

• 综 述 •

药用植物内生放线菌多样性及天然活性物质研究进展

郑有坤, 刘 凯, 熊子君, 李文均, 徐丽华, 赵立兴*

云南大学 云南省微生物研究所 西南微生物多样性教育部重点实验室, 云南 昆明 650091

摘 要: 药用植物是人类生存和发展的重要资源。内生放线菌广泛存在于药用植物组织中, 具有丰富的物种多样性, 是植物微生态系统的重要组成部分。一些内生放线菌可产生和宿主植物相同或相似天然活性物质。因此, 利用内生放线菌生产抗菌、抗肿瘤等天然活性物质, 不仅为新药的研发提供了新的途径, 还能有效保护珍稀、濒危药用植物资源, 具有重要的生态学意义和经济价值。总结了近年来药用植物内生放线菌的多样性、天然活性物质生物合成相关基因和天然活性物质多样性等方面的研究进展, 以为药用植物内生放线菌的研究提供参考。

关键词: 药用植物; 内生放线菌; 生物合成; 基因筛选; 天然活性物质

中图分类号: R282.1; R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)14-2089-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.14.025

Research progress on biodiversity of endophytic actinobacteria in medicinal plants and their bioactive substances

ZHENG You-kun, LIU Kai, XIONG Zi-jun, LI Wen-jun, XU Li-hua, ZHAO Li-xing

Key Laboratory of Microbial Diversity in Southwest China, Ministry of Education, Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China

Abstract: Medicinal plants are important bio-resources for human existence and development. Endophytic actinobacteria with rich biodiversity, widely existing inside the tissues of medicinal plants, are important components of plant micro-ecosystems, and some can produce same or similar bioactive substances generated by their host plants. Therefore, utilizing endophytic actinobacteria to produce bioactive substances with antimicrobial and antitumor effects can not only provide a new way for the development of new drugs, but also effectively protect the endangered medicinal plant resources. Furthermore, this process has important ecological significance and economic value. In this review, research advances on the diversity of endophytic actinobacteria, genes related to natural product biosynthesis, and diversity of their natural bioactive substances are summarized, and a reference for the research of endophytic actinobacteria from the medicinal plants is provided.

Key words: medicinal plant; endophytic actinobacteria; biosynthesis; genetic screening; natural bioactive substances

在过去的几十年中, 天然产物在新药研发中发挥着重要的作用^[1]。而在天然产物的来源中, 除植物外, 微生物是主要来源, 以放线菌贡献最大。根据 Bérdy 的统计, 从微生物获得的 34 000 种天然活性物质中, 有 35% 以上来源于放线菌, 其中链霉菌为主要贡献者^[2]。从放线菌中获得的代谢产物可分为抗生素、抗癌物质、免疫抑制剂、植物生长激素和酶。经过几十年的筛选, 从土壤中筛选出能产生天然活性物质的放线菌日益困难, 因此, 人们逐渐把目光投向以前很少研究的领域如植物内部^[3-5], 以

寻找产生新活性物质的放线菌资源。

植物内生放线菌(endophytic actinobacteria)是指那些在其生活史的一定或全部阶段生活于健康植物组织内部, 而不使宿主植物表现出明显感染症状的放线菌^[6]。其广泛分布于植物的根、茎、叶、花、果实、种子中。按照“内共生理论”, 内生菌可能产生与其宿主相同或相似的代谢产物^[7]。因此, 从药用植物中分离放线菌资源, 并从中分离具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒的天然活性物质来代替药用植物, 这样不仅可以减少药用植物特别是一些濒危药用植

收稿日期: 2013-11-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(U0932601, 21062028); 云南大学校基金(2010ZD001)

作者简介: 郑有坤(1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为植物内生菌。E-mail: zyktmx@163.com

*通信作者 赵立兴 Tel: (0871)65034073 E-mail: zlx70@163.com

物资源的过度开发,保护药用植物资源,而且也为新药的研发提供了新的途径,具有重要的生态学意义和经济价值。本文就药用植物内生放线菌的多样性、次生代谢产物相关合成基因和代谢产物的研究进行综述,以期药用植物内生放线菌资源的开发研究提供参考。

1 药用植物内生放线菌的多样性

目前的研究表明,内生放线菌几乎存在于所有研究过的药用植物中,分布广、种类多。链霉菌属 *Streptomyces* Waksman et Henrici 仍为药用植物内生放线菌中最大的类群,小单孢菌属 *Micromonospora* Ørskov、小双孢菌属 *Microbispora* Nonomura et Ohara、诺卡氏菌属 *Nocardia* Trevisan、拟诺卡氏菌属 *Nocardiopsis* Brocq-Rousseau、链孢子囊菌属 *Streptosporangium* Couch、野野村氏菌属 *Nonomuraea* Zhang 等为药用植物常见内生放线菌

类群。Zhao 等^[5]从攀西地区采集的 26 种药用植物中分离得到内生放线菌 560 株,经鉴定所有菌株分别属于链霉菌属、厄氏菌属 *Oerskovia* Prauser、野野村菌属、小单孢菌属、原小单孢菌属 *Promicromonospora* Krasil'nikov 和红球菌属 *Rhodococcus* Zopf 6 个属,其中链霉菌属占到分离菌株的 85%。从泰国 36 种药用植物中分离得到 330 株内生放线菌,经鉴定分别属于链霉菌属、小双孢菌属、诺卡氏菌属和小单孢菌属 4 个属,其中链霉菌属占到 84%^[8]。Vijay 等^[9]从印楝 *Azadirachta indica* A. Juss 中分离得到 55 株内生放线菌,分布于链霉菌属、链孢子囊菌属、小双孢菌属、轮枝链霉菌属 *Streptoverticillium* Baldacci、糖单孢菌属 *Saccharomonospora* Nonomura et Ohara、诺卡氏菌属 6 个不同的属中。药用植物内生放线菌见表 1。

