

基于液相色谱-四极杆飞行时间质谱产莫能菌素芽胞杆菌筛选

朱育菁, 陈 峥, 刘 波*, 刘国红, 郑梅霞, 史 怀, 潘志针
(福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福州 350003)

摘 要: **目的** 筛选产莫能菌素的芽胞杆菌菌株。**方法** 采用液相-四级杆飞行时间质谱的方法结合 Metlin 数据库检索分析 35 株芽胞杆菌菌株的发酵液胞外成分。运用安捷伦公司的 MassHunter 软件, 对数据进行分子特征提取, 并通过 Metlin 代谢物质谱数据库检索, 获得总体代谢物的信息。**结果** 筛选出含莫能菌素的芽胞杆菌菌株为波茨坦短芽胞杆菌(*Brevibacillus borstelensis*) FJAT-10006。其中, 莫能菌素的相对含量占其发酵液总代谢物的 1.20%, 其匹配得分达到 93.75, 保留时间为 27.9518 min, 精确质量数为 670.4308。**结论** 波茨坦短芽胞杆菌(*Brevibacillus borstelensis*) FJAT-10006 为产莫能菌素菌株。为波茨坦短芽胞杆菌来源的抗真菌抗生素的开发与利用提供理论依据。

关键词: 液相色谱-四级杆飞行时间质谱法; 波茨坦短芽胞杆菌; 胞外代谢物; 莫能菌素

Screening of *Bacillus* strains producing monensin A based on liquid chromatography-hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry

ZHU Yu-Jing, CHEN Zheng, LIU Bo*, LIU Guo-Hong, ZHENG Mei-Xia, SHI Huai, PAN Zhi-Zhen
(Agricultural Bio-Resources Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China)

ABSTRACT: Objective To screen the *Bacillus* strains producing monensin A. **Methods** Extracellular metabolites of 35 *Bacillus* strains were analyzed by liquid chromatography-hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS). Molecular feature extraction (MFE) and database retrieval were applied by Agilent MassHunter software, for the information overall metabolites. **Results** The results showed that only one *Bacillus* strain, *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006, contained monensin A. Monensin A was detected with the match score of 93.75, and relative content of 1.20%. The retention time of monensin A was about 27.9518 min, and accurate mass was 670.4308. **Conclusion** *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006 is a *Bacillus* strain producing monensin A. The results provide the theory basis for development and utilization of antifungal antibiotic from *Bacillus* strains.

基金项目: 国家自然科学基金(31370059)、福建省种业创新与产业化工程项目(FJZZZY-1544)、福建省种业创新项目“福建芽胞杆菌资源保藏中心”、福建省公益性项目(2015R1018-1, 2015R1018-11)、福建省农科院青年创新基金(2013dqd-6)、福建省农科院杰出青年人才基金(2014JQ-2)

Fund: Supported by National Natural Science Foundation of China (201303094), Seed Industry Innovation and Industrialization of Project of Fujian Province(FJZZZY-1544), Seed Industry Innovation Project of Fujian Province- “Fujian Provincial Centre for Bacillus Resources Center”, Commonweal Project of Fujian Province (2015R1018-1, 2015R1018-11), the Youth Innovation Fund of FAAS (2013dqd-6), the Outstanding Youth fund of FAAS (2014JQ-2)

*通讯作者: 刘波, 研究员, 主要研究方向为微生物生物技术与农业生物药物。E-mail: fzliubo@163.com

*Corresponding author: LIU Bo, Professor, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fujian 350003, China. E-mail: fzliubo@163.com

KEY WORDS: liquid chromatography-hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry; *Brevibacillus borstelensis*; extracellular metabolites; monensin A

1 引言

莫能菌素(monensin A, $C_{36}H_{62}O_{11}$), 别名瘤胃素、莫能菌酸等, 是聚醚类离子载体抗生素中应用最为广泛的药物之一^[1]。1967年首先由 Haney 等从肉桂链霉菌(*Streptomyces cinnamonensis*)的发酵液中分离获得, 1971年美国礼来公司开发推出莫能霉素。在农业生产中, 莫能菌素被用作防治家畜家禽的球虫病^[2,3], 防治仔猪腹泻综合症、猪痢疾等^[4]; 促进家畜(猪、牛)的生长^[5]。在作用机制方面, 莫能霉素具有离子载体性质, 能够携带阳离子沿生物膜扩散^[6], 可以导致细胞内 Na^+ 水平升高, 通过 Na^+-Ca^{2+} 交换使细胞内液中游离 Ca^{2+} 浓度急剧升高, 从而产生细胞毒性效应^[7]。莫能菌素能影响反刍动物瘤胃内的能量代谢, 提高丙酸和乙酸的产出比例, 减少甲烷生成, 提高蛋白质利用效率^[6]。

