

# 内生菌对植物次生代谢产物的转化

刘颖, 魏希颖\*

陕西师范大学生命科学院应用微生物学实验室, 西安 710119

**摘要:** 近年研究发现许多药用植物中的活性成分产量低下或副作用大、不利于人体吸收, 而内生菌存在于健康植物的组织或器官中, 可以对植物次生代谢产物进行转化且具有条件温和、专一有效、收效率高特点。本文主要对近几年内生菌对植物次生代谢产物转化的研究进行综述和展望, 以为内生菌资源的开发和利用提供参考价值。

**关键词:** 内生菌; 转化; 诱导; 植物次生代谢产物

中图分类号: R939.99

文献标识码: A

## The Microbial Transformation of Plant Endophyte on Plant Secondary Metabolites

LIU Ying, WEI Xi-ying\*

College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China

**Abstract:** In recent years, the researchers showed that the production of many secondary metabolites in medicinal plant is low. Some secondary metabolites can reduce side effects and not conducive to the absorption of the human body, while endophyte exist in tissues or organs of healthy plants, and plant secondary metabolites can be transformed by endophyte. Biotransformation also has mild conditions, fully effective and high rate of convergence, etc. It showed that the development and expectation of the research on the microbial transformation of plant secondary metabolites by plant endophyte. It was hoped to provide some references to the resource exploitations of the endophyte.

**Key words:** endophyte; transformation; elicit; plant secondary metabolites

内生菌对植物次生代谢产物的转化是内生菌利用其胞内或胞外的一些酶或特定化学物质将植物体产生的一种物质转化为另一种物质的过程<sup>[1]</sup>。此转化可用于获得新的活性成分和提高植物次生代谢产物的含量<sup>[2]</sup>。由于野生药用植物资源短缺, 有些产生的次生代谢产物不利于人体吸收或毒副作用大等, 因此提高药用植物次生代谢产物的含量, 开发新的药用活性成分至关重要。目前用于提高植物体内次生代谢产物含量的方法有多种, 例如筛选高产细胞系、使用生物或非生物诱导子、植物组织培养等<sup>[3]</sup>。考虑到植物生长周期长、受环影响大, 而内生菌用于促进药用植物次生代谢产物的积累以及产生新的活性成分具有繁殖快、生物量大、可塑性强,

且转化反应专一有效、条件温和, 操作简单、产物收效率高特点, 成为当前医学和生物学领域研究的热点。本文主要从内生菌对植物次生代谢产物的转化以获得新的活性成分和提高植物次生代谢产物的含量两方面进行综述。

### 1 获得新的活性成分

内生菌转化体系可以利用内生菌代谢产物和植物中的某些物质反应产生新的化合物或利用植物体内的有效成分为前体物质, 经内生菌代谢产生新的活性成分<sup>[4]</sup>。通过内生菌对药用植物次生代谢产物的转化, 可以产生一些新的化合物, 这为新药研发提供了新思路。

彭清忠等<sup>[5]</sup>从姜黄根茎中筛选到一株能转化姜黄素的内生真菌。转化产物为去甲基姜黄素和二去甲基姜黄素。去甲基姜黄素的抗氧化、抗炎的活性比姜黄素高。Denise Z. L. Bastos等<sup>[6]</sup>利用内生菌炭疽菌对白桦脂酸氧化, 转化产生了桦木酮酸, 而

收稿日期: 2013-04-23 接受日期: 2013-06-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(31270338); 陕西师范大学重点教学改革研究项目(ZDXMZYS065); 中央高校基本科研业务资助项目(K201002008); 陕西省自然科学基金项目(2013JM3006)

