

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202004045

李玲玲. 药用植物青蒿不同种类的内生菌抑菌活性分析 [J]. 广西植物, 2021, 41(7): 1112–1119.

LI LL. Antimicrobial activities of different species of endophytes from *Artemisia annua* [J]. *Guihaia*, 2021, 41(7): 1112–1119.



药用植物青蒿不同种类的内生菌抑菌活性分析

李玲玲*

(重庆工贸职业技术学院 健康学院, 重庆 408000)

摘要: 为了研究青蒿不同种类的内生菌抑制细菌和抑制真菌的活性, 该研究采用组织块法和研磨法从青蒿的根、茎、叶中分离内生细菌、放线菌和真菌, 以大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) (CICC 23657)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) (CICC 10275)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) (CICC 10384)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*) (CICC 2487)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) (CICC 33032) 为指示菌, 采用琼脂块法和双层平板法检测内生菌的抑菌活性。结果表明: (1) 从青蒿植株中共分离到 76 株内生菌, 其中内生细菌 19 株、内生放线菌 34 株、内生真菌 23 株。从分离部位来看, 56 株来自于茎段、17 株来自于根段、3 株来自叶片。(2) 内生细菌中抑菌活性菌株占总菌株的比例最高, 为 95%, 内生放线菌和内生真菌中抑菌活性菌株的比例分别为 41%、35%。(3) 内生细菌的抗菌谱较广; 虽然内生放线菌的抗菌谱较窄, 但其中高抗菌株较多, 尤其对酿酒酵母的抑菌效果好。综上结果显示, 药用植物青蒿中存在着丰富的有抑菌活性的内生菌, 且不同种类的内生菌抑菌活性不同。

关键词: 青蒿, 内生细菌, 内生放线菌, 内生真菌, 抑菌活性

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2021)07-1112-08

Antimicrobial activities of different species of endophytes from *Artemisia annua*

LI Lingling*

(School of Health, Chongqing Industry & Trade Polytechnic, Chongqing 408000, China)

Abstract: In order to study the antimicrobial activity of different species of endophytes from *Artemisia annua* against bacteria and fungi, and provide the basis for the production of natural antimicrobial substances by endophytes. Endophytes were isolated from the roots, stems and leaves of *A. annua* by tissue isolation and grinding methods. With five representative microorganisms, *Escherichia coli* CICC 23657, *Bacillus subtilis* CICC 10275, *Staphylococcus aureus* CICC 10384, *Aspergillus niger* CICC 2487 and *Saccharomyces cerevisiae* CICC 33032 were used as indicating microorganisms, the antimicrobial activity of endophytes were detected by agar block method and double layer agar plate method. The results were as follows: (1) A total of 76 strains of endophytes were isolated from *A. annua*, including 19 strains of endophytic bacteria, 34 strains of endophytic actinomycetes and 23 strains of endophytic fungi. According to the plant parts of endophytes isolated, 56 strains were isolated from the stems, 17 from the roots and 3 from the

收稿日期: 2020-10-25

基金项目: 重庆市教委科学技术研究项目 (KJ1603401) [Supported by Scientific and Technological Research Program of Chongqing Municipal Education Commission (KJ1603401)].

作者简介: 李玲玲 (1980-), 硕士, 副教授, 主要从事微生物制药研究, (E-mail) 729005755@qq.com。

*通信作者

leaves. (2) Among the endophytic species, 95% of the bacteria, 41% of the actinomycetes and 35% of the fungi showed antimicrobial activity, respectively. (3) The antimicrobial spectrum of endophytic bacteria was broad, while antimicrobial spectrum of endophytic actinomycetes was narrow, but there were many strains of endophytic actinomycetes with high antimicrobial activity, especially some strains of endophytic actinomycetes had strong antimicrobial activity against *Saccharomyces cerevisiae*. It can be seen that there are abundant endophytes with antimicrobial activity in *A. annua*, and different species of endophytes from *A. annua* showed different antimicrobial activity.