芽胞杆菌在自然界广泛分布于多样化的环境中, 生理特性丰富, 而且已经在食品、农林业、工业、生物技术、医学、冶金、环保、军事等领域得到广泛应用^[8]。而这些应用与芽胞杆菌在生长代谢过程中产生的功能物质有重要联系。芽胞杆菌可产生多种功能物质, 如与抗菌活性相关的抗菌肽, 脂肽类, 蛋白类抗菌物质, 大环内酯类, 酚类物质, 多烯类物质等^[9]; 与杀虫活性相关的杀虫晶体蛋白, 几丁质酶, 苏云金素等^[10]。而从芽胞杆菌中检测出莫能菌素, 未见报道。

本研究选用液相色谱-四级杆飞行时间质谱(LC-QTOF-MS), 对波茨坦短芽胞杆菌发酵液中莫能菌素成分进行分析, 为进一步探索具有生物活性的成分提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 材料

供试菌株: 芽胞杆菌菌株 35 株由福建省农业科学院农业生物资源研究所提供(见表 1)。

试验试剂: TSB 培养基(美国 BD 公司), 色谱纯乙腈(美国 JT Baker 公司), 色谱纯乙酸铵(CNW, 上海安谱科学仪器有限公司)。

试验仪器: 液相四级杆飞行时间质谱联用仪

Agilent 1260/6520(美国安捷伦科技公司); 电子天平 Mettler Toledo AL104(瑞士梅特勒·托利多仪器有限公司); 恒温培养振荡器智城 ZHWY-2102C(上海智城分析仪器有限公司); pH 计 Sartorius PB-10(德国赛托利斯公司)。

2.2 方法

发酵液制备: 将保存的芽胞杆菌菌株取出, 采用平板划线法活化菌种。挑取单菌落, 接种于 TSB 液体培养基中, 于 30 °C, 170 r/min 条件下培养 48 h。

样品制备方法: 取芽胞杆菌发酵液, 12000 r/min 离心 10 min; 离心后取上清液加入等体积冷甲醇(-20 °C), 漩涡震荡混合。置于 4 °C 冰箱 15 min 后, 14000 r/min 离心 10 min, 取上清, 用 0.22 μm 滤膜过滤, 置于 4 °C 冰箱中准备进样。

色谱-质谱条件: 色谱柱为 Zorbax SB-Aq C_{18} (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μm); 柱温: 30 °C; 进样量: 2 μL ; 流动相: 10 mmol/L 乙酸铵+水(A), 甲醇(B); 流速: 0.3 mL/min; 梯度程序: 0 min 5%B; 8 min 5%B; 38 min 95%B; 45 min 95%B; 47 min 5%B; 55 min 5%B; MS 运行条件: 负离子模式; 干燥气温度: 350 °C, 干燥气流速 5 L/min; 雾化压力 30 psig; 毛细管电压 3500 V; 碎裂电压 100 V; 分离器电压 65.0 V; 质量范围 100~3000 m/z 。

3 结果与分析

3.1 产莫能菌素的芽胞杆菌筛选

从 35 个芽胞杆菌菌株发酵液的代谢物中分析得到产莫能菌素的菌株 1 株, 为波茨坦短芽胞杆菌 FJAT-10006, 其他菌株暂无检出该成分。分析结果(见表 2)表明, 在筛选菌株中波茨坦短芽胞杆菌 FJAT-10006 的莫能菌素含量为 1.20%, 匹配得分为 93.75。

3.2 波茨坦短芽胞杆菌 *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006 发酵液 LC-MS 物质成分分析

3.2.1 波茨坦短芽胞杆菌 *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006 发酵液中高含量成分分析

