

丹参内生真菌与其有效成分的相关性分析

王萌,戴国君,马云桐,张琦,陈新,万德光,严铸云*

(成都中医药大学药学院中药材标准化教育部实验室,成都 610075)

[摘要] **目的:**探讨不同产地丹参根中内生真菌的种群与丹参主要有效成分的相关性。**方法:**采用组织块分离法分离丹参根中的内生真菌,采用插片法和点植法分类鉴定分离的菌株;采用 HPLC 测定丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹酚酸 B 与丹参素的含量。**结果:**从全国 25 个产地丹参的根中共分离得到 373 株内生真菌,经显微形态观察,鉴定为 1 纲 3 目 36 属;不同产地丹参内生真菌与其有效成分具有相关性。**结论:**不同产地丹参的内生真菌在数量、分布、种群以及组成上存在差异,丹参内生真菌的种群结构与其质量的形成有关。

[关键词] 丹参; 内生真菌; 丹参酮 II_A; 丹酚酸 B; 隐丹参酮; 丹参素; 相关性

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0066-08

[doi] 10.11653/syfy2013230066

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130924.1444.012.html>

[网络出版时间] 2013-09-24 14:44

Correlation between Active Components and *Endophytic fungi* in *Salvia miltiorrhiza*

WANG Meng, DAI Guo-jun, MA Yun-tong, ZHANG Qi, CHEN Xin, WAN De-guang, YAN Zhu-yun*

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal, Ministry of Education, Chengdu 610075, China)

[Abstract] **Objective:** To study the correlation between active components and *Endophytic fungal* community in *Salvia mihiorrhiza* from different habitats. **Method:** Tissue separation is applied to separate the *E. fungi* in roots of *S. mihiorrhiza*. The fungi are classified and identified by insert training methods and point-sik methods. The content of tanshinone II_A, cryptotanshinone, salvianolic acid B and danshensu are determined by HPLC. **Result:** *E. fungal* are abundance in species and quantity, which are generally found in the roots of *S. mihiorrhiza* from different habitats, are identified into 3 orders, 4 families and 36 genera. The correlation between active components and *E. fungi* in *S. mihiorrhiza* was revealed. **Conclusion:** Endophytic fungi in *S. mihiorrhiza* from different habitats in terms of quantity, distribution, populati on and its components are different, and the correlation between *E. fungal* and their quality formation is revealed.

[Key words] *Salvia mihiorrhiza*; Endophytic fungi; tanshinone II_A; salvianolic acid B; cryptotanshinone; danshensu; correlation

[收稿日期] 20130215002

[基金项目] 国家“十一”五科技支撑计划项目(2006BAI09B034);国家自然科学基金项目(81173493);四川省中药管理局项目(2010-06)

[第一作者] 王萌,在读硕士,从事中药资源可持续利用与药材标准化研究,Tel:18980939975,E-mail:jane94@163.com

[通讯作者] *严铸云,博士,教授,博士生导师,从事中药资源可持续利用与药材标准化研究,Tel:18981875942,E-mail:cdctemyan@126.com

丹参为唇形科植物丹参的干燥根及根茎,常用于月经不调,经闭痛经,癥瘕积聚,胸腹刺痛,热痹疼痛,疮疡肿痛,心烦不眠,肝脾肿大,心绞痛^[1],近代研究表明丹参还具有抗衰老作用^[2]。丹参的主要成分为二萜醌类(脂溶性成分)和酚酸类(水溶性成分)两大类,临床和制药工业需求大^[3]。目前丹参药材主要来源于栽培,且各地的质量差异较大^[4]。植物内生菌是一类重要的微生物资源,而植物作为内生真菌定居的生态位,与内生真菌存在着复杂的相互作用^[5]。内生真菌长期生活在植物体内的特殊环境中,其群落的任何变化都会导致植物群落组成的改变,影响植物的生存、竞争和代谢^[6]。内生真菌代谢活动会在宿主体内造成一定的物质和能量交换,这种物质和能量的交换可能会对药用活性物质的合成产生影响。为了明确丹参的内生真菌与丹参主要有效成分之间的关系,作者分离鉴定了不同产地的丹参内生真菌,测定了丹参酮Ⅱ_A、隐丹参酮、丹酚酸 B 以及丹参素的含量,并对丹参内生真菌与其有效成分进行了相关性分析。

