

真菌次生代谢产物多样性及其潜在应用价值*

梁宗琦

(贵州大学真菌资源研究室 , 贵阳 550025)

摘 要 从生物间的协同进化和微生物次生代谢产物的功能意义原理出发 ,本文侧重介绍了与植物和昆虫密切相关的一些真菌及其次生代谢产物在医药和农用新药物开发应用中的潜在价值。

关键词 真菌 ,次生代谢产物 ,多样性

The diversity of fungal secondary metabolites and their potential applications/LIANG Zong-Qi
Abstract From a point view of co-evolution among organisms and functional role of secondary metabolites , some fungal secondary metabolites that are closely related with the host plant and insect and their potential applications for producing new medicines and agricultural chemicals are emphatically reviewed in this paper.
Key words fungi , secondary metabolites , diversity
Author 's address Laboratory of Fungi Resources , Guizhou University , Guiyang 550025

微生物在人类的生产和生活中具有广阔的应用范围 ,如治疗药物、精细化工、农用药物、发酵及食品工程、单细胞蛋白、酶制剂、生物多聚物 ,污水处理、石油勘探及人类蛋白质遗传工程等。其中医药和农用药物更受到特别重视。

近代人们已认识到 ,微生物的次生代谢产物作为药物应用绝不仅限于抗生素。它们中的不少次生代谢产物还能通过与脊椎动物特定的受体或酶相互作用而调节细胞的活性。从真菌 ,特别是子囊菌亚门的某些类群的次生代谢产物中 ,寻找非抗菌素的酶抑制剂、受体抑制剂或激活剂和免疫调节剂等低分子代谢产物 ,已成为一个十分受人关注的热点。近年的统计资料表明从微生物来源的 11 类生理活性物质中 ,灰色链丝菌(*Streptomyces griseus*)占 170 种 ,吸水链丝菌(*S. hygroscopicus*)占 264 种 ,诺卡氏菌属中的一些种(*Nocardia* spp.)占 219 种 ,而在真菌中仅曲霉和青霉属就达到 282 种。真菌是寻找有趣新药物的宝贵资源库。

寻找新的药物和农用药物有三种途径 :化学合成 ,生物工程(重组 DNA 技术)和从微生物、植物及其它生物中筛选天然的化学物质。化学合成常受到合成起始点的基础结构的限制。生物工程技术已生产了如干扰素(interferons) ,白细胞介素(interleukins)和含有蛋白质及多肽类细胞生长因子等。然而 ,生物工程也存在如不正确转录而导致折叠不准确的蛋白质等问题^[1]。从微生物中筛选天然物质始于 1929 年青霉素的发现 ,自本世纪 40 年代至今已发现 1×10^4 余种抗菌素。从微生物中筛选天然物有两种基本途径 :非直接目标筛选和基于建立“ 活细胞模型 ”的直接目标筛选法。近年一些主要定向筛选目标是抗细菌、抗病毒和抗肿瘤的目

1 从真菌中寻找有用次生代谢产物的理论基础

1.1 生物间的“ 基因水平传递 ”及“ 内共生理论 ”

人们的研究已发现 ,在发育早期已分化的放线菌与子囊菌皆存在有相同的次生代谢产物

B-内酰胺(B-lactams),这种现象在其它例子中也存在。由此产生了这样的假设:具有相同次生代谢产物生物合成的途径,是获得了相关基因的直接传递。这种传递可以发生在“共生生物—寄主”或“寄生生物—寄主”间的相互作用过程中,或者更直接地在共同生活的环境中(如土壤)经长期相处直接接触而传递吸收遗传物质^[1]。Ti质粒从致癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)传递到寄主植物是遗传物质传递的一个很好例证。

微生物与哺乳动物遗传信息传递的例证较少,一个有趣的发现是人类的绒毛膜促性腺素(chorionic gonadotrophin)能从入恶性肿瘤中分离的一些细菌中检测到,而非恶性组织中分离的细菌则不产生这种蛋白质。编码这种蛋白质的基因仅仅在与肿瘤细胞相关的细菌中表达,其DNA可能是从寄主细胞中获得的。微生物产生的次生代谢产物,与一些特化动物细胞形成的对自身生存不重要的“奢侈分子”(luxury molecules)之间也存在着有趣的相似性。不少这类次生代谢产物是在特化细胞中大量形成的蛋白质。令人惊奇的是,能编码这些物质的基因中都存在着插入序列(intervening sequences)^[1]。