从该菌发酵液中检出 583 个成分, 其中相对含量

表 1 供试芽胞杆菌菌株
Table 1 *Bacillus* strains for test

序号	菌株编号	学名	中文名称	属名
1	FJAT-10004	<i>Aneurinibacillus aneurinilyticus</i>	解硫胺素解硫胺素芽胞杆菌	解硫胺素芽胞杆菌属
2	FJAT-2278	<i>Brevibacillus parabrevis</i>	副短短芽胞杆菌	短芽胞杆菌属
3	FJAT-10018	<i>Brevibacillus agri</i>	土壤短芽胞杆菌	短芽胞杆菌属
4	FJAT-10006	<i>Brevibacillus borstelensis</i>	波茨坦短芽胞杆菌	短芽胞杆菌属
5	FJAT-10007	<i>Paenibacillus chondroitinus</i>	软骨素类芽胞杆菌	类芽胞杆菌属
6	FJAT-10020	<i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	解葡聚糖类芽胞杆菌	类芽胞杆菌属
7	FJAT-10026	<i>Viridibacillus arenosi</i>	沙地绿芽胞杆菌	绿芽胞杆菌属
8	FJAT-10028	<i>Viridibacillus arvi</i>	田地绿芽胞杆菌	绿芽胞杆菌属
9	FJAT-14266	<i>Gracilibacillus dipsosauri</i>	蜥蜴纤细芽胞杆菌	纤细芽胞杆菌属
10	FJAT-14255	<i>Psychrobacillus psychrotolerans</i>	耐冷嗜冷芽胞杆菌	嗜冷芽胞杆菌属
11	FJAT-14	<i>Bacillus thuringiensis</i>	苏云金芽胞杆菌	芽胞杆菌属
12	FJAT-8775	<i>Bacillus mycoides</i>	蕈状芽胞杆菌	芽胞杆菌属
13	FJAT-10012	<i>Bacillus funiculus</i>	绳索状芽胞杆菌	芽胞杆菌属
14	FJAT-10013	<i>Bacillus agaradhaerens</i>	黏琼脂芽胞杆菌	芽胞杆菌属
15	FJAT-10016	<i>Bacillus clarkii</i>	克氏芽胞杆菌	芽胞杆菌属
16	FJAT-14260	<i>Bacillus safensis</i>	沙福芽胞杆菌	芽胞杆菌属
17	FJAT-10017	<i>Bacillus cohnii</i>	科恩芽胞杆菌	芽胞杆菌属
18	FJAT-10022	<i>Bacillus halmapalus</i>	盐敏芽胞杆菌	芽胞杆菌属
19	FJAT-14248	<i>Bacillus macyae</i>	马氏芽胞杆菌	芽胞杆菌属
20	FJAT-14249	<i>Bacillus methanolicus</i>	甲醇芽胞杆菌	芽胞杆菌属
21	FJAT-14250	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	枯草芽胞杆菌斯氏亚种	芽胞杆菌属
22	FJAT-14251	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>inaquosorum</i>	枯草芽胞杆菌 inaquosorum 亚种	芽胞杆菌属
23	FJAT-14252	<i>Bacillus isronensis</i>	印空研芽胞杆菌	芽胞杆菌属
24	FJAT-14253	<i>Bacillus taeaanensis</i>	大安芽胞杆菌	芽胞杆菌属
25	FJAT-14254	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	枯草芽胞杆菌枯草亚种	芽胞杆菌属
26	FJAT-14257	<i>Bacillus shackletonii</i>	沙氏芽胞杆菌	芽胞杆菌属
27	FJAT-14258	<i>Bacillus murimartini</i>	马丁教堂芽胞杆菌	芽胞杆菌属
28	FJAT-14261	<i>Bacillus selenitireducens</i>	还原硒酸盐芽胞杆菌	芽胞杆菌属
29	FJAT-14262	<i>Bacillus selenatarsenatis</i>	硒砷芽胞杆菌	芽胞杆菌属
30	FJAT-14231	<i>Bacillus seohaeanensis</i>	西岸芽胞杆菌	芽胞杆菌属
31	FJAT-14270	<i>Bacillus ginsengihumi</i>	人参土芽胞杆菌	芽胞杆菌属
32	FJAT-14846	<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	热噬淀粉芽胞杆菌	芽胞杆菌属
33	FJAT-10014	<i>Bacillus alcalophilus</i>	嗜碱芽胞杆菌	芽胞杆菌属
34	FJAT-10025	<i>Bacillus altitudinis</i>	高地芽胞杆菌	芽胞杆菌属
35	FJAT-14247	<i>Bacillus hwajinpoensis</i>	花津滩芽胞杆菌	芽胞杆菌属

表 2 产莫能菌素芽胞杆菌列表
Table 2 *Bacillus* strains which produce monensin A

序号	菌株名称	菌株编号	保留时间	匹配度	相对含量	精确分子量	质核比	CAS
1	波茨坦短芽胞杆菌	FJAT-10006	27.9518	93.75	1.20	670.4308	669.4236	17090-79-8
2	解硫胺素解硫胺素芽胞杆菌	FJAT-10004			0			
3	副短短芽胞杆菌	FJAT-2278			0			
4	土壤短芽胞杆菌	FJAT-10018			0			
5	软骨素类芽胞杆菌	FJAT-10007			0			
6	解葡聚糖类芽胞杆菌	FJAT-10020			0			
7	沙地绿芽胞杆菌	FJAT-10026			0			
8	田地绿芽胞杆菌	FJAT-10028			0			
9	蜥蜴纤细芽胞杆菌	FJAT-14266			0			
10	耐冷嗜冷芽胞杆菌	FJAT-14255			0			
11	苏云金芽胞杆菌	FJAT-14			0			
12	蕈状芽胞杆菌	FJAT-8775			0			
13	绳索状芽胞杆菌	FJAT-10012			0			
14	黏琼脂芽胞杆菌	FJAT-10013			0			
15	克氏芽胞杆菌	FJAT-10016			0			
16	沙福芽胞杆菌	FJAT-14260			0			
17	科恩芽胞杆菌	FJAT-10017			0			
18	盐敏芽胞杆菌	FJAT-10022			0			
19	马氏芽胞杆菌	FJAT-14248			0			
20	甲醇芽胞杆菌	FJAT-14249			0			
21	枯草芽胞杆菌斯氏亚种	FJAT-14250			0			
22	枯草芽胞杆菌 inaquosorum 亚种	FJAT-14251			0			
23	印空研芽胞杆菌	FJAT-14252			0			
24	大安芽胞杆菌	FJAT-14253			0			
25	枯草芽胞杆菌枯草亚种	FJAT-14254			0			
26	沙氏芽胞杆菌	FJAT-14257			0			
27	马丁教堂芽胞杆菌	FJAT-14258			0			
28	还原硒酸盐芽胞杆菌	FJAT-14261			0			
29	硒砷芽胞杆菌	FJAT-14262			0			
30	西岸芽胞杆菌	FJAT-14231			0			
31	人参土芽胞杆菌	FJAT-14270			0			
32	热噬淀粉芽胞杆菌	FJAT-14846			0			
33	嗜碱芽胞杆菌	FJAT-10014			0			
34	高地芽胞杆菌	FJAT-10025			0			
35	花津滩芽胞杆菌	FJAT-14247			0			

