

# 金荞麦和苦荞麦抗菌活性内生真菌的筛选及鉴定

张传博<sup>1\*</sup> 陈荣林<sup>2</sup> 殷幼平<sup>2</sup> 王中康<sup>2</sup>

(1. 贵州师范大学生命科学学院 贵州 贵阳 550001)

(2. 重庆大学生物工程学院 重庆市杀虫真菌农药工程技术研究中心 重庆 400044)

**摘要:** 从药用植物金荞麦和苦荞麦的根、茎、叶、花中分离到 62 株内生真菌, 并以金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) [CMCC (B) 63501]、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)和绵腐病菌(*Pythium aphanidermatum*) 6 种微生物为指示菌对分离到的内生真菌进行抗菌活性检测。结果发现, 分离的内生真菌菌株 KQH-01、KQH-02 和 JQY-1 的发酵醇提取物具有较好的抑菌活性。形态学特征和分子鉴定确定菌株 KQH-01 为炭角菌属(*Xylaria* sp.)真菌, 菌株 KQH-02 为球毛壳菌(*Chaetomium globosum*), 菌株 JQY-1 为葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)。关键词: 金荞麦, 苦荞麦, 内生真菌, 抑菌活性, 分子鉴定

## Isolation and identification of endophytic fungi with antimicrobial activity from *Fagopyrum dibotrys* and *Fagopyrum tataricum*

ZHANG Chuan-Bo<sup>1\*</sup> CHEN Rong-Lin<sup>2</sup> YIN You-Ping<sup>2</sup> WANG Zhong-Kang<sup>2</sup>

(1. School of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China)

(2. Chongqing Engineering Research Center for Fungal Insecticides, Bioengineering College of Chongqing University, Chongqing 400044, China)

**Abstract:** A total of 62 endophytic fungi were isolated from the plant tissues (root, stem, leaf and flower) of medicinal plants *Fagopyrum dibotrys* and *Fagopyrum tataricum*. The antimicrobial activity from isolated endophytic fungi were detected using agar diffusion method with *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* [CMCC (B) 63501], *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and *Pythium aphanidermatum* as indicator microorganisms. The results showed that the ethanol extracts of three isolated endophytic fungi strain KQH-01, KQH-02 and JQY-1 had relatively strong antibiotic activity to some indicator microorganisms. By using morphological and molecular

基金项目: 贵州省科技公关项目[黔科合 GY 字 (2005) 3028 号]; 贵州省自然科学基金项目[黔科合 J 字(2007) 2048 号]; 校青年教师科研发展基金

\* 通讯作者: Tel: 86-851-6702541; ✉: zhangchuanbo2004@163.com

收稿日期: 2010-08-15; 接受日期: 2010-11-18

identification, strain KQH-01 was determined to belong to the genus *Xylaria* sp., and strains KQH-02 and JQY-1 were identified as *Chaetomium globosum* and *Botryosphaeria dothidea* respectively.

**Keywords:** *Fagopyrum dibotrys*, *Fagopyrum tataricum*, Endophytic fungi, Antimicrobial activity, Molecular identification

金荞麦(*Fagopyrum dibotrys*)和苦荞麦(*Fagopyrum tataricum*)均属蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*)草本植物,是营养丰富并具有重要药用价值的资源植物。金荞麦提取物具有多种药理作用,具有显著的抗癌、抑制肿瘤细胞侵袭和转移、抗菌消炎等重要作用<sup>[1-2]</sup>。苦荞麦主要活性成分具有抑菌消炎、抗氧化、降血脂、降血糖等药理作用<sup>[3-4]</sup>。

植物内生真菌是一类在其生活史中的某阶段或全部阶段生活在植物组织内、并不引起明显病害症状的真菌<sup>[5]</sup>。研究发现,内生真菌普遍存在于植物组织内,并和宿主植物长期共生,与宿主在遗传、生理、代谢等方面相互渗透、同步进化,形成互利互惠的共生关系,使得它极有可能与宿主交换遗传信息,从而产生相似或相同生理活性的次级代谢产物,是潜在的微生物药物开发资源。目前,从药用植物中分离、筛选产生物活性物质的内生真菌已成为新型抗菌、抗肿瘤药物的重要来源<sup>[6-8]</sup>。