Key words: *Artemisia annua*, endophytic bacteria, endophytic actinomycetes, endophytic fungi, antimicrobial activity

植物内生菌是一类重要的微生物资源,从 20 世纪 90 年代起逐渐成为微生物学家们关注的热点(赫荣乔,2009;Wang & Dai, 2011;Sheng et al., 2011)。近年来,越来越多的研究证明内生菌可产生与宿主植物相同或相似的次级代谢产物,因此,从植物内生菌中获得各种新资源是很有可能(陈向东,2012)。药用植物青蒿中最有价值的化学成分是青蒿素。青蒿素是目前治疗疟疾最有效的药物,我国科学家屠呦呦因为发现青蒿素而获得了 2015 年度的诺贝尔奖(张铁军等,2016),而且这一成果正在申请新药——可用于治疗红斑狼疮。药用植物青蒿中可能存在着能产生青蒿素的内生菌,而青蒿素具有抗菌作用(文学,2009)。从青蒿中寻找有抗菌活性的内生菌,进一步研究其代谢产物,有助于找到产青蒿素的内生菌。

国内外关于内生菌的研究报道虽然很多,但关于青蒿内生菌的研究报道较少。刘金花等(2011)从黄花蒿的根、茎和叶中分离到内生菌 80 株,通过形态观察对内生菌的种类进行了初步鉴定;钱一鑫等(2014)对 68 株青蒿内生真菌的抗肿瘤抗氧化活性进行研究,筛选到 8 株内生真菌具有细胞毒活性,5 株内生真菌有清除 DPPH 自由基活性;田小曼等(2008)从青蒿中分离到 63 株内生菌,以棉花枯萎病菌等 12 种农作物病原真菌为靶标菌,研究内生菌的抗病原真菌活性,筛选到 1 株内生真菌、9 株内生细菌和 3 株内生放线菌有较高抗菌活性;魏宝阳等(2008)从黄花蒿茎中分离到 13 株内生真菌,以金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌为指示菌,研究内生真菌的抗细菌活性,发现 12 株内生真菌的代谢产物至少对 1 种指示细菌有抑菌活性。目前尚未发现青蒿内生细菌、内生放线菌和内生真菌抗细菌和抗真菌活性的全面研究。

本研究以大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌为指示细菌,以酿酒酵母和黑曲霉为

指示真菌,全面研究青蒿内生细菌、内生放线菌和内生真菌对指示细菌和指示真菌的抑制效果,为今后青蒿内生菌产天然抑菌物质提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 药用植物标本 健康、无病虫害野生青蒿的完整植株,9 月份采自重庆市涪陵区蒿枝坝山上,取样后流水冲洗干净,分别取下其根、茎、叶,1 d 内处理完毕。

1.1.2 供试指示菌 本研究所用的指示细菌和指示真菌均购自中国工业微生物菌种保藏管理中心,指示细菌中的大肠埃希菌为革兰氏阴性,枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性,指示真菌有黑曲霉和酿酒酵母,具体如表 1 所示。

表 1 指示菌
Table 1 Indicating microorganisms

名称 Name	菌株编号 Code of strain	种名 Species name
指示细菌	CICC 23657	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>
Indicating bacteria	CICC 10275	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>
	CICC 10384	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
指示真菌	CICC 2487	黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>
Indicating fungi	CICC 33032	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

1.1.3 培养基 培养基名称及用途如表 2 所示。

1.2 内生菌的分离纯化

青蒿的根、茎、叶经 5.4% 次氯酸钠表面消毒一定时间(根和茎各 10 min,叶 5 min)、无菌水漂洗后,无菌条件下,将根和茎切成 1 cm 左右的小段,叶进行研磨。将根、茎小段和 0.1 mL 叶的研磨上

表 2 培养基名称及用途

Table 2 Names and use of medium

培养基 Medium	培养基用途 Use of medium
牛肉膏蛋白胨培养基 Beef extract peptone medium	内生细菌的分离和培养, 指示细菌的培养 Isolation and culture of endophytic bacteria, culture of the indicating bacteria
高氏 I 号培养基 Gaos No. I medium	内生放线菌的分离和培养 Isolation and culture of endophytic actinomycetes
PDA 培养基 Potato glucose agar medium	内生真菌的分离和培养, 指示真菌的培养 Isolation and culture of endophytic fungi, culture of the indicating fungi