1 材料

1.1 样品 采集自全国 25 个产地的丹参样品,原植物经成都中医药大学严铸云教授鉴定均为丹参 *Salvia mihiorrhiza* Bunge, 见表 1。

1.2 仪器与试剂 Varian Prostar 系列高效液相色谱仪, Prostar 325 二极管阵列检测器和 Prostar 色谱工作站(美国 Varian 公司)。对照品丹参酮Ⅱ_A(批号 110766-200417)、隐丹参酮(批号 0852-9902)、丹参素(批号 110855-200508)、丹酚酸 B(批号 111562-200605)均购自中国药品生物制品检定所。甲醇与乙腈均为色谱纯,水为去离子双蒸水。

CH20 双筒光学显微镜(Olympus); PYX-DHS40 × 50 型隔水式电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂)。PDA 培养基(马铃薯葡萄糖培养基)+青链霉素混合液(用于分离); PDA 培养基; 促孢培养基(K₂HPO₄ 1 g, KNO₃ 2 g, MgSO₄ 0.5 g, KCl 0.5 g, 淀粉 0.5 g, 葡萄糖 0.2 g, 蔗糖 0.2 g, 琼脂 15~20 g, 蒸馏水 1 000 mL)。

2 方法

2.1 丹参内生真菌的分离 取新鲜丹参根切下 3 cm 长小段,用自来水将表面冲洗干净,用 5% 的 NaClO 溶液浸泡 5 min,自来水反复漂洗干净。在无菌条件下置 75% 乙醇中浸泡 5 min,用无菌水冲洗 3~4 次,无菌滤纸吸干。然后用无菌刀片去除表皮组织,分割成 5 mm × 5 mm × 1 mm 的小块,贴放于

分离培养基上,置 28 °C 恒温箱中培养 3~15 d,待培养基上各植物组织周围长出菌丝后,采用尖端菌丝挑取法挑取边缘部分转移至新的 PDA 平板上,置恒温培养箱中培养,平板划线法对所分离的内生真菌进行纯化^[7]。

2.2 丹参内生真菌的鉴定 采用插片培养法和点植法,对分离获得的丹参内生真菌进行显微形态特征(真菌菌丝和产孢结构)观察,参照文献[8-9]分类检索鉴定。对于初次培养得到的无孢菌株,采用促孢培养基培养后再进行分类鉴定。

2.3 丹参有效成分的含量测定

2.3.1 丹参脂溶性成分含量测定 HPLC 分别测定不同产地丹参中丹参酮Ⅱ_A、隐丹参酮的含量^[10],色谱条件如下: Welchrom™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),检测波长 270 nm,柱温室温,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。流动相 A 相为甲醇, B 相为水,梯度洗脱。

2.3.2 丹参水溶性成分含量测定 HPLC 分别测定不同产地丹参中丹酚酸 B 及丹参素的含量^[10],色谱条件: Phenomenex Gemini C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),检测波长 280 nm,柱温室温,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。流动相 A 相为水-乙腈-甲酸(90:10:0.4), B 相为乙腈,梯度洗脱。

3 结果与分析

3.1 丹参内生真菌种群多样性 从 25 个不同产地丹参根中分离得到 373 株内生真菌,经显微形态观察,鉴定为 1 纲 3 目 36 属,见表 2。丹参内生真菌在数量和种类上存在着丰富的多样性特点,而以镰孢属(*Fusarium*)和无孢类群(*Mycelia Sterilia*)为优势种群,分别占总菌株数的 16.94%, 13.17%。

