

药用竹黄菌的生物学研究进展*

贾小明¹ 徐晓红¹ 庄百川¹ 林海萍²

(浙江大学生命科学学院 杭州 310029)¹ (浙江林学院生命科学院 临安 311300)²

摘要: 对药用真菌竹黄菌的分类学地位, 竹黄菌的寄主及生态学, 竹红菌素、竹黄菌多糖、竹黄菌的抗菌谱等生物活性物质, 竹黄人工培养的生物学研究进展进行了综述。提出了自然界是否存在竹黄新种属和寄主专一性 目前竹黄尚处于自生自灭状态, 子座尚未能人工培养, 不利竹黄物种和药源保护与可持续利用等问题; 指明今后还需深入开展竹黄菌的生物学研究和探索竹黄人工培养技术, 以利竹黄的开发、利用。

关键词: 药用真菌, 子座, 竹红菌素, 人工培养

中图分类号: Q939.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 03-0147-04

The Progress of Biological Research of Medicinal Fungus *Shiraia bambusicola**

JIA Xiao-Ming¹ XU Xiao-Hong¹ ZHUANG Bai-Chuan¹ LIN Hai-Ping²

(College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029)¹

(College of Life Sciences, Zhejiang Forestry University, Linan 311300)²

Abstract: The research status is reviewed on taxonomic position, ecology, biological active matter and artificial cultivation of *Shiraia bambusicola*. Following problems are presented; whether there are new species and host specificity of *Shiraia bambusicola*. Since the artificial cultivation of stroma of *Shiraia bambusicola* has not been success, *Shiraia bambusicola* is in situation of emerge of itself and perish of itself so that it is not beneficial to resource protection and continual utilization of this medicinal fungus. It is pointed out that molecular biology of *Shiraia bambusicola* should be further researched and technology of artificial cultivation of *Shiraia bambusicola* should be explored in order to exploit and usage of *Shiraia bambusicola*.

Key words: Medicinal Fungus, Stromata, Hypocrellin, Artificial cultivation

竹黄菌 (*Shiraia bambusicola* P. Henn.) 又名竹花、竹三七、竹赤团子等, 是一种生长在竹枝上的真菌, 其子实体称竹黄。民间常用竹黄泡酒治疗风湿性关节炎、虚寒胃痛、坐骨神经痛、跌打损伤和气管炎等症。

竹黄菌是仅见于中国和日本的药用资源。近年来, 随着对竹黄的化学成分、药理作用的研究以及竹黄制剂在临床上的疗效^[1,2], 对竹黄菌的药用价值有了新认识—竹黄菌的子实体具有良好的光敏杀伤肿瘤细胞、抗病毒、抑制糖尿病患者的视网膜病变等作用。此外, 还发现竹黄在农业上用作光诱导、灭虫杀菌的新型生物农药前景十分广阔^[3]。因而, 竹黄的进一步开发利用受到了普遍关注。本文对竹黄菌的生物学研究作一综述, 以利于竹黄的鉴别、开发、利用。

1 竹黄菌的分类学地位

竹黄属 (*Shiraia*) 是日本学者 Hennings 于 1900 年建立, 将其归为子囊菌的赤壳科

* 浙江省教育厅资助项目 (No. 020969)

通讯作者 Tel: 0571-86971962, E-mail: jiaxiaoming@126.com

收稿日期: 2005-08-22, 修回日期: 2005-12-12

(Nectriaceae) 中。1902 年, Saccardo 认为竹黄有较大的肉质的子囊果而将其归入肉座菌目、肉座菌科 (Hypocreace)。该分类法后来被许多真菌学家沿用。1980 年, 日本学者 Amano^[4] 重新检验了保存在日本国家科学馆 (The National Science Museum) 中的竹黄模式标本, 指出 Hennings 描述的竹黄子囊孢子是双壁而不是单壁的, 修正了长期以来一直认为竹黄是单壁子囊菌的误传。同时, 他根据 Luttrell 的分类法, 将竹黄属置于腔菌纲、假球壳目的假球壳科中。但竹黄菌的子囊含 6 个子囊孢子, 与假球壳科的菌通常有 8 个子囊孢子的指征不符。2001 年, 英国真菌分类学权威著作—真菌字典 9 版将竹黄归为腔菌纲、座囊菌目 (Dothideales) 中科地位未定的竹黄属。目前, 该属中仅有 1 个种, 即竹黄菌 (*Shiraia bambusicola* P. Hennings)。

