

植物内生真菌的研究现状

★ 武子敬^{1,2} 杨小生² 朱海燕² (1. 贵阳中医学院 贵阳 550002; 2. 中国科学院天然产物化学重点实验室 贵阳 550002)

关键词: 植物内生真菌; 多样性; 生物活性; 作用; 前景

中图分类号: S 576.3 文献标识码: B

内生菌(Endophyte)是指一类在其部分或全部生活史中存活于健康植物组织内部,而不使宿主植物表现出明显感染症状的微生物^[1]。植物内生菌是指生活在植物活组织内而不引起植物病变的一大类微生物^[2]。内生菌分内生真菌(Endophyticfungi)和内生细菌(Endo-phyticbacteria)两大类^[3]。内生真菌是在宿主植物的茎和叶内生存,并完成生活周期的真菌。内生真菌一般存在于根以外的植物组织细胞,可以用显微镜观察,也可以通过纯培养把它们分离出来^[4]。目前已从内生真菌中分离到多种具有生物活性的代谢产物,主要有黄酮、生物碱、萜类、甾体、醌类、环肽、脂肪酸等化合物,并发现其化学成分有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、杀虫、降糖等的活性。本文对近年来植物内生真菌的研究现状作一综述。

1 植物内生真菌的多样性

植物内生真菌是一个多样性十分丰富的生物类群,其多数属于双核菌门子囊菌亚门中的核菌纲(Pyrenomyetes)、盘菌纲(Discomycetes)和腔菌纲(Loculoascomycetes)及其无性态的多种真菌,主要分布于植物的叶鞘、种子、花、茎、叶片和根等细胞间,多数情况下,在叶鞘和种子中分布量最多,而叶片和根含量极微^[5]。内生真菌主要通过菌丝生长进入子房和胚珠,经寄主植物种子传播,或产生孢子,通过风、降水等途径传播^[4]。植物内生真菌普遍存在于各种陆生和水生植物中,具有分布广、种类多的特点,而且不同植物体内分离到的内生真菌数量不同,少则十几种,多则近百种。根据内生真菌与宿主专一性分析,平均每种寄主有4~5种寄生菌,按地球目前已知的25万种植物计算,内生真菌的种类至少有 10×10^6 种。植物内生真菌的生物多样性和存在的普遍性为其研究提供了最基本的保证^[6]。

2 植物内生真菌的生物活性

2.1 抗肿瘤活性 (1)紫杉醇(Taxol)是从红豆杉属植物中分离得到的一种紫杉烷类二萜化合物。它能促进微管聚合,抑制微管解聚,使细胞有丝分裂停止在G2期和M期,从而发挥其对细胞生长的抑制作用。紫杉醇已成为近年来抗癌药物研究中新的热点,现已被许多国家用于治疗化疗无效的卵巢癌和乳腺癌^[7]。

1993年和1996年,Stierle^[8,9]等分别从寄生于太平洋红豆杉(*Taxusbrevifolia*Nutt.)树皮内的真菌(*Taxomycesandrea-*

nae)的发酵液中和西藏红豆杉(*Taxuswallachiana*Zucc.)的内生真菌中分离得到了紫杉醇。我国研究者对生长在长白山地区的东北红豆杉(*Taxuscuspidatasieb. etZucc.*)内生真菌也进行了研究,发现其中一株丝状真菌TCH68的发酵液,在体外细胞实验中,能够使细胞有丝分裂停止在中期,有可能从中获得新的作用于微管的抗肿瘤抗生素^[7]。从红豆杉属植物内生真菌得到的紫杉醇,不仅解决了紫杉醇在红豆杉植物中含量极低的问题,而且对我国红豆杉属植物资源起到了保护的作用。

