

· 综述 ·

药用植物内生真菌诱导子与宿主互作机制研究进展[△]梁静茹¹, 丁常宏^{1,2*}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040;

2. 道地药材国家重点实验室, 北京 100700

[摘要] 药用植物内生真菌诱导子是一类由药用植物体内内生真菌产生且对宿主植物生长及次生代谢产物合成有一定诱导作用的物质。其可以是寡糖、多糖及植物激素等, 多数来源于内生真菌的表面结构性成分和一些分泌物。在与宿主植物互作时, 对宿主植物的生长发育、次生代谢产物合成积累及抗性反应等有一定作用, 两者互作机制较为复杂且相关研究较少。对已有相关研究成果进行归纳总结, 从内生真菌诱导子种类、真菌诱导子与宿主间相互作用、作用机制研究进展3个方面进行综述, 以期后续深入研究内生真菌诱导子与宿主植物互作复杂关系, 以及内生真菌诱导子的开发应用提供参考。

[关键词] 内生真菌; 诱导子; 宿主植物; 互作机制

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)03-0629-08

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20220212001

Research Progress in the Interaction Mechanism Between Elicitors of Endophytic Fungi and Host Medicinal Plants

LIANG Jing-ru¹, DING Chang-hong^{1,2*}

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. State Key Laboratory of Dao-di Herbs, Beijing 100700, China

[Abstract] The elicitors produced by endophytic fungi in medicinal plants can induce the growth of host plants and the synthesis of secondary metabolites. They can be oligosaccharides, polysaccharides, plant hormones, etc. Most of them come from the surface structural components of endophytic fungi and some secreted substances. When interacting with host medicinal plants, the elicitors can affect the growth and development of host plants, the synthesis and accumulation of secondary metabolites, and the resistance of host plants. The interaction mechanism of the two is complex and rarely studied. The existing research achievements were summarized from three aspects: The types of fungal elicitors, the interaction between fungal elicitors and hosts, and the mechanism of action, with a view to providing a reference for the in-depth study of the complex relationship between fungal elicitors and host medicinal plants, as well as the development and application of fungal elicitors.

[Keywords] endophytic fungi; elicitor; host plant; interaction mechanism

内生真菌是指生长于植物体内且不会对宿主植物产生任何病害症状的一类微生物, 经过长期发展进化与宿主植物建立了互利共生关系, 宿主植物可以为内生真菌提供生长必要的营养物质, 内生真菌也能促进植物生长发育、提高植物次生代谢物产量并协助植物抵抗一些外界威胁^[1]。研究发现, 内生真菌对宿主植物的一系列影响可能是通过分泌真菌诱导子并快速、特异性地诱导宿主

植物特定基因表达, 从而触发宿主植物细胞间一系列复杂反应来实现的^[2]。因此, 内生真菌诱导子与宿主植物之间特殊且微妙的关系成为药用植物资源领域研究的热点。本文对近年来药用植物内生真菌诱导子与宿主植物之间的互作研究进行梳理总结, 从内生真菌诱导子的种类、真菌诱导子与宿主植物的相互作用、互作机制研究进展3个方面进行综述, 以期为进一步揭示内生真菌诱导子

[△] **[基金项目]** 中央本级重大增减支项目(2060302); 黑龙江省自然科学基金联合引导项目(LH2020H093); 黑龙江中医药大学优秀中青年骨干教师培养支持计划项目(15041190011)

* **[通信作者]** 丁常宏, 教授, 研究方向: 中药资源学; Tel: 0451-51065796, E-mail: 598808726@qq.com

对宿主植物的作用机制,以及对内生真菌诱导子应用与开发提供参考。

1 内生真菌诱导子

内生真菌诱导子主要来源于植物内生真菌细胞

提取物或其分泌物质。经过对文献资料进行梳理归纳,目前研究中常用到的内生真菌诱导子主要有内生真菌菌丝体提取物、菌液提取物、菌丝和菌液共同提取物及从菌丝或菌液中分离出的一些多糖、多肽、小分子物质等^[2-24],见表1。