3.2 不同产地丹参内生真菌的种群分布 不同产地的丹参内生真菌的种群分布见表 2,采用 shannon 指数(*H*)分析各产地内生真菌的群落多样性。从各个产区分离得到的内生真菌具有共性:从四川产区丹参中分离得到的内生真菌青霉属、树粉孢属以及侧孢属稳定存在;河南产区葡萄孢属、镰孢属、曲霉属稳定存在;山东产区丝核菌属、镰孢属、毛链孢属稳定存在;陕西产区金孢属、青霉属稳定存在;江苏产区树粉孢属、色串孢属、瓶梅属稳定存在;安徽产区青霉属、埠孢霉属、丝核菌属稳定存在;河北产区镰孢属稳定存在。可见不同产地分离得到的内生真菌既有一定的普遍性又有一定的特异性,宿主植物的生长环境会影响到宿主内部微生物群落结构的组成。

表 1 全国不同产地丹参内生真菌种群多样性

目 (Order)	科 (Family)	属 (Genera)	数量/株
		掷孢酵母属 (<i>Sporobolomyces</i>)	3
		毛葡孢属 (<i>Botryotrichum</i>)	2
		分孢属 (<i>Meria</i>)	10
		小齿梗孢属 (<i>Rhinotrichum</i>)	3
		梭孢属 (<i>Fusoma</i>)	2
		变孢霉属 (<i>Varicospora</i>)	2
		胶帚霉属 (<i>Gliocladium</i>)	13
		地霉属 (<i>Geotrichum</i>)	8
		曲霉属 (<i>Aspergillus</i>)	17
		青霉属 (<i>Penicillium</i>)	27
	丛梗孢科 (Moniliaceae)	丛梗孢属 (<i>Monilia</i>)	1
		头孢霉属 (<i>Cephalosporium</i>)	1
		明枝霉属 (<i>Hyalodendron</i>)	6
		金孢属 (<i>Chrysosporium</i>)	22
		树粉孢属 (<i>Oidiodendron</i>)	30
		齿梗孢属 (<i>Calcarisporium</i>)	1
丛梗孢目		葡萄孢属 (<i>Botrytis</i>)	20
		镰孢属 (<i>Fusarium</i>)	63
		木霉属 (<i>Trichoderma</i>)	2
		拟青霉属 (<i>Paecilomyces</i>)	2
		膝葡孢属 (<i>Gonatobotry</i>)	1
		毛链孢属 (<i>Monilochaetes</i>)	16
		侧孢属 (<i>Chloridum</i>)	10
		腐质霉属 (<i>Humicola</i>)	9
		黑星菌属 (<i>Fusicladium</i>)	2
		葡萄穗霉属 (<i>Stachybotrys</i>)	1
	暗梗孢科 (Dematiaceae)	沃德霉属 (<i>Wardomyces</i>)	3
		缨霉属 (<i>Thysanophora</i>)	3
		色串孢属 (<i>Torula</i>)	6
		色疣节梗孢属 (<i>Gonatobotryum</i>)	10
		短梗霉属 (<i>Aureobasidium</i>)	6
		埠孢霉属 (<i>Papularia</i>)	4
		毛集座霉属 (<i>Setodochium</i>)	3
	束梗孢科 (Stilbaceae)	束梗霉属 (<i>Stilbum</i>)	1
丝孢目 (Hyphomycetal)	瓶霉科 (Sakseneaceae)	瓶霉属 (<i>Phialophora</i>)	9
无孢目 (Mycelia Sterilia)	无孢类群 (Mycelia Sterilia)	丝核菌属 (<i>Rhizoctonia</i>)	49