高于 1%的成分有 21 个, 占该菌株总成分相对含量的 40.79%, 见表 3。含量最高的成分是精确分子量为 216.0440 的化合物, 由于谱库内无该化合物, 因此未能给出初步鉴定结果。通过谱库检索得到初步鉴定结果的高含量成分为莫能菌素 A、4-氧代-L-脯氨酸、双酚 A、L-苏糖酸-4-内酯、二苯并[a,c]蒽、4-羟脯氨酸。

3.2.2 波茨坦短芽胞杆菌 *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006 发酵液中高匹配度成分分析

在 Metlin 数据库中检索, 得到初步鉴定结果的有 134 种。在鉴定结果中匹配得分(Score)高于 80 的有 12 个, 见表 4。高匹配度成分包括莫能菌素 A、亮-精-脯、伏马菌素、4-羟脯氨酸等, 其中匹配率最高的为莫能菌素, 匹配得分为 93.75。

3.3 波茨坦短芽胞杆菌 *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006 发酵液中莫能菌素成分分析

波茨坦短芽胞杆菌 *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006 发酵液的中, 莫能菌素的化合物提取色谱图及离子提取色谱图见图 1 和图 2, 其保留时间为 27.9518 min, 峰的相对丰度约为 3.5×10^4 。莫能菌素同位素峰结果见图 3, 质谱图见图 4, 结构图见图 5。其中同位素峰图提供了同位素峰的相对强度和同位素峰的间距。由于本试验采用负离子模式电离, 负离子模式下产生的不同的分子离子, 如[M-H]⁻、[M+X]⁻(X 为所有溶剂或缓冲剂阴离子)等。故判断 669.4236 峰为[M-H]⁻分子离子峰, 该成分的质量数

表 3 波茨坦短芽胞杆菌 *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006 菌株发酵液高含量成分
Table 3 High content components of fermentation broth from *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006

序号	化合物名称	分子式	匹配得分	分子量	质荷比	保留时间	相对含量%	CAS 号	KEGG 号
1	Cpd 15: 1.2508			216.0440	215.0368	1.2508	4.49		
2	Cpd 236: 2.1638			242.1319	241.1247	2.1638	4.31		
3	4-氧代-L-脯氨酸 (4-keto-n-caproic acid)	C ₆ H ₁₀ O ₃	84.87	130.0636	129.0563	2.4373	3.4		
4	双酚 A (Bisphenol A)	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	74.15	228.1159	227.1086	1.6445	2.82	1980/5/7	C13624
5	Cpd 72: 1.6150			192.0296	191.0223	1.615	2.06		
6	Cpd 320: 2.5478			164.0491	163.0418	2.5478	2.05		
7	L-苏糖酸-4-内酯 (Threonolactone)	C ₄ H ₆ O ₄	64.09	118.027	117.0197	1.4412	1.92	21730-93-8	
8	Cpd 149: 1.8240			316.1357	315.1284	1.824	1.79		
9	Cpd 539: 30.8262			769.505	768.4977	30.8262	1.72		
10	Cpd 110: 1.7055			454.2218	453.214	1.7055	1.67		
11	Cpd 453: 3.6175			529.3092	528.302	3.6175	1.63		
12	二苯并[a,c]蒽 (Dibenz[a,c]anthracene)	C ₂₂ H ₁₄	61	278.1099	277.1027	2.1557	1.62	215-58-7	C19388
13	4-羟脯氨酸 (4-Oxoproline)	C ₅ H ₇ N O ₃	77.58	129.0431	128.0358	1.596	1.6		C01877
14	Cpd 338: 2.6547			495.2868	494.2796	2.6547	1.53		
15	Cpd 415: 3.1472			552.3474	551.3401	3.1472	1.32		
16	Cpd 433: 3.3721			1078.6492	1077.6419	3.3721	1.31		
17	莫能菌素 A (monensin A)	C ₃₆ H ₆₂ O ₁₁	93.75	670.4308	669.4236	27.9518	1.2	17090-79-8	
18	Cpd 82: 1.6404			264.0939	263.0866	1.6404	1.19		
19	Cpd 482: 3.8978			757.4314	756.4241	3.8978	1.09		
20	Cpd 41: 1.4428			131.0954	130.0881	1.4428	1.06		
21	Cpd 254: 2.2233			683.4123	682.4051	2.2233	1.01		

