

文章编号:1003-8701(2013)04-0094-03

药用植物内生菌及其产生活性物质的应用研究

姜云¹, 陈长卿², 尹望¹

(1. 吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118; 2. 吉林农业大学农学院, 长春 130118)

摘要: 内生菌广泛分布于药用植物体内, 与药用植物在长期协同进化过程中形成了互惠共生关系。其能够产生多种活性物质, 在药用植物的生长、抗逆性、活性成分产量积累中起到了促进作用, 因此在生物防治、医药等领域有着广阔的前景。本文对药用植物内生菌的分离及活性物质的作用等方面进行了综述。

关键词: 内生菌; 药用植物; 应用

中图分类号: S567

文献标识码: A

Studies on Isolation and Application of Active Substance of Endophyte in Medicinal Plants

JIANG Yun¹, CHEN Chang-qing², YIN Wang¹

(1. College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118;

2. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: Endophyte widely distributed in medicinal plants, it and its host medicinal plants formed a mutually beneficial symbiotic relationship in the long-term co-evolution process. Endophyte could produce a variety of active substances, and played a catalytic role in the medicinal plant growth, stress resistance and the yield accumulation of active ingredient which having important application on medicine and biological control. The isolation of endophytes in medicinal plant and the function of active substances were summarized in the paper.

Keywords: Endophyte; Medicinal plants; Application

内生菌(endophyte)是指在其部分或全部生活史中存活于健康植物组织内部、不引发宿主植物表现出明显感染症状的一类微生物。植物内生菌包括内生真菌和内生细菌, 可以通过严格植物表面消毒的组织或内部分离得到内生菌^[1-2]。1993年美国蒙大拿州立大学的 strobil 科研小组首次从短叶红豆杉中分离得到一株能合成抗癌物质紫杉醇的内生真菌, 证明内生菌可以合成与宿主植物相同或相似的活性成分的能力^[3]。这一发现掀起了从药用植物中分离内生菌的热潮。

药用植物资源包括藻类、菌类、地衣类、苔藓类、蕨类及种子植物等植物类群。目前, 中国药用植物资源有 385 科、2312 属、11118 种。藻类、菌类、地衣类同属低等植物, 其中种子植物是中国药用植物资源的主体。

1 药用植物内生菌的分离及分布情况

内生菌在植物体内广泛存在, 从藻类、苔藓、裸子植物和被子植物中均已分离得到了内生菌, 分布于植物的根、茎、叶、花、果实及种子等器官组织的细胞或细胞间隙中。同时, 内生菌的分布还受地理位置、气候条件等环境因子的影响。庞蕾等^[4]从两个不同来源的厚朴茎中分离获得内生真菌 48 株, 经初步的形态观察鉴定为 1 纲、3 目、6 科、16 属, 不同来源的厚朴内生真菌的种群、数量及分布存在显著差异。

药用植物内生菌具有丰富的生物多样性。目前已从药用植物内分离到分属于真菌、细菌、放线菌和酵母菌等多种内生菌。人们从药用植物中分离得到的内生真菌包括子囊菌、担子菌、接合菌、卵菌等类群; 内生细菌有革兰氏阳性菌和阴性菌。

收稿日期: 2013-03-05

基金项目: 吉林农业大学科研启动基金项目(201007)

作者简介: 姜云(1978-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 农业微生物。

2 药用植物内生菌所产生的活性物质及其作用

内生菌生活在植物体内,在与宿主植物长期的共同进化过程中,内生菌与宿主植物及其天敌如草食性动物、病原微生物等之间形成了密切而又复杂的生态关系,而维持这种关系的物质基础是内生菌产生的或由内生菌诱导宿主植物合成的代谢产物。研究表明,功能性内生菌可以使宿主植物具有生长快速、抗逆境、抗病害、抗动物危害等优势,比未感染植株更具生存竞争力。主要是由于内生菌在植物体内自身或胁迫植物体形成的代谢产物具有一定的生物活性。具体作用表现为以下几个方面。

2.1 内生菌自身产生激素类物质

许多植物内生菌可产生细胞激动素、吲哚乙腈和吲哚乙酸等生长激素,能够促进植物生长,从而表现出感染内生菌的植株比未感染内生菌的植株生长快的现象。张集慧等^[5]从天麻、石斛等兰科药用植物中分离到的5种内生菌中,检测到赤霉素、吲哚乙酸、脱落酸、玉米素、玉米素核苷等植物激素。可以从假单孢菌属、葡萄球菌属、肠杆菌属及同氮菌属内生细菌的一些菌株中分离到乙烯、生长素、细胞激动素等生长调节物质。Lu等^[6]发现黄花蒿内生菌在体外培养时,能产生对黄瓜和小麦幼苗生长有促进作用的次级代谢产物,且对其中一株炭疽菌(*Colletotrichum* sp.)的发酵产物进行了深入分析,发现该菌能产生植物生长激素 IAA。张宝俊等^[7]对梨树内生细菌 LP-5 的促生作用进行了研究,结果表明该菌株可明显促进黄瓜幼苗的生长,通过高效液相色谱分析表明,该菌株具有促生作用,可能是因为产生植物生长激素 IAA。