表1 药用植物内生真菌诱导作用

药用植物	内生真菌	诱导子类型	诱导作用	参考文献
寒兰根 <i>Cymbidium kanran</i> Makino	多孔菌科 (Polyporaceae) 栓菌属 (<i>Trametes</i>) 的毛栓菌 <i>Trametes hirsuta</i>	菌丝体	缩短白及 <i>Bletilla striata</i> (Thunb. ex A. Murray) Rchb. f. 种子的萌发时间,促进幼苗生长	[3]
野生兰	6个菌根真菌 (Y1~Y6)	菌丝和菌液混合溶液	对蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis aphrodite</i> Rchb. F. 组培苗的生长均有促进作用	[4]
	6个菌根真菌 (Y01~Y06)	菌丝和菌液的混合液	40 mL·L ⁻¹ 的 Y05 对石斛 <i>Dendrobium nobile</i> Lindl. 组培苗的生长有促进作用	[9]
刺五加 <i>Eleutherococcus senticosus</i> (Rupr. & Maxim.) Maxim	草酸青霉菌 <i>Penicillium oxalicum</i>	菌丝体提取的组分(孢子、多肽、整体灭活、菌丝和小分子物质)	对刺五加生长有促进作用,且低剂量多肽诱导子为最佳促生组分	[5]
怀地黄 <i>Rehmannia glutinosa</i> (Gaetn.) Libosch. ex Fisch. et Mey.	2个链格孢菌 <i>Alternaria alternata</i> 、 <i>Penicillium axalicum</i>	发酵液滤液和菌丝降解液	对宿主药用植物有促生作用	[6]
春兰 <i>Cymbidium goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	CF1、CF3、CF8、CF11 菌株	菌丝体	对春兰组培物生长均有促进作用,诱导效果 CF11>CF3>CF1>CF8	[7]
黄芪 <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge	毛菌 (<i>Mucor</i> sp1、 <i>Mucor</i> sp2、 <i>Mucor</i> sp3)、散子囊菌 <i>Eurotium</i> sp.、木霉 <i>Trichoderma</i> sp.、青霉 <i>Penicillium</i> sp.	菌丝体	对黄芪愈伤组织的生长有抑制作用	[8]
毛脉酸模 <i>Rumex gmelinii</i> Turcz. ex Ledeb.	<i>Plectosphaerella</i> sp. (J-G)	菌丝体	短时间对宿主次生代谢产物有促进作用	[2]
球孢炭疽菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		菌丝体	可诱导贯叶连翘 <i>Hypericum perforatum</i> L. 细胞中酚类化合物	[10]
丝核菌 <i>Rhizoctonia bataticola</i>		菌丝体	可提高马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i> L. 毛状根培养物中抗菌倍半萜和脂氧合酶 (LOX) 代谢物的产量	[11]
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i> 、串珠镰刀菌 <i>Fusarium moniliforme</i> 、绿色木霉 <i>Trichoderma viride</i>		菌丝体	促进长春花 <i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don 细胞培养物产生阿霉素代谢产物的积累	[12]
苦豆子 <i>Sophora alopecuroides</i> L.	外瓶霉 <i>Exophiala</i> sp.	菌液浓缩物	激活宿主植物的防御应答反应,促进氧化苦参碱 (OMA) 的合成	[13]
	外瓶霉属 (<i>Exophiala</i> sp.)、细极链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i>	灭活菌丝和菌液浓缩物	能有效的提高宿主无菌苗和愈伤组织细胞培养物的生长和喹诺里西啉生物碱含量	[18]
	芬芳镰刀霉 <i>Fusarium redolens</i> 、外瓶霉 <i>Exophiala</i> sp.、三线镰刀菌 <i>Fusarium tricinctum</i> 、枝顶孢 <i>Acremonium strictum</i> 、细极链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i> 、尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	灭活菌丝、菌液浓缩物	可促进宿主生长和喹诺里西啉生物碱的合成,且菌液浓缩物诱导效果强于灭活菌丝	[22]
雷公藤 <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	2株内生真菌 <i>Pochoniasu chlasporia</i> (NS-17) 和 <i>Penicillium spinulosum</i> (NS-5)	菌丝提取物和发酵液滤液	可促进雷公藤悬浮细胞培养物中雷公藤甲素的积累	[14]
	内生真菌 <i>Penicillium Steckii</i> (NS-12)	菌丝体	不同浓度的真菌诱导子对雷公藤悬浮细胞的生长和雷公藤甲素的积累均有促进作用	[20]

续表 1

药用植物	内生真菌	诱导子类型	诱导作用	参考文献
长春花	镰刀菌属 (<i>Fusarium</i>)	菌丝提取物	诱导长春花悬浮细胞总生物碱含量提高	[15]
黄花蒿 <i>Artemisia annua</i> L.	青霉菌 <i>Penicillium</i> sp. (Y2)	培养液和菌丝匀浆的混合液	促进黄花蒿组培苗中青蒿素的合成	[16]
茅苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	小克银汉霉属 (<i>Cunninghamella</i> sp.)、孔球孢霉属 (<i>Gilmaniella</i> sp.)	菌丝体	促进茅苍术悬浮细胞的生长及挥发油积累	[17]
地黄 <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch.	内生真菌 GG22	菌丝体	对地黄毛状根生长有促进作用, 且能提高次生代谢产物的含量	[19]
茅苍术	3 个镰刀菌属真菌 <i>Fusarium</i> sp.、 <i>Rhizoctonia</i> sp.、 <i>Myriangium</i> sp.	菌体匀浆和发酵液的混合液	低浓度诱导子对细胞生长无明显影响, 高浓度对细胞生长有显著的抑制作用, 同时促进苍术素的合成	[21]
金钗石斛 <i>Dendrobium nobile</i> Linkl.	A、B、C 号菌株	菌丝体	3 种诱导子对金钗石斛内酶生理生化代谢有不同程度的影响	[23]
盾叶薯蓣 <i>Dioscorea zingiberensis</i> C. H. Wright	<i>Berkleasium</i> sp. (Dzf12)	寡糖	提高宿主防御酶的活性, 激活防卫机制	[24]