清液分别接种在牛肉膏蛋白胨、高氏 I 号和 PDA 平板上, 放在合适的温度下培养, 从中分离内生细菌、放线菌和真菌。

消毒可靠性检验采用漂洗液检查法和组织印迹检查法(李玲玲等, 2019)。

分离成功后采用平板划线的方法进行纯化。

1.3 内生真菌抑菌活性初筛

内生真菌培养: 挑取经活化的内生真菌菌丝或孢子点接至 PDA 固体平板中央, 28 ℃ 恒温培养 7 d, 备用。

指示细菌培养: 将三种指示细菌分别接种于牛肉膏蛋白胨斜面上, 37 ℃ 培养 18 h。

抑菌初筛试验: 采用琼脂块法(李玲玲等, 2015)。

1.4 内生菌发酵上清液抑菌活性测定

1.4.1 指示菌培养 将三种指示细菌分别接种于牛肉膏蛋白胨斜面上, 36 ℃ 培养 18 h; 将酿酒酵母、黑曲霉接种于 PDA 斜面上, 28 ℃ 分别培养 2、7 d。

1.4.2 内生菌上清液的制备 内生菌的培养: 将分离到的内生细菌分别接入 100 mL 牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 放入 36 ℃ 摇床, 培养 24 h; 将分离到的内生放线菌分别接入 100 mL 高氏 I 号液体培养基中, 放入 28 ℃ 摇床, 培养 5 d; 将分离到的内生真菌分别接入 100 mL PDA 液体培养基中, 放入 28 ℃ 摇床, 培养 5 d。

内生菌上清液的制备: 将培养好的内生菌菌悬液分别移入灭菌离心管中, 12 000 r · min⁻¹, 离心 10 min, 小心吸出上清液, 转移至新的灭菌离心

管中, 用于抑菌活性筛选。

1.4.3 内生菌发酵上清液抑菌活性筛选 采用双层平板法(李玲玲等, 2015)。将滴碟后的双层平板先放入 4 ℃ 冰箱预培养 7 h, 然后将接有供试细菌的双层平板置于 36 ℃ 恒温培养 18 h; 接有供试酿酒酵母和黑曲霉的双层平板置于 28 ℃ 分别恒温培养 2、5 d。观察并测量抑菌圈直径。

1.5 数据分析

抑菌圈大小采用三次试验重复测量, 采用 SPSS Statistics 17.0 软件进行统计分析, 数据由平均值 ± 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 青蒿内生菌的分离结果

各种消毒可靠性检验平板上均未长菌, 内生菌分离平板上长菌, 证明分离成功。从分离成功的平板上挑选不一样的菌落或菌苔进行划线纯化, 直至得到纯化的典型菌落。根据划线纯化过程中菌落的形态、颜色、边缘状态、透明度、表面干湿状态等特征不同, 统计分离出的菌株数。由表 3 可知, 从青蒿根、茎、叶中共分离到内生菌 76 株, 其中内生细菌 19 株、内生放线菌 34 株、内生真菌 23 株。从分离部位来看, 76 株内生菌中: 56 株来自于茎段; 17 株来自于根段; 仅 3 株来自于叶内。表明茎段的内生资源较丰富。

表 3 青蒿根、茎、叶中内生菌分布情况

Table 3 Distribution of the endophytes in roots, stems and leaves of *Artemisia annuus*

内生菌 Endophyte type	内生菌菌株的数量 Number of strains of endophytes			合计 Total
	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	
内生细菌 Endophytic bacteria	3	15	1	19
内生放线菌 Endophytic actinomycetes	11	22	1	34
内生真菌 Endophytic fungi	3	19	1	23
菌株数总计 Total number of strains	17	56	3	76

为了便于区分, 将从青蒿根内分离到的内生细菌、内生放线菌、内生真菌菌株分别标记为蒿根

细 1-3、蒿根放 1-11、蒿根真 1-3; 从茎内分离到的内生细菌、内生放线菌、内生真菌菌株分别标记为蒿茎细 1-15、蒿茎放 1-22、蒿茎真 1-19; 从叶内分离到的内生细菌、内生放线菌、内生真菌菌株分别标记为蒿叶细 1、蒿叶放 1、蒿叶真 1。