长期以来, 由于不同的分类学家分类指标、依据不同, 竹黄属隶属的“纲”、“目”“科”的分类地位也不同, 但几乎所有的真菌学家都以竹黄菌子座、有性过程产生的子囊果、子囊、子囊孢子的形态、结构特征作为主要分类依据。顾龙云等对竹黄菌子座发育过程中的形态结构进行了详细的观察和描述, 并首次提供了光学显微镜和扫描电镜照片的记实记录, 这为研究竹黄菌发育生活史、系统演化与分类提供了很好的依据。2004 年, Cheng T-F 等^[5] 将 rDNA 信息引入到竹黄菌分类中, 他们依据 rDNA 序列构建的系统发育树结合竹黄形态、结构特征, 指出竹黄属应归属于假球壳目, 并建议将竹黄属归为假球壳目、Phaeosphaeriaceae 科中的一个独立的属。

2 竹黄菌的寄主及生态学

已往报道的竹黄菌寄主为刺竹属 (*Bambusa* Retz. corr. Schreber)、刚竹属 (*Phyllostachys* Sieb. et Zucc.)、箭竹属 (*Fargesia* franch) 等。赖广辉等^[6] 对竹黄菌寄主鉴别结果表明均非上述属而是短穗竹属 (*Brachystachyum* Keng.) 植物。其中最重要的为短穗竹 [*B. densiflorum* (Rendle) Keng] 及其变种毛环短穗竹 [*B. densiflorum* (Rendle) Keng. var. *villosum* S. L.] 并且发现竹黄的另一种重要的新寄主植物—白纹短穗竹 (*B. albostratum*)。他们还发现了 4 种次生寄主: 宜兴唐竹 (*Sinobambusa yixingensis* C. S.) 以及另外 3 种未定种的唐竹。同时发现竹黄在不同竹种上的寄生率不同, 其中以短穗竹及其变种毛环短穗竹的寄生率最高, 产量最大。竹黄菌在不同生境竹林中的寄生状况也颇有不同: 其在湿润阴凉环境中的短穗竹林中寄生率最高, 阴坡竹林中次之, 而阳坡、半阳坡竹林则较低; 在短穗竹纯林中的寄生率高于短穗竹-杂灌混交林。

竹黄菌可在 22℃ ~ 28℃ 生长。菌丝发育最适温度 22℃ ~ 25℃, 湿度为 65% ~ 75% 左右。子实体发育在 25℃ ~ 28℃, 并需 80% 以上的湿度, 多于春季雨后发生。竹黄生长发育需要散射光, 阳光直射处子实体发生较少。

竹黄菌生活史: 一般每年 3 月下旬竹枝上的竹黄菌孢子萌发形成白色菌丝, 4 月菌丝体在竹枝上集结发育逐步形成粉红色的细长纺锤形幼嫩子座。一旦幼子座形成, 则子座发育生长较快, 常分泌出黄色粘稠液体, 至 5 月下旬或 6 月上旬, 子座成熟呈龟裂瘤状。竹黄菌从孢子萌发到子座发育成熟可采摘大约需 2 月余的时间。竹黄主要分布于中国的浙江、江苏、安徽、江西、福建、湖北、四川、贵州等地。国外日本也有报导。

3 竹黄菌的生物活性物质

竹黄菌的化学分析表明其含有多种生物活性物质, 使其具有杀伤肿瘤细胞和抑制

艾滋病毒、具抗菌活性、具保健功能的食用色素等作用。

3.1 竹红菌素 竹红菌素 (Hypocrellin A, HA) 是由中国学者^[7]首先从药用真菌竹红菌 [*Hypocrella bambusae* (B. et Br.)] 的子实体中分离到的一种新的萜醌类化合物, 因源于竹红菌而得名。有趣的是, 后有日本学者 Kishi 等^[8]从另一药用真菌竹黄菌子座中分离提纯到另外两种竹红菌素, 分别称竹红菌乙素 (HB)、竹红菌丙素 (HC)。迄今, 从竹黄中已分离到竹红菌素甲、乙、丙, 其中对竹红菌素甲的药理、理化性质研究的最多。事实上子囊菌中有 3 种真菌产生竹红菌素, 除了上述两种真菌外, 还可由菌寄生菌属 [*Hypomyces* (Fr.) Tul. sp.] 产生, 但以竹黄菌在中国地域分布最广。