在实验中常用内生真菌菌丝体提取物或菌丝体发酵液作诱导剂, 研究内生真菌诱导子对宿主药用植物的影响^[10-12]。孙牧笛等^[13]报道用 4 株苦豆子内生真菌菌液浓缩物作为诱导子诱导苦豆子组培苗, 结果显示这 4 种内生真菌诱导子均能激活宿主植物的防御应答反应、促进 OMA 合成, 其中诱导效果最好的内生真菌诱导子是 XKYKDF40。陈金花等^[4]用野生兰分离的 6 个菌根真菌 Y1~Y6 的菌丝和菌液混合溶液配制成真菌诱导子, 发现其对蝴蝶兰组培苗生长有促进作用。张强等^[14]将雷公藤的 2 株内生真菌 NS-17、NS-5 的菌丝提取物和发酵液滤液加入到培养一定时间的雷公藤悬浮细胞中, 发现在细胞生长初期加入内生真菌诱导子有利于提高细胞生物量, 且由发酵液滤液配制成的内生真菌培养液比菌丝提取物促进作用强, NS-17 诱导作用比 NS-5 强。张爽等^[5]从刺五加内生真菌 CWJ-Q1 菌丝中提取了 5 种不同内生真菌诱导子组分 (孢子、多肽、整体灭活、菌丝和小分子物质), 探索对刺五加生长促进效果最好的内生真菌诱导子组分, 研究发现, 低剂量多肽诱导子为刺五加最佳促生组分。夏伟等^[6]制备发酵液滤液和菌丝降解液 2 种不同类型的内生真菌诱导子, 发现 2 种类型的内生真菌诱导子对宿主药用植物均有不同程度的促生作用, 但发酵液滤液促生效果更好。高媛^[18]利用灭活菌丝和菌液浓缩物 2 种类型的内生真菌诱导子对宿主苦豆子进行诱导处理, 研究表明, 菌液浓缩物的诱导效果显著强于灭活菌丝。综上所述, 内生真菌的菌丝体或菌液的提取物是目前研究中最常用的诱导子, 与其他类型的诱导子相比,

其制备工艺简单且具有较好的诱导效果。

2 内生真菌诱导子与宿主植物间的相互作用

研究表明, 将内生真菌诱导子加入宿主植物培养物中, 能够促进宿主植物的生长发育、次生代谢产物等活性成分的合成与积累, 以及可提高宿主抗逆、抗病等能力, 但少数情况下诱导子也会产生抑制作用。

2.1 内生真菌诱导子对宿主植物生长发育的影响

陈金花等^[4]用 3 个浓度梯度的 6 种野生兰真菌诱导子对蝴蝶兰组培苗进行诱导, 并以组培苗鲜质量和叶绿素含量为测量指标研究内生真菌诱导子对蝴蝶兰组培苗生长的影响, 结果表明, 设置的 18 个处理组中有 13 个处理组的内生真菌诱导子促进了组培苗的生长, 其中 6 个处理组的叶绿素 a 含量比对照组高, 4 个处理组叶绿素 b 含量比对照组高, 6 个处理组叶绿素总含量高于对照组。朱昀昊等^[19]设置不同浓度的内生真菌 GG22 诱导子对地黄毛状根分别诱导 0、3、5、8、11 d 后, 测定毛状根的生物量 (鲜质量、干质量) 和次生代谢产物 (总环烯醚萜苷、毛蕊花糖苷) 含量, 发现内生真菌 GG22 诱导子对地黄毛状根生长有促进作用, 且能提高次生代谢产物的含量。有文献报道, 兰属植物根的内生真菌诱导子可以缩短植物种子萌发时间, 对植物幼苗生长有促进作用^[3,25]。董芳等^[7]研究发现, 用 4 种不同种类野生春兰根中分离的内生真菌制备诱导子 CF1、CF3、CF8、CF11 对春兰组培物进行诱导培养, 4 种内生真菌诱导子均能促进春兰组培物的生

长,诱导效果为CF11>CF3>CF1>CF8。安嘉然^[20]通过从雷公藤植物体中筛选出的内生真菌菌株NS-12对雷公藤悬浮细胞进行不同浓度的诱导后发现,不同浓度的真菌诱导子对雷公藤悬浮细胞的生长均有促进作用。