\* 通讯作者 Tel: 86-015389259609; E-mail: 2239139019@qq.com

这种氧化反应与白桦脂酸和桦木酮酸在哺乳动物体内的代谢途径相似,这为研究药物代谢途径提供了新思路。付少彬等<sup>[7]</sup>从药用植物蛇足石杉的茎和叶中筛选出了能转化乌苏酸的4株内生菌,丰富了乌苏酸的构型。任娜<sup>[8]</sup>采用超高效液相色谱和GC-MS技术,研究了红豆杉内生真菌对艾叶油的生物转化,产生了新的萜类物质。Keyller Bastos Borges等<sup>[9]</sup>发现了 *Phomopsis* sp., *Glomerella cingulata*, *Diaporthe phaseolorum*, *Aspergillus fumigatus* (VR12) 四种内生真菌对硫醚嗪进行立体选择性转化的效果显著。

## 2 内生菌提高植物次生代谢产物的含量

内生菌不仅可以自身合成代谢产物,而且可以诱导宿主植物次生代谢产物的合成,提高植物次生代谢产物的含量。内生菌可以利用植物体内活性成分的结构类似物为前体,将其转化为已有的活性成分<sup>[2]</sup>。

### 2.1 影响植物次生代谢产物含量的因素

#### 2.1.1 内生菌组分对植物次生代谢产物的影响

内生菌常被分为菌液浓缩物或提取物、菌丝提取物、菌丝细胞壁降解成分、肽类、蛋白质和糖类等不同组分<sup>[10]</sup>。内生菌的不同组分含有的诱导成分及含量不同,对宿主的诱导作用亦会有差别。张瑞芬等<sup>[11]</sup>用内生菌尖孢镰刀菌 *Dzf17* 的灭活菌丝诱导盾叶薯蓣无菌苗和培养细胞,皂苷元产量比对照组提高了2.865倍和2.013倍。用菌液浓缩物诱导盾叶薯蓣无菌苗和培养细胞后皂苷元产量比对照组提高了1.522倍和1.757倍。Peiqin Li等<sup>[12]</sup>从内生菌丝多糖中提取的寡糖DP4, DP7和DP10对盾叶薯蓣细胞中薯蓣皂苷元含量影响各不相同。Vinoth Kumar等<sup>[13]</sup>比较了印度梨形孢的两种状态的菌液提取物对亚麻植物的PT,6-MPT含量影响。发现将3%的两种菌液提取物分别添加到植物毛状根悬浮细胞中培养48h后,添加过滤灭菌的菌液提取物使足叶草毒素、6-甲氧基足叶草毒素含量达到233.8、131.9 mg/L,分别比原来提高了3.8倍和4.4倍。而添加高压灭菌的菌液提取物,足叶草毒素、6-甲氧基足叶草毒素的含量达到149.3、77.5 mg/L。Kiran D. Pawar等<sup>[14]</sup>将两种内生真菌黑孢霉和茎点霉的菌液提取物和菌丝粉末与来自植物叶和茎的愈伤组织共培养,发现对4种代谢物含量影响不同。王

剑文等<sup>[15]</sup>用不同的方法提取内生真菌细胞壁物质,结果4种制备方法所得到的诱导子诱导黄花蒿发根中青蒿素积累的作用不同,其中利用脱脂脱蛋白酸解法提取的诱导子可以最大程度地促进青蒿素的合成。

#### 2.1.2 内生菌的添加量对植物次生代谢产物的影响

内生菌诱导子的诱导效果因其添加量不同而表现出一定的差异。真菌诱导子的浓度与产物积累有反应饱和型和最适浓度型,在药用植物细胞诱导培养中主要是最适浓度型<sup>[16]</sup>。次生代谢产物的积累随着内生菌诱导子浓度的增加而增加或对诱导子有最适浓度要求。