表 1 药用植物内生放线菌的多样性

Table 1 Diversity of endophytic actinobacteria in medicinal plants

宿主植物	科	内生放线菌(属)	文献
老鼠簕 <i>Acanthus ilicifolius</i>	爵床科 Acanthaceae	小单孢菌属、链霉菌属、疣孢菌属 <i>Verrucosipora</i> Rheims、 <i>Jishengella</i> Xie	10
灯台树 <i>Alstonia scholar</i>	夹竹桃科 Apocynaceae	链霉菌属、诺卡氏菌属、红球菌属、韩国生工菌属 <i>Kribbella</i> Park、小单孢菌属、微球菌属 <i>Micrococcus</i> Cohn、考克氏菌属 <i>Kocuria</i> Stackebrandt、假诺卡氏菌属 <i>Pseudonocardia</i> Henssen、珊瑚状放线菌属 <i>Actinocorallia</i> Linuma	11
沉香树 <i>Aquilaria crassna</i>	瑞香科 Thymelaeaceae	链霉菌属、野野村氏菌属、马杜拉放线菌属 <i>Actinomadura</i> Lechevalier et	12
黄花蒿 <i>Artemisia annua</i>	菊科 Asteraceae	Lechevalier、假诺卡氏菌属、诺卡氏菌属 链霉菌属、原小单孢菌属、假诺卡氏菌属、诺卡氏菌属、野野村氏菌属、红球菌属、韩国生工菌属、小单孢菌属、马杜拉放线菌属、链孢囊菌属 <i>Streptosporangium</i> Couch、拟无枝菌酸菌属 <i>Amycolatopsis</i> Lechevalier、指孢囊菌属 <i>Dactylosporangium</i> Thiemann、芽生球菌属 <i>Blastococcus</i> Ahrens et Moll、糖霉菌属 <i>Glycomyces</i> Labeda、考克氏菌属、微球菌属、戈登氏菌属 <i>Gordonia</i> Stackebrandt、游动四孢菌属 <i>Planotetraspora</i> Runmao、 <i>Phytomonospora</i> Li	13
印楝 <i>Azadirachta indica</i>	楝科 Meliaceae	链霉菌属、链孢囊菌属、小双孢菌属、轮枝链霉菌属、糖单孢菌属、诺卡氏菌属	9
喜树 <i>Camptotheca acuminata</i>	蓝果树科 Nyssaceae	链霉菌属、假诺卡氏菌属、产孢放线菌属 <i>Actinomycetospora</i> Jiang、糖单孢菌属、糖多孢菌属 <i>Saccharopolyspora</i> Lacey et Goodfellow、小单孢菌属、植物生孢放线菌属 <i>Plantactinospora</i> Qin、芽生球菌属、戈登氏菌属、冢村氏菌属 <i>Tsukamurella</i> Collins	14
滇南美登木 <i>Maytenus austroyunnanensis</i>	卫矛科 Celastraceae	链霉菌属、拟诺卡氏菌属、假诺卡氏菌属、小单孢菌属、糖多孢菌属、冢村氏菌属、微杆菌属 <i>Microbacterium</i> Orla-Jensen、原小单孢菌属、分枝杆菌属 <i>Mycobacterium</i> Lehmann et Neumann、姜氏菌属 <i>Jiangella</i> Song、诺卡氏菌属、野野村氏菌属、马杜拉放线菌属、链孢囊菌属、拟无枝菌酸菌属、纤维菌属 <i>Cellulosimicrobium</i> Schumann、糖霉菌属、戈登氏菌属	15
水茄 <i>Solanum torvum</i>	茄科 Solanaceae	链霉菌属、韩国生工菌属	16

续表 1

宿主植物	科	内生放线菌 (属)	文献
苦豆子 <i>Sophora alopecuroides</i>	豆科 Leguminosae	链霉菌属、诺卡氏菌属、放线菌属 <i>Actinomyces</i> Harz、小单孢菌属、游动放线菌属 <i>Actinoplanes</i> Couch、分枝杆菌属、类诺卡氏菌属 <i>Nocardioides</i> Prauser、孢囊放线菌属 <i>Actinosporangium</i> Krasilnikov et Yuan、罗氏菌属 <i>Rothia</i> Georg et Brown、钦氏菌属 <i>Chainia</i> Thirumalachar、链孢囊菌属	17
百部 <i>Stemona tuberosa</i>	百部科 Stemonaceae	链霉菌属、小单孢菌属、假诺卡氏菌属、甲基杆菌属 <i>Methylobacterium</i> Patt	6
13 种红树林药用植物	—	链霉菌属、小单孢菌属、糖丝菌属 <i>Saccharothrix</i> Labeda、诺卡氏菌属、拟诺卡氏菌属、伦茨氏菌属 <i>Lentzea</i> Yassin	18
12 种热带雨林药用植物	—	链霉菌属、假诺卡氏菌属、拟诺卡氏菌属、小单孢菌属、拟无枝菌酸菌属、诺卡氏菌属、野野村氏菌属、马杜拉放线菌属、戈登氏菌属、原小单孢菌属、分枝杆菌属、链孢囊菌属、指孢囊菌属、动孢囊菌属 <i>Kineosporia</i> Pagani et Parenti、动球菌属 <i>Kineococcus</i> Yokota、草状孢菌属 <i>Herbidospora</i> Kudo、姜氏菌属、伦茨氏菌属、糖霉菌属、珊瑚状放线菌属、糖多孢菌属、迪茨氏菌属 <i>Dietzia</i> Rainey、两面神菌属 <i>Janibacter</i> Martin、芽生球菌属、微球菌属、植物生孢放线菌属、豕村氏菌属、小链孢菌属 <i>Catellatospora</i> Asano et Kawamoto、微杆菌属、红球菌属、厄氏菌属、节杆菌属 <i>Arthrobacter</i> Conn et Dimmick	4
36 种泰国药用植物	—	链霉菌属、小双孢菌属、诺卡氏菌属、小单孢菌属	8
26 种攀西药用植物	—	链霉菌属、厄氏菌属、野野村氏菌属、小单孢菌属、原小单孢菌属、红球菌属	5
7 种四川西部药用植物	—	链霉菌属、野野村氏菌属、小单孢菌属、拟诺卡氏菌属、糖霉菌属、厄氏菌属、纤维菌属	19
80 种热带雨林药用植物	—	链霉菌属、小单孢菌属、假诺卡氏菌属、拟诺卡氏菌属、野野村氏菌属、马杜拉放线菌属	20
143 种热带雨林药用植物	—	链霉菌属、拟诺卡氏菌属、疣孢菌属、姜氏菌属、珊瑚状放线菌属、假诺卡氏菌属、小单孢菌属、糖霉菌属、戈登氏菌属	21
3 种药用植物	—	链霉菌属、拟无枝菌酸菌属	22

药用植物内生放线菌不仅具有丰富的物种多样性,而且还包含着大量的新分类单元,包括植物生孢放线菌属、*Phytohabitans* Inahashi、姜氏菌属、*Allonocardiopsis* Du 和 *Phytomonospora* Li 等新属。陈华红^[23]从采自西双版纳热带雨林的 90 种药用植物中分离得到 2 742 株内生放线菌,16S rRNA 基因序列分析结果表明,所有菌株分布在 13 个科的 24 个属,其中有 14 个潜在的新物种。后来, Qin 等^[4]从西双版纳热带雨林采集的 12 种药用植物中分离得到内生放线菌 2 174 株,16S rRNA 序列分析表明,所有菌株在属的水平上被分为 32 个不同类群,其中糖多孢菌属、迪茨菌属、芽球菌属、指孢囊菌属、原小单孢菌属、厄氏菌属、珊瑚放线菌属和姜氏菌属 8 个类群首次在植物内生环境中被描述,而且至少有 19 个菌株是潜在的新分类单元。显示了热带雨林地区植物内生放线菌极其丰富的多样性。李洁^[24]