表 2 不同产地丹参内生真菌种群分布

产区	Shannon 指数(H)	样品采集地	内生真菌种群(属)	数量/株	合计/株	总计/株	
安徽	1.58	亳州十八里镇(栽培)	埠孢霉属(<i>Papularia</i>)	1	3	14	
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	1			
			无孢目(<i>Mycelia Sterilia</i>)	1			
	2.91	亳州五马镇(栽培)	埠孢霉属(<i>Papularia</i>)	1	11		
			缨霉属(<i>Thysanophora</i>)	2			
			变孢霉属(<i>Varicospora</i>)	1			
			明枝霉属(<i>Hyalodendron</i>)	1			
			毛链孢属(<i>Monilochaetes</i>)	1			
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	2			
			树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	1			
山东	2.41	平邑(栽培)	曲霉属(<i>Aspergillus</i>)	1	14	63	
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	1			
			地霉属(<i>Geotrichum</i>)	1			
			胶帚霉属(<i>Gliocladium</i>)	2			
			树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	2			
			镰孢属(<i>Fusarium</i>)	6			
			无孢子属(<i>Mycelia Sterilia</i>)	1			
	2.5	日照(野生)	头孢霉属(<i>Cephalosporium</i>)	2	9		
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	2			
			色串孢属(<i>Torula</i>)	1			
			明枝霉属(<i>Hyalodendron</i>)	1			
			曲霉属(<i>Aspergillus</i>)	2			
			金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	1			
			2.24	临朐(栽培)		掷孢酵母属(<i>Sporobolomyces</i>)	1
无孢子属(<i>Mycelia Sterilia</i>)	3						
短梗霉属(<i>Aureobasidium</i>)	2						
毛链孢属(<i>Monilochaetes</i>)	3						
缨霉属(<i>Thysanophora</i>)	1						
1.4	莱芜(栽培)	埠孢霉属(<i>Papularia</i>)			1	31	
		掷孢酵母属(<i>Sporobolomyces</i>)			2		
		无孢子属(<i>Mycelia Sterilia</i>)	2				
		腐质霉属(<i>Humicola</i>)	2				
		毛链孢属(<i>Monilochaetes</i>)	1				
		镰孢属(<i>Fusarium</i>)	23				
		河南	2.48	邓州(栽培)	分孢属(<i>Meria</i>)		2
葡萄孢属(<i>Botrytis</i>)	3						
色疣节梗孢属(<i>Gonatobotryum</i>)	1						
明枝霉属(<i>Hyalodendron</i>)	2						
树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	2						
金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	1						

续表 2

产区	Shannon 指数(H)	样品采集地	内生真菌种群(属)	数量/株	合计/株	总计/株
河南	1.84	栾川(野生)	侧孢属(<i>Chloridium</i>)	2	7	
			金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	1		
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	1		
			腐质霉属(<i>Humicola</i>)	3		
	3.33	栾川(栽培)	树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	3	19	
			镰孢属(<i>Fusarium</i>)	3		
			丛梗孢属(<i>Monilia</i>)	1		
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	2		
			梭孢属(<i>Fusoma</i>)	2		
			曲霉属(<i>Chrysosporium</i>)	2		
			葡萄孢属(<i>Botrytis</i>)	2		
			金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	1		
			沃德霉属(<i>Wardomyces</i>)	1		
			葡萄穗霉属(<i>Stachybotrys</i>)	1		
			毛集座霉属(<i>Setodochium</i>)	1		
			1.83	卢氏(野生)		
	镰孢属(<i>Fusarium</i>)	3				
	树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	1				
	无孢子属(<i>Mycelia sterilia</i>)	2				
	2.19	方城(栽培)	葡萄孢属(<i>Botrytis</i>)	2	11	
镰孢属(<i>Fusarium</i>)			2			
无孢子属(<i>Mycelia Sterilia</i>)			4			
曲霉属(<i>Aspergillus</i>)			2			
毛链孢属(<i>Monilochaetes</i>)			1			
3.07	民权(栽培)	无孢子属(<i>Mycelia Sterilia</i>)	4	40		
		腐质霉属(<i>Humicola</i>)	10			
		镰孢属(<i>Fusarium</i>)	7			
		地霉属(<i>Chrysosporium</i>)	2			
		胶帚霉属(<i>Gliocladium</i>)	2			
		曲霉属(<i>Aspergillus</i>)	5			
		毛链孢属(<i>Monilochaetes</i>)	1			
		小齿梗孢属(<i>Rhinotrichum</i>)	1			
		束梗孢属(<i>Stilbum</i>)	1			
		葡萄孢属(<i>Botrytis</i>)	5			
		瓶霉属(<i>Phialophora</i>)	2			
江苏	2.74	赣榆(栽培)	无孢子属(<i>Mycelia Sterilia</i>)	14	49	61
			树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	13		
			金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	6		
			毛链孢属(<i>Monilochaetes</i>)	7		
			掷孢酵母属(<i>Sporobolomyces</i>)	1		
			色串孢属(<i>Torula</i>)	5		