表 4 波茨坦短芽胞杆菌 *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006 菌株发酵液高匹配成分
Table 4 High matching components of fermentation broth from *Brevibacillus borstelensis* FJAT-10006

序号	化合物名称	分子式	匹配得分	分子量	质荷比	保留时间	相对含量%	CAS 号	KEGG 号
1	莫能菌素 A (monensin A)	C ₃₆ H ₆₂ O ₁₁	93.75	670.4308	669.4236	27.9518	1.20		
2	亮-精-脯 (Leu Arg Pro)	C ₁₇ H ₃₂ N ₆ O ₄	93.56	384.2487	383.2414	1.7727	0.23		
3	伏马菌素 (Fumonisin C4)	C ₃₃ H ₅₇ N O ₁₃	93.35	675.3845	674.3772	4.0828	0.26		
4	3β-(3-甲基-丁酰氧基)-villanovane-13α,17-二醇 (3beta-(3-methyl-butanoyloxy)-vil lanovane-13alpha,17-diol)	C ₂₅ H ₄₂ O ₆	91.95	438.2986	437.2914	2.6826	0.75		
5	25-O-Deacetyl-32-Hydroxyrifabutin	C ₄₄ H ₆₀ N ₄ O ₁₁	87.35	820.4283	819.4211	3.8714	0.15	122168-54-1	
6	4-羟脯氨酸 (4-Oxoproline)	C ₅ H ₇ NO ₃	86.33	129.043	128.0357	1.3315	0.65		C01877
7	N-甲基-(R,S)-四对羟基苯乙酮 (N-Methyl-(R,S)-Tetrahydrobenzylisoquinoline)	C ₁₇ H ₁₉ N	85.13	237.1523	236.1451	34.6611	0.04		C05314
8	4-酮-n-己酸 (4-keto-n-caproic acid)	C ₆ H ₁₀ O ₃	84.87	130.0636	129.0563	2.4373	3.40		
9	4'-羟苯乙酮 (4'-Hydroxyacetophenone)	C ₈ H ₈ O ₂	83.96	136.0528	135.0455	3.5416	0.13	99-93-4	C10700
10	谷-谷-脯 (Gln-Gln-Pro)	C ₁₅ H ₂₅ N ₅ O ₆	83.36	371.1802	370.173	1.7147	0.48		
11	6-羟基己酸 (monensin A)	C ₆ H ₁₂ O ₃	82.14	132.079	131.0718	2.7132	0.07		C06103
12	米托蒽醌 (Mitoxantrone)	C ₂₂ H ₂₈ N ₄ O ₆	80.42	444.2011	443.1937	1.664	0.35	65271-80-9	C11195

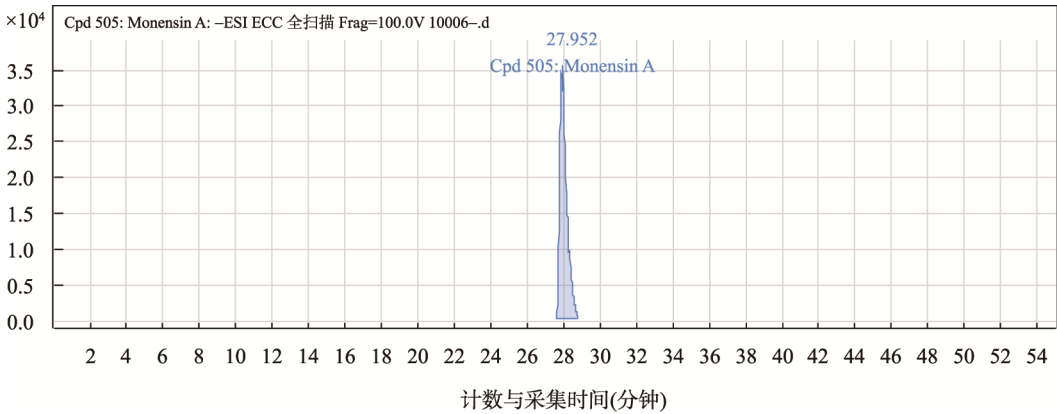


图 1 样品中莫能菌素化合物提取色谱图
Fig. 1 Extracted compound chromatogram(ECC) of monensin A in sample