人们可以相信,一些真菌的生化调控机制已存在于高等生物中,其产生的调节物质在哺乳动物中以干扰受体—配体相互作用和细胞外的信号发生而有着多种功能。如麦角菌(*Claviceps purpurea*)产生的麦角碱(ergot alkaloids)对哺乳动物的细胞受体,多巴胺起着激活剂或抑制剂的作用。

次生代谢过程中生化途径的连续演化会导致有益物质进入到共生体中,其基本的生化过程信息有时还会传递到其它生物中去。在生物早期的系统发育过程中,一些具有完全互补的遗传特性或参与代谢过程的其它整个生物(如细菌或蓝细菌),被认为可组合进真核细胞并发育成线粒体和叶绿体。

1.2 生物之间的相互作用和“协同进化”

对植物—动物—微生物相互作用的研究表明,次生代谢产物已发展成了各种在自身保卫、细胞分化和生存等方面具明显作用的“功能性物质”^[1]。的确,它们的这些功能或许可清楚的看出,生物之间是如何相互作用和协同进化”(co-evolution)的。提高对次生代谢产物功能意义的认识,对研究医药学、农用药物和其它生物工程学将具有十分重要的意义。特别是充分认识“协同进化”不仅限于植物和低等生物,而且可扩大到高等动物,就更具有特别的意义。

微生物与哺乳动物间在生物化学上具有相似性,一些真菌性激素的化学结构与哺乳动物的性激素十分相似。如绵霉属(*Achlya*)的类固醇性激素和啤酒酵母(*Sacharomyces cerevisiae*)形成的二肽配接因子就与哺乳动物睾丸酮(testosterone)和雌二醇(oestradiol)的结构和作用差别不大。一种侵染禾本科植物种子的黑粉菌,其孢子可产生一种同时具有哺乳动物性引诱剂(sex attractant)作用的孢子萌发抑制剂三甲胺(trimethylamine)。地下块菌成熟时,也能散发一种对松鼠有强烈引诱性的性信息素^[1]。基于类似上述的这些事实,Roth等人提出:脊椎动物特化的神经细胞、血细胞、免疫细胞、肿瘤细胞和腺体是近代进化的产物,而一些传递介质,如激素、神经肽、生物调节修饰物则就更原始,这类物质是由在进化上更古老的微生物起源^[2]。如果上述假设成立,那么微生物特别是真菌就会成为寻找脊椎动物药物的金矿。对于筛选天然药物的人们来说,“协同进化”、生物多样性和小生境适应性对分离能产生哺乳动物用的小分子药物的真菌来说是一个重要的指路标。

2 真菌次生代谢产物的多样性

真菌是由不同进化途径的类群组成,现已发现69 000种,而且每年尚以1000余种的新种

递增,保守的估计全世界真菌的总数可达 150×10^4 余种。

在主要真菌类群中,半知菌由于分离培养容易和在工业中的价值,是人类研究较早和研究范围较广的类群。从最早研究产生青霉素的产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*),到近年发现能产生一种降低胆固醇的酶抑制剂(mevinolin = lovastatin)的土曲霉(*Aspergillus terreus*)都是此类群的土生腐生真菌。而对属于其它营养方式和亚门真菌的开发应用研究,其潜力和前景还更加广阔。这儿特别值得一提的是土曲霉,它不仅产生上述有用的酶抑制剂,而且还可分泌生产如纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶和尿酸氧化酶等,以及生产 terrecyclic acid 及多种抗病毒物质等药物。此外,有些菌株可应用于工业生产衣康酸(itaconic acid)。此酸是一种不饱和二盐基性有机酸,易与各种单体行加成反应,可用于制造各种合成树脂、合成纤维及塑料等^[3]。