续表 2

产区	Shannon 指数(H)	样品采集地	内生真菌种群(属)	数量/株	合计/株	总计/株		
江苏	2.36	盐城(栽培)	瓶霉属(<i>Phialophora</i>)	3				
			色串孢属(<i>Torula</i>)	1	12			
			瓶霉属(<i>Phialophora</i>)	2				
			树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	3				
			曲霉属(<i>Aspergillus</i>)	1				
			无孢子属(<i>Mycelia Sterilia</i>)	1				
			镰孢属(<i>Fusarium</i>)	4				
四川	3.19	中江古店(栽培)	侧孢属(<i>Chloridium</i>)	3	15	53		
			变孢霉属(<i>Varicospora</i>)	1				
			树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	2				
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	1				
			毛链孢属(<i>Monilochaetes</i>)	2				
			短梗霉属(<i>Aureobasidium</i>)	2				
			胶帚霉属(<i>Gliocladium</i>)	1				
			地霉属(<i>Chrysosporium</i>)	1				
			金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	1				
			镰孢属(<i>Fusarium</i>)	1				
			1.25	中江集凤(栽培)	树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	1	6	
					青霉属(<i>Penicillium</i>)	4		
					短梗霉属(<i>Aureobasidium</i>)	1		
	2.63	中江石泉(栽培)			沃德霉属(<i>Wardomyces</i>)	1	17	
					侧孢属(<i>Chloridium</i>)	4		
					齿梗孢属(<i>Oidiodendron</i>)	1		
	2.66	中江石埡(栽培)	镰孢属(<i>Fusarium</i>)	4				
			金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	2				
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	3				
曲霉属(<i>Aspergillus</i>)			2					
胶帚霉属(<i>Gliocladium</i>)			4	15				
树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)			2					
小齿梗孢属(<i>Rhinotrichum</i>)			1					
膝孢属(<i>Gonatobotry</i>)			1					
山西	2.96	襄汾(栽培)	青霉属(<i>Penicillium</i>)	2				
			侧孢属(<i>Chloridium</i>)	2				
			无孢子属(<i>Mycelia Sterilia</i>)	3				
			曲霉属(<i>Aspergillus</i>)	3	24	62		
			金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	4				
			毛链孢属(<i>Monilochaetes</i>)	3				
			黑星菌属(<i>Fusicladium</i>)	4				
			胶帚霉属(<i>Gliocladium</i>)	2				
			青霉属(<i>Penicillium</i>)	3				
毛孢属(<i>Botryotrichum</i>)	3							

续表 2

产区	Shannon 指数(<i>H</i>)	样品采集地	内生真菌种群(属)	数量/株	合计/株	总计/株
江西	2.55	曲沃(栽培)	葡萄孢属(<i>Botrytis</i>)	2	31	
			无孢子属(<i>Mycelia sterilia</i>)	10		
			地霉属(<i>Geotrichum</i>)	2		
			金孢属(<i>Chrysosporium</i>)	4		
			瓶霉属(<i>Phialophora</i>)	1		
	1.45	芮城(栽培)	青霉属(<i>Penicillium</i>)	5		
			镰孢属(<i>Fusarium</i>)	5		
			拟青霉属(<i>Paecilomyces</i>)	4		
			葡萄孢属(<i>Botrytis</i>)	1	7	
			无孢子属(<i>Mycelia sterilia</i>)	3		
陕西	2.20	蓝田(栽培)	曲霉属(<i>Aspergillus</i>)	3	9	16
			色串孢属(<i>Torula</i>)	1		
			瓶霉属(<i>Phialophora</i>)	2		
			树粉孢属(<i>Oidiodendron</i>)	2		
			曲霉属(<i>Aspergillus</i>)	1		
	1.95	商洛(栽培)	无孢子属(<i>Mycelia sterilia</i>)	3		
			镰孢属(<i>Fusarium</i>)	2	7	
			木霉属(<i>Trichoderma</i>)	2		
			拟青霉属(<i>Paecilomyces</i>)	2		
			无孢子属(<i>Mycelia sterilia</i>)	1		
河北	0.00	行唐(栽培)	镰孢属(<i>Fusarium</i>)	3	3	8
	0.22	安国(栽培)	腐质霉属(<i>Humicola</i>)	2	5	
			镰孢属(<i>Fusarium</i>)	3		