内生真菌诱导子对宿主植物的生长并非都是促进作用,有些还有抑制作用。杜研^[8]用真菌诱导子作用于黄芪愈伤组织,发现真菌诱导子抑制了黄芪愈伤组织的生长,其鲜质量仅为对照组的85%。陶金华等^[21]采用不同浓度的内生真菌诱导子,在不同时间加入到茅苍术悬浮细胞中,发现低浓度诱导子对细胞生长无明显影响,但高浓度诱导子对细胞生长有显著抑制作用,当诱导子的质量浓度在 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,细胞生长抑制率达46%。高媛等^[22]使用8株不同内生真菌(编号分别为XKZKDF11、XKZKDF21、XKZKDF27、XKGKDF33、XKYKDF40、HMGKDF1、NDZKDF13、FJJKDF41)分别制成灭活菌丝和菌液浓缩物2种类型的诱导子,并使用不同浓度诱导子分别对苦豆子的愈伤组织和无菌苗进行诱导处理,以研究不同种类、不同浓度内生真菌诱导子对苦豆子愈伤组织和无菌苗的影响,结果表明,HMGKDF1和NDZKDF13菌液浓缩物和灭活菌丝诱导子对苦豆子愈伤组织生长有促进作用,其余6种对其均为抑制作用;NDZKDF13菌液浓缩物能促进苦豆子无菌苗生长,其余7种内生真菌菌液浓缩物对无菌苗生长均有一定抑制作用;当质量浓度超过 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,内生真菌诱导子会抑制苦豆子无菌苗的生长。陈金花等^[9]从野生兰中分离得到6种内生真菌(分别编号为Y01~Y06),以不同浓度加入到培养基中,对石斛兰组培苗“088”进行诱导处理,结果发现,只有Y05在 $40\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对组培苗有显著的促生作用,其他5种内生真菌诱导子无促进作用,有的还会抑制组培苗生长;Y01对组培苗鲜质量增长并无影响,但在质量浓度为 $40\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对叶绿素的合成有促进作用,其对石斛兰叶绿素含量的影响随诱导子浓度的升高而降低。此研究还说明,在植物细胞生长不同阶段加入内生真菌诱导子呈现的诱导效果差异较大,且诱导时间会对诱导效果产生影响。

综上所述,内生真菌诱导子与宿主植物互作可以对植物无菌苗、组培苗、愈伤组织、毛状根、悬浮细胞培养物的生长及种子的萌发产生明显影响,

由于内生真菌诱导子种类、浓度不同,加入诱导子的时间、诱导时间、反应体系、产物也不同,因此产生影响也有差异。

2.2 内生真菌诱导子对宿主植物次级代谢产物等活性成分的影响

周敏^[15]从长春花茎中分离得到11株镰刀菌属内生真菌,并用这些内生真菌菌丝提取物对长春花悬浮细胞进行诱导处理,研究发现,诱导子处理组中总生物碱含量约为对照组的1.5倍。袁亚菲等^[16]利用从黄花蒿茎中分离出的内生青霉菌Y2的培养液与菌丝匀浆制成的3种内生真菌诱导子对黄花蒿组培苗进行诱导处理,结果显示,3种内生真菌诱导子可以将青蒿素合成率提高58.86%。方芳等^[17]研究报道,使用2种内生真菌诱导子(小克银汉霉属AL4、孔球孢霉属AL12)诱导茅苍术悬浮细胞,茅苍术挥发油中一些主要成分含量有所提高,其中 β -桉叶醇含量是未诱导组的2.22倍。高媛等^[22]研究证明了8种内生真菌诱导子均能不同程度提高苦豆子中喹诺里西啉生物碱含量。夏伟等^[6]将取自地黄不同部位的2种内生真菌[*Alternaria*属内生真菌*Alternaria alternata*(编号PY6)、*Penicillium*属内生真菌*Penicillium axalicum*(编号PY10)]分别制备发酵液滤液和菌丝降解液2种不同类型的诱导子,并将其分别对怀地黄组培苗进行诱导,结果显示,PY10菌丝降解液诱导后无论高浓度还是低浓度均抑制次生代谢产物梓醇含量提高,而PY10发酵液滤液高、低浓度对梓醇含量提高均有促进作用;YP6诱导子对梓醇含量提高为促进作用,只有在低浓度时对毛蕊花糖苷的积累有促进作用。这些研究说明,内生真菌诱导子对植物次生代谢产物合成影响与诱导子、代谢产物种类有关,通常情况下发酵液滤液比菌丝降解液诱导效果好。本课题组前期利用毛脉酸模内生真菌J-G诱导子对毛脉酸模分别进行5、10、15 d的诱导处理,与未诱导组相比,诱导组中的白藜芦醇、白藜芦醇苷、酸模素及蒽醌类成分均有所增加,其中白藜芦醇和白藜芦醇苷含量在10 d时最高,之后随时间延长而下降;酸模素和蒽醌类成分含量在5 d时显著增加,之后下降,说明内生真菌诱导子对宿主药用植物次生代谢产物的作用与诱导时间、代谢产物种类有关^[2]。

内生真菌诱导子含有大量几丁质、多糖、蛋白质、糖蛋白和脂质等,可提高宿主植物的次生代谢产物和其他活性成分含量^[21]。但因其由不同真菌细

胞表面结构或分泌物组合而成,化学成分种类和含量差异较大。因此,不同内生真菌诱导子对宿主次生代谢产物的诱导作用不同。此外,经研究还发现短时间诱导效果要强于长时间诱导,这可能是因为诱导子的存在缩短了次生代谢产物最初积累的时间,在次生代谢产物积累达到峰值后,随着时间延长,诱导子效果也会越来越不明显^[2]。