本研究以重庆市黔江区原生境自然保护区的野生金荞麦(*F. dibotrys*)和贵州省贵阳市郊的野生苦荞麦(*F. tataricum*)为材料,进行内生真菌的分离、筛选、对其代谢产物的抗菌活性进行初步研究,并根据形态学特征与分子鉴定确定抗菌活性菌株分类地位。本实验将有助于获得产生生物活性次生代谢产物的药用微生物,以期新型抗菌物质的获得开辟新的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

金荞麦(*Fagopyrum dibotrys*)样品采自重庆市黔江区野生金荞麦原生境自然保护区,苦荞麦(*F. tataricum*)样品采自贵州省贵阳市郊长坡岭林场。采集的新鲜植物样品4℃保存,72 h内处理。

### 1.2 供试指示菌

抗菌试验指示菌:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus*

*aureus*),大肠杆菌(*Escherichia coli*),枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) [CMCC (B) 63501],小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*),黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*),绵腐病菌(*Pythium aphanidermatum*),均为重庆大学基因工程中心保存菌种。

### 1.3 培养基

马铃薯培养基(PDA)和LB培养基均按常规配制。

### 1.4 内生真菌的分离、纯化

采集的植物样品用自来水清洗干净,自然风干后,分别取根、茎、叶、花组织,剪成0.5 cm×0.5 cm的组织小块,以0.1% (m/V)升汞浸泡2-3 min,75% (V/V)的乙醇浸泡2 min进行表面消毒灭菌,最后以无菌水洗涤3次,滤纸吸干。将表面消毒后的组织块置于含终浓度50 mg/L 氨苄青霉素的PDA固体培养基中,28℃倒置培养。待组织块周边菌丝长出后,挑出菌落边缘生长良好的菌丝尖端移至新的培养基,经反复纯化后,保存菌种<sup>[9-10]</sup>。为检查材料表面灭菌效果,设置漂洗液培养和组织印迹实验。漂洗液培养:把最后一次漂洗消毒材料的漂洗液吸取0.5 mL涂布于PDA固体培养基上进行培养,观察培养结果。组织印迹检查:用灭过菌的镊子夹住已消毒灭菌过的供试植物组织小片,使其表面与PDA固体培养基接触几分钟后取出,置于相同条件下培养1周左右,观察培养基上是否有菌落生长。良好的消毒灭菌效果,培养基上应该均无任何微生物生长<sup>[11-12]</sup>。

### 1.5 分离菌株的液体培养及发酵液处理

液体培养采用PDA液体培养基,取纯化后的菌丝块接种,于25℃、100 r/min培养7 d,发酵液经减压过滤,加等体积无水乙醇萃取,离心,萃取液(醇提液)减压旋转蒸发浓缩,冻干,4℃保存备用;沉淀冻干,4℃保存备用。

### 1.6 分离菌株提取物的抗菌活性测定

滤纸片扩散法:将指示细菌菌液(约10<sup>8</sup> CFU/mL)

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

涂布 LB 平板, 在适当位置贴上已灭菌的滤纸片 ( $\Phi=6$  mm), 然后分别吸取适当稀释的发酵液醇提液或沉淀水溶液 25  $\mu$ L 置于滤纸片上, 无菌水做对照, 37  $^{\circ}$ C 培养 16–24 h, 观察细菌生长情况、透明圈大小。

### 1.7 分离菌株提取物的抗真菌活性测定

将 PDA 固体培养基融化并冷却到 50  $^{\circ}$ C 左右, 加入一定量内生真菌发酵液醇提液或沉淀水溶液, 混匀后倒平板。每平板接入 1 个事先培养好、生长一致的指示菌菌饼 ( $\Phi=6$  mm), 25  $^{\circ}$ C 培养 72 h, 观察指示菌生长情况, 用十字交叉法测量菌落生长直径, 计算相对抑菌率。

相对抑菌率  $I$  (%) = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 菌饼的直径)  $\times$  100%。

### 1.8 抗菌活性菌株鉴定

通过形态学和分子鉴定, 确定抗菌活性菌株分类地位。

形态鉴定: 用接种针挑取少量菌丝点植在 PDA 平板的中心位置, 然后于 26  $^{\circ}$ C  $\pm$  2  $^{\circ}$ C 培养一定时间 (7–14 d) 进行观察。观察菌落颜色、大小、菌落纹饰、质地、边缘; 分生孢子梗、分生孢子形态及大小<sup>[13–14]</sup>。