3.3 含量测定结果 各产地丹参有效成分含量见表 3。

3.4 丹参内生真菌与其有效成分的相关性分析

各产地丹参的内生真菌以 0/1 矩阵输出(存在记为 1,不存在记为 0),通过 SPSS 13.0 软件与丹酚酸 B、丹参素、丹参酮 II_A 以及隐丹参酮含量的进行相关性分析,结果表明,分孢属、色疣节孢属与丹参素的含量呈显著负相关($P < 0.05$) 纓霉属、变孢霉属与其呈正相关;色串孢属、头孢霉属、青霉属与丹酚酸 B 呈显著正相关($P < 0.05$),镰孢属与其呈显著负相关($P < 0.05$);隐丹参酮与头孢霉属、短梗霉属呈正相关,胶帚霉属、变孢霉属与丹参酮 II_A 及隐丹参酮均呈负相关,纓霉属、头孢霉属与丹参酮 II_A 则呈正相关;而内生真菌之间也存在相关性,分孢属与色疣节孢属、明枝霉属之间存在极显著的正相关($P < 0.01$),色串孢属与金孢属、树粉孢属之间存在极显著的正相关($P < 0.01$),头孢霉属与明枝霉属之间存在正相关($P < 0.05$),青霉属与拟青霉属之间存

在正相关($P < 0.05$),镰孢属与埠孢霉属之间存在极显著正相关($P < 0.01$)。

内生真菌的 shannon 指数(*H*)与有效成分的相关性分析表明,内生真菌的丰富性与多样性有利于丹参素与丹酚酸 B 的合成与积累,但不利于丹参酮 II_A 和隐丹参酮的合成与积累。

4 讨论

从 25 个产地丹参中分离出 373 株内生真菌,共 36 个属,菌种类群丰富。其中镰孢属(*Fusarium*)、青霉属(*Penicillium*)存在于几乎所有产地,表明了内生真菌对植物也有专一性,也可以认为镰孢属(*Fusarium*)、青霉属(*Penicillium*)内生真菌的营养需求和生理代谢等与丹参植物结构微环境相适应的结果,它和那些出现频率相对较高的菌属具有适应宿主丹参植物生长环境的机制。

在不同产地,内生真菌的数量和种类有所不同,以河南产区分离出内生真菌种类最为丰富,表明了不同地点同种植物受内生真菌感染结果不同,内生

表3 各产地丹参有效成分含量 %

产地	丹酚酸 B	丹参素	丹参酮 II _A	隐丹参酮
中江古店	4.26	0.258	0.199	0.038
中江集凤	5.58	0.289	0.44	0.234
中江石泉	6.27	0.308	0.208	0.056
中江石埡	6.79	0.261	0.197	0.031
河南邓州	4.22	0.142	0.205	0.071
河南栾川(野生)	7.14	0.353	0.549	0.114
河南栾川	4.32	0.203	0.261	0.084
河南卢氏(野生)	3.00	0.186	0.486	0.184
河南方城	3.23	0.253	0.442	0.159
河南民权	5.72	0.294	0.259	0.050
陕西蓝田	7.90	0.291	0.355	0.118
陕西商洛	3.47	0.292	0.199	0.057
山东日照(野生)	7.52	0.259	0.514	0.194
山东临朐	6.86	0.340	0.374	0.104
山东莱芜	4.70	0.217	0.528	0.154
山东平邑	7.64	0.352	0.362	0.126
山西芮城	6.28	0.445	0.200	0.083
山西曲沃	6.05	0.361	0.251	0.041
山西襄汾	5.52	0.254	0.215	0.020
江苏赣榆	5.19	0.283	0.216	0.087
江苏盐城	5.11	0.303	0.183	0.007
亳州十八里镇	4.48	0.258	0.186	0.034
亳州五马镇	6.38	0.460	0.229	0.035
河北行唐	4.05	0.191	0.212	0.080
河北安国	3.51	0.244	0.208	0.037