2.3 内生真菌诱导子对宿主植物抗性能力的影响

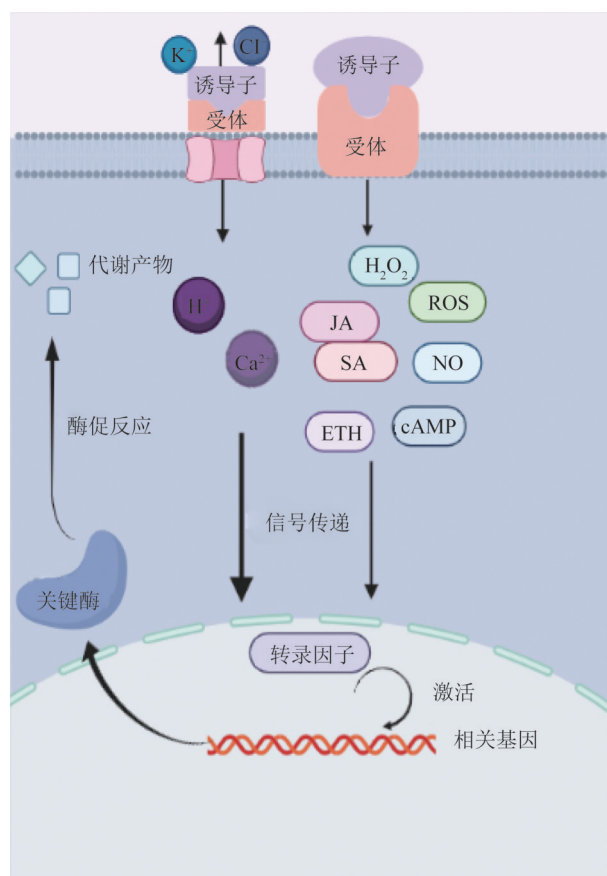
内生真菌诱导子提高宿主抗性的研究主要集中于模式植物或经济作物。Zhao等^[26]研究发现,灰霉菌的真菌诱导子PebC1不仅可以增强拟南芥的抗病性,还能提高番茄的耐旱能力和抗病能力。Zhang等^[27]验证了经过内生真菌诱导子His-SsCut诱导处理过的拟南芥、大豆、水稻、油菜、玉米、小麦等都表现出抗性增强。Bu等^[28]报道了内生真菌诱导子PevD1可以诱导棉花增强其对黄萎病的抗性。在药用植物中,也开展了少量相关研究,如李培琴等^[24]用从药用植物盾叶薯蓣中分离得到内生真菌Dzf12制备的寡糖诱导子处理宿主盾叶薯蓣的培养细胞和幼苗,发现培养细胞和幼苗中防御相关的酶活性均显著提高,从而激活其防卫机制。但是,目前关于内生真菌诱导子对药用植物抗性影响的研究报道相对较少。

3 内生真菌诱导子与宿主互作机制

内生真菌诱导子与宿主药用植物相互作用,诱导子能促进宿主次生代谢产物的合成和积累以抵御外界带来的威胁,从而也影响了宿主植物的生长发育。然而,内生真菌诱导子诱导次生代谢产物积累是一个复杂的过程,因此对其诱导机制的研究成为热点。内生真菌诱导子诱导宿主植物次生代谢产物合成积累主要包括信号识别、信号转导、转录因子的整合,以及关键酶的基因表达和激活^[29],见图1。

3.1 信号识别

内生真菌诱导子属于植物细胞外的刺激因子,其本身不直接参与药用植物细胞内的次生代谢反应,因此需要依靠位于药用植物细胞膜上存在的特异性结合位点将内生真菌诱导子的信息进行传递,具体表现为药用植物细胞表面的原生质膜上的特异性蛋白受体对内生真菌诱导子进行识别并通过结合完成信号识别的过程,这是整个诱导过程的第一步。



注: H₂O₂. 过氧化氢; JA. 茉莉酸; ROS. 活性氧; SA. 水杨酸; NO. 一氧化氮; ETH. 乙烯; cAMP. 环磷酸腺苷。

图1 药用植物内生真菌诱导子与宿主植物互作机制

3.2 信号转导

在信号识别完成后,合成次生代谢产物的信号转导途径将被启动。信号转导途径主要有2种方式^[30]: 1) 细胞膜离子通道被打开。药用植物细胞质膜上存在着一些相关的离子通道,内生真菌诱导子与受体结合后导致细胞膜通透性发生了改变,引发了这些离子通道的开启,从而引起膜内外两侧离子流动(如Ca²⁺、H⁺内流和Cl⁻、K⁺外流)并伴随着细胞质的酸化,随后导致一些信号分子迸发,诱导信号得以传递。2) 第二信使被激活。内生真菌诱导子与受体结合后,会使细胞内发生一定变化,产生特定的胞内第二信使。第二信使通过一系列的信号转导进而完成诱导信息的传递任务。充当第二信使的信号分子可以是脱落酸(ABA)、cAMP、ETH、结合蛋白(Gproteins)、H₂O₂、三磷酸肌醇(IP₃)、JA、NO、氧离子(O²⁻)、ROS、SA、茉莉酸甲酯(MeJA)等^[29]。其中,NO、SA和H₂O₂为关注的热点,是较