竹红菌素的理化性质: 可溶于大多数有机溶剂, 如氯仿、丙酮、甲醇、乙醇等, 微溶于石油醚, 不溶于水。与三氯化铁反应由红变暗紫色。在酸性和中性溶液中呈红色, 加入碱液, 则发生由红色变成鲜绿色的颜色变化。竹红菌素的乙醇溶液在 465nm 处有最大吸收峰。3 种类型的竹红菌素分别具有不同的熔点、分子量、不同的光谱图。因此竹红菌素的鉴定可根据溶解性、颜色反应、吸收峰等特性进行快速鉴别, 但要确定竹红菌素化学结构和物理性质则需红外光谱、紫外光谱、核磁共振谱、质谱等方面的资料。竹红菌素因无毒、无味, 色泽鲜红、着色力较强, 具保健功能及良好的理化性质, 有学者^[9]提议可考虑作为食品添加剂。

对竹红菌素的药理药化作用的研究表明竹红菌素为光化疗药物, 其光敏作用的靶位点为肿瘤细胞的膜脂和膜蛋白, 使膜脂质过氧化作用增强, 膜蛋白巯基减少引起膜蛋白交联, 从而破坏了膜脂质和膜蛋白的结构。HA 光敏反应还可造成细胞 Na^+/K^+ ATP 酶基因点突变, DNA 分子的损伤、诱导肿瘤细胞凋亡^[10]等作用。

3.2 竹黄菌多糖 真菌多糖是药用真菌中具有生物活性的主要有效组分之一, 在生物体内不仅提供能量和参与结构, 同时还具有多种多样的生物学功能, 在生命活动中参与了细胞的各种活动。竹黄子实体经分离后, 菌丝接种液体发酵。从发酵液中分离纯化到两种白色粉末的杂多糖: Sb1 和 Sb2。Sb1 含 D-葡萄糖, D-半乳糖和 L-阿拉伯糖, 摩尔比为 0.37:1.00:0.07。Sb2 含 D-葡萄糖, D-半乳糖 D-甘露糖和 L-阿拉伯糖, 摩尔比为 0.25:1.00:0.47:0.12。Sb1 多糖分子的糖苷键为 β 型, 还存在少量的 α 型糖苷键。Sb2 的糖苷键均为 β 型。经初步药理实验, 发现这两种多糖对肝炎具有一定疗效, 对小白鼠的急性四氯化碳肝损伤有保护作用。免疫组织重量测定表明能使脾脏增加质量。

3.3 竹黄菌的抗菌谱 早先报道^[7]的竹黄抗菌活性源自于竹黄子实体中的竹红菌素, 在光照下具抑制某些革兰氏阳性菌和真菌作用。近年^[11]有报道竹黄菌发酵液中具有天然抗菌活性物质, 用竹黄菌发酵液的乙酸乙酯萃取物体外抗菌试验表明: 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度为 0.4mg/mL, 最低杀菌浓度为 3.19mg/mL。对白地霉和黑曲霉的 MIC 和 MBC 均为 0.024mg/mL。此外, 从竹黄中还分离到麦角甾醇、1, 8-羟基蒽醌和过氧化麦角甾醇等药性成分^[12], 但含量甚微。

4 竹黄菌的人工培养

现有的竹黄菌的人工培养大多采用含有竹汁的各种成分培养基或天然培养基, 28℃ 以下液体培养或固体培养。张 灏等^[13]报道了竹黄菌株 ZR-1 液体发酵的最佳培养基组成为: 2% 葡萄糖、0.4% 甘露醇、0.2% 麸皮、10% 土豆汁、 KH_2PO_4 0.2%、 MgSO_4 0.04%、