分子鉴定: 改进的氯化苜法提取 3 株内生真菌的基因组 DNA<sup>[15]</sup>, 以真菌通用引物 ITS<sub>1</sub>、ITS<sub>4</sub> 对核糖体转录间隔区 ITS 进行 PCR 扩增。琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物, 凝胶成像系统采集并分析扩增图谱。PCR 产物纯化后, 连接到 pMD-18T 载体, 转化大肠杆菌 JM109, 筛选阳性克隆, 送上海生物工程公司测序。获得的序列去除载体序列后, 进行 BLAST 比对, 结合形态学特征, 确定抗菌活性菌株的分类地位。

### 1.9 DNA 序列分析及系统发育树构建

将测序获得的 ITS 序列通过 BLAST 比对, 根据同源性相似度差异, 利用 ClustalX (Version 1.83) 软件进行多序列匹配排列, 采用软件 MEGA 4.1), Neighbour-Joining 方法 (邻接法, NJ) 构建系统发育树, 对分离菌株与数据库中登录的近源菌株系统发育关系进行分析。

## 2 结果

### 2.1 内生真菌分离、鉴定

分别从重庆市黔江区野生金荞麦原生境自然保护区, 贵州省贵阳市郊长坡岭林场采集金荞麦、苦荞麦各 5 株, 从根、茎、叶、花中分离出内生真菌菌株共 62 株。其中金荞麦分离内生真菌 32 株 (占总分离菌株的 51.6%), 苦荞麦分离内生真菌 30 株 (占总分离菌株的 48.4%)。两种植物所获得的内生真菌数量差别不大, 根、茎、叶、花都有较多数量的内生真菌分布 (表 1)。经抗菌试验发现, 其中 3 株内生真菌菌株 KQH-01、KQH-02、JQY-1 具有较好的抗菌活性。

表 1 从金荞麦和苦荞麦不同组织分离的内生真菌菌株数

Table 1 Numbers of endophytic fungi isolated from different parts of *F. dibtory* and *F. tataricum*

宿主植物 Host plants	分离组织 Tissues used	内生真菌菌株数 Numbers of endophytic fungi isolated
金荞麦 <i>Fagopyrum dibtorys</i>	根 Root	6
	茎 Stem	7
	叶 Leaf	10
	花 Flower	9
苦荞麦 <i>Fagopyrum tataricum</i>	根 Root	5
	茎 Stem	11
	叶 Leaf	8
	花 Flower	6

KQH-01: 分离于苦荞麦花。PDA 固体培养基上菌落椭圆形, 周围为白色菌丝, 培养 1 个月左右时菌落中有黑色斑点及菌核产生, 边缘不整齐, 背面呈浅黄色; 菌丝有隔; PDA 培养基上未见产孢结构 (图 1A–C)。

KQH-02: 分离于苦荞麦花。PDA 培养基培养菌落圆形, 颜色先由白色变为微黄再变成黄绿, 背面呈黄色; 菌丝有隔; 孢子呈柠檬形或椭圆形, 棕黑色; 有刚毛结构 (图 1D–G)。

JQY-1: 分离于金荞麦叶片。PDA 固体培养基上菌落圆形, 灰白色, 培养约 1 周后菌丝由浅色至黑色后又变为灰白; 菌丝细长有隔; PDA 培养基上未见产孢结构 (图 1H, I)。