重要的信号分子,其在介导植物抗性反应和次生代谢产物合成中起到非常重要的作用。陶金华等^[31]报道了H₂O₂是介导内生真菌诱导子诱发茅苍术细胞中 β -桉叶醇合成的信号分子。方芳等^[32]研究发现,NO和H₂O₂在内生真菌AL4诱导子促进茅苍术悬浮细胞挥发油合成的过程中起到信号分子的作用。陶金华等^[33]也证明了NO和水杨酸是参与苍术素合成的信号分子。

虽然,各种类型的信号分子都可以诱导信号传递,但其不是单一存在的,信号之间相互串扰,就像一个大的交织网,不同信号通路相互作用、相互协调完成传递信息。严宽等^[34]研究发现,青霉菌属内生真菌2J1诱导子在诱导油樟 *Cinnamomum longepaniculatum* (Gamble) N. Chao 悬浮细胞时,MeJA和挥发油的含量均有提高,若用MeJA淬灭剂SHAM对体系进行处理,在抑制MeJA迸发的同时,挥发油合成量有所降低,说明MeJA是介导油樟细胞合成挥发油的信号分子,但除MeJA以外还可能存在其他信号分子与其共同调控油樟悬浮细胞合成挥发油。Zhai等^[29]研究表明,JA和SA都是参与PB90诱导的黄酮醇苷产生的信号分子;还表示当SA信号受损时,JA信号可能会增强,代替SA传递信息,启动黄酮醇苷合成,表明JA和SA在介导植物次生代谢物合成方面存在一定互补关系。综上所述,在植物次生代谢产物合成过程中,植物细胞内不同信号转导途径相互交叉、相互制约、相互协调,共同进行诱导信息的传递。信号转导过程十分复杂,在药用植物生长发育、抗病、抗逆及次生代谢产物合成等过程中起着非常重要的作用^[35]。

3.3 转录因子的调节

当各个信号通路将诱导信号传给转录因子后,转录因子会将这些信号统一整合到单个物质的合成过程。目前,这种整合机制尚不清楚,但能确定的是转录因子激发了防御基因的表达,通过调控一部分基因表达关闭而另一部分基因表达开启产生预期的次生代谢产物。也就是说,转录因子是信号分子和基因表达间的一座桥梁,信号分子是通过转录因子调控次级代谢合成基因的表达。段乐鹏等^[36]综述了MYB类、bHLH类、MRKY类、NAC类、bZIP类、AP2/ERF类等转录因子都对药用植物次生代谢产物的合成与积累具有调控作用。张莲莲等^[37]报道了真菌诱导子诱导直夹竹桃色氨酸脱羧酶和吡啶和酶

的过程中存在很多信号步骤,其中包括JA响应的转录因子ORCA的活化。Zhai等^[29]说明了在药用植物真菌诱导的次生代谢产物积累过程中,真菌诱导子通过各个信号通路进行信号转导,转录因子整合信号信息,并通过不同方式调节基因表达,从而促进次生代谢产物的合成。Li等^[38]研究发现,在植物对抗细菌病原体的过程中,转录因子WRKY70通过对SA和JA信号通路传递的诱导信息进行整合后调动了植物的防御反应。目前,对药用植物内生真菌诱导次生代谢产物积累过程中转录因子的相关描述较少,像转录因子与各信号分子之间的关系、转录因子具体调控机制尚不清楚,需要进一步的研究。

3.4 关键酶的基因表达和激活

转录因子能与真核基因启动子进行特异性结合,调控药用植物次级代谢产物合成过程中关键酶的基因表达,进而激活一系列特定的次生代谢途径,促进次生代谢产物等活性成分的积累。孙牧笛等^[39]的实验数据表明,在内生真菌NDZKDF13诱导子的作用下,苦豆子组培苗中OMA的含量和赖氨酸脱羧酶(LDC)基因的表达量均有所增加,基因表达量在第6天达到峰值,OMA的含量则在第9天达到峰值,OMA含量的增加滞后于LDC基因表达量的变化,推测是诱导子先促进了苦豆子LDC基因的表达量,随后出现OMA含量的升高,说明内生真菌诱导子NDZKDF13是通过增强苦豆子相应代谢途径中关键酶LDC的基因表达来促进OMA的合成和累积。陶金华等^[21]的实验数据表明,内生真菌诱导子在提高次生代谢产物含量的同时还改变了一些酶的活性,并且验证了这些酶活性的变化与代谢产物的合成呈正向关联。Namdeo等^[12]的研究也表明了苦豆子内生真菌诱导子调节了宿主生物碱合成关键酶的活性,从而高效、快速地调控了次生代谢产物合成途径。