(2)长春碱(Vinblastine)、长春新碱(Vincristine)是五十年代末,从长春花(*Catharanthusroseus*(L.)Don)中发现的具有抗肿瘤活性,尤其对白血病具显著疗效。此后,从长春花不同部位分离出100多种生物碱,但这些生物碱在植物体内含量低,且植物生长缓慢,资源短缺,限制了抗癌药物的进一步开发^[10,11]。而从长春花的内生真菌中分离提取出长春新碱将解决这一难题。

(3)喜树碱(Camptothecin)、羟基喜树碱是从我国特有植物喜树(*Camptothecaacuminata* Decne.)当中分离得到,喜树碱在临床上广泛应用于肝癌、胃癌、膀胱癌及白血病等的治疗^[12],是拓扑异构酶I的专属性抑制剂。喜树中喜树碱、羟基喜树碱的含量极低(0.01%~0.10%),且结构复杂难以合成^[13],远远不能满足临床治疗的需要。通过对喜树的不同部位内生真菌的分离情况看,喜树的叶、枝条和果实的内生真菌菌株的含量高。喜树内生真菌菌株进行体外抗肿瘤活性筛选,在筛选出的10个内生菌株中,有7个内生菌株发酵液能显著抑制白血病细胞HL60的生长^[13]。

(4)美登素(Maytansine)是SMKupchan等首先从齿叶美登木(*Maytanus serrata*)中获得的高效、低毒、结构新颖的抗癌有效成分^[14]。我国学者也获得类似的研究成果,从美登木(*Mhookeri* Loes)中分到了美登素^[15]。但是,在美登木内生真菌中并未得到美登素,张玲琪等^[16]首次报道了从美登木茎、叶中分离筛选到一株产球毛壳素的内生真菌——球毛壳菌,球毛壳素是Sekita等^[17]于1983年新发现的抗癌化合物。

(5)鬼臼毒素(Podophyllotoxin)含有独特的反式内酯环结构,主要阻止细胞分裂前期(G2期)或从G2期进入分裂期

的过程,属于细胞周期特异性药物^[18,19];它是合成多种治疗癌症药物的前体,具有显著的抗肿瘤活性,因而具有较大的经济价值^[20,21]。鬼臼毒素一直是从小檗科鬼臼亚种植物中提取,含量低,远不能满足要求,加之对植物原料需求的增多,已使这类植物资源遭到严重破坏。李海燕等^[22]从桃儿七(*Sinopodophyllum hexandrum*)植株中分离得到28株真菌,其中,有两株产鬼臼毒素类似物,它们分属于青霉属(*Penicillium*)和链格孢属(*Alternaria*)。2003年杨显志等^[23]从四川八角莲(*Dysosma veitchii*)、南方山荷叶(*Diphyllaeis sinensis*)等产鬼臼毒素的植物中都分离到产鬼臼毒素的内生真菌。

(6)白灰制菌素A(*Leucinostatin*)是Strobel等^[24]在欧洲紫杉(*Taxus baccata*)的内生真菌枝顶霉属(*Acremonium* sp.)中提取到一种白灰制菌素A,这种物质除了具有杀真菌活性外,对人体的某些癌细胞具有很强的抑制作用,因此具有很好的推广价值。

(7)Torreyanic acid^[27]是一种选择性的具有细胞毒的苯醌二聚物,由一株分离自佛罗里达榧树(*Torreyataxifolia*)的内生真菌的研究发现,该化合物具有较强的抗肿瘤作用,并且可以通过诱导细胞凋亡而促进肿瘤细胞死亡。

(8)异香豆素的内生真菌 海洋微生物的研究是一个新兴的巨大领域,红树林海洋真菌是海洋微生物的重要组成部分。王军等^[25]从南海红树(*Rhizophora chinensis* L.)的嫩叶中获得一种内生真菌 No. 2533,其代谢产物很丰富,其中分离获得的异香豆素 avicruin-A 是一种新化合物。异香豆素是一类广泛存在于自然界的天然产物,其中某些化合物具有通便、退热等药理作用和明显的抗癌活性。