这些研究结果说明,内生菌产生的此类物质能够增强宿主对环境胁迫如干旱、低温、环境污染的抗逆性,维持宿主在非生物胁迫环境下的正常生长。

2.2 内生菌自身产生药用植物活性成分

从药用植物中分离得到的内生菌,体外经过人工培养,能够在培养物中产生某些植物活性成分。

从内生菌发酵液中得到的第一个抗肿瘤活性成分是紫杉醇,属菇类化合物。后来研究者们又相继从其他内生菌发酵产物中得到了黄酮类、生物碱类、甾体类、苯丙素类等抗肿瘤活性成分。

2.3 内生菌促进药用植物产生活性成分

对药用植物内生菌的研究表明,有的内生菌不但自身可以产生药用植物活性成分,还具有促进宿主植物产生活性成分的能力,例如江东福等^[8-9]在内

生菌与龙血树血竭的形成关系研究中发现,内生真菌对龙血树血竭的形成具有一定促进作用,可使血竭的形成量提高66%以上。因此将内生菌接种于药用植物中,能够提高药用植物活性成分的含量和产量,这些为药用植物活性成分的研究提供新的途径。陈晓梅等^[10]将4种纯培养的内生真菌分别定植于金线莲无菌苗中进行培养,发现内生真菌对金线莲的生长及其多糖合成均有明显的促进作用,并使金线莲的干重明显增加。戴传超等^[11]将大戟内生菌的菌丝提取液添加到细胞的培养过程中,结果大戟中部分活性成分表现为产物与生物量的双增长。目前,虽然以内生菌为诱导子提高药用植物有效成分含量的研究还不广泛,但研究结果已经说明了植物内生菌是促进药用植物活性成分产生的刺激源。

2.4 植物内生菌产生或促进活性代谢产物的产生

据研究报道,个别“感染”内生菌的宿主植物往往具有抗病害、抗动物危害、生长快、抗逆境等优势,比未“感染”的植株更具有竞争力。这种差异的物质基础是内生菌所产生的多样次生代谢产物,具有多种生物活性,如一些植物病原菌侵入寄主后,在特定的生理和环境条件下,能胁迫寄主产生在正常情况下不能产生的小分子抗菌物质——“植物保卫素”,这种能引起宿主产生一系列生理生化过程具有高度专一性的生化信号物质,称其为“诱导子”或“诱导物”。这些经诱导分泌的植物保卫素化学结构多是生物碱、黄酮、皂苷、菇类、酚类和多炔类等化合物^[12-14]。

2.5 药用植物内生菌所产抗菌活性物质

2.5.1 抗肿瘤活性物质

紫杉醇是一种重要的抗肿瘤药物,但由于紫杉属植物中紫杉醇含量非常低,且生长缓慢,自然资源非常有限,使紫杉醇价格昂贵。随着 Stierle 等人从短叶红豆杉的韧皮部分离到可产生紫杉醇的内生真菌后,人们将研究视线投放到药用植物内生菌的研究上^[15]。

2.5.2 抗菌活性物质

从药用植物中分离得到的内生菌还可产生抗生素类物质,对细菌、真菌、病毒、病原体和一些原生生物都有一定的抑制作用。Strobel G 等^[16]从雷公藤的茎中分离到一株内生真菌(*Cryptosporiosis* cf. *quercina*)能产生一种新型环肽类抗生素,与肺炎球菌素和棘白霉素的化学性质相似,该环肽化合物含有很多稀有氨基酸,不仅对灰葡萄孢和核盘菌等一些植物病原真菌有抑制作用,而且

还能抑制毛癣菌和白假丝酵母等人类病原真菌,可用于真菌引起的指甲及皮肤病的治疗。

3 药用植物内生菌研究中存在的一些问题

内生菌生活在药用植物体内,与药用植物在长期的协同进化过程中形成了特殊的生活环境,这就使内生真菌的体外培养实验中容易出现一些问题。(1) 由于某些专性寄生的内生菌不易在人工培养基上生长,因此还不能够分离出全部的内生菌。(2) 在培养中虽然有选择性地分离真菌、细菌或放线菌等菌类,但在长期培养中,往往受到污染,表面消毒不能达到消除污染的目的。如在分离培养中,虽然常采用组织块法分离真菌,但一些生长缓慢的真菌常被生长快的菌物所覆盖,同样增加了分离的难度和准确性。(3) 内生菌脱离了药用植物体内在体外继代培养过程中会出现退化,甚至死亡现象。(4) 不产孢菌株比例较高,此类菌无法用经典形态学方法进行鉴定。(5) 内生菌体外培养合成次生代谢产物的含量较低。目前虽然分离出不少能产生植物次生代谢产物的菌株,但应用于生产的几乎为零,如何使内生菌在体外大量繁殖,并提高其次代产物的合成能力是一个关键性问题,也是实现内生菌代替药用植物进行次生代谢产物工厂化生产的前提。