在研究药用植物黄花蒿内生放线菌时,发现一种小单孢菌科的一个新属,另外还分别获得假诺氏菌属、链霉菌属和野野村氏菌属的一个新种。杜慧竞等^[25]从 37 种药用植物中分离得到内生放线菌 600 余株,分属于 34 个属,其中有很多比较罕见的稀有放线菌类群,共发现潜在的新分类单元 7 个。表 2 列举了近 5 年来发表的药用植物内生放线菌新分类单元。可以说,自然界的药用植物中有大量的内生放线菌资源有待进一步的研究发现。

2 内生放线菌次生代谢产物相关合成基因的多样性

放线菌是天然活性物质,尤其是天然药物的重要来源^[2]。由于微生物多样性十分丰富,代谢产物多种多样,如何筛选获得新的活性代谢产物,已成为微生物天然药物研究中亟需解决的重要问题之一。为了解决这个问题,研究者对代表性放线菌进行基因组序列分析,发现了放线菌的次生代谢产物

表2 药用植物内生放线菌新分类单元
Table 2 Novel endophytic actinobacteria isolated from medicinal plants

GenBank 登录号	内生放线菌	宿主植物	近缘种 (16S rRNA 基因 序列相似度 / %)	文献
DQ460470	桉木链霉菌 <i>Streptomyces alni</i>	尼泊尔桉木 <i>Alnus nepalensis</i>	河北链霉菌 <i>Streptomyces hebeiensis</i> (97.6)	26
DQ887489	内生假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia endophytica</i>	密毛山梗菜 <i>Lobelia clavata</i>	<i>Pseudonocardia kongjuensis</i> (98.5)	27
EU005372	内生微球菌 <i>Micrococcus endophyticus</i>	土沉香 <i>Aquilaria sinensis</i>	藤黄微球菌 <i>Micrococcus luteus</i> (99.06)	28
EU200682	甘草糖霉菌 <i>Glycomyces scopariae</i>	野甘草 <i>Scoparia dulcis</i>	<i>Glycomyces algeriensis</i> (97.4)	29
EU200683	美登木链霉菌 <i>Streptomyces mayteni</i>	滇南美登木	<i>Streptomyces phaeopurpureus</i> (99.5)	30
EU814511	美登木糖霉菌 <i>Glycomyces mayteni</i>	滇南美登木	<i>Glycomyces algeriensis</i> (97.1)	29
EU921261	相思假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia acaciae</i>	大叶相思 <i>Acacia auriculiformis</i>	<i>Pseudonocardia spinosipora</i> (96.2)	31
EU925562	景天链霉菌 <i>Streptomyces sedi</i>	<i>Sedum</i> sp.	<i>Streptomyces specialis</i> (97.5)	32
FJ157184	<i>Nonomuraea antimicrobica</i>	滇南美登木	<i>Nonomuraea candida</i> (98.2)	33
FJ157185	<i>Actinomadura flavalba</i>	滇南美登木	<i>Actinomadura atramentaria</i> (97.4)	34
FJ157186	<i>Jiangella alba</i>	滇南美登木	<i>Jiangell alkaliphila</i> (98.8)	35
FJ214343	<i>Plantactinospora mayteni</i>	滇南美登木	<i>Micromonospora. endolithica</i> (98.1)	36
FJ214355	云南微球菌 <i>Micrococcus yunnanensis</i>	大头茶 <i>Polyspora axillaris</i>	<i>Micrococcus luteus</i> (99.7)	37
FJ214356	<i>Herbidospora osyridis</i>	沙针 <i>Osyris wightiana</i>	<i>Herbidospora cretacea</i> (99.9)	38
FJ214362	<i>Kineosporia mesophila</i>	雷公藤 <i>Tripterygium wilfordii</i>	<i>Kineosporia mikuniensis</i> (98.2)	39
FJ214364	雷公藤糖多孢菌 <i>Saccharopolyspora tripterygii</i>	昆明山海棠 <i>Tripterygium hypoglaucom</i>	内生糖多孢菌 <i>Saccharopolyspora endophytica</i> (98.6)	40
AB490769	<i>Phytohabitans suffusus</i>	兰花	<i>Micromonospora pattaloongensis</i> (97.7)	41
EU005371	嘉兰糖多孢菌 <i>Saccharopolyspora gloriosae</i>	嘉兰 <i>Gloriosa superba</i>	<i>Saccharopolyspora gregorii</i> (99.1)	42
EU200685	艾属链霉菌 <i>Streptomyces artemisiae</i>	黄花蒿	<i>Streptomyces armeniacus</i> (99.9)	43
EU429322	相思放线异壁酸菌 <i>Actinoallomurus acaciae</i>	大叶相思	<i>Actinoallomurus caesius</i> (99.3)	44
GQ906587	雨林假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia tropica</i>	滇南美登木	桉木假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia alni</i> (99.5)	45
EU560726	<i>Jishengella endophytica</i>	老鼠簕	<i>Micromonospora olivasterospora</i> (98.7)	46
FJ817375	版纳假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia bannaensis</i>	黄花蒿	艾属假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia artemisiae</i> (99.4)	47
FJ817377	昆明假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia kunmingensis</i>	黄花蒿	四川假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia sichuanensis</i> (99.9)	48
FJ817379	<i>Pseudonocardia serianimatus</i>	黄花蒿	<i>Pseudonocardia petroleophila</i> (98.8)	49
GU227146	艾属假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia artemisiae</i>	黄花蒿	<i>Pseudonocardia saturnea</i> (96.6)	50
GU367156	<i>Phytomonospora endophytica</i>	黄花蒿	<i>Micromonospora schwarzwaldensis</i> (93.6)	51