(9)胞松素类化合物(属于生物碱类物质)Wagenaar 等人从传统药用植物雷公藤(*Tripterygium wilfordii*)中分离了一种内生真菌,发现其产生三种结构新颖的胞松素。进一步研究发现,这三种化合物都具有抗肿瘤活性^[27]。

Huangyaojian 等^[28]从南方红豆杉(*Taxus mairei*)和香榧(*Torreya grandis*)等药用植物中分离了拟青霉菌属(*Paecilomyces*)内生真菌,通过MTT法检测到这种内生真菌具有很高的抗癌活性,对人体癌细胞有抑制作用。

通过对抗肿瘤药用植物内生真菌的研究,可以得到与宿主植物相同活性的物质,不仅可以扩大药用资源,同时也缓解了某些药用植物资源的缺乏和对濒危物种的珍惜。解决了药用植物资源生长周期长,不能满足人们预防治疗疾病的需求问题。

2.2 抗菌活性 研究发现,一些来源于植物内生真菌的天然产物具有抑制和杀灭许多病原微生物的作用,这些微生物包括感染人和动物的细菌、真菌、病毒等病原体以及植物病原菌等。

(1)环肽抗生素^[24](*Cryptocandin*)是一种多肽化合物,具有抗霉菌活性,是由分离自药用植物雷公藤的内生真菌产生的。不仅对许多植物病原菌如核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)和灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)等有抗菌活性,还对一些重要的人类病原真菌如白假丝酵母(*Candida albicans*)、毛癣菌(*Trichophyton* spp.)等有抗菌活性,因而有望开发成抑

制皮肤和指甲真菌感染的药物。从番茄(*Lycopersicon esculentum*)的根部分离得到内生真菌尖镰孢霉(*Fusarium oxysporum*)对病原菌有很好的抑制作用^[26]。

(2)从锡兰肉桂(*Cinnamomum zeylanicum*)中分离的一种内生真菌(*Muscodora* bus),通过产生多种挥发性物质来抑制或杀灭一些植物和人体病原菌^[24]。

(3)Harper 等人从 *Terminalia moribensis* 的内生真菌中分离到了两种化合物 Pestacin 和 Isopestacin^[29]。实验证实,两者既具有抗菌活性,同时又有抗氧化活性。

2.3 杀虫活性

2.3.1 Nodulisporic acids^[30] 是一种呋喃二萜类化合物,是从植物 *Bontiadaphnoides* 的内生真菌中发现的,它具有杀灭大苍蝇幼虫的活性。

2.3.2 香豆酮衍生物 Findlay 等人从伏卧白株树(*Gaultheria procumbens*)中分离的内生真菌中发现了两种香豆酮衍生物^[31],两者都对云杉蚜虫具有毒性。

2.3.3 萜 萜是由藤蔓植物(*Paullinapaullinoides*)的内生真菌产生的^[32]。实际上,该化合物是一种广泛使用的驱虫剂——樟脑球的有效成分。

2.3.4 抗疟疾物质 Osterhoge^[33]从绿藻类石莼(*Ulvalactinal*)植物内生真菌中分离出一种新的结构异常的四聚体酸(*Ascosalipyrrolidinones* A)(1)对疟原虫 *Falciparum* strain K1 和 NF54 有抗性。从内生真菌 *Geotrichum* sp. 的发酵液中分离出三种新的二氢异香豆素衍生物和从内生真菌 *Phomopsis* sp. BCC1323 中分离出的两种新的二聚体,都具抗疟疾作用^[34],同时这两种物质还有抗结核的作用。

3 植物内生真菌的作用

由于植物内生真菌长期生活在植物体内的特殊环境,与宿主协同进化,二者形成相互共生的关系:(1)植物为内生真菌提供光合作用产物和矿物质,并对内生真菌起到保护的作用。(2)内生真菌的代谢物能刺激宿主植物的生长发育,增强宿主植物对生物胁迫(食草动物、昆虫、病原菌)及非生物胁迫(高温、干旱、高盐等)的抗性^[1]。