4 展 望

开发药用植物内生菌有着良好的前景,其中从内生菌的代谢产物中寻找新型活性物质,是内生菌目前研究的主流。利用药用植物内生菌资源,筛选药用活性物质或新型化合物,为研制新药解决我国某些药用植物资源缺乏、生态平衡破坏等问题提供了一条新的途径,丰富了药物的资源。

(上接第 93 页)

3 结 论

漆酶参与木质素的代谢,可促进木腐菌的生长,漆酶活性对食用菌发酵生产有着直接的影响,氨基寡糖对侧耳漆酶的产生有明显的促进作用,可促进侧耳的生长发育,这与刘尚旭等^[2]、王谦等^[7]的研究结论一致。但氨基寡糖对漆酶产生的影响机理还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 万鲁长,黄春燕,单洪涛,等. 11 个优良侧耳菌株的同工酶及可溶性蛋白综合分析[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2006, 37(4): 499-504.

参考文献:

- [1] 邹文欣,谭仁祥. 植物内生菌的研究新进展[J]. 植物学报, 2001, 43(9): 881.
- [2] Flsher PJ, Petrinio, Seott H M. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize [J]. New Phytol, 1992(122): 299-305.
- [3] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of *Paific yew* (*taxus brevifolia*) [J]. Science, 1993, 260(5105): 214.
- [4] 庞 蕾,严铸云,郭晓恒,等. 厚朴内生真菌的研究:菌种分离及其鉴定[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10): 2013-2014.
- [5] 张集慧,王春兰,郭顺星,等. 兰科药用植物的 5 种内生真菌产生的植物激素[J]. 中草药, 1999, 21(6): 460.
- [6] Lu H, Zou W X, Meng J C, et al. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua* [J]. Plant Sci, 2000(151): 67-73.
- [7] 张宝俊,张家榕,韩巨才,等. 梨树内生细菌 LP-5 的鉴定及其促生作用研究[J]. 核农学报, 2010, 24(2): 249-253.
- [8] 江东福,马 萍,张玲琪,等. 龙血树真菌群及其对血竭形成的影响[J]. 云南植物研究, 1995(17): 79.
- [9] 江东福,马 萍,杨 靖,等. 9568D 镰孢霉作用于死态龙血树形成血脂的研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(3): 477-478.
- [10] 陈晓梅,郭顺星,王春兰. 四种内生真菌对金钱莲无菌苗生长及多糖含量的影响[J]. 中国药杂志, 2005, 40(1): 13-16.
- [11] 戴传超,余伯阳,薛 菲,等. 药用植物大戟悬浮细胞的培养[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2005, 29(2): 57-60.
- [12] Boller T. Chemopereception of microbial signal in plant cells [J]. Annu Rev Physiol Plant Biol, 1995(46): 189-214.
- [13] 宁 文,曹日强. 米曲霉中紫草色素诱导物对滇紫草细胞代谢的影响[J]. 植物生理学报, 1996, 22(1): 74-80.
- [14] Eilert U, Kurz W G, Constabel F. Stimulation of sanguinarine accumulation in *papaver somniferum* cell cultures by fungal elieitors [J]. J. plant physiol, 1984(119): 65-76.
- [15] 孙力军,陆兆新. 植物内生菌抗菌活性物质研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(2): 78.
- [16] Strobel G A, Miller R V, Miller C, et al. Cryptocandin, a potent tetramic acid antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina* [J]. Org. Lett, 2000(2): 767-770.
- [2] 刘尚旭,董佳里,张义正. 糙皮侧耳 *Ax3* 产漆酶条件及部分酶学性质研究[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2004, 41(1): 160-163.
- [3] 李 辉. 壳聚糖对金针菇发酵液中三种胞外酶活性的影响[J]. 北方园艺, 2001(2): 146-147.
- [4] 马 青,孙 辉,杜昱光,等. 氨基寡糖素对黄瓜白粉病菌侵染的抑制作用[J]. 菌物学报, 2004, 23(3): 423-428.
- [5] 邵素琴,李建中. 植物诱抗剂研究进展 [J]. 农药, 2002, 41(6): 12-14.
- [6] 孔繁祚. 寡糖类农药的研制 [J]. 环境化学, 2000, 19(4): 293-299.
- [7] 王 谦,王 璞,王士奎. 氨基寡糖素对两株侧耳营养及生殖生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(7): 1933, 1935.
- [8] 王宜磊,邓振旭,朱 陶,等. 彩绒革盖菌 CV-8 漆酶活性的初步研究[J]. 微生物学杂志, 1998, 18(4): 60-62.