

# 内生防菌吡咯伯克霍尔德氏菌 JK-SH007 菌株 *prn* 基因簇的功能研究

曹永清, 张丽慧, 白变霞, 任嘉红\*  
(长治学院生命科学系 长治 046011)

**摘要:**【目的】杨树溃疡病是一类危害严重的杨树枝干病害, 该病害严重威胁着我国杨树产业的健康发展。吡咯伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia pyrrocinia*) JK-SH007 菌株是一株高效防治杨树溃疡病的内生防细菌。我们开展了 JK-SH007 菌株群体感应 (Quorum Sensing, QS) 与 *prn* 基因簇 (*prnABCD*) 的相关研究, 以明确 QS 系统对 *prn* 基因簇的调控作用以及 *prn* 基因簇的功能, 为揭示 QS 系统介导该菌株的生防机制奠定基础, 进而为杨树溃疡病的防治提供新思路。【方法】采用乙酸乙酯萃取法提取 JK-SH007 菌株的抗菌粗物质, 结合内外标法, 经高效液相色谱 (HPLC)、质谱等技术鉴定该菌株产生的抗菌活性物质; 利用转录组学技术及 qPCR 技术筛选出 JK-SH007 菌株 QS 系统下游调控的抗病相关差异基因; 采用同源重组策略构建 JK-SH007 菌株 *prn* 基因簇 4 个组成基因的敲除突变体, 分别从生长能力、抑菌能力、抗菌物质变化等方面, 揭示 JK-SH007 菌株的 QS 系统对 *prn* 基因簇是否具有调控作用以及 *prn* 基因簇的功能。【结果】HPLC 检测发现 JK-SH007 菌株发酵液的乙酸乙酯粗提物中不含硝吡咯菌素 (Pyrrolnitrin, PRN), 而是在 6.500 min 出现一个高峰抗菌活性物质, 该物质的  $[M+H]^+$  为 254.76, 这与 PRN 的相对分子质量大小不符; 该物质对杨树溃疡病病原真菌金壳黄囊孢 (*Cytospora chrysosperma*)、拟茎点霉 (*Phomopsis macrospore*) 以及七叶树壳梭孢 (*Fusicoccum aesculi*) 具明显的抑制作用; 转录组和 qPCR 结果显示, *CepI/R*、*RpfF/R* 两个 QS 系统 4 个关键基因敲除株中的 *prn* 基因簇 4 个组成基因 (*prnA*、*prnB*、*prnC* 和 *prnD*) 表达量均下调; 成功构建了 *prn* 基因簇 4 个基因的敲除突变体, 各突变株与野生株相比, 生长无明显变化, 但在 6.500 min 处抗菌物质产量均有所降低, 而且对 3 种杨树溃疡病病原菌的抑菌能力均有所下降, 其中 JK-SH007 $\Delta$ *prnB* 下降幅度最大, 下降了 19.62%。另外, *prnA*、*prnB*、*prnC* 和 *prnD* 缺失后, 4 个突变株在 24.284 min 处均出现新的高峰物质。【结论】JK-SH007 菌株不产硝吡咯菌素, QS 系统正调控该菌株的抑菌能力, *prn* 基因簇与 JK-SH007 菌株产抗菌物质能力密切相关。该研究可为后续通过调控 JK-SH007 菌株 QS 系统提高菌株的抗病性提供基础, 为杨树溃疡病的生物防治提供理论支持。总之, JK-SH007 菌株的生防机制复杂, QS 系统介导该菌株的生防分子机制还有待于进一步深入研究。

**关键词:** 杨树溃疡病 内生防细菌 吡咯伯克霍尔德氏菌 *prn* 基因簇 抑菌能力

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目, 群体感应 (QS) 介导内生 *Burkholderia pyrrocinia* 的生防分子机制 (32071770)

通讯作者: 任嘉红 (1976-), 博士, 教授, 博士生导师。主要从事森林微生物的研究。E-mail: renjiahong@163.com