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

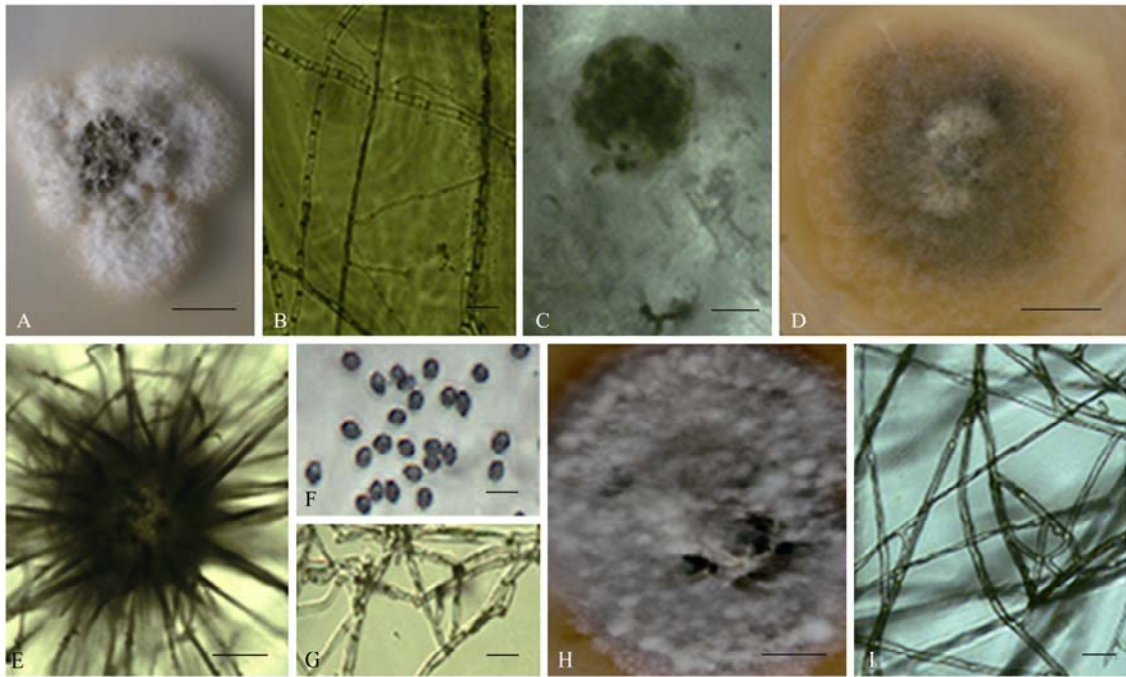


图 1 抗菌活性菌株形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of the entophytic fungi strains with antimicrobial activity

注: 菌株 KQH-01: A: 菌落形态, B: 菌丝, C: 菌核; 菌株 KQH-02: D: 菌落形态, E: 刚毛, F: 孢子, G: 菌丝; QY-1: H: 菌落形态, I: 菌丝。标尺: A=1 cm, B=20  $\mu$ m, C=100  $\mu$ m, D=1 cm, E=100  $\mu$ m, F=20  $\mu$ m, G=20  $\mu$ m, H=1 cm, I=20  $\mu$ m。

Note: The strain KQH-01: A: Colony appearance, B: Hyphae, C: Sclerotium; The strain KQH-02: D: Colony appearance, E: Setae, F: Conidia, G: Hyphae; The strain JQY-1: H: Colony appearance, I: Hyphae. Bar: A=1 cm, B=20  $\mu$ m, C=100  $\mu$ m, D=1 cm, E=100  $\mu$ m, F=20  $\mu$ m, G=20  $\mu$ m, H=1 cm, I=20  $\mu$ m.

将 ITS 序列与 NCBI GenBank 数据库进行 BLAST 比对, 按相似性大小, 结合形态特征, 初步确定待测菌株 KQH-01 为炭角菌属(*Xylaria* sp.)真菌, 菌株 KQH-02 为球毛壳菌(*Chaetomium globosum* Kunze ex Fr), 菌株 JQY-1 为葡萄座腔菌 [*Botryosphaeria dothidea* (Moug ex Fr) Ces et de Not], 菌株 KQH-01 和 JQY-1 在 PDA 培养基上, 未能获得有性生殖阶段。

## 2.2 内生真菌的抗细菌活性

对分离纯化得到的内生真菌进行液体培养, 发酵液处理后得到发酵醇提液和醇不溶沉淀, 醇提液得率约为 10%。将醇提液与沉淀分别以无菌水溶解, 以金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*E. coli*)和枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) [CMCC (B) 63501]作为指示细菌, 进行抗菌活性测定, 结果显示: 菌株

KQH-01 发酵醇提液对革兰氏阴性细菌大肠杆菌(*E. coli*)抑制效果良好, 对革兰氏阳性细菌金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)有较好的抑制效果, 对枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) [CMCC (B) 63501]没有抑制效果。菌株 KQH-02 发酵醇提液对大肠杆菌(*E. coli*)和金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)都有较好的抑制效果, 而对枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) [CMCC (B) 63501]无效。JQY-1 发酵醇提液对大肠杆菌(*E. coli*)有较好的抑制效果, 对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) [CMCC (B) 63501]的抑制效果较差(图 2)。可以看出内生真菌菌株 KQH-01、KQH-02 和菌株 JQY-1 发酵醇提液对革兰氏阴性菌抑制效果较好, 对革兰氏阳性菌效果较差; 3 个菌株的沉淀水溶液对供试指示菌均没有抑制效果(表 2)。