续表 2

GenBank 登录号	内生放线菌	宿主植物	近缘种 (16S rRNA 基因 序列相似度 / %)	文献
GU367157	艾属诺卡氏菌 <i>Nocardia artemisiae</i>	黄花蒿	丽江诺卡氏菌 <i>Nocardia lijiangensis</i> (98.2)	52
GU367158	内生野野村氏菌 <i>Nonomuraea endophytica</i>	黄花蒿	<i>Nonomuraea candida</i> (98.8)	53
HM153789	四川假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia sichuanensis</i>	麻疯树 <i>Jatropha curcas</i>	<i>Pseudonocardia adelaidensis</i> (98.9)	54
HM153799	内生拟无枝菌酸菌 <i>Amycolatopsis endophytica</i>	麻疯树	<i>Amycolatopsis eurytherma</i> (98.9)	55
HM153801	内生诺卡氏菌 <i>Nocardia endophytica</i>	麻疯树	<i>Nocardia callitridis</i> (98.4)	56
AB668306	<i>Actinoallomurus</i>	麦冬 <i>Ophiopogon japonicus</i>	<i>Actinoallomurus luridus</i> (99.1)	57
AB668307	<i>Actinoallomurus vinaceus</i>	麦冬	<i>Actinoallomurus spadix</i> (98.0)	57
FJ214352	<i>Promicromonospora xylanilytica</i>	滇南美登木	气传原小单孢菌 <i>Promicromonospora aerolata</i> (99.4)	58
FJ817380	<i>Pseudonocardia antimicrobica</i>	黄花蒿	<i>Pseudonocardia parietis</i> (99.1)	59
GQ494033	内生植物生孢放线菌 <i>Plantactinospora endophytica</i>	喜树	美登木植物生孢放线菌 <i>Plantactinospora mayteni</i> (99.1)	60
GU367155	艾属红球菌 <i>Rhodococcus artemisiae</i>	黄花蒿	<i>Rhodococcus pyridinivorans</i> (98.4)	61
HM153774	攀枝花类诺卡氏菌 <i>Nocardioides panzhihuaensis</i>	麻疯树	白色类诺卡氏菌 <i>Nocardioides albus</i> (99.38)	62
HM153787	<i>Kibdelosporangium phytohabitans</i>	麻疯树	<i>Kibdelosporangium aridum</i> subsp. <i>aridum</i> (98.8)	63
JQ345722	<i>Streptomyces phytohabitans</i>	莪术 <i>Curcuma phaeocaulis</i>	<i>Streptomyces armeniacus</i> (97.9)	64
JQ619535	海桑小单孢菌 <i>Micromonospora sonneratae</i>	无瓣海桑 <i>Sonneratia apetala</i>	<i>Micromonospora pattaloongensis</i> (98.3)	65
JQ819252	南通假诺卡氏菌 <i>Pseudonocardia nantongensis</i>	怪柳 <i>Tamarix chinensis</i>	<i>Pseudonocardia kongjuensis</i> (98.33)	66
JQ819257	<i>Kineococcus endophytica</i>	补血草 <i>Limonium sinense</i>	<i>Kineococcus rhizosphaerae</i> (98.72)	67
GU367154	内生链霉菌 <i>Streptomyces endophyticus</i>	黄花蒿	昆明链霉菌 <i>Streptomyces kunmingensis</i> (98.55)	68
HM449824	<i>Streptomyces kebangsaanensis</i>	马齿苋 <i>Portulaca oleracea</i>	黄麻链霉菌 <i>Streptomyces corchorusii</i> (98.2)	69
JQ309825	<i>Allonocardiopsis opalescens</i>	金银忍冬 <i>Lonicera maackii</i>	<i>Nocardiopsis arabia</i> (93.2)	70
JQ819253	江苏拟无枝菌酸菌 <i>Amycolatopsis jiangsuensis</i>	野菊 <i>Dendranthema indicum</i>	<i>Amycolatopsis sulphurea</i> (97.96)	71
JQ819258	<i>Modestobacter roseus</i>	盐角草 <i>Salicornia europaea</i>	<i>Modestobacter marinus</i> (99.5)	72
JQ819259	<i>Streptomyces halophytocola</i>	怪柳	<i>Streptomyces sulphureus</i> (99.43)	73
JQ819260	菊花糖多孢菌 <i>Saccharopolyspora dendranthemae</i>	野菊	<i>Saccharopolyspora pathumthaniensis</i> (99.31)	74
KC806052	内生罗氏菌 <i>Rothia endophytica</i>	水虎尾 <i>Dysophylla stellate</i>	<i>Rothia nasimurium</i> (98.5)	75

合成基因的多样性,于是建立起了基于序列相似性指导的基因筛选技术,成为研究天然产物生物合成的新途径。基因筛选(sequence-guided genetic screening)是指将特定基因作为筛选标记,在基因水平上评估微生物产生某种代谢物的可能性及其产生生物活性物质的潜力。在放线菌次生代谢产物基因筛选的研究中,聚酮合酶(polyketide synthase, PKS)基因、非核糖体多肽合成酶(non-ribosomal peptide synthase, NRPS)基因这2种功能基因被作为主要的筛选标记^[4-6]。其中PKS主要又包括PKS I和PKS II 2种类型。另外,卤化酶基因^[6]、安莎类抗生素3,5-AHBA合成酶基因(*rifK*)^[16]、糖肽类抗生素合成关键酶P450单加氧酶基因(*oxyB*)^[16]等也用于天然代谢产物的基因标记中。

目前,次生代谢产物合成基因筛选作为一种发现新药先导化合物的方法已被广泛应用,对药用植物内生放线菌功能基因的研究也已有相关报道。Zhao等^[5]对攀西地区药用植物内生放线菌功能基因的研究发现,在60株实验菌株中有56株菌至少有1个基因被检出,PKS I、PKS II、NRPS基因的检出率分别为53%、82%、53%,但功能基因的检出与抑菌活性之间的相关性并非一一对应。冯治翔等^[16]对14株来自连翘和水茄的内生放线菌进行5类生物合成关键酶基因筛选分析,结果显示PKS I、PKS II、NRPS、*rifK*、*oxyB*的检出率分别为43%、93%、86%、29%、7%。朱文勇等^[14]对喜树内生放线菌功能基因的筛选结果显示,PKS I、PKS II、NRPS基因的检出率分别为31%、49%、46%。Li等^[76]对41株药用植物内生链霉菌的PKS和NRPS基因进行扩增,结果发现PKS I、PKS II、NRPS基因的检出率分别为34%、63%、61%。Qin等^[4]对西双版纳药用植物内生稀有放线菌PKS/NRPS基因进行筛选结果发现,PKS I、PKS II、NRPS基因的检出率分别仅为11%、15%、26%,远远低于内生链霉菌的比例。对分离自百部的18株内生链霉菌的次生代谢潜力进行评估,结果显示PKS I、PKS II、NRPS基因的阳性检出率分别为67%、28%、61%,44%的菌株具有卤化酶基因,对同时具有PKS/NRPS和卤化酶基因的代表菌株进行发酵产物分析,结果显示与基因筛选具有较好的一致性^[6]。李芳等^[77]基于化学遗传学从滑桃 *Trewia nudiflora* L. 中筛选出一株具有合成萆哌类化合物关键基因的内生链霉菌(*Streptomyces* sp. HTZ27),

经固体发酵、化合物分离纯化、鉴定后,发现该菌发酵产物中有呋喃萆哌 I,得率接近5 mg/L。

基因筛选因其简单可行,已被广泛应用于内生放线菌的研究中。但值得注意的是,天然产物合成相关基因与菌株的抗菌活性之间并不一定存在必然联系,有的菌株虽然能检测出功能基因,但并不表现出任何抗菌活性;而有的菌株虽未扩增出任何功能基因,但却表现出抑菌活性^[5]。因此,将天然活性物质的基因筛选与抗菌活性实验相结合,这样筛选得到的菌株产生活性化合物的可能性更大,同时也可以很好地避免活性菌株的漏筛。

3 天然活性物质的多样性

研究表明,从植物内生菌分离的51%生物活性物质是以前没有发现的,而从土壤微生物分离的新物质仅为38%^[78],显示了植物内生菌巨大的开发潜力。与植物内生真菌研究相比,植物内生放线菌因其生长缓慢、分离困难而研究相对较少^[79]。但近年来发展迅速,发现了抗生素以及具有抗肿瘤作用等一批具有应用潜力的新活性物质^[1],有望应用于医药和农业生产中。