2.1 真菌的形态分化与次生代谢

在全部真菌中,担子菌及子囊菌呈现了最为广泛和最复杂的分化现象(如形态多型性,异核现象和担子菌独有的双核菌丝等),特别是在有性繁殖阶段,异核的营养菌丝体形成了同核的子实体。此过程包括了复杂的组织分化、基因启动和生化调节等顺序。此外它们对环境的适应能力,对其它生物难利用基物的特有利用能力等等特性,表明了这些真菌次生代谢过程的复杂性与灵活性。

真菌次生代谢产物的形成常表现出与细胞分化在时间上的相关性。现已证明在一些担子菌的营养菌丝与子实体原基(sexual primordia)中存在的物质类型有明显差异。如裂褶菌(*Schizophyllum commune*)形成的各种小肽,只在子实体形成时出现,而不出现在营养菌丝阶段。产黄头孢霉(*Acremonium chrygenum*)产生头孢霉素与节孢子形成有关。在麦角菌(*Claviceps purpurea*)中,生物碱的形成常限于有性子实体阶段,而无性分生孢子的形状则与麦角碱形成能力的丧失有联系^[1]。很多真菌的内菌核常形成抗生物吞噬的代谢产物。遗憾的是,不少真菌的内菌核却不能在液体震荡培养系统中形成。

2.2 真菌—植物的相互关系与真菌的次生代谢

在真菌—植物和真菌—昆虫的相互关系中,真菌产生的次生代谢产物显得更为有趣和复杂。一些植物病原真菌侵入寄主植物后,在特定的环境和生理条件下,能胁迫寄主产生在正常情况下不能发现的小分子的抗菌物质——“植物保卫素”(phytoalexin)。这种能引起宿主产生一系列生理生化过程的、高度专一性的生化信号物质,人们称其为“诱导子”或“诱导物”(elicitor)。真菌产生的诱导物多是细胞壁降解物葡聚糖、糖蛋白、小肽、脱乙酰几丁质、花生四烯酸等不饱和脂肪酸^[4-9]。目前研究发现,经诱导分泌的植物保卫素的化学结构多是萜类、生物碱、皂甙、黄酮、酚类和多炔类等化合物。这类化合物目前已知有 200 多种,除具抗菌作用外尚有其它多种生物活性。诱导物不仅能促进寄主体内次生代谢产物的形成和累积,而且也能将植物体内和外源的化学物质转化产生另一类化合物。

Wolters 等于 1982 年首次报道了用真菌产生的诱导物诱导了芸香(*Ruta graveolens*)细胞培养系统中丫啞酮环氧化物(acridonepoxides)的累积。随后诱导物在植物细胞培养中的应用得到了迅速发展,成为生物技术研究中的一个重要领域^[4-9],现已有不少成功事例的报道。如表 1 所示,在三尖杉(*Cephalotaxus fortunei*)细胞培养液中若加入大丽花轮枝孢(*Verticillium dahliae*)和串珠镰孢(*Fusarium moniliforme*)的培养物,72 小时后就能测出粗榧碱、三尖杉脂碱、三尖杉高酯碱、脱氧三尖杉脂碱等,而未加诱导物的细胞培养液中则无生物碱存在^[10]。当米曲霉形成的一种糖类物质加入滇紫草(*Onosma paniculatum*)细胞培养系统中,可使紫草素的含量比对照提高一倍^[6]。鸦片(*Papaver somniferum* L.)的细胞培养系统中,加入 *Botrytis* sp. 细胞

培养物匀浆后 ,培养 10 小时血根碱(sanguinarine)开始增加 ,80 小时后累积产量比对照高出近 100 倍。但不同真菌诱导物的诱导效果不完全相同^[8]。

真菌与植物的关系极其复杂 ,除一般的寄生、共生和互生外 ,一些真菌刺激植物的伤口后 ,也可分泌一些十分有用的化学物质 ,如某些霉菌刺激白木香树(*Rosa banksiae* var. *normalis*)伤口 ,使其分泌芳香物质并积结为沉香。有的霉菌侵入龙血树(*Dracaena draco*)和安息香树(*Styrax japonica*)后 ,可加速血竭和安息香的分泌。