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

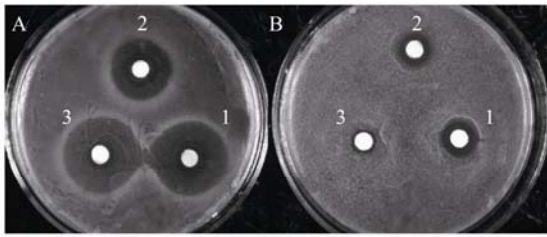


图 2 活性菌株发酵醇提液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用

Fig. 2 Antimicrobial activity of ethanol extracts from the isolated entophytic fungi against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

注: A: 大肠杆菌; B: 金黄色葡萄球菌. 1: 菌株 KQH-01; 2: 菌株 KQH-02; 3: 菌株 JQY-1.

Note: A: *E. coli*; B: *S. aureus*. 1: The strain KQH-01; 2: The strain KQH-02; 3: The strain JQY-1.

### 2.3 内生真菌的抗真菌活性

以小麦赤霉病菌(*F. graminearum*)、黄瓜枯萎病菌(*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)、绵腐病菌(*P. aphanidermatum*) 3种植物病原真菌为指示菌,测定内生真菌菌株的发酵液醇提液对真菌的抗菌活性。菌株 KQH-01 和 KQH-02 发酵液醇提液对黄瓜枯萎病菌(*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)、绵腐病菌(*P. aphanidermatum*)有较强的抑制活性(图 3),而对小麦赤霉病菌(*F. graminearum*)的抑制效果较差。菌株 JQY-1 发酵液对小麦赤霉病菌(*F. graminearum*)、绵腐

病菌(*P. aphanidermatum*)的抑制效果较差,而对黄瓜枯萎病菌(*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)的抑制率可达 76%,抑制效果较好。菌株 KQH-01、KQH-02 和 JQY-1 的沉淀水溶液均没有抑制效果(表 3)。

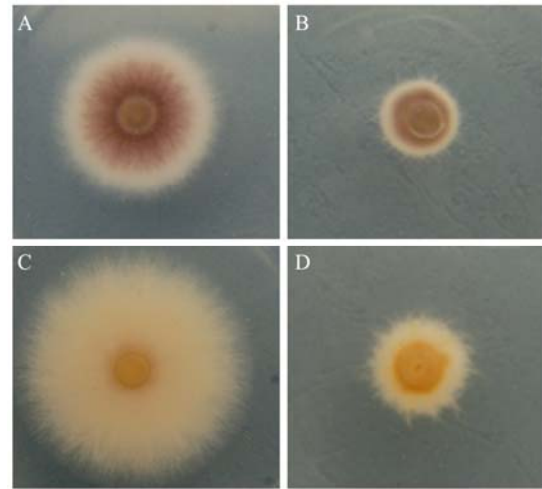


图 3 菌株 KQH-01 发酵醇提液对黄瓜枯萎病菌和绵腐病菌的抑制作用

Fig. 3 Inhibition toward *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and *P. aphanidermatum* by ethanol extract of KQH-01 fermentation

注: A, B: 黄瓜枯萎病菌; C, D: 绵腐病菌.

Note: A, B: *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*; C, D: *P. aphanidermatum*.

表 2 内生真菌对几种常见细菌的抗菌活性(抑菌圈)  
Table 2 Antibacteria activity of endophytic fungi (Diameter of inhibition zone)

分离菌株(成分) Isolated entophytic fungi (Component)	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i> CMCC (B) 63501
KQH-01 发酵醇提液 KQH-01 ethanol extract	+++	++	-
KQH-01 沉淀水溶液 KQH-01 precipitation	-	-	-
KQH-02 发酵醇提液 KQH-02 ethanol extract	++	++	-
KQH-02 沉淀水溶液 KQH-02 precipitation	-	-	-
JQY-1 发酵醇提液 JQY-1 ethanol extract	+++	+	+
JQY-1 沉淀水溶液 JQY-1 precipitation	-	-	-
Control (dd H <sub>2</sub> O)	-	-	-

注: +++: 抑菌圈直径>25 mm; ++: 15 mm < 抑菌圈直径 < 25 mm; +: 抑菌圈直径 < 15 mm; -: 无抑菌圈.

Note: +++: Diameter of inhibition zone >25mm; ++: 15 mm < Diameter of inhibition zone < 25 mm; +: Diameter of inhibition zone < 15 mm; -: Without inhibition zone.