植物内生真菌可以产生多种生长调节物质如植物生长素、赤霉素、细胞激动素等,可直接促进宿主植物的生长^[36]。在低水平氮源的土壤中,可增加宿主对氮元素的吸收。

植物内生真菌可以提高宿主植物对非生物胁迫的对抗性,可以增加其抗旱、抗高温的能力。

植物内生真菌可增加宿主植物对病虫害的抵抗能力,对有害昆虫和对植物致病菌都有抗性^[35]。

植物内生真菌可产生一些重要的抗人类疾病的药物,如从内生真菌分离得到的抗肿瘤物质,扩大了抗肿瘤药物的来源。

4 植物内生真菌的应用前景

由于内生真菌存在于植物组织内,不受外界环境的影响,对植物生长发育、抵抗病虫害等具有广泛的生物学作用,是一类应用前景广阔天然微生物资源,同时在一些植物及农作物中广泛传播具有重要意义。

寻找生产抗癌药物的有效途径一直是人类攻克癌症的

主要工作之一。而目前获取抗癌药物的主要途径是从天然植物中提取和化学合成或半合成等。当人们从某些抗癌药用植物的内生真菌中分离出与宿主植物相同或相似的抗癌活性物质时,并利用其产生抗癌活性物质的内生真菌,通过发酵生产抗癌药物,为抗癌药物的研究开发和生产开辟了新的途径。

植物内生真菌是一类相对来说开发较少、次生代谢产物丰富、应用前景广阔的微生物资源。可以缓解植物资源的短缺,生态平衡的破坏,为植物资源的合理开发利用提供了重要的参考。植物内生真菌不仅能产生抗癌的活性物质,还可能产生其它的具有潜在价值的活性代谢产物,有待于我们进一步的研究。总之,植物内生真菌的研究将有利于我国微生物药物、天然产物的开发和珍稀植物资源的保护。