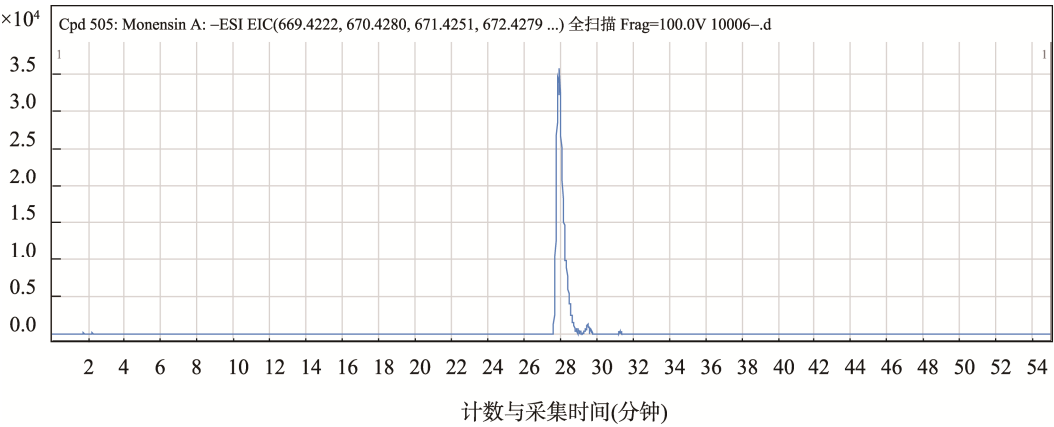


图 2 样品中莫能菌素离子提取色谱图

Fig. 2 Extracted ion chromatogram (EIC) of monensin A in sample

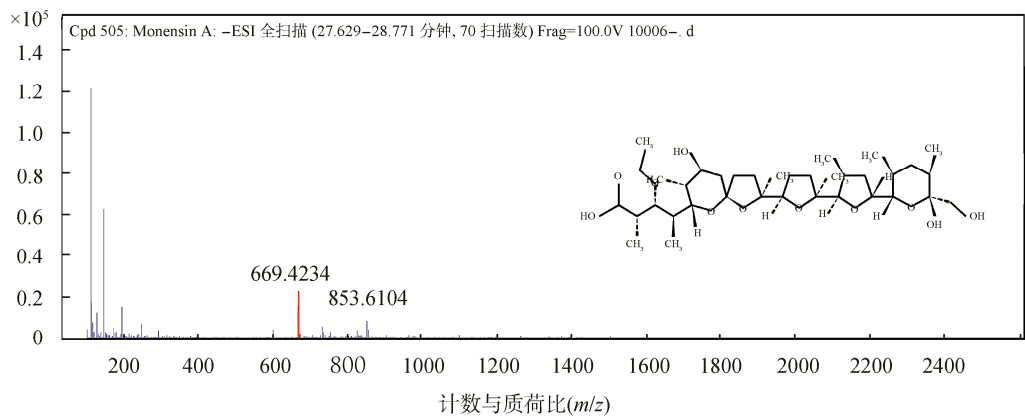


图 3 样品中莫能菌素全扫描

Fig. 3 Isotopic peak of monensin A in sample

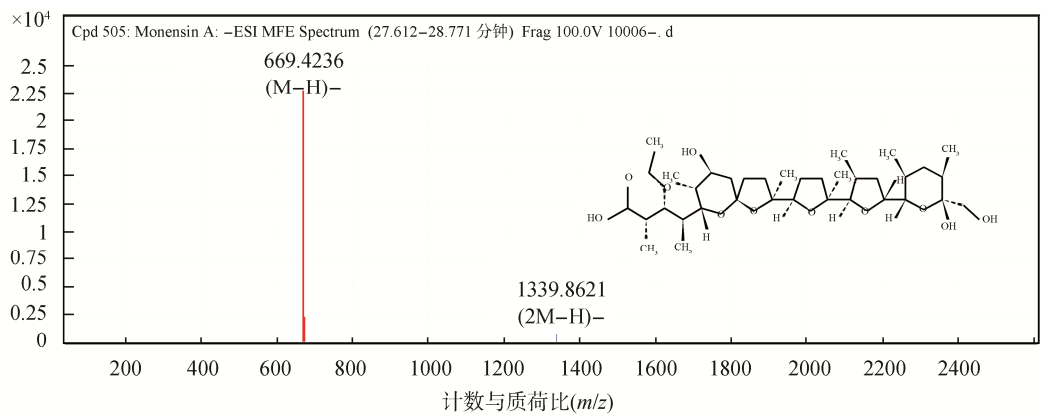


图 4 样品中莫能菌素质谱图

Fig. 4 Mass spectrum of monensin A in sample

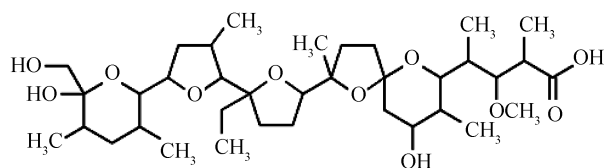


图5 莫能菌素的结构

Fig. 5 The structure of monensin A

为 670.4236。根据所预测的分子式结果,同时参考同位素峰的相对强度和间距,以及 Metlin 库中匹配的分值,基本可以确定该成分为莫能菌素。

4 讨论

本研究利用液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用仪(LC-QTOF-MS)的高灵敏度、高分辨率、高选择性^[11]的特点,对芽胞杆菌发酵液提取液进行分析与检测。通过 Agilent 公司的 Mass Hunter 软件,对数据进行分子特征提取,并通过 Metlin 数据库检索,获得总体代谢物的信息。在对 7 个芽胞杆菌属及其近缘属的 35 个芽胞杆菌种的检测中,筛选出含莫能菌素的芽胞杆菌菌株 1 株,为波茨坦短芽胞杆菌 FJAT-10006 (*B. borstelensis*)。目前应用该技术对产莫能菌素的芽胞杆菌进行筛选的研究,尚未见报道。

关于波茨坦短芽胞杆菌的研究报道较少,主要集中在分离、鉴定、功能研究等方面,包括(1)在分离与鉴定方面,研究者从油田的岩石^[12]、变质豆浆中^[13]、腐败的年糕^[14]、采集与农业堆肥高温期的微生物样品中^[15]分离得到波茨坦短芽胞杆菌;(2)在生物活性的研究方面,车建美等^[16]研究结果表明波茨坦短芽胞杆菌的挥发性物质对枇杷炭疽病菌(*Colletotrichum acutatum*)具有抑制效果,可作为枇杷采后炭疽病的生物防治的候选菌株;王娜等^[12]研究表明波茨坦短芽胞杆菌菌株 ZX-1 具有产氢能力,氢转化率达到 1.8 mol H₂/mol 葡萄糖。

莫能菌素作为一种重要的微生物来源的抗生素,在农业及医学上被广泛应用和研究,主要研究包括:(1)在农业生产中特别是反刍动物养殖上,莫能菌素能够调节瘤胃微生物区系,抑制乳酸产生菌、氨产生菌及产气菌活性^[17]等;(2)在医学领域,Huczyński 等^[18]研究表明,莫能菌素及其叔酰胺衍生物对人类双表型慢性骨髓单核细胞性白血病细胞具有很强的抗增殖活性。Antoszczak 等^[19]将水飞蓟素偶联物与盐霉

素和莫能菌素合成,获得的化合物对 HepG2, LOVO, LOVO/DX 癌细胞系具有抗癌活性。Ivanova 等^[20]研究发现,莫能菌素是治疗镉(Cd)引起肾功能和心功能不全的一种螯合剂等。