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

表 3 内生真菌发酵醇提液的抗真菌活性  
Table 3 Antifungus activity of ethanol extracts from the isolated fungi

分离菌株 Isolated strains	黄瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>		绵腐病菌 <i>P. aphanidermatum</i>		小麦赤霉病菌 <i>F. graminearum</i>	
	菌落直径 Clone diameter (mm)	抑制率 I (%)	菌落直径 Clone diameter (mm)	抑制率 I (%)	菌落直径 Clone diameter (mm)	抑制率 I (%)
	KQH-01	11	83	15	84	47
KQH-02	16	66	30	57	30	51
JQY-1	13	76	41	37	31	49
Control (dd H <sub>2</sub> O)	35	0	62	0	55	0

注: KQH-01、KQH-02、JQY-1 均为发酵醇提液。

Note: KQH-01, JQY-1, KQH-02 represent the ethanol extract of corresponding entophytic fungi.

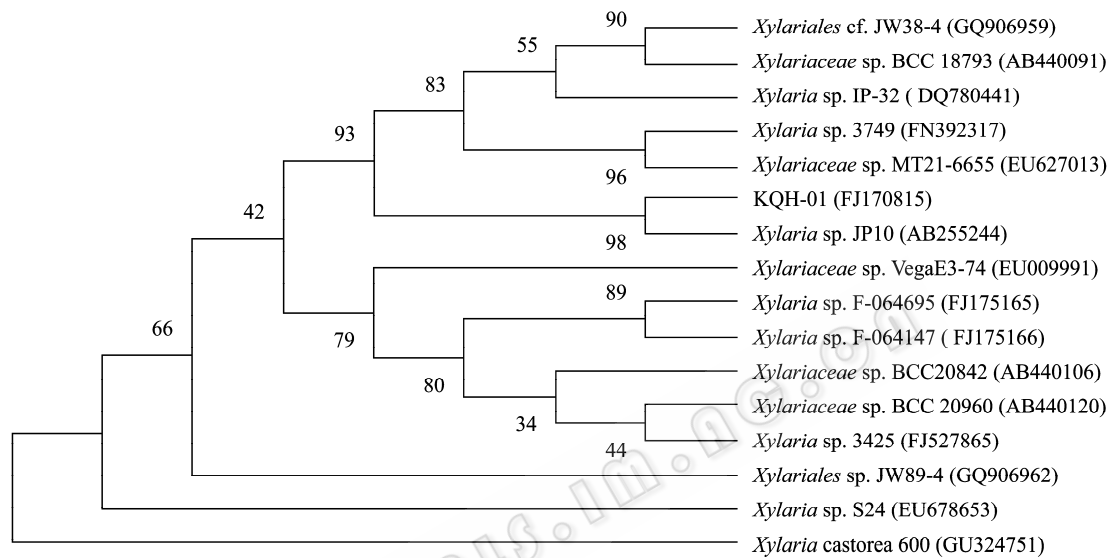


图 4 基于 ITS 序列的 KQH-01 系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of the strain KQH-01 based on ITS region sequences

Note: Numbers in parentheses represent the sequences accession number in GenBank. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap, 5% sequence divergence.

## 2.4 系统发育分析

菌株 KQH-02 的 ITS 序列与毛壳菌属 (*Chaetomium* sp.) 各菌株的同源性均大于 98%, 结合培养特征, 确定为毛壳属 (*Chaetomium*) 的球毛壳菌。菌株 JQY-1 的 ITS 序列与葡萄座腔菌 (*B. dothidea*) 的同源性为 98%, 结合形态特征, 确定菌株 JQY-1 为葡萄座腔菌 (*B. dothidea*)。而菌株 KQH-01 的 ITS 序列与数据库中已登录菌株的 ITS 序列同源性都不高, 与其序列同源性大于 94% 以上的菌株多为炭角菌属 (*Xylaria*) 真菌, 且与 *Xylaria* sp. JP10 (AB255244) 亲缘关系最为接近, 结合菌落及菌丝的

形态, 确定菌株 KQH-01 为炭角菌属真菌。GenBank 数据库中与该菌株同源性最高的菌种或菌株一起构建的进化树显示, 各分支对该菌株的支持度并不高 (图 4), 其中最高的同源性仅为 94%。该序列已登录 GenBank (Accession No. FJ170815)。