参考文献

- [1]黎万奎,胡之璧.内生菌与天然药物[J].中国天然药物,2005,3(4):193~199
- [2]Strobel G, Daisy B, Castillo U, et al. Natural products from endophytic microorganisms[J]. J Natprod. 2004, 67(2):257~68
- [3]曹晓洞,周立刚等.植物内生真菌产生生物活性物质的研究进展[J].西北农林科技大学学报(自然科学版).2005,33:201~208
- [4]李明.植物内生菌[J].生物学教学,2003,28(5):1~3
- [5]CARROL G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont[J]. Ecology, 1998, 69:29
- [6]官珊,钟国华等.植物内生真菌的研究进展[J].仲恺农业技术学院学报.2005,18(1):61~66
- [7]姜威,金文藻等.东北红豆杉内生真菌代谢产物的化学研究[J].中国抗生素杂志.1998,23(4):263~266
- [8]Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces* and *reanae*[J]. An endophytic fungus of *Pacific yew* Science. 1993, 260(5105):214
- [9]Strobel G, Yang XS, Sears J et al. Taxol and taxane production by *Taxomyces* and *reanae*. An endophytic fungus of *Taxus wallachiana*[J]. Microbiology. 1996, 142(2):435
- [10]Barry VC. Secondary Products from Plant Tissue Culture[J]. Oxford. 1990:224
- [11]Schie O, Berlin J. Plant Cell Tissue Organ Cult[J]. 1987, 8(2):153
- [12]Rivory LP, Robert J. Molecular, cellular, and clinical aspects of the pharmacology of 20(S) camptothecin and its derivatives[J]. Pharmacol Ther, 1995, 68:269~296
- [13]Chavan SP, Sivappa R. Asynthesis of camptothecin[J]. 2004, 45:3113~3115
- [14]Kupchan SM, et al. Maytansine, a novel antitumor macroide from *maytenus ova tus*[J]. JAMCHEM. Soc. 1972, 94(4):1354~1356
- [15]周韵丽,黄丽英,周倩如,等.云南美登木中美登素和美登普林的分离和鉴定科学通报[J].1980,25(9):48
- [16]张玲琪,王海昆,邵华,等.美登木内生真菌产抗癌物质球毛壳素的分离及鉴定[J].中国药杂志,2002,37(3):172~175
- [17]STROBELEG, STIERLEA, STIERLED, et al. *Taxomyces andreanae*, a proposed new taxon for a bulbiferous hyphomycete associated with *pacific yew* (*Taxus brevifolia*)[J]. Mycotaxon, 1993, 47:71
- [18]杨仓良主编.毒药本草[M].北京:中国中医药出版社,1993 132~133
- [19]中国医学科学院药物研究所.中药志[M].北京:人民卫生出版社,1979 246~252
- [20]畅行若,胡之璧.草药离儿七化学成分研究[J].药学报,1980,15(3):158~161
- [21]杨新波.鬼臼毒素抗肿瘤作用研究进展[S].国外医药植物药分册,1996,11(4):158~159
- [22]李海燕,曾松荣,张玲琪.云南桃儿七植株地下茎内生真菌多样性及有价值菌株的筛选[J].西南农业学报,1999,12(4):123~125
- [23]杨显志,郭仕平,张玲琪,等.鬼臼类植物产鬼臼毒素内生真菌的筛选[J].天然产物研究与开发,2003,(5):419~422
- [24]Strobel GA, Dirkse E, Sears J, et al. Volatile antimicrobials from *Muscodora albus*, a novel endophytic fungus[J]. Microbiology, 2001, 147(11):294~350
- [25]王军,林永成,吴雄宇,等.从南海红树林内生真菌 No.2533 分离出新的异香豆素[J].中山大学学报(自然科学版)2001,40(1):127,128
- [26]Hall mann J, Sikora R A, Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soil-borne plant pathogenic fungi[J]. Eur J Plant Pathol, 1996, 102(2):155~162
- [27]Wangenaar M Corwin, J Strobel, G A et al. Three new chytocalasins produced by an endophytic fungus in the genus *Rhinochlaetia*[J]. J Nat prod 2000, 63:1692~1695
- [28]Huang yaojian, Wang jianfeng, Ligulian, et al. Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalotaxus fortunei* and *Torreaygrandis*[J]. FEMS Immunology and Medical microbiology, 2001, 31(2):163~167
- [29]Zhang BS, Lituro G, Szalkowski D, et al. Discovery of small molecule in sulim mimetic with antidiabetic activity in mice[J]. Science, 1999, 284:974~981
- [30]Strobel G, Daisy B, Castillo U, et al. Natural products from endophytic microorganisms[J]. J nat prod. 2004, 67(2):257~268
- [31]Disy B H, Strobel, G A Castillo U, et al. Naphthalene, an insect repellent, is produced by *Muscodora vifignus*, a novel endophytic fungus[J]. Microbio, 2002, 148:3737
- [32]Harpre J K, Ford E J, strobel g a, et al. Pestacin: a 1, 3-dihydroisobenzofuran from *Pestalotiopsis microspora* possessing antioxidant and antimycotic activities[J]. Tetrahedron, 2003, 59:2471~2476
- [33]Osterhage C, Kaminsky R, Konig G M, et al. Ascosalipyrrolidinone A, an antimicrobial alkaloid, from the obligate marine fungus *Ascochyta salicorniae*[J]. J Orgchem, 2000, Oct 6, 65(20):6412~6417
- [34]Isaka M, Jaturapat A, Rukser K, et al. Phomoxanthones A and B, novel xanthone dimers from the endophytic fungus *Phomopsis* species[J]. J Nat Prod, 2001, Aug, 64(8):1015~1018
- [35]郭良栋.内生菌研究进展[J].菌物系统 2001,20(1):148~152
- [36]文才艺,吴元华,田秀玲.植物内生菌研究进展及其存在的问题[J].生态学杂志 2004,23(2):86~91

(收稿日期:2006-05-23)