Archana Prasad等<sup>[17]</sup>研究了不同浓度(0.5%、1.0%、1.5%)的尖孢镰刀菌的菌丝提取物与30天的植物腋芽组织培养体系共培养后,0.5%的诱导子使积雪草苷的积累量(0.94 mg/g)比对照组(0.44 mg/g)增加了2倍多,1.0%和1.5%的诱导子使体系中积雪草苷的含量仅达到0.33mg/g和0.18 mg/g。王剑文等<sup>[15]</sup>研究了不同浓度内生真菌诱导子加入培养20d的黄花蒿发根中,当诱导子浓度为0.4 mg/mL时,青蒿素含量达到最高(9.26 mg/L)。Tao JH等<sup>[18]</sup>研究了不同浓度的内生真菌 *Rhizoctonia* SP1. 诱导子与茅苍术悬浮细胞共培养9d后,对苍木素含量影响。当加入40 mg/L的诱导子时,苍木素的含量达到最大(28.06  $\mu$ g/L),比对照组提高了48.3%。Gangping Hao等<sup>[19]</sup>发现不同浓度的内生真菌 *Sphaeropsis* sp B301 诱导子(25、50、75、100  $\mu$ g glc eguiv/mL)和8d的银杏细胞悬浮液共培养4天,当添加了75  $\mu$ g glc eguiv/mL的诱导子时黄酮类的含量最高,比对照组提高了1.8倍。

#### 2.1.3 内生菌与植物共培养时间对植物次生代谢产物积累的影响

内生菌与植物共培养时间不同,植物次生代谢产物的积累表现出一定的差异。

Yu Wang等<sup>[20]</sup>研究了内生真菌AL12菌丝诱导子对药用植物苍术中苍术酮含量的影响。诱导子与苍术共培养50d,随着共培养时间的延长,苍术酮的积累量逐渐增多,第50d达到26.28  $\mu$ g/g,比对照组增加了4倍多。Marco Mucciarelli等<sup>[21]</sup>把内生真菌PGP-HSF与薄荷叶和根共培养,随着共培养时间的不同,挥发性物质含量有明显变化。在内生菌-薄荷根共培养28d时,乙酸甲酯的含量比14、21、35d

的高。石岳香等<sup>[22]</sup>研究了随着内生真菌与植物悬浮细胞共培养时间的延长,悬浮细胞内生物碱的含量不断的变化,在前十天比较低,但培养到第四十天,生物碱含量达到最大。Li YC 等<sup>[23]</sup>研究发现 *Taxus chinensis var. Mairei* 细胞培养液和内生菌 *Fusarium mairei* 共培养 10 d 时紫杉醇的含量比共培养 5 d 和 15 d 的高。

#### 2.1.4 内生菌对植物不同组织、器官中次生代谢产物的影响

内生菌对植物不同组织、器官中次生代谢产物含量影响不同。内生菌作用于植物的不同组织、器官,会引起合成相应次生代谢产物的关键基因表达强度和速度不同。

Jisha Satheesan 等<sup>[24]</sup>将内生真菌印度梨形孢和药用植物积雪草共培养,检测积雪草苷含量在叶片和整个植株中都有所增加,比对照组增加了 2 倍,而在根中没有明显增加。通过 Real-time PCR 检测,发现合成积雪草苷的关键基因 SQS 在植物体内高水平表达,而 BAS 基因在根部低水平表达。Kiran D · Pawar 等<sup>[14]</sup>把培养相同时间植物叶和茎的愈伤组织分别与 40 mg 的内生菌茎点霉菌的菌丝粉末共培养,次生代谢产物红厚壳素 A 的含量在叶的愈伤组织中比对照组提高了 751 倍,而在茎的愈伤组织中比对照组提高仅 364 倍。

#### 2.1.5 内生菌对植物不同生长阶段的次生代谢产物的影响

植物生长到一定阶段后,内生菌才可能引起相应代谢物的积累。只有处于生长期的植物细胞才能接受诱导子信号,此时诱导子表现出最强的诱导活性<sup>[16]</sup>。

Anita K · Brock 等<sup>[25]</sup>将内生菌 (*Enterobacter radicincitans* DSM 16656) 与培养了 7 周和 10 周的拟南芥叶片组织共培养一定时间。脂肪族芥子油苷在 7 周的叶片组织中的含量比对照组中的含量低,而在第 10 周的叶片组织中,脂肪族芥子油苷的含量又比对照组高。