4 存在问题与展望

4.1 存在问题

目前,药用植物内生真菌诱导子的研究正在开展,但是诱导子与宿主互作机制方面的相关研究较少,而且通常是从单方面、独立通路入手,具体的作用机制尚不明确,存在很多没有解决的问题:一是宿主植物细胞膜上的哪些受体与哪些内生真菌诱导子进行了怎样的特异性识别;二是有哪些第二

信使参与到此信号传递的过程中；三是诱导子的作用涉及了哪些转录因子，调控了哪些相关基因的表达；四是诱导子作用于哪些关键酶，是促进了其基因的表达还是提高了酶的活力等。这些问题的解决亟须进一步深入全面开展相关研究。

4.2 展望

内生真菌与植物的互作机制研究存在很多技术上的限制，而内生真菌诱导子通常为化学成分而不具有真菌的生长繁殖能力，对植物组培苗、悬浮细胞的生活力影响较小，易于进行定性、定量的诱导研究，为内生真菌的应用提供了更有效的方法和途径。开展内生真菌诱导子的作用机制研究，有利于明确诱导子的作用方式，更好地指导诱导子在实际生产中的应用。在今后的研究中应对内生真菌诱导子的化学组成、化学结构进行深入分析，以探索其与宿主细胞膜受体之间具体的作用机制。还需要研究诱导作用与已知信号分子的联系，不断发现其他可能的信号分子，为诱导子作用机制的研究提供更多依据。

诱导子的作用应该不局限于简单的一个方面，而是一个从胞外到胞内，再到核内基因，最后发生相应结果的代谢网络。内生真菌诱导子的作用是一个复杂的过程，涉及植物中多方面的因素，且彼此具有一定的联系。现有的这些单一方向的研究不能全面阐释诱导机制，因此对诱导机制的探索要从全局的角度、多方位开展研究，从而更加明确诱导作用发生的机制。这需要用到基因组学、转录组学、蛋白组学和代谢组学等相关组学的研究方法。

参考文献

- [1] 刘圣越,王跃飞,何永志,等. 内生真菌对宿主植物生长和次级代谢产物影响研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2021,40(1):128-136.
- [2] 丁常宏,李佳宾,王谦博,等. 内生真菌诱导子对毛脉酸模式次级代谢产物的影响[J]. 中国药师, 2019,22(8):1388-1392.
- [3] 罗琳,黄学敏,陈晓悦,等. 寒兰根内生真菌诱导子对白芨种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 热带作物学报, 2021,42(2):442-448.
- [4] 陈金花,石蕾,王存,等. 6种真菌诱导子对V3蝴蝶兰组培苗生长的影响[J]. 广东农业科学, 2014,41(4):48-51.
- [5] 张爽,郭盛磊,王谦博,等. 刺五加内生真菌诱导子对宿主生长及抗氧化酶系统影响[J]. 中国中药杂志, 2019,44(8):1517-1523.
- [6] 夏伟,熊玉萍,朱昀昊,等. 真菌诱导子对怀地黄组培苗生长及次生代谢产物合成的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017,23(3):25-29.
- [7] 董芳,赵建娜,刘红霞. 真菌诱导子对春兰组培物生长的影响[J]. 北方园艺, 2008(5):194-196.
- [8] 杜研. 诱导子对黄芪愈伤组织生长及代谢的影响[D]. 长春:吉林农业大学, 2007.
- [9] 陈金花,王存,石蕾,等. 六种真菌诱导子对石斛兰“088”组培苗生长的影响[J]. 湖南农业科学, 2014(3):28-31.
- [10] CONCEICAO L F, FERRERES F, TAVARES R M, et al. Induction of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L. cells by *Colletotrichum gloeosporioides* elicitation[J]. Phytochemistry, 2006, 67(2): 149-155.
- [11] KOMARAI AH P, REDDY G V, REDDY P S, et al. Enhanced production of antimicrobial sesquiterpenes and lipoxigenase metabolites in elicitor-treated hairy root cultures of *Solanum tuberosum* [J]. Biotechnol Lett, 2003, 25(8): 593-597.
- [12] NAMDEO A, PATIL S, FULZELE D P. Influence of fungal elicitors on production of ajmalicine by cell cultures of *Catharanthus roseus* [J]. Biotechnol Prog, 2002, 18(1): 159-162.
- [13] 孙牧笛,胡丽杰,李文学,等. 苦豆子内生真菌诱导子促进宿主生物碱合成积累的生理防卫反应[J]. 干旱地区农业研究, 2019,37(3):60-65.
- [14] 张强,宋萍,朱留刚,等. 诱导子对雷公藤悬浮细胞中雷公藤甲素积累的影响[J]. 江西农业大学学报, 2021,43(5):1149-1158.
- [15] 周敏. 内生真菌及其诱导子与长春花悬浮细胞生物碱合成代谢相关性研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2005.
- [16] 袁亚菲,董婷,王剑文. 内生青霉菌对黄花蒿组培苗生长和青蒿素合成的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2011,33(4):1-4.
- [17] 方芳,戴传超,张波,等. 茅苍术悬浮细胞系建立及内生真菌诱导子对其挥发油积累的影响[J]. 中草药, 2009,40(3):452-455.
- [18] 高媛. 苦豆子悬浮细胞培养及其内生真菌对宿主喹诺里西啉生物碱合成积累的影响[D]. 银川:宁夏大学, 2016.
- [19] 朱昀昊,张梦佳,彭淑萍,等. 内生真菌GG22诱导子对地黄毛状根生长和次生代谢的影响[J]. 核农学报, 2021,35(11):2528-2534.
- [20] 安嘉然. 内生真菌与宿主雷公藤互作对甲素生成的影响[D]. 福州:福建农林大学, 2015.
- [21] 陶金华,濮雪莲,江曙. 内生真菌诱导子对茅苍术细胞生长及苍术素积累的影响[J]. 中国中药杂志, 2011,36(1):27-31.