本研究从波茨坦短芽胞杆菌 FJAT-10006 的发酵液中首次检测出莫能菌素,为进一步探索该菌中具有生物活性的成分提供科学依据。另外,波茨坦短芽胞杆菌 FJAT-10006 发酵液中与质谱谱库无匹配或者匹配率较低的成分有很多,说明该微生物主要的次生代谢成分有待深入研究;该成分是否是为莫能菌素或者是莫能菌素的同分异构体,有待进一步验证。

参考文献

- [1] 隋世慧, 胡兰. 莫能菌素的研究概况及其应用[J]. 现代畜牧兽医, 2013, 2: 52-55.
Sui SH, Hu L. Research and application of monensin [J]. Mod J Anim Husb Vet Med, 2013, 2: 52-55.
- [2] 郑应华, 李季伦. 莫能菌素应用技术[J]. 中国农学通报, 1992, 8(6): 37.
Zheng YH, Li JL. Application technology of monensin [J]. Chin Agr Sci Bull, 1992, 8(6): 37.
- [3] 秦学忠. 瘤胃素作饲料添加剂[J]. 国外畜牧学:草食家畜, 1988, 4: 30-33.
Qing XZ. Rumensin used as feed additives [J]. Foreign Anim Husb: Plant-Eating Livestock, 1988, 4: 30-33.
- [4] Kyriakis SC. The effect of monensin against swine dysentery [J]. Br Vet J, 1989, 145(4): 373-377.
- [5] 邱怀忠. 莫能菌素与拉沙里菌素对母牛群生产的效果[J]. 内蒙古畜牧科学, 1991, (3): 26-28.
Di HZ. The effect of monensin and lasalocid to cow herd production [J]. Inner Mongolia Anim Husb Sci, 1991, (3): 26-28.
- [6] 王坚, 魏瑞成, 王冉, 等. 莫能菌素的作用机理及在畜牧生产中的应用[J]. 兽药与饲料添加剂, 2007, 12(1): 10-13.
Wang J, Wei RC, Wang R, et al. The mechanism and application of monensin in livestock production [J]. Vet Pharm Feed Addit, 2007, 12(1): 10-13.
- [7] 李俊锁, 邱月明, 王超. 兽药残留分析[M]. 上海: 上海科技出版社, 2002.
Li JS, Qiu YM, Wang C. Analysis of Veterinary drug residues [M]. Shanghai: Shanghai Science Technology Publishers, 2002.
- [8] 刘波, 王阶平, 陶天申, 等. 芽胞杆菌属及其近缘属种名目录[J]. 福建农业学报, 2015, 30(1): 38-59.
Liu B, Wang JP, Tao TS, et al. List of species name for the bacillus-like bacteria [J]. Fujian J Agric Sci, 2015, 30(1): 38-59.
- [9] 蒙显英, 黎起秦, 冯家勋, 等. 芽胞杆菌产生的抗菌物质的研究进展[J]. 中国植保导刊, 2004, 24(12): 13-15.