表 1 真菌诱导物在提高植物细胞培养中次生代谢产物的应用
Table 1 The application of fungal elicitor in eliciting the production of secondary metabolites with plant cell cultures

真菌诱导物 Fungal elicitor	植物细胞培养 Plant cell culture	产物 Product
红花链格孢 (<i>Alternaria carthami</i>)	欧芹(<i>Petroselinum bortense</i>)	佛手柑次烯
	红花(<i>Carthamus tinctorius</i>)	多聚乙烯
葱腐葡萄孢(<i>Botrytis allii</i>)	芸香(<i>Ruta graveolens</i>)	丫啶酮环氧化合物
灰葡萄孢(<i>Botrytis cinerea</i>)	四季豆(<i>Phaseolus vulgaris</i>)	菜豆碱
豆刺盘孢 (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>)	————	异黄酮
瓜果腐霉 (<i>Pythium aphanidermatum</i>)	三叶鬼针草(<i>Bidens pilosa</i>)	多聚乙烯
核盘菌 (<i>Sclerotinia sclerotinia</i>)	三角叶薯芋(<i>Dioscorea deltoidea</i>)	薯芋皂苷元
大丽花轮枝孢 (<i>Verticillium dahliae</i>)	中棉(<i>Gossypium arboreum</i>)	棉酚
米曲霉(<i>Aspergillus oryzae</i>)	滇紫草(<i>Onosma paniculatum</i>)	紫草色素
葡萄孢(<i>Botrytis</i>) sp.	罂粟(<i>Papaver somniferum</i>)	血根碱
<i>Dendryphion penicillatum</i>	罂粟(<i>Papaver bracteatum</i>)	血根碱 二甲基吗啡
酵母(<i>Saccharomyces</i> sp.)	毛地黄(<i>Digitalis lanala</i>)	毛地黄毒甙→地高辛

黑麦草内生菌 *Acremonium loliae* 能产生使牛羊发生神经性混乱的黑麦震颤素 B(lolitrem B)、色醇(tryptophol)和一种天然的昆虫拒食剂 peramine。黑麦震颤素 B 是一种能增加植物生物量和抗旱能力的类激素。另一些内生真菌 ,如存在于松针中的 *Elytroderma torres-juanii* 和存在于水杉针叶中的 *Rhabdocline parkeri* 都能产生使食叶昆虫和动物拒食的物质^[1]。红豆杉内生菌 *Taxomyces andreanae* 能在人工培养下产生紫杉醇(Taxol)^[10]。最近张玲琪等又从长春花(*Cantharanthus roseus*)中分离到了一株能产生长春新碱的内生菌。内生真菌的开发利用前景诱人。

内生真菌中的囊丛枝菌根(vesicule-arbuscular mycorrhiza , VAM)真菌 ,尽管其次生代谢产物的多样性报道不多 ,但近年亦受到人们的特别的关注。据德国 Sieverding 教授估计 ,热带植物中约 70.9% 为 VAM 菌根植物^[12]。由于这类菌根菌的根外菌丝(external mycelium)可以延伸至根外 8 cm 甚至更长的距离 ,所以它能帮助宿主植物广泛地吸收土壤中的水分和养分、特别是磷 ,进而可促进作物生长、能帮助植物耐干旱、抗土壤病虫害、特别是线虫 ,还可延长根系寿命提高移植存活率。现我国台湾、加拿大、哥伦比亚和日本等国家及地区都已推出了不同菌种的囊丛枝内生菌根菌生物肥料^[12]。

2.3 真菌 – 昆虫相互关系与次生代谢

昆虫病原真菌是一大类在分类上千差万别的能产生穿透昆虫体壁的胞外酶的真菌。它们与寄主昆虫有一个相当长的共同生活时期。在些时期 ,真菌产生神经毒素(neurotoxins)干扰昆虫神经系统或促使释放一些能改变昆虫行为的物质 ,使昆虫出现对真菌孢子扩散有利的行为。如蝗噬虫霉(*Entomophaga grylli*)引起的蝗虫“ 趋顶 ”行为 ,冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*)、古尼虫草(*C. gunnii*)和罗伯茨虫草(*C. roberts*)等感染的寄主昆虫在初夏子实体出土时头部向上的极性现象。