### 2.2 内生菌对植物次生代谢产物含量产生影响的机理

内生菌会对植物次生代谢产物含量产生影响可能有以下原因:一是内生菌在宿主细胞中影响宿主光合作用有关物质的积累,这些物质会增加植物营养的摄入,有助于植物次生代谢产物的合成。二是内生菌通过自身的信号转导途径调节植物细胞合成

次生代谢产物相关的基因,改变这些基因的表达速度和强度,诱导植物体内相应的次生代谢产物的产生和积累<sup>[26,27]</sup>。Gao FK 等<sup>[28]</sup>研究了信号转导对植物次生代谢产物积累的影响。当一种内生菌诱导子加入植物悬浮细胞中,内生菌诱导子能促进一些信号分子(NO、水杨酸、活性氧)的合成,植物的一些次生代谢产物的含量随着增加。由此推断这些信号分子会促进这些次生代谢物的积累。三是内生菌与宿主之间存在化合物或遗传物质的转移。Marco Mucciarelli 等<sup>[21]</sup>比较了从内生菌 (PGP-HSF)-薄荷根共培养(1)、没有感染 PGP-HSF 的薄荷(2)、从 PGP-HSF-薄荷根共培养中分离的 PGP-HSF(3)三种体系中胡薄荷酮的含量,发现胡薄荷酮同时为(1)与(3)中的主要成分,而在(2)中不含胡薄荷酮。可推断胡薄荷酮可能是通过根部转移到 PGP-HSF 中。四是内生菌可以合成宿主所不能合成或合成量低的化合物,以此改变宿主代谢产物合成的途径,进而影响代谢产物的含量<sup>[29]</sup>。

内生菌通过对植物次生代谢产物转化为人类提供了丰富的药用资源。这些次生代谢产物的合成同时有助于激活植物的防御代谢途径,对植物起保护作用。内生菌对植物次生代谢产物影响的各种因素相互联系、相互影响,某一因素发生变化,都可能引起次生产物含量的增加或减少。

## 3 存在问题

近年来,关于内生菌对植物次生代谢产物的转化成为研究的热点,但此方面研究的广度、深度均不够。(1)关于内生菌对植物的转化是内生菌利用植物体内的前体物质,经过代谢产生新型化合物或提高已有活性成分含量,还是内生菌代谢产物与植物中的一些物质发生反应形成新的化合物或提高已有活性成分含量的机理研究尚浅;(2)目前研究报道很少涉及内生菌与植物相互作用时,与次生代谢产物合成和转化的相关基因表达的研究;(3)大多数研究仅针对一种内生菌作用于一种植物,很少涉及多种内生菌同时作用于一种植物,对多种菌的协同作用重视不够。

## 4 展望

目前,内生菌对植物次生代谢产物的转化的研究还处于初级阶段。今后可以在以下方面进行深入的研究:(1)转化机理的研究:从细胞水平上,研究

信号分子对内生菌转化过程的影响;通过分析合成目标代谢产物的关键基因,从分子水平分析关键基因的表达强度,利用基因重组对次生代谢产物转化(2)多种内生菌协同作用的研究,达到药用植物次生代谢产物产量最大化。(3)内生菌转化过程的优化和放大 目前内生菌对药用植物次生代谢产物的转化还处于实验室阶段,反应过程的优化和放大,使生产具有可行性和高效性,为工业化生产提供技术支持。