- Meng XY, Li QQ, Feng JX, *et al.* Research progresses on anti-bacterial material produced by *Bacillus* spp [J]. China Plant Prot, 2004, 24(12): 13–15.
- [10] 洪钦阳, 肖水华, 邹情雅, 等. 苏云金芽胞杆菌生物活性成分研究进展[J]. 生物技术进展, 2013, 3(2): 85–89.
- Hong QY, Xiao SH, Zhou QY, *et al.* Bioactive components in *Bacillus thuringiensis* [J]. Curr Biotechnol, 2013, 3(2): 85–89.
- [11] 史怀, 刘波, 陈峥, 等. 基于 LC/QTOF MS 的芽胞杆菌代谢组学分析方法[J]. 福建农业学报, 2012, 27(10): 1112–1119.
- Shi H, Liu B, Chen Z, *et al.* Metabonomics analysis of *bacillus* based on LC/Q-TOF MS [J]. Fujian J Agric Sci, 2012, 27(10): 1112–1119.
- [12] 王娜, 肖军, 肇莹, 等. 1 株高温型厌氧产氢细菌的分离与鉴定[J]. 沈阳农业大学学报, 2012, 43(1): 58–62.
- Wang N, Xiao J, Zhao Y, *et al.* Isolation and identification of an anaerobic bacteria with thermophilic hydrogen production [J]. J Shenyang Agric Univ, 2012, 43(1): 58–62.
- [13] 汪立平, 张庆华, 赵勇, 等. 变质豆浆中腐败微生物的分离与初步鉴定[J]. 微生物学通报, 2007, 34(4): 621–624.
- Wang LP, Zhang QH, Zhao Y, *et al.* Separation and preliminary identification of spoilage organisms in transmutative soy milk [J]. Microbiology, 2007, 34(4): 621–624.
- [14] 胡庆松, 刘青梅, 杨性民, 等. 年糕腐败菌的鉴定和菌系分析[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(4): 564–568.
- Hu QS, Liu QM, Yang XM, *et al.* Identification of main strains in the rice cake and analysis on the series of the bacteria [J]. J Food Sci Biotechnol, 2009, 28(4): 564–568.
- [15] 黄翠, 杨朝晖, 肖勇, 等. 堆肥嗜热纤维素分解菌的筛选鉴定及其强化堆肥研究[J]. 环境科学学报, 2010, 12: 2457–2463.
- Huang C, Yang CH, Xiao Y, *et al.* Isolation and identification of cellulolytic thermophiles for composting and their enhancement of composting [J]. Acta Sci Circumstantiae, 2010, 12: 2457–2463.
- [16] 车建美, 郭慧慧, 刘波, 等. 产挥发性物质芽胞杆菌对枇杷炭疽病菌的抑制作用及其鉴定[J]. 福建农业学报, 2014, 29(5): 469–474.
- Che JM, Guo HH, Liu B, *et al.* Identification of volatile compounds produced *Bacillus* spp. and their antimicrobial effects on the anthracnose pathogen from postharvest loquat [J]. Fujian J Agric Sci, 2014, 29(5): 469–474.
- [17] 林玉才, 陈滨. 莫能菌素在反刍动物养殖中的应用及研究进展[J]. 兽医导刊, 2015, 10: 156.
- Lin YC, Chen B. The application and research of monensin in ruminant breeding [J]. Vet Orient, 2015, 10: 156.
- [18] Huczyński A, Klejborowska G, Antoszczak M, *et al.* Anti-proliferative activity of Monensin and its tertiary amide derivatives [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2015, 25(20): 4539–4543.
- [19] Antoszczak M, Klejborowska G, Kruszyk M, *et al.* Synthesis and antiproliferative activity of silybin conjugates with salinomycin and monensin [J]. Chem Biol Drug Des, 2015, 86(6): 1378–1386.
- [20] Ivanova J, Gluhcheva Y, Arpadjan S, *et al.* Effects of cadmium and monensin on renal and cardiac functions of mice subjected to subacute cadmium intoxication [J]. Interdiscip Toxicol, 2014, 7(2): 111–115.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



朱育菁, 博士, 研究员, 主要研究方向为农业生物药物与生物防治。
E-mail: zyjingfz@163.com



刘波, 研究员, 主要研究方向为微生物生物技术与农业生物药物。
E-mail: fzliubo@163.com