一些对昆虫是有害的虫生真菌的次生代谢产物 ,多数却不会引起哺乳动物中毒。如白僵菌(*Beauveria bassiana*)、冬虫夏草、蝉花(*C. sobolifera*)等昆虫病原真菌感染致死的虫菌复合体则可作为名贵中药。虫生真菌产生的次生代谢产物的结构和生理活性都十分复杂极具多样性 (表 2)^[13]。特别值得一提的是 ,多数昆虫病原真菌产生的毒素都含有像 N-CH₃ 缬氨酸、N-CH₃ 丙氨酸和 N-CH₃ 苯基代丙氨酸那样特殊的 N-CH₃ 氨基酸的环状缩羧肽。此外 ,在绿僵菌素和白僵菌素这样的环状结构中都含有含氧酸的脱羧基肽。

近年生物活性肽的研究十分活跃 ,人们已从栝楼、巴豆(*C. mongue*)种子、茜草、小红参、无花果、枸杞根皮、冬瓜籽、慈菇等植物 ,海鞘、蚯蚓、蛙皮、羊下丘脑、猪胰脏等动物及其器官中发现了一些在机体机能调节、抗癌、抗爱滋病、心脑血管系统疾病防治、镇痛及老年痴呆防治上有前景的活性肽^[14,15]。遗憾的是 ,从真菌中分离报道的则不多。一些学者普遍认为 ,从植物和海洋生物中寻找低分子的环状缩羧肽 ,很有希望成为新的一类高效低毒的抗癌和治疗心脑血管系统疾病的新药。虫生真菌中的虫草及其无性型产生的环缩羧肽物质 ,给我们提供了极有价值的启示和新资源。

不少虫生真菌是专性的昆虫寄生菌 ,人工难以分离培养 ,特别是虫草属中的很多种更是如此。因而过去人们从土中分离筛选产天然药物的真菌资源就很难以得到它们。了解这类真菌生活史的多样性 ,对筛选开发这些宝贵的真菌资源有很重要的意义。

表 2 虫生真菌产生的部分重要次生代谢产物
Table 2 Some important secondary metabolites produced by entomogenous fungi

名称 Metabolites	产生菌 Fungi	化学结构 Structure	生理活性 Function
白僵菌素	<i>Bauveria bassiana</i>	环(3)缩羧肽	影响离子载运
白僵菌交酯	<i>B. bassiana</i>	环(4)缩羧肽	作用于围心细胞
球孢交酯	<i>B. bassiana</i>	环(4)缩羧肽	核变性
棒束孢素	<i>Isaria felina</i>	环(5)缩羧肽	
棒束孢交酯	<i>Isaria</i> spp.	环缩羧肽	
绿僵菌素	<i>Metarhizium anisopliae</i>	环(5)缩羧肽	强直麻痹
杂曲霉素	<i>Aspergillus ochraceus</i>	环(3)缩羧肽	
细胞分裂抑制素	<i>M. anisopliae</i>	吲哚衍生物	抑制细胞运动 ,降吞噬能力及被囊化用
苦马豆素	<i>M. anisopliae</i>	吲哚衍生物	致幻剂 ,免疫调节剂
野村菌素	<i>Nomurea rileyi</i>	吲哚衍生物	肌肉麻痹
虫草素	<i>Cordyceps sinensis</i>	甾体	抑制肾小球膜细胞增殖
虫草菌素	<i>C. militaris</i>	3-脱氧腺苷	阻碍 RNA 合成 ,抗菌 ,抗病毒 ,抗癌
茧草菌素	<i>C. pruinosa</i>	N ⁶ -(2-羟乙基)腺苷	钙离子拮抗 ,抗辐射 ,抗血小板凝结

2.4 真菌-藻类相互关系与真菌的次生代谢

地衣是真菌和藻类和/或蓝细菌形成的稳定互惠共生体,是生物多样性及协同进化的一个很好例证。子囊菌亚门真菌是构成地衣共生体的主要类群,据估计有 1.3×10^4 多种。子囊菌亚门中有 46.25% 的种类参与了地衣的形成^[1,16]。