竹叶汁 0.2%。用该基质适宜条件下摇瓶培养 7 d, 用丙酮从发酵湿菌体中直接提取竹红菌素, 其提取率可达到 1.72%。李达旭等^[14]确定了竹黄菌的固态发酵的最佳培养条件为: 每 kg 基础培养基(大米)中添加硝酸铵 20 g、麦芽糖 50 g 和马铃薯汁 1,200 mL, 温度 26℃, 自然 pH 值, 每克菌丝茛菪类化合物的产量可达到 2.4 色价。

目前, 在人工培养基上仅分离培养出竹黄菌的菌丝、菌丝体, 尚无子实体—子座培养成功的报道。有介绍采用竹黄菌的人工接种, 将竹黄菌菌悬液喷洒竹林, 以增加竹黄子实体的产量, 但未见结果报道。

5 问题与展望

中国是“世界竹子王国”, 存有竹类数百种, 但据报道竹黄菌的寄主仅限少数几种竹种。那么竹黄菌有否寄主专一性? 竹黄菌与竹类的寄生关系是与寄主提供的营养有关还是与寄主的生态环境有关或两者兼有? 此外竹黄菌的有性生殖是同宗结合还是异宗结合? 搞清这些问题, 模仿生境条件, 采用昼夜日差光照、阶段性变温培养, 诱导竹黄菌性激素形成也许将有助于竹黄子实体人工培养的成功。

药用真菌与食用真菌不同, 从药用目的出发并非非用子实体不可, 但竹黄菌的菌丝体与子实体的药用价值差异很大, 菌丝体是真菌的营养生长阶段, 而子实体为竹黄菌有性繁殖的结果, 富含竹红菌素。目前竹黄药源仍来源于野生资源, 能否人工培养成功高产量分泌竹红菌素的竹黄菌、或突破竹黄菌子座人工培养这一技术难关意义重大, 它不仅有助于竹黄的开发利用, 还可对那些子实体目前尚未能培养成功的药用真菌或食用真菌提供模式、丰富真菌学的内容。竹黄菌的重要次生代谢产物—竹红菌素生物合成途径、机理; 产竹红菌素的基因组分析, 基因克隆、表达; 竹黄子座人工培养技术和方法等一系列问题都有待研究和阐明。

竹黄目前仍处于自生自灭的野生状态, 在自然界资源有限, 不利于竹黄物种和资源的保护与可持续利用。基于对竹黄资源的保护和今后竹黄的人工培养的产业化, 深入开展对竹黄菌生物学的基础研究无疑更有助于竹黄的开发、利用。

参考文献

- [1] Chen Y, Zhang Y X, Li M H, *et al.* Biochemical and biophysical research communications, 2005, **329** (4): 1334 ~ 1342.
- [2] Tong Y C, Zhang X W, Zhao W M, *et al.* European journal of pharmacology, 2004, **494** (2): 101 ~ 109.
- [3] 张志文, 张伟, 张红雨, 等. 1996, 专利号: 96120599.7.
- [4] Amano N. Bull Natn Sci Mus, Tokyo, Ser B, 1980, **6**: 55 ~ 60.
- [5] Cheng T F, Jia X M, Ma X H, *et al.* Journal of Basic Microbiology, 2004, **44** (5): 339 ~ 350.
- [6] 赖广辉, 博乐意. 中国野生植物资源, 2000, **19** (1): 8 ~ 11.
- [7] 万象义, 陈远腾. 科学通报, 1980, **25** (24): 1148 ~ 1149.
- [8] kishi T, Tahara S, Taniguchi N, *et al.* Planta Med, 1991, **57** (4): 376 ~ 379.
- [9] 肖仔君, 陈惠音, 杨汝德. 中国食品添加剂, 2003, **4**: 74 ~ 76.
- [10] Ali S M, Olivo M. International Journal of Oncology, 2002, **21** (6): 1229 ~ 1237.
- [11] 李加友, 李兆兰, 焦庆才, 等. 南京中医药大学学报, 2003, **19** (3): 159 ~ 160.
- [12] 沈云修, 荣先国, 高宗华. 中国中药杂志, 2002, **27** (9): 674 ~ 676.
- [13] 张 灏, 邓 丹, 石贵阳, 等. 生物技术, 2002, **12** (4): 19 ~ 20.
- [14] 李达旭, 赵 建, 何 颖, 等. 四川大学学报(自然科学版), 2003, **40** (1): 139 ~ 143.