3.1 肽类

Castillo等^[80]从澳大利亚的一种药用植物蛇藤 *Kennedia nigricans* 中分离到一株链霉菌(*Streptomyces* sp. NRRL30562),它能产生一类含有Thr、Asp(或Asn、Gln)等氨基酸的多肽化合物munumbicin A~D。该化合物为一类具有广谱抗菌活性的抗生素,对革兰阳性细菌如炭疽芽孢杆菌 *Bacillus anthracis* Cohn 和许多耐药性细菌如结核分枝杆菌 *Mycobacterium tuberculosis* Lehmann et Neumann 等都具有强烈的抑菌活性。Munumbicin D对疟原虫 *Plasmodium falciparum* 也具有较强的杀灭作用。后来,又从该放线菌中分离到2个多肽类抗生素munumbicin E-4和E-5,也同munumbicin A~D一样具有广谱抗菌活性,对疟原虫有强杀伤活性,IC₅₀分别为0.42~0.58 μg/mL和0.85~0.87 μg/mL^[81]。从分离自银桦 *Grevillea pteridifolia* 的内生放线菌(*Streptomyces* sp. NRRL 30566)中得到的kakadumycin也是一种多肽类抗生素,对革兰阳性细菌具有很强的抗菌活性,同时其对RNA合成酶也表现出抑制活性^[82]。Coronamycins是Ezra等^[83]从内生放线菌(*Streptomyces* sp. MSU-2110)中分离到的一种新的多肽类化合物,该化合物对疟原虫有很强的抑制作用,IC₅₀达到9.0 ng/mL。

3.2 大环内酯类

Zhao 等^[84]从美登木 *Maytenus hookeri* Loes. 内生放线菌 (*Streptomyces* sp. Is9131) 中分离到 dimeric nonactin 和 dimeric dinactin, 属于大环内酯类化合物, 有比较强的抗菌和抗肿瘤活性。另一株美登木内生菌 (*Streptomyces* sp. CS) 能产生具有抗真菌和抗肿瘤活性的十六元大环内酯 24-demethyl-bafilomycin C1 及其衍生物 24-demethyl-bafilomycin A2^[85-86], 24-demethyl-bafilomycin A2 对肿瘤细胞株 A-549 和 P388 的 IC₅₀ 分别达到 0.01 和 1.13 μmol/L。Li 等^[87]又从该内生放线菌中分离得到 5 种大环内酯类新化合物, 细胞毒性测试结果显示 5 种化合物对离体 MDA-MB-435 细胞具有抑制作用, IC₅₀ 分别为 4.2、4.5、5.5、3.8 和 11.4 μmol/L。从滑桃内生放线菌 (*Streptomyces* sp. A2) 中分离得到 1 种大环内酯化合物 macrotetrolide, 对革兰阳性细菌有较好的活性, 对革兰阴性细菌和真菌几乎没有活性^[88]。

3.3 有机酸类

Kim 等^[89]从蓖麻 *Ricinus communis* L. 内生放线菌 (*Streptomyces laceyi* MS53) 中分离得到 2 种新的 6-alkylsalicylic acid, 分别为 salaceyin A、B, 细胞毒性检测显示它们对人类乳腺癌细胞 SKBR3 具有较强抑制作用, IC₅₀ 分别达到 3.0 和 5.5 μg/mL。由植物内生菌 (*Streptomyces hygroscopicus* S-17) 产生的 pteridic acid A、B, 有类似植物激素的作用, 在 1 nmol/L 浓度时能够促进植物根系的形成^[90]。

3.4 生物碱类

生物碱类化合物广泛存在于植物体中, 其中很多具有抗肿瘤活性, 并且已经应用于临床。如美登木素生物碱 (maytansinoid), 主要来源于卫矛科美登木属植物, 具有很强的抗肿瘤活性。从内生放线菌 *Actinosynnema pretiosum* Hasegawa 中分离到 maytansinoid, 但与植物来源的美登木素化合物不同, 在大环上的 C-3 位侧链酯基结构相对较简单^[88]。另外, 从内生菌株 (*Streptomyces* sp. TP-A0595) 中分离到 1 个简单的生物碱类化合物 6-prenylindole, 该化合物对植物病原菌 *Fusarium oxysporum* Schl. 具有显著的抗真菌活性^[91]。

3.5 萜类

紫杉醇 (taxol) 是一种二萜衍生物, 可以抑制微管解聚和稳定微管, 进而影响有丝分裂, 对多种癌症如卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、膀胱癌、肺癌以及风湿性关节炎等具有良好的治疗效果。

1993 年, Stierle 等^[92]首次从短叶紫杉 *Taxus brevifolia* Nutt. 中分离出一株能产紫杉醇和其他紫杉烷类物质的内生真菌安德紫杉菌 *Taxomyces andreanae*。这一发现为利用微生物发酵生产紫杉醇, 以解决紫杉醇药源危机提供了一条新途径, 并且掀起了从药用植物中分离内生菌的热潮。随后, Caruso 等^[93]从欧洲红豆杉 *Taxus baccata* L. 中分离得到一些能够产生紫杉烷类物质内生放线菌菌株, 它们分别属于北里孢菌属 *Kitasatospora* Ōmura、小单孢菌属和链霉菌属, 其中一株北里孢菌具有 paclitaxel 的全部合成途径。这是首次有关从内生放线菌中分离到紫杉醇类似物的报道。之后仅有少数关于红豆杉内生放线菌的报道^[22]。

3.6 醌类

Bieber 等^[94]从欧洲桤木 *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. 中分离到一株链霉菌, 从其代谢产物中发现一种新的萘醌类抗生素 alnumycin, 它对革兰阳性病原菌具有抑制作用。李芳等^[77]从滑桃内生链霉菌 (*Streptomyces* sp. HTZ27) 中分离得到呋喃萘醌 I, 得率接近 5 mg/L。Igarashi 等^[95]从一株内生放线菌新种 *Micromonospora lupini* 发酵产物中分离得到 2 个新的蒽醌类化合物 lupinacidin A、B, 该化合物显示了很好的抗肿瘤活性, 对小鼠结肠癌细胞 26-L5 生长具有很好的抑制效果。

3.7 香豆素类

香豆素属于苯丙素类化合物, 广泛存在于植物体内, 具有调节植物生长、抗癌、抗菌、抗凝血等生理活性, 目前从自然界中已经发现了 900 余种香豆素类化合物。Igarashi^[91]从青木 *Aucuba japonica* Thunb. 内生放线菌 (*Streptomyces* sp. TP-A0556) 中分离得到 1 种香豆素类物质 demethylnovobiocin, 抗菌活性研究表明, 该物质抗菌活性较新生霉素相对较弱。