## 3 讨论

金荞麦活性提取物主要为类黄酮类化合物, 苦荞麦中富含芦丁和槲皮素等黄酮类化合物<sup>[1-4]</sup>。植物内生真菌能够产生和宿主成分相同或相似的次生代谢产物, 从药用植物中筛选产生活性代谢产物的内

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

生真菌,是解决药用植物野生资源短缺、耗竭、甚至濒临灭绝等问题的最佳途径,有利于珍稀药用植物的抚育保护。实验证实,金荞麦和苦荞麦内生真菌丰富,根、茎、叶、花都有大量的内生真菌分布,其丰富的内生真菌资源可能成为天然药物的重要来源,抗菌试验表明,一些菌株有明显的抗菌、抗肿瘤活性<sup>[16]</sup>。

内生真菌由于其特殊的生长环境,分离的菌株在本实验培养条件下多数不能产生孢子,使形态鉴定受到局限。rDNA 的 ITS 区具有序列长度较短,重复序列多拷贝性及高度变异性等特点,成为真菌分子标记的良好区段,常用于属内种间或种内群体比较,适应于较低分类阶元的系统分析。结合形态特征和分子鉴定结果,金荞麦和苦荞麦中具抗菌活性菌株分别为炭角菌属(*Xylaria* sp.)真菌、球毛壳菌(*Chaetomium globosum*)和葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)。

炭角菌属(*Xylaria* sp.)真菌具多种活性成分,多具重要药用价值,如名贵中药“乌灵参”是黑柄炭角菌等的菌核组织,具有镇静安神、造血、提高机体免疫功能等功效<sup>[17]</sup>。炭角菌属(*Xylaria* sp.)真菌也是一类分布广泛的内生真菌<sup>[18-19]</sup>,红树林分离的炭角菌属内生真菌(*Xylaria* sp.)能产生苯并咪唑衍生物<sup>[20]</sup>。银杏树枝中分离到 1 株内生真菌(*Xylaria* sp. YX-28),对多种病原菌显示出较高的抗菌活性<sup>[21]</sup>,对其活性成分进行分析,分离出 7-氨基-4 甲基香豆素(7-amino-4-methylcoumarin)。从苦荞麦花中分离的菌株 KQH-01 具广谱抗菌活性,ITS 序列与 GenBank 中同源性较高的菌株均为炭角菌属真菌,结合形态特征,推测该菌株可能是炭角菌属真菌的一个新种。

从苦荞麦花中分离的内生真菌菌株 KQH-02 鉴定为球毛壳菌(*Chaetomium globosum*)。球毛壳菌是一种应用前景广阔的生防真菌,能产生活性物质,对多种植物病原真菌产生拮抗作用。球毛壳菌在植物组织广泛存在,云南美登木中分离的球毛壳菌内生真菌菌株 Ly50 产生抗菌、抗肿瘤活性成分球毛壳甲素(Chaetoglobosin A)和球毛壳乙素

(Chaetoglobosin B)<sup>[22-23]</sup>。菌株 JQY-01 分离于金荞叶片,ITS 序列和葡萄座腔菌属(*Botryosphaeria* sp.)菌株的同源性 98%。很多植物均分离出葡萄座腔菌属(*Botryosphaeria*)内生真菌菌株。内生真菌菌株 *Botryosphaeria rhodina* PSU-M35 和 PSU-M114 产生丰富的次生代谢产物,已分离出二聚  $\gamma$ -内脂类(Dimeric  $\gamma$ -lactones)、二氢化萘-2,6-二酮(Dihydronaphthalene-2,6-dione)、六氢茛苈呋喃(Hexahydroindolenofuran)、环戊酮(Cyclopentanone)毛色二孢素(Lasiodiplodin),复合物对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)具较好的抗菌效果<sup>[24-25]</sup>。

植物内生真菌的特殊生境决定了其具有重要的农药和医药应用潜力,而抗菌、抗肿瘤活性菌株丰富的次生代谢产物已成为药物来源新途径,必将在天然药物研究中得到开发与利用。试验证实,荞麦属植物内生真菌丰富,分离的一些内生真菌菌株具明显的抗菌活性,其活性成分有待分析、分离,对新型抗菌、抗肿瘤药物的筛选具有重要意义。