2.2 内生真菌抑菌活性初筛

采用琼脂块法初步检测 23 株内生真菌对 3 种供试细菌的抑菌活性, 检测到有 6 株内生真菌对供试细菌有抑菌活性, 结果如表 4 和图 1 所示。

表 4 内生真菌抗细菌活性初筛

Table 4 Preliminary screening of antibacterial activities of endophytic fungi

内生真菌 Endophytic fungi	指示菌 Indicating microorganisms		
	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
蒿根真 2 Endophytic fungi 2 strain from root	+	+	-
蒿根真 3 Endophytic fungi 3 strain from root	++	-	-
蒿茎真 1 Endophytic fungi 1 strain from stem	+++	+++	-
蒿茎真 16 Endophytic fungi 16 strain from stem	+++	+++	+++
蒿茎真 19 Endophytic fungi 19 strain from stem	-	++	-
蒿叶真 1 Endophytic fungi 1 strain from leaf	++	-	-

注: +. 抑菌圈直径 $d \leq 1$ cm; ++. 1 cm $< d < 1.5$ cm; +++. $d > 1.5$ cm; -. 无抑菌活性。

Note: +. Diameter of inhibition zone (d) ≤ 1 cm; ++. 1 cm $< d < 1.5$ cm; +++. $d > 1.5$ cm; -. No antimicrobial activity.

从初筛效果来看, 仅蒿茎真 1 和蒿茎真 16 菌株对 3 种供试细菌的抑菌效果较好。青蒿内生真菌对供试细菌的抑菌效果整体较差, 有抑菌活性菌株的比例仅为 26.0%。

2.3 内生细菌发酵上清液抑菌活性检测结果

对 19 株内生细菌(3 株来自于根段, 15 株来自于茎段, 1 株来自于叶)的发酵上清液进行抑菌活性检测, 检测到 18 株有抑菌活性, 有抑菌活性菌株的比例为 95%(表 5)。

总体上看, 青蒿内生细菌中有抑菌活性的菌株比例较高、抑菌谱较广, 对于供试真菌和细菌均表现出一定的抑菌作用; 有抑菌活性的内生细菌

共有 18 株, 其中 14 株来自于茎段。

2.4 内生放线菌发酵上清液抑菌活性检测结果

对 34 株内生放线菌(11 株来自于根段, 22 株来自于茎段, 1 株来自于叶)的发酵上清液进行抑菌活性检测, 检测到 14 株有抑菌活性, 有抑菌活性菌株的比例为 41%(表 6 和图 2)。

总体上看, 青蒿内生放线菌中有抑菌活性的菌株抗菌谱较窄, 多数菌株仅对一种供试菌有抑菌活性, 所有内生放线菌均未对大肠埃希菌表现出抑菌活性。但是, 内生放线菌对供试真菌的抑菌效果较好, 有抑菌活性的菌株多数为高抗菌株, 特别是对酿酒酵母的抑菌效果好。由表 6 和图 2; A 可知, 蒿根放 8(HG8)发酵上清液对指示菌黑曲霉的抑菌圈直径达到了 2.7 cm; 由表 6 和图 2; B-D 可知, 蒿根放 11(HG11)、蒿根放 3(HG3)、蒿茎放 12(HJ12)发酵上清液对指示菌酿酒酵母的抑菌圈直径分别达到 3.5、2.7、1.6 cm。

2.5 内生真菌发酵上清液抑菌活性检测结果

对 23 株内生真菌(3 株来自于根段, 19 株来自于茎段, 1 株来自于叶)的发酵上清液进行抑菌活性检测, 检测到 8 株有抑菌活性, 有抑菌活性菌株的比例为 35%(表 7)。

总体上看, 青蒿内生真菌中有抑菌活性的菌株比例较低, 抑菌效果也较差, 特别是对金黄色葡萄球菌和酿酒酵母的抑菌效果差。

3 讨论与结论

从药用植物中分离、筛选能够产生与宿主植物相同或相似生物活性物质的内生菌已成为筛选微生物药物的重要来源, 特别是以抗菌、抗肿瘤等指标为主的药物开发, 是植物内生微生物研究中最耀眼的亮点(王志伟等, 2014)。药用植物青蒿化学成分中的挥发油和青蒿素都具有抗菌作用(文学, 2009; 张丽勇等, 2011)。青蒿内生菌长期与青蒿共存, 可能产生青蒿挥发油或青蒿素, 从而使内生菌具有抑菌作用。