3.8 其他类

Pullen 等^[96]从卫矛科植物中分离到 1 株桑氏链霉菌 *Streptomyces sampsonii* Waksman 能产生 1 种新的抗生素 chloropyrrol, 对多种耐药性细菌和分枝杆菌有很强的抑制作用。鲁春华等^[97]发现 1 株云南美登木内生菌 (*Streptomyces* sp. CS) 可产生具有抗肿瘤、抗白血病和抗菌活性的新多羟基环己烷衍生物。从植物内生菌中分离到的 cedarmycin A 和 B, 属于丁内酯类化合物, 对革兰阳性细菌、革兰阴性细菌和酵母都有一定的活性, 对 *Candida glabrata* IFO

0622 的 MIC 为 0.4 $\mu\text{g/mL}$, 与阳性对照两性霉素 B 的活性相当^[91]。

4 展望

药用植物内生放线菌的研究极大地扩大了微生物资源的范围, 其丰富的代谢物质为微生物制药提供了新的途径。但也必须看到, 药用植物内生放线菌代谢产物离规模化的工业生产还有相当大的距离。最关键的问题就是要找到具有生物活性物质高产菌株。在此基础上进一步探索发酵条件, 优化生产工艺, 为活性物质产生菌的工业化发酵奠定基础。

相比内生真菌, 药用植物内生放线菌生长缓慢, 菌株的分离纯化更困难, 容易受到其他微生物污染。另外, 对内生放线菌的生理学研究欠缺, 培养条件也不清楚, 这些都加大了其研究的难度。因此, 研究植物内生放线菌生理学特性, 进一步探索内生放线菌的分离培养方法, 分离到更多的微生物菌种资源, 并在此基础上研究其代谢活性物质, 将成为未来研究的重点。

大量的研究表明, 药用植物内生放线菌作为重要的微生物资源, 其代谢活性物质具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒等活性, 在工业生产特别是生物制药中表现出潜在的应用前景, 对药用植物内生放线菌及其代谢产物的研究已经成为当前的一个热点领域。

参考文献

- [1] Qin S, Xing K, Jiang J H, *et al.* Biodiversity, bioactive natural products and biotechnological potential of plant-associated endophytic actinobacteria [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 89(3): 457-473.
- [2] Bérdy J. Thoughts and facts antibiotics: Where we are now and where we are heading [J]. *J Antibiotics*, 2012, 65: 385-395.
- [3] Igarashi Y. Screening of novel bioactive compounds from plant-associated actinomycetes [J]. *Actinomycetologica*, 2004, 18(2): 63-66.
- [4] Qin S, Li J, Chen H H, *et al.* Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China [J]. *Appl Envir Microbiol*, 2009, 75(19): 6176-6186.
- [5] Zhao K, Penttinen P, Guan T W, *et al.* The diversity and anti-microbial activity of endophytic actinomycetes isolated from medicinal plants in Panxi plateau, China [J]. *Curr Microbiol* 2011, 62(1): 182-190.
- [6] 罗红丽, 林显钊, 张利敏, 等. 百部内生放线菌的分离、分类及次级代谢潜力 [J]. *微生物学报*, 2012, 52(3): 389-395.

- [7] 郭良栋. 内生真菌研究进展 [J]. *菌物系统*, 2001, 20(1): 148-152.
- [8] Taechowisan T, Peberdy J F, Lumyong S. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2003, 19(4): 381-385.
- [9] Vijay C V, Surendra K G, Anuj K, *et al.* Endophytic actinomycetes from *Azadirachta indica* A. Juss.: isolation, diversity, and anti-microbial activity [J]. *Microbial Ecol*, 2009, 57(4): 749-756.
- [10] 唐依莉, 王 蓉, 洪 葵. 不同红树林地区老鼠簕内生放线菌的分离及其环境适应性 [J]. *微生物学通报*, 2012, 39(1): 25-32.
- [11] 黄海玉, 李 洁, 赵国振, 等. 灯台树内生放线菌多样性及抗菌活性评价 [J]. *微生物学通报*, 2011, 38(5): 780-785.
- [12] Nimnoi P, Pongsilp N, Lumyong S. Endophytic actinomycetes isolated from *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec and screening of plant growth promoters production [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2010, 26(2): 193-203.
- [13] Li J, Zhao G Z, Huang H Y, *et al.* Isolation and characterization of culturable endophytic actinobacteria associated with *Artemisia annua* L. [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2012, 101(3): 515-527.
- [14] 朱文勇, 李 洁, 赵国振, 等. 喜树内生放线菌多样性及抗菌活性评价 [J]. *微生物学通报*, 2010, 37(2): 211-216.
- [15] 秦 盛. 滇南美登木内生放线菌多样性及生物活性初步研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2009.
- [16] 冯治翔, 栗 敏, 刘 洋, 等. 连翘和水茄内生放线菌的多样性、活性及生物合成基因的 PCR 筛选 [J]. *微生物学通报*, 2011, 38(4): 539-546.
- [17] 顾沛雯, 郝 丽, 徐 润, 等. 宁夏灵武白芨滩国家级自然保护区苦豆子内生放线菌区系分析 [J]. *宁夏大学学报: 自然科学版*, 2011, 32(4): 380-385.
- [18] 魏玉珍, 张玉琴, 赵莉莉, 等. 广西山口红树林内生放线菌的分离、筛选及初步鉴定 [J]. *微生物学通报*, 2010, 37(6): 823-828.
- [19] 赵 珂, 徐 宽, 陈 强, 等. 几种野生药用植物内生放线菌的遗传多样性及抗菌活性 [J]. *四川农业大学学报*, 2011, 29(2): 225-229.
- [20] 秦 盛, 赵立兴, 陈 云, 等. 药用植物内生放线菌的分离、筛选及活性菌株 YIM 61470 鉴定 [J]. *微生物学通报*, 2009, 36(11): 1693-1699.
- [21] 古 强. 西双版纳药用植物内生放线菌的多样性及分类研究 [D]. 北京: 中国科学院微生物研究所, 2006.
- [22] Wu Y Y, Lu C H, Qian X M, *et al.* Diversities within genotypes, bioactivity and biosynthetic genes of endophytic actinomycetes isolated from three pharmaceutical plants [J]. *Curr Microbiol*, 2009, 59(4): 475-482.
- [23] 陈华红. 傣药植物内生放线菌的多样性及系统分类学