## 参 考 文 献

- [1] Wang KJ, Zhang YJ, Yang CR. Antioxidant phenolic constituents from *Fagopyrum dibotrys*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 99(2): 259-264.
- [2] Chan PK. Inhibition of tumor growth *in vitro* by the extract of *Fagopyrum cymosum* (fago-c)[J]. *Life Sci*, 2003, 72(16): 1851-1858.
- [3] Liu CL, Chen YS, Yang JH, et al. Antioxidant activity of tartary [*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.] and common (*Fagopyrum esculentum* moench) buckwheat sprouts[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(1): 173-178.
- [4] Ren W, Qiao Z, Wang H, et al. Tartary buckwheat flavonoid activates caspase 3 and induces HL-60 cell apoptosis[J]. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 2001, 23(8): 427-432.
- [5] Petrini O. Fungal Endophytes of tree leaves[C]//Andrews JH, Hirano SS, eds. *Microbial ecology of leaves*. New York: Springer-Verlag, 1991: 179-197.
- [6] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew[J]. *Science*, 1993, 260(5105): 214-216.
- [7] Zhang JY, Tao LY, Liang YJ, et al. Anthracenedione derivatives as anticancer agents isolated from secondary metabolites of the mangrove endophytic fungi[J]. *Mar*

- Drugs, 2010, 8(4): 1469–1481.
- [8] Zhou XW, Zhu HF, Liu L, et al. A review: recent advances and future prospects of taxol-producing endophytic fungi[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 86(6): 1707–1717.
- [9] 周德庆主编. 微生物学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [10] 李海燕, 王志军, 张玲琪, 等. 一种桃儿七内生真菌的分离初报[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 1999, 21(3): 243–244.
- [11] McInroy JA, Kloepper JW. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn[J]. Plant and Soil, 1995, 173(2): 337–342.
- [12] Sturz AV, Christie BR, Matheson BG, et al. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth[J]. Biol Fert Soils, 1997, 25(1): 13–19.
- [13] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [14] 阿历索保罗, 明斯, 布莱克韦尔. 菌物学概论[M]. 姚一建, 李玉主译. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [15] 朱衡, 瞿峰, 朱立煌. 利用氯化苳提取适于分子生物学分析的真菌 DNA[J]. 真菌学报, 1994, 13(1): 34–40.
- [16] 陈荣林, 王中康, 张传博, 等. 苦荞内生真菌产物 EE-2 抑制 HepG2 生长及诱导其细胞凋亡[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(7): 939–942.
- [17] 马志章, 左萍萍, 陈宛如, 等. 乌灵菌粉的镇静作用及其机理研究[J]. 中国药理学杂志, 1999, 34(6): 374–377.
- [18] Rodrigues KF, Samuels GJ. Preliminary study of endophytic fungi in a tropical palm[J]. Mycological Research, 1990, 94(6): 827–830.
- [19] Brunner F, Petrini O. Taxonomy of some *xylaria* species and *xylariaceae* endophytes by isozyme electrophoresis[J]. Mycological Research, 1992, 96(9): 723–733.
- [20] Xu F, Zhang Y, Wang JJ, et al. Benzofuran derivatives from the mangrove endophytic fungus *Xylaria* sp. (#2508)[J]. J Nat Prod, 2008, 71(7): 1251–1253.
- [21] Liu XL, Dong MS, Chen XH, et al. Antimicrobial activity of an endophytic *Xylaria* sp. YX-28 and identification of its antimicrobial compound 7-amino-4-methylcoumarin[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2008, 78(2): 241–247.
- [22] 张玲琪, 王海昆, 邵华, 等. 美登木内生真菌产抗癌物质球毛壳甲素的分离及鉴定[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(3): 172–175.
- [23] 倪志伟, 李国红, 赵沛基, 等. 云南美登木内生真菌 *Chaetomium globosum* Ly50 菌株的抗菌活性成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(1): 332–336.
- [24] Rukachaisirikul V, Arunpanichlert J, Sukpondma Y, et al. Metabolites from the endophytic fungi *Botryosphaeria rhodina* PSU-M35 and PSU-M114[J]. Phytochemistry Letters, 2009, 65(51): 10590–10595.
- [25] Pongcharoen W, Rukachaisirikul V, Phongpaichit S, et al. A new dihydrobenzofuran derivative from the endophytic fungus *Botryosphaeria mamane* PSU-M76[J]. Chem Pharm Bull, 2007, 55(9): 1404–1405.

稿件书写规范

### 专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学及相关领域学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择在理论和实践中具有重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及的各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。

需要特别说明的是: 在专论与综述中引用的文献应该主要是近 5 年国内外正式发表的研究论文, 引用文献数量不限。

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>