研究中发现青蒿不同种类的内生菌抗菌谱不同, 内生细菌的抗菌谱较广, 内生放线菌的抗菌谱较窄, 这一结果与李洁(2010)的研究结果(31 株黄花蒿内生放线菌的抗菌活性谱广)不太一致, 这可能与采用不同地区的青蒿植株分离内生菌, 青蒿植株代谢产物不同, 导致它们的内生菌产生的

表 5 内生细菌发酵上清液的抑菌圈直径

Table 5 Diameter of inhibition zone of fermentation supernatant of endophytic bacteria ($n=3$)

内生细菌 Endophytic bacteria	抑菌圈直径 Diameter of inhibition zone (cm)				
	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>
蒿根细 1 Endophytic bacteria 1 strain from root	1.36±0.06	1.07±0.06	1.30±0.00	-	-
蒿根细 2 Endophytic bacteria 2 strain from root	1.10±0.00	1.20±0.00	0.77±0.06	-	-
蒿根细 3 Endophytic bacteria 3 strain from root	-	-	-	0.88±0.03	-
蒿茎细 1 Endophytic bacteria 1 strain from stem	1.07±0.06	0.67±0.06	0.98±0.03	0.70±0.00	0.80±0.05
蒿茎细 2 Endophytic bacteria 2 strain from stem	-	1.03±0.06	0.97±0.06	0.90±0.00	-
蒿茎细 3 Endophytic bacteria 3 strain from stem	1.10±0.00	1.10±0.00	1.18±0.03	0.80±0.00	0.90±0.05
蒿茎细 4 Endophytic bacteria 4 strain from stem	-	0.90±0.00	0.98±0.03	0.70±0.00	-
蒿茎细 6 Endophytic bacteria 6 strain from stem	1.00±0.00	0.90±0.00	1.08±0.03	0.90±0.00	-
蒿茎细 7 Endophytic bacteria 7 strain from stem	0.90±0.00	0.90±0.00	0.78±0.03	-	-
蒿茎细 8 Endophytic bacteria 8 strain from stem	1.30±0.00	1.18±0.03	-	0.80±0.00	-
蒿茎细 9 Endophytic bacteria 9 strain from stem	1.40±0.00	-	-	0.90±0.00	-
蒿茎细 10 Endophytic bacteria 10 strain from stem	-	-	-	0.70±0.00	-
蒿茎细 11 Endophytic bacteria 11 strain from stem	-	-	-	0.90±0.00	-
蒿茎细 12 Endophytic bacteria 12 strain from stem	1.00±0.00	1.00±0.00	-	-	-
蒿茎细 13 Endophytic bacteria 13 strain from stem	-	1.00±0.00	1.02±0.03	0.98±0.03	-
蒿茎细 14 Endophytic bacteria 14 strain from stem	-	1.10±0.00	-	0.72±0.03	0.80±0.00
蒿茎细 15 Endophytic bacteria 15 strain from stem	-	0.90±0.00	-	0.92±0.03	-
蒿叶细 1 Endophytic bacteria 1 strain from leaf	-	-	1.18±0.03	0.82±0.03	0.87±0.06

注: -, 无抑菌活性。下同。

Note: -, No antimicrobial activity. The same below.

代谢产物不同有关。内生放线菌中高抗菌株较多,尤其对酿酒酵母的抑菌效果好,这将为今后从青蒿内生菌中筛选具有广谱和选择性的抗菌药物提供依据。

在研究青蒿内生真菌抑菌活性时发现,青蒿的 23 株内生真菌中仅 5 株有抑细菌活性,抑菌效果也较差(最大抑菌圈直径 10.8 mm);而魏宝阳等(2008)的研究显示 13 株黄花蒿内生真菌中 12 株有抑细菌活性,且有两株抑制病原细菌的活性较强(抑菌圈直径>26 mm)。两项研究中有抑菌

活性的菌株比例不同,抑菌活性大小也不同,这可能与内生真菌发酵产物处理方法不同有关。魏宝阳等(2008)研究内生真菌代谢产物活性时,发酵液经过滤、乙酸乙酯萃取和浓缩后用于抑菌活性检测;而本研究内生真菌的发酵液离心后直接收集上清液检测抑菌活性,由于发酵产物未经浓缩,可能导致部分抑菌活性较弱的内生真菌未被检测出。