#### 参考文献

- Liu QX(刘庆鑫), Li HL(李慧梁), Liu RH(柳润辉). Application of microbial transformation in natural products research. *J Pharm Prac*(药学实践杂志), 2012, 30:321-325.
- Tang YJ(汤亚杰), et al. Simultaneous biotransformation of various chemical compositions from traditional Chinese medicines. *Chin J Nat Med*(中国天然药物), 2007, 5:241-243.
- Sheela Chandra. Endophytic fungi: novel sources of anticancer lead molecules. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 95:47-59.
- Li Y(李羿), et al. Fermented TCM, to open a new field of TCM research and development. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2004, 16:179-184.
- Peng QZ(彭清忠), et al. Transformation of curcumin by endophytic fungus *Diaporthe sp.* isolated from *Curcuma Longa*. *Letters in Biotechnology*(生物技术通讯), 2010, 21:196-199.
- Denise ZL. Bastos, et al. Biotransformation of betulinic and betulonic acids by fungi. *Phytochemistry*, 2007:834-839.
- Fu SB(付少彬), et al. Screening of endophytic fungi from medicinal plant for microbial transformation of ursolic acid. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2011, 46:1225-1228.
- Ren N(任娜). Genetic diversity analysis and biotransformation research among endophytic fungi from taxus. Changsha: Central South University(中南大学), MSc. 2011.
- Keyller BB, et al. Endophytic fungi as models for the stereoselective biotransformation of thioridazine. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 77:669-674.
- Zhang RF(张瑞芬), Li PQ(李培琴), Zhou LG(周立刚). Research progress of fungal elicitation on growth and secondary metabolite production of plant cultures. *Chin Agric Sci Bull*(中国农业科学), 2008, 24:260-264.
- Zhang RF(张瑞芬), et al. Endophytic fungi from *dioscorea zingiberensis* and their effects on the growth and diosgenin production of the host plant cultures. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2010, 22:11-15.
- Peiqin Li, et al. Enhancement of diosgenin production in *Dioscorea zingiberensis* cell culture by oligosaccharides elicitor from its endophytic fungus *Fusarium oxysporum* Dzf17. *Molecules*, 2011, 16:10631-10644.
- Vinod Kumar, et al. Culture filtrate of root endophytic fungus *Piriformospora indica* promotes the growth and lignan production of *Linum album* hairy root cultures. *Process Biochemistry*, 2012:910-917.
- Kiran D · Pawar, et al. Influence of endophytic fungal elicitation on production of inophyllum in suspension cultures of *Calophyllum inophyllum* L. . *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2011, 106:345-352.
- Wang JW(王剑文), Zheng LP(郑丽屏), Tan RX(谭仁祥). The preparation of an elicitor from a fungal endophyte to enhance artemisinin production in hairy root cultures of *Artemisia annua* L. . *Chin J Biotech*(生物工程学报), 2006, 22:829-834.
- Wang HY(王和勇), Luo H(罗恒), Sun M(孙敏). Application of elicitor to cell culture of medicinal plants. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2004, 35.
- Archana Prasad, et al. Fungal elicitor-mediated enhancement in growth and asiaticoside content of *Centella asiatica* L. shoot cultures. *Plant Growth Regul*, 2012.
- Tao JH(陶金华), et al. Effect of endophytic fungal elicitors on growth and atracylodin accumulation of cell suspension cultures of *Atractylodes lancea*. *Chin J Chin Meter Med*(中国中药杂志), 2011, 36:27-31.
- Gangping Hao, et al. Fungal endophytes-induced abscisic acid is required for flavonoid accumulation in suspension cells of *Ginkgo biloba*. *Biotechnol Lett*, 2010, 32:305-314.
- Yu Wang, et al. Comparison of the effects of fungal endophyte *Gilmaniella sp.* and its elicitor on *Atractylodes lancea* plantlets. *World J Microbiol Biotechnol*, 2012, 28:575-584.
- Marco Mucciarelli, et al. Volatile terpenoids of endophyte-free and infected peppermint (*Mentha piperita* L. ): chemical partitioning of a symbiosis. *Microbial Ecology*, 2007, 4:685-694.
- Shi YX(石岳香), et al. Effects of endophytic fungi and its elicitor on suspension cell and alkaloids synthesis of *Catharanthus roseus*. *Progress in Modern Biomedicine*(现代生物医学进展), 2009, 9:886-889.
- Li YC, et al. Paclitaxel production using co-culture of *Taxus* suspension cells and paclitaxel-producing endophytic fungi in a co-bioreactor. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 83:236-239.
- Jisha Satheesan, et al. Induction of root colonization by *Piriformospora indica* leads to enhanced asiaticoside production in *Centella asiatica*. *Mycorrhiza*, 2012, 22:195-202.