地衣真菌的生境极为特殊,它们常出现在热带森林的树冠层、北极圈、及高海拔地区的贫脊土壤和岩石上。这些生境大多营养缺乏并干旱,地衣真菌生产缓慢且抗逆力强。它们的次生代谢产物极具多样性,近年鉴定的次生代谢产物已有 350 余种。除传统上用于染料和香料之外,现已在抗菌和抗癌方面展现出很好的应用前景。

基于随机的从微生物的次生代谢产物中寻找抗菌素的年代现正被用高精尖的技术、直接目标和作用的筛选模式所替代。生物多样性和分子生物学技术给人类提供了利用大量基因的可能性。目前人们所利用的微生物资源仅是自然界存在微生物资源的一小部分,现存生物资源急需环境的有效保护、大量的分离和培养菌种才能有效的保存和利用基因库。但是环境资源保护并不能使资源优势转化为具经济效益的天然产品,真菌资源的真正价值在于受到切实重视和有效的利用。这就需要真菌学与相关学科的交叉配合,与环境保护和工业界的密切合作。

参 考 文 献

- 1 Nisbet L J, Fox F M. The importance of microbiobiodiversity to biotechnology. In: Hawksworth D L (ed), *The Biodiversity of Microorganisms and Invertebrates: Its Role in Sustainable Agriculture*. 1991, 229 ~ 244
- 2 Roth J, Leroith D et al. The evolutionary origins of intercellular communication and the Maginot Lines of the mind. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1986, **436**: 1 ~ 11
- 3 蔡英杰. *Aspergillus terreus* 与衣康酸发酵. 现代科技研讨会(摘要), 1997, 11
- 4 宁文, 曹日强. 真菌诱导物在植物次生代谢中的调节作用. 植物生理学通讯, 1993, **29**(5): 321 ~ 329
- 5 宁文, 赵群华, 夏仲豪等. 真菌诱导物在滇紫草细胞培养中对紫草色素形成的影响. 植物生理学报, 1994, **20**(4): 325 ~ 331
- 6 宁文, 郝■ ■, 曹日强. 米曲霉中紫草色素诱导物对滇紫草细胞代谢的影响. 植物生理学报, 1996, **22**(1): 74 ~ 80
- 7 Boller T. Chemoperception of microbial signals in plant cells. *Annu. Rev. Physiol. Plant Biol.*, 1995, **46**: 189 ~ 214
- 8 Cline S D, Coscia C J. Stimulation of sanguinar inproduction by combined fungal elicitation and hormonal deprivation in cell suspension cultures of *Papaver bracteatum*. *Plant Physiol.*, 1988, **86**: 161 ~ 165
- 9 Eilert U, Kurz W G W, Constabel F. Stimulation of sanguinarine accumulation in papaver somniferum cell cultures by fungal elicitors. *J. Plant Physiol.*, 1984, **119**: 65 ~ 76
- 10 朱蔚华, 孙玉华, 胡秋等. 真菌诱导子对植物细胞培养物次生代谢作用的初步研究. 第六届全国药用真菌学术会议论文摘要集, 1994, 3 ~ 5
- 11 邱德有, 黄美娟, 朱至清等. 一种云南红豆杉内生真菌的分离. 真菌学报, 1994, **13**(4): 314 ~ 316
- 12 吴继光, 林素祯. 台湾内生菌目及绣球菌目之分类学研究. *Fung. Sci.*, 1997, **12**(12): 17 ~ 30
- 13 梁宗琦. 昆虫病原真菌的综合开发研究. 《中国虫生真菌研究与应用》第一卷. 学术期刊出版社, 1988, 26 ~ 34
- 14 李虹奇. 活性多肽蛋白质研究进展, 中草药, 1993, **(24)**: 373 ~ 378
- 15 沈上, 韩济生. 甘丙肽研究进展, 生理科学进展, 1995, **26**(2): 155 ~ 158
- 16 Hawksworth D L. CRC Handbook of Lichenology. Vol. 1 (Galun M. ed.). CRC Press, 1988. 35 ~ 38