- 研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2007.
- [24] 李 洁. 黄花蒿内生放线菌资源及其对黄花蒿生长和青蒿素生物合成的影响 [D]. 昆明: 云南大学, 2010.
- [25] 杜慧竟, 苏 静, 余利岩, 等. 药用植物内生放线菌的分离和生物学特性 [J]. 微生物学报, 2013, 53(1): 15-23.
- [26] Liu N, Wang H B, Liu M, et al. *Streptomyces alni* sp. nov., a daidzein-producing endophyte isolated from a root of *Alnus nepalensis* D. Don [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(2): 254-258.
- [27] Chen H H, Qin S, Li J, et al. *Pseudonocardia endophytica* sp. nov., isolated from a pharmaceutical plant *Lobelia clavata* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(3): 559-563.
- [28] Chen H H, Zhao G Z, Park D J, et al. *Micrococcus endophyticus* sp. nov., isolated from surface-sterilized *Aquilaria sinensis* roots [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(5): 1070-1075.
- [29] Qin S, Chen H H, Klenk H P, et al. *Glycomyces scopariae* sp. nov. and *Glycomyces mayteni* sp. nov., isolated from two medicinal plants in China [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(5): 1023-1027.
- [30] Chen H H, Qin S, Lee J C, et al. *Streptomyces mayteni* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from Chinese medicinal plant [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2009, 95(1): 47-53.
- [31] Duangmal K, Thamchaipenet A, Matsumoto A, et al. *Pseudonocardia acaciae* sp. nov., isolated from roots of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(6): 1487-1491.
- [32] Li J, Zhao G Z, Qin S, et al. *Streptomyces sedi* sp. nov., isolated from surface-sterilized roots of *Sedum* sp. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(6): 1492-1496.
- [33] Qin S, Zhao G Z, Klenk H P, et al. *Nonomuraea antimicrobica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from leaves of *Maytenus austroyunnanensis* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(11): 2747-2751.
- [34] Qin S, Zhao G Z, Li J, et al. *Actinomadura flavalba* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from leaves of *Maytenus austroyunnanensis* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(10): 2453-2457.
- [35] Qin S, Zhao G Z, Li J, et al. *Jiangella alba* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the stem of *Maytenus austroyunnanensis* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(9): 2162-2165.
- [36] Qin S, Li J, Zhang Y Q, et al. *Plantactinospora mayteni* gen. nov., sp. nov., a member of the family Micromonosporaceae [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(10): 2527-2533.
- [37] Zhao G Z, Li J, Qin S, et al. *Micrococcus yunnanensis* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from surface-sterilized *Polyspora axillaris* roots [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(10): 2383-2387.
- [38] Li J, Zhao G Z, Qin S, et al. *Herbidospora osyridis* sp. nov., isolated from tissue of *Osyris wightiana* Wall ex Wight [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(12): 3123-3127.
- [39] Li J, Zhao G Z, Huang H Y, et al. *Kineosporia mesophila* sp. nov., isolated from the surface-sterilized stems of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(12): 3150-3154.
- [40] Li J, Zhao G Z, Qin S, et al. *Saccharopolyspora tripterygii* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the stem of *Tripterygium hypoglaucum* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(12): 3040-3044.
- [41] Inahashi Y, Matsumoto A, Danbara H, et al. *Phytohabitans suffuscus* gen. nov. sp. nov., an actinomycete of the family Micromonosporaceae isolated from plant roots [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2010, 60(11): 2652-2658.
- [42] Qin S, Chen H H, Klenk H P, et al. *Saccharopolyspora gloriosae* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the stem of *Gloriosa superba* L [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2010, 60(5): 1147-1151.
- [43] Zhao G Z, Li J, Qin S, et al. *Streptomyces artemisiae* sp. nov., isolated from surface-sterilized tissue of *Artemisia annua* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2010, 60(1): 27-32.
- [44] Thamchaipenet A, Indananda C, Bunyoo C, et al. *Actinoallomurus acaciae* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2010, 60(3): 554-559.
- [45] Qin S, Zhu W Y, Jiang J H, et al. *Pseudonocardia tropica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the stem of *Maytenus austroyunnanensis* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2010, 60(11): 2524-2528.
- [46] Xie Q Y, Wang C, Wang R, et al. *Jishengella endophytica* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Micromonosporaceae [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011, 61(5): 1153-1159.
- [47] Zhao G Z, Li J, Zhu W Y, et al. *Pseudonocardia bannaensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the surface-sterilized roots of *Artemisia annua* L. [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2011, 100(1): 35-42.
- [48] Zhao G Z, Li J, Huang H Y, et al. *Pseudonocardia kunmingensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from surface-sterilized roots of *Artemisia annua* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011, 61(9): 2292-2297.
- [49] Zhao G Z, Zhu W Y, Li J, et al. *Pseudonocardia serianimatus* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the surface-sterilized leaves of *Artemisia annua* L. [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2011, 100(4): 521-528.
- [50] Zhao G Z, Li J, Huang H Y, et al. *Pseudonocardia*

- artemisiae* sp. nov., isolated from surface-sterilized *Artemisia annua* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011, 61(5): 1061-1065.
- [51] Li J, Zhao G Z, Zhu W Y, et al. *Phytomonospora endophytica* gen. nov., sp. nov., isolated from the roots of *Artemisia annua* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011, 61(12): 2967-2973.
- [52] Zhao G Z, Li J, Zhu W Y, et al. *Nocardia artemisiae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from a surface-sterilized stem of *Artemisia annua* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011, 61(12): 2933-2937.
- [53] Li J, Zhao G Z, Huang H Y, et al. *Nonomuraea endophytica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from *Artemisia annua* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011, 61(4): 757-761.
- [54] Qin S, Xing K, Fei S M, et al. *Pseudonocardia sichuanensis* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from the root of *Jatropha curcas* L. [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2011, 99(2): 395-401.
- [55] Miao Q, Qin S, Bian G K, et al. *Amycolatopsis endophytica* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from oil-seed plant *Jatropha curcas* L. [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2011, 100(3): 333-339.
- [56] Xing K, Qin S, Fei S M, et al. *Nocardia endophytica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the oil-seed plant *Jatropha curcas* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011, 61(8): 1854-1858.
- [57] Koyama R, Matsumoto A, Inahashi Y, et al. Isolation of actinomycetes from the root of the plant, *Ophiopogon japonicus*, and proposal of two new species, *Actinoallomurus liliacearum* sp. nov. and *Actinoallomurus vinaceus* sp. nov. [J]. *J Antibiotics*, 2012, 65: 335-340.
- [58] Qin S, Jiang J H, Klenk H P, et al. *Promicromonospora xylanilytica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from surface-sterilized leaves of the medicinal plant *Maytenus austroyunnanensis* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2012, 62(1): 84-89.
- [59] Zhao G Z, Li J, Qin Y L, et al. *Pseudonocardia antimicrobica* sp. nov., a novel endophytic actinomycete associated with *Artemisia annua* L. (sweet wormwood) [J]. *J Antibiotics*, 2012, 65: 469-472.
- [60] Zhu W Y, Zhao L X, Zhao G Z, et al. *Plantactinospora endophytica* sp. nov., an actinomycete isolated from *Camptotheca acuminata* Decne., reclassification of *Actinaurispora siamensis* as *Plantactinospora siamensis* comb. nov. and emended descriptions of the genus *Plantactinospora* and *Plantactinospora mayteni* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2012, 62(10): 2435-2442.
- [61] Zhao G Z, Li J, Zhu W Y, et al. *Rhodococcus artemisiae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from the pharmaceutical plant *Artemisia annua* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2012, 62(4): 900-905.
- [62] Qin S, Yuan B, Zhang Y J, et al. *Nocardioides panzhihuaensis* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from medicinal plant *Jatropha curcas* L. [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2012, 102(2): 353-360.
- [63] Xing K, Bian G K, Qin S, et al. *Kibdelosporangium phytohabitans* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from oil-seed plant *Jatropha curcas* L. containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2012, 101(2): 433-441.
- [64] Bian G K, Qin S, Yuan B, et al. *Streptomyces phytohabitans* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from medicinal plant *Curcuma phaeocaulis* [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2012, 102(2): 289-296.
- [65] Li L, Tang Y L, Wei B, et al. *Micromonospora sonneratae* sp. nov., isolated from a root of *Sonneratia apetala* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2013, 63(7): 2383-2388.
- [66] Xing K, Qin S, Bian G K, et al. *Pseudonocardia nantongensis* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from the coastal halophyte *Tamarix chinensis* Lour [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2012, 102(4): 659-667.
- [67] Bian G K, Feng Z Z, Qin S, et al. *Kineococcus endophytica* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from a coastal halophyte in Jiangsu, China [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2012, 102(4): 621-628.
- [68] Li J, Zhao G Z, Zhu W Y, et al. *Streptomyces endophyticus* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from *Artemisia annua* L. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2013, 63(1): 224-229.
- [69] Sarmin N I M, Tan G Y A, Franco C M M, et al. *Streptomyces kebangsaanensis* sp. nov. an endophytic actinomycete isolated from a Malaysian ethnomedicinal plant, that produces phenazine-1-carboxylic acid [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2013, 63(10): 3733-3738.
- [70] Du H J, Zhang Y Q, Liu H Y, et al. *Allonocardiopsis opalescens* gen. nov., sp. nov., a new member of the suborder *Streptosporangineae*, from the surface-sterilized fruit of a medicinal plant [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2013, 63(3): 900-904.
- [71] Xing K, Liu W, Zhang Y J, et al. *Amycolatopsis jiangsuensis* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from a coastal plant in Jiangsu, China [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2013, 103(2): 433-439.
- [72] Qin S, Bian G K, Zhang Y J, et al. *Modestobacter roseus* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the coastal halophyte *Salicornia europaea* Linn., and emended description of the genus *Modestobacter* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2013, 63(6): 2197-2202.
- [73] Qin S, Bian G K, Tamura T, et al. *Streptomyces halophytocola* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from the surface-sterilized stems of a coastal