- [22] 高媛,孙牧笛,徐全智,等. 苦豆子内生真菌对宿主培养物生长及喹诺里西啉类生物碱合成的影响[J]. 干旱地区农业研究,2017,35(3):212-218.
- [23] 罗在柒,乙引. 3种内生真菌诱导子对金钗石斛部分生化指标的影响[J]. 贵州农业科学,2007,35(5):20-23.
- [24] 李培琴,于瑞婷,徐丹,等. 内生真菌 *Berkleasmium* sp. 寡糖对盾叶薯蓣培养细胞和幼苗防御相关酶活性的影响[J]. 天然产物研究与开发,2015,27(4):585-591.
- [25] 代晓宇. 兰属植物根部内生真菌及其对种子萌发苗木生长的效应[D]. 北京:北京林业大学,2011.
- [26] ZHAO J, ZHONG L, ZOU L, et al. Efficient promotion of the sprout growth and rutin production of Tartary buckwheat by associated fungal endophytes [J]. Cereal Res Commun, 2014, 42: 401-412.
- [27] ZHANG H, WU Q, CAO S, et al. A novel protein elicitor (SsCut) from *Sclerotinia sclerotiorum* induces multiple defense responses in plants[J]. Plant Mol Biol, 2014, 86(4/5): 495-511.
- [28] BU B, QIU D, ZENG H, et al. A fungal protein elicitor PevD1 induces *Verticillium* wilt resistance in cotton[J]. Plant Cell Rep, 2014, 33(3): 461-470.
- [29] ZHAI X, JIA M, CHEN L, et al. The regulatory mechanism of fungal elicitor-induced secondary metabolite biosynthesis in medical plants[J]. Crit Rev Microbiol, 2017, 43(2): 238-261.
- [30] 熊琼琼. 黑曲霉真菌诱导子促进青钱柳悬浮培养细胞合成三萜及其机制研究[D]. 南昌:江西农业大学, 2016.
- [31] 陶金华,汪冬庚,濮雪莲,等. H_2O_2 介导内生真菌诱导子促进茅苍术细胞HMGR的活化和 β -桉叶醇的生物合成[J]. 中草药,2013,44(19):2740-2744.
- [32] 方芳,戴传超,王宇. 一氧化氮和过氧化氢在内生真菌小克银汉霉属AL4诱导子促进茅苍术细胞挥发油积累中的作用[J]. 生物工程学报,2009,25(10):1490-1496.
- [33] 陶金华,汪冬庚,濮雪莲,等. 一氧化氮和水杨酸依次介导内生真菌诱导子促进苍术细胞中苍术素生物合成的信号转导[J]. 中草药,2014,45(5):701-708.
- [34] 严宽,刘杰,魏琴,等. 内生真菌诱导子通过MeJA介导油樟细胞挥发油积累的研究[J]. 福建茶叶,2019,41(9):6-7.
- [35] 谭燕,贾茹,陶金华,等. 内生真菌诱导子调控药用植物活性成分的生物合成[J]. 中草药,2013,44(14):2004-2008.
- [36] 段乐鹏,谢丽琼,马艺沔,等. 转录因子对药用植物次生代谢的调控作用[J]. 中药材,2021,44(4):1002-1007.
- [37] 张莲莲,谈锋. 真菌诱导子在药用植物细胞培养中的作用机制和应用进展[J]. 中草药,2006,37(9):1426-1430.
- [38] LI J, BRADER G, KARIOLA T, et al. WRKY70 modulates the selection of signaling pathways in plant defense[J]. Plant J, 2006, 46(3): 477-491.
- [39] 孙牧笛,张庆宸,胡丽杰,等. 苦豆子内生真菌诱导子促进宿主生物碱合成关键酶基因表达的荧光定量PCR检测[J]. 中草药,2018,49(19):4621-4627.

(收稿日期: 2022-02-12 编辑: 戴玮)