真菌的种类和数量具有一定的地域性,这为进一步阐明道地药材的形成机制提供了新的切入点。同时,野生丹参分离出内生真菌的种类相对于栽培者较少且数量分布上也较为稳定,这可能与野生丹参的特定的生长条件有一定关系。

丹参中内生真菌与有效成分的含量相关性分析表明,不同种类丹参内生真菌对丹参质量形成产生的影响不同。分孢属、色疣节孢属可抑制丹参素的合成与积累,而色串孢属、头孢霉属、青霉属可促进丹酚酸 B 的合成,镰孢属则不利于丹酚酸 B 的合成,这可能是由于内生真菌对促使丹参有效成分合成酶的诱导效应不同;缨霉属对丹参素和丹参酮 II_A 均可产生有利影响,头孢霉属对有利于丹参酮 II_A、隐丹参酮及丹酚酸 B 的合成与积累;而变孢霉属有利于丹参素的合成与积累,却阻碍了丹参酮丹参酮 II_A 的合成与积累,这可能是由于控制丹参这两种次生代谢产物表达的基因不同,而内生真菌可高度

专一和选择性诱导植物特定基因的表达^[11];同时内生菌之间也存在一定的相关性,表明丹参品质的形成不是受单一的内生菌的影响,而是多种内生真菌共同作用的结果。

由不同产区丹参内生真菌的 shannon 指数(H)作者验证了“环境条件与宿主基因型决定内生真菌的多样性”的假设^[12],丹参的内生真菌在群落构成上具有地域性这一特点就是其内部微生态结构在外部环境上的反映,内生真菌对宿主植物产生影响的机制如何这个问题还没有得到透彻的解决。本研究探讨了丹参内生真菌对丹参品质的影响,为进行丹参内生真菌活性菌株的筛选及其与品质关系的深入研究提供了一定的基础。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010.
- [2] 姜国贤,杨银盛,陈霞云,等. 丹参抗衰老作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(12):82.
- [3] 肖禾,宋民宪. 中成药中丹参入药情况的统计分析[J]. 华西药理学杂志,2005,20(3):279.
- [4] 郑晓珂,董三丽,冯卫生. HPLC 法测定丹参中丹参素、丹参酮 II_A、二氢丹参酮 I、隐丹参酮的含量[J]. 中国实验方剂学,2003,9(6):12.
- [5] P J Fisher. Survival and spread of the endophyte *Stagonospora pteridiicola* in *Pteridium aquilinum*, other ferns and some flowering plants[J]. New Phytologist, 1996,132(1):119.
- [6] 严铸云,庞蕾,罗静,等. 银杏内生真菌菌种的分离及鉴定[J]. 华西药理学杂志,2006,21(5):425.
- [7] 严铸云,张琦,马云桐,等. 不同生长期川贝母内生真菌的多样性[J]. 华西药理学杂志,2008,23(5):521.
- [8] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977:271.
- [9] H L 巴尼特, B B 亨特, 半知菌属图解[M]. 沈崇尧,译. 北京:科学出版社,1977.
- [10] 杨新杰. 环境因子对丹参质量的影响研究[D]. 成都:成都中医药大学,2010.
- [11] James P Kutney, Mijo D Samija, Gary M Hewitt, et al. Anti-inflammatory oleanane triterpenes from *Tripterygium wilfordii* cell suspension cultures by fungal elicitation[J]. Plant Cell Reports,1993,12(6):356.
- [12] Jouni U Ahlholm, Marjo Helander, Janne Henriksson, et al. Environmental conditions and host genotype direct genetic diversity of venturia ditricha, a fungal endophyte of birch trees[J]. Evolution,2002,56(8):1566.

[责任编辑 邹晓翠]