- halophyte *Tamarix chinensis* Lour. in Jiangsu, China [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2013, 63(8): 2770-2775.
- [74] Zhang Y J, Zhang W D, Qin S, *et al.* *Saccharopolyspora dendranthemae* sp. nov. a halotolerant endophytic actinomycete isolated from a coastal salt marsh plant in Jiangsu, China [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2013, 103(6): 1369-1376.
- [75] Xiong Z J, Zhang J L, Zhang D F, *et al.* *Rothia endophytica* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from *Dysophylla stellata* (Lour.) Benth. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2013, 63(11): 3964-3969.
- [76] Li J, Zhao G Z, Chen H H, *et al.* Antitumour and antimicrobial activities of endophytic streptomycetes from pharmaceutical plants in rainforest [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2008, 47(6): 574-580.
- [77] 李芳, 康前进, 姚晓玲, 等. 基于化学遗传学筛选产萘醌类化合物内生放线菌 [J]. *微生物学报*, 2012, 52(4): 442-448.
- [78] Schulz B, Boyle C, Draeger S, *et al.* Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites [J]. *Mycol Res*, 2002, 106(9): 996-1004.
- [79] 黄小龙, 周双清, 陈吉良. 植物内生放线菌及其生理活性物质研究进展 [J]. *生物学杂志*, 2011, 28(3): 77-79.
- [80] Castillo U F, Strobel G A, Ford E J, *et al.* Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigriscans* [J]. *Microbiology*, 2002, 148(9): 2675-2685.
- [81] Castillo U F, Strobel G A, Mullenberg K, *et al.* Munumbicins E-4 and E-5: novel broad-spectrum antibiotics from *Streptomyces* NRRL 30562 [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 255(2): 296-300.
- [82] Castillo U, Harper J K, Strobel G A, *et al.* Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* sp. NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia* [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2003, 224(2): 183-190.
- [83] Ezra D, Castillo U F, Strobel G A, *et al.* Coronamycins, peptide antibiotics produced by a verticillate *Streptomyces* sp. (MSU-2110) endophytic on *Monstera* sp. [J]. *Microbiology*, 2004, 150(4): 785-793.
- [84] Zhao P J, Fan L M, Li G H. Antibacterial and antitumor macrolides from *Streptomyces* sp. Is9131 [J]. *Archiv Pharm Res*, 2005, 28(11): 1228-1232.
- [85] Lu C H, Shen Y M. A new macrolide antibiotic with antitumor activity produced by *Streptomyces* sp. CS, a commensal microbe of *Maytenus hookeri* [J]. *J Antibiotics*, 2003, 56(4): 415-418.
- [86] Lu C H, Shen Y M. Two new macrolides produced by *Streptomyces* sp. CS [J]. *J Antibiotics*, 2004, 57(9): 597-600.
- [87] Li J, Lu C H, Shen Y M. Macrolides of the bafilomycin family produced by *Streptomyces* sp. CS [J]. *J Antibiotics*, 2010, 63: 595-599.
- [88] 吴兆贤. 三株放线菌次级代谢产物的初步研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2007.
- [89] Kim N, Shin J C, Kim W, *et al.* Cytotoxic 6-alkylsalicylic acids from the endophytic *Streptomyces laceyi* [J]. *J Antibiotics*, 2006, 59: 797-800.
- [90] Igarashi Y, Iida T, Yoshida R, *et al.* Pteridic acids A and B, novel plant growth promoters with auxin-like activity from *Streptomyces hygroscopicus* TP-A0451 [J]. *J Antibiotics*, 2002, 55(8): 764-767.
- [91] Igarashi Y. Screening of novel bioactive compounds from plant-associated actinomycetes [J]. *Actinomycetologica*, 2004, 18(2): 63-66.
- [92] 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.
- [93] Caruso M, Colombo A L, Fedeli L, *et al.* Isolation of endophytic fungi and actinomycetes taxane producers [J]. *Annals Microbiol*, 2000, 50: 3-13.
- [94] Bieber B, Nüske J, Ritzau M, *et al.* Alnumycin, a new naphthoquinone antibiotic produced by an endophytic *Streptomyces* sp. [J]. *J Antibiotics*, 1998, 51(3): 381-382.
- [95] Igarashi Y, Trujillo M E, Martínez-Molina E, *et al.* Antitumor anthraquinones from an endophytic actinomycete *Micromonospora lupini* sp. nov. [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(13): 3702-3705.
- [96] Pullen C, Schmitz P, Meurer K, *et al.* New and bioactive compounds from *Streptomyces* strains residing in the wood of *Celastraceae* [J]. *Planta*, 2002, 216(1): 162-167.
- [97] 鲁春华, 何以能, 沈月毛. 云南美登木共生放线菌菌株 CS 产生的新多羟基环己烷衍生物 [J]. *中国药物化学杂志*, 2004, 14(1): 49-50.