75	-1
吡啶及其衍生物	3-Hydroxy-2-methylpyridine	C ₆ H ₇ NO	1.277	109.053 00	109.052 76	2
	6-Hydroxypicolinic acid	C ₆ H ₅ NO ₃	1.105	139.026 78	139.026 94	-1
	Trigonelline	C ₇ H ₇ NO ₂	0.795	137.047 58	137.047 68	0
	Nicotinic acid	C ₆ H ₅ NO ₂	0.781	123.032 08	123.032 03	0
	Nicotinamide	C ₆ H ₆ N ₂ O	1.097	122.048 05	122.048 01	0
	Pyridoxine + O-Hex	C ₁₄ H ₂₁ NO ₈	1.105	331.126 15	331.126 72	-1
喹啉及其衍生物	Kynurenic acid	C ₁₀ H ₇ NO ₃	4.943	189.042 47	189.042 59	0
	Quinoline	C ₉ H ₇ N	10.267	129.057 83	129.057 85	0
	Quinoline	C ₉ H ₇ N	7.891	129.057 83	129.057 85	0
	6-Methylquinoline	C ₁₀ H ₉ N	5.452	143.073 43	143.073 50	0
	6-Methylquinoline	C ₁₀ H ₉ N	7.802	143.073 32	143.073 50	-1
	1-Amino-2-phenyl[1,3]thiazolo[3,2-a]quinolin-10-iun	C ₁₇ H ₁₃ N ₂ S	0.772	277.079 31	277.079 94	-2
类固醇和类固醇衍生物	Solanidine	C ₂₇ H ₄₃ NO	7.739	397.334 06	397.334 47	-1
	Solanine	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	7.734	867.497 48	867.498 02	0
	alpha-Chaconine	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₄	7.795	851.501 94	851.503 11	-1
四氢异喹啉	TDIQ	C ₁₀ H ₁₁ NO ₂	5.290	177.078 91	177.078 98	0
噻吩	SR9011	C ₂₃ H ₃₁ ClN ₄ O ₃ S	2.236	478.179 39	478.180 54	-2
三嗪类	Sebutylazine-desethyl	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	10.847	201.078 74	201.078 12	3

Discoverer 3.1 数据处理软件和结合数据库, 研究其代谢产物结构信息, 该菌株具有丰富代谢产物, 主要有 3,4-二氢香豆素、5'脱氧核糖核苷、Harmala生物碱、苯并呋喃和苯并噻唑等 43 种类别。另外, 发现菌株具有很好抗小麦赤霉病活性, 是开展生物防治理想菌株, 可做为新型绿色农药来源之一, 为高效、低毒的新型抗粮食病原菌药物的开发利用提供理论指导和物质基础。

参考文献:

- [1] KHATIBI P A, BERGER G, LIU S, et al. Resistance to fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in virginia barley[J].
- [2] 吴崇明, 屠呦呦. 白莲蒿化学成分研究[J]. 植物学报, 1985(3): 34-37.
- WU C M, TU Y Y. The constituents study of artemisia sacrorum L.[J]. Chinese Bulletin of Botany, 1985, 3: 34-37.
- [3] 李一贤. 万年蒿化学成分的研究[D]. 延边大学, 2009.
- LI Y X. Study on constituents of artemisia sacrocum ledeb[D]. Yanbian University, 2009.
- [4] 陈驰. 茵陈蒿和白莲蒿挥发油成分比较研究[J]. 时珍国医国药, 2000(5): 380.
- CHEN C, YIN C H. The constituents comparison study of volatile oil in artemisia capillaris thunb and artemisia sacrorum L[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research (时珍国医国药), 2000(5): 380.
- [5] 张书锋, 秦葵, 于新蕊, 等. 石家庄野生白莲蒿挥发油的化学

- 成分分析[J]. 白求恩军医学院学报, 2012, 10(6): 471-473.
- ZHANG S F, QIN K, YU X R, et al. Chemical composition analysis of the essential oil in wild artemisia gmelinii growing in Shijiazhuang[J]. Journal of Bethune Military Medical College, 2012, 10(6): 471-473.
- [6] 党丽娟, 邓健生. 白莲蒿中一个保肝活性成分的提取分离[J]. 广东微量元素科学, 2008, 15(4): 22-23.
- DANG L J, DENG J S. Isolation of a active constituent with protective liver from artemisia sacrorum[J]. Guangdong Trace Elements Science (广东微量元素科学), 2008, 15(4): 22-23.
- [7] 刘权, 李晓蓓, 吴淑娟. 白沙蒿提取物在制备抗炎药物中的应用: CN108210539A[P]. 2018.
- LIU Q, LI X B, WU S J. Application of artemisia annua L. extract in preparation of anti-inflammatory drug: CN108210539A[P]. 2018-06-29.
- [8] KIM S H, Z M (Abstract). Anti-allergic activity of artemisia annua L in mast cell-mediated allergic model[J]. Drugs&Clinic, 2006(1): 34-34.
- [9] 刘权, 李晓蓓, 贺原花. 白莲蒿提取物不同活性部位的制备及其作为杀螨活性物质的应用. CN104705349B[P]. 2018-04-03.
- LIU Q, LI X B, H Y H. Preparation of different active parts of the extract of artemisia annua L. and its application as acaricidal active substances. CN104705349B[P]. 2018-04-03.
- [10] BAGHERI A, KHODARAHMI R, MOSTAFAAIE A. Purification and biochemical characterisation of glucoamylase from a newly isolated aspergillus niger: relation to starch processing[J]. Food Chemistry, 2014, 161, 15: 270-278.
- [11] 吴晓贤, 刘远超, 王傲, 等. 一株灰肉红菇内生真菌的分离鉴定及其抑菌活性研究[J]. 生物资源, 2020, 42(5): 585-592.
- WU X X, LIU Y C, WANG A, et al. Isolation, identification and its antibacterial activity of an endophytic fungus of russula griseocarnosa[J]. Biotic Resources (生物资源), 2020, 42(5): 585-592.
- [12] LU L X, YAO F J, WANG P, et al. Construction of a genetic linkage map and QTL mapping of agronomic traits in auricularia auricula-judae[J]. Journal of Microbiology, 2017, 55, 10: 792-799.

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。

· 公益宣传 ·

欢迎订阅 2022 年《中国稻米》杂志

《中国稻米》是由农业农村部主管, 中国水稻研究所主办, 全国农业技术推广服务中心等单位协办的全国性水稻科学技术期刊, 兼具学术性、技术性、知识性、信息性等特点。为国家新闻出版广电总局认定的首批学术类期刊, 为中文核心期刊、中国科技核心期刊, 还荣获全国农业期刊金犁奖技术类一等奖、浙江省优秀科技期刊一等奖等奖项。适合我国水稻产区各级技术人员及农业与粮食行政管理人员、科研教学人员和稻农阅读。

本刊为双月刊, 标准大 16 开本, 单月 20 日出版。每期定价 15.00 元, 全年 90.00 元, 全国公开发行, 邮发代码: 32-31, 国内刊号: CN33-1201/S, 国际统一刊号: ISSN 1006-8082。欢迎新老读者到当地邮局订阅, 也可直接汇款到本刊编辑部订阅。E-mail: zgdm@163.com, 网址: www.zgdm.net; 地址: 浙江省杭州市富阳区新桥水稻所路 28 号; 邮政编码: 311400; 电话(传真): 0571-63370271, 63370368。



微信搜一搜

中国稻米