本研究只是对内生菌发酵上清液的抗菌活性进行了研究,未对产生抑菌活性的物质进行分析,

表 6 内生放线菌发酵上清液的抑菌圈直径

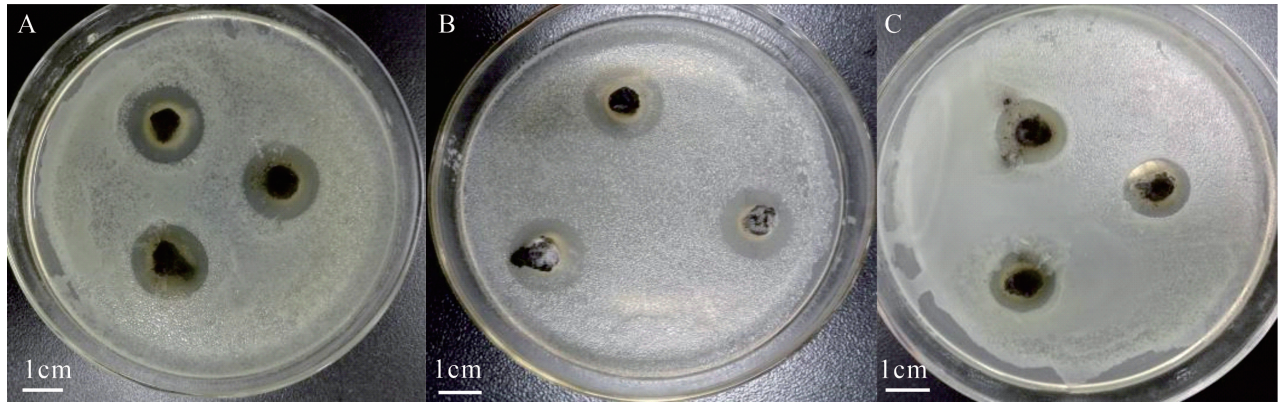
Table 6 Diameter of inhibition zone of fermentation supernatant of endophytic actinomycetes ($n=3$)

内生放线菌 Endophytic actinomycetes	抑菌圈直径 Diameter of inhibition zone (cm)				
	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>
蒿根放 3 Endophytic actinomycetes 3 strain from root	-	-	-	2.67±0.06	-
蒿根放 8 Endophytic actinomycetes 8 strain from root	-	-	-	-	2.68±0.08
蒿根放 11 Endophytic actinomycetes 11 strain from root	-	-	-	3.47±0.06	-
蒿茎放 3 Endophytic actinomycetes 3 strain from stem	-	0.97±0.06	-	-	-
蒿茎放 4 Endophytic actinomycetes 4 strain from stem	-	1.07±0.21	-	-	-
蒿茎放 5 Endophytic actinomycetes 5 strain from stem	-	1.05±0.05	-	1.87±0.05	-
蒿茎放 8 Endophytic actinomycetes 8 strain from stem	-	-	-	0.97±0.06	-
蒿茎放 12 Endophytic actinomycetes 12 strain from stem	-	-	-	1.57±0.06	-
蒿茎放 14 Endophytic actinomycetes 14 strain from stem	-	-	-	1.50±0.00	2.00±0.05
蒿茎放 15 Endophytic actinomycetes 15 strain from stem	-	0.73±0.06	0.90±0.00	-	-
蒿茎放 17 Endophytic actinomycetes 17 strain from stem	-	0.87±0.06	0.77±0.06	-	-
蒿茎放 19 Endophytic actinomycetes 19 strain from stem	-	-	0.87±0.06	1.00±0.00	-
蒿茎放 21 Endophytic actinomycetes 21 strain from stem	-	-	0.97±0.06	1.17±0.06	-
蒿叶放 1 Endophytic actinomycetes 1 strain from leaf	-	-	-	1.50±0.05	-

表 7 内生真菌发酵上清液的抑菌圈直径

Table 7 Diameter of inhibition zone of fermentation supernatant of endophytic fungi ($n=3$)

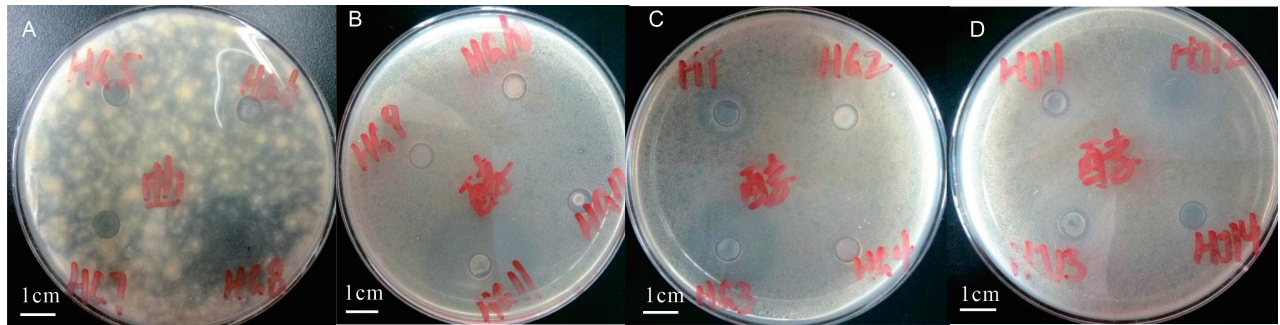
内生真菌 Endophytic fungi	抑菌圈直径 Diameter of inhibition zone (cm)				
	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>
蒿根真 2 Endophytic fungi 2 strain from root	-	-	-	-	0.77±0.06
蒿根真 3 Endophytic fungi 3 strain from root	0.88±0.03	-	-	-	0.97±0.06
蒿茎真 1 Endophytic fungi 1 strain from stem	1.07±0.06	1.08±0.03	-	-	-
蒿茎真 5 Endophytic fungi 5 strain from stem	-	-	-	-	0.68±0.03
蒿茎真 11 Endophytic fungi 11 strain from stem	-	-	-	0.88±0.00	0.85±0.05
蒿茎真 16 Endophytic fungi 16 strain from stem	1.05±0.05	0.97±0.06	0.90±0.00	-	-
蒿茎真 19 Endophytic fungi 19 strain from stem	-	0.97±0.06	-	-	-
蒿叶真 1 Endophytic fungi 1 strain from leaf	0.88±0.03	-	-	-	1.00±0.05



A. 金黄色葡萄球菌; B. 大肠埃希菌; C. 枯草芽孢杆菌。
A. *Staphylococcus aureus*; B. *Escherichia coli*; C. *Bacillus subtilis*.

图 1 蒿茎真 16 对 3 种指示细菌的抑菌初筛效果

Fig. 1 Preliminary screening of antibacterial activities of endophytic fungi 16 from stems of *Artemisia annua* against three indicating bacteria



A. 蒿根放 8 (HC8) 菌株发酵上清液对黑曲霉的抑菌效果; B-D. 蒿根放 11 (HG11)、蒿根放 3 (HG3)、蒿茎放 12 (HJ12) 菌株发酵上清液对酿酒酵母的抑菌效果。

A. Antimicrobial effects of fermentation supernatant of endophytic actinomycetes 8 strain from root on *Aspergillus niger*; B-D. Antimicrobial effect of fermentation supernatant of endophytic actinomycetes 11 strain from root, endophytic actinomycetes 3 strain from root and endophytic actinomycetes 12 strain from stem on *Saccharomyces cerevisiae*.

图 2 部分内生放线菌发酵上清液的抑菌效果

Fig. 2 Antimicrobial effects of fermentation supernatant of partial endophytic actinomycetes

因此,今后还需对青蒿内生菌进一步研究:(1) 抑菌效果好的内生菌的发酵条件、抑菌物质的提取方法以及化学结构。(2) 具有抑菌活性的内生菌是否产青蒿素。以期为内生菌发酵产天然抑菌物质或青蒿素提供依据。

参考文献:

CHEN XD, 2012. Endophytic microorganisms are valuable resources worthy to be explored deeply [J]. *Microbiol Chin*, 39(2): 282. [陈向东, 2012. 植物内生菌是有待深入开发

的资源宝库 [J]. *微生物学通报*, 39(2): 282.]

HE RQ, 2009. Plant endophyte becomes one of hot topics in the current microbiological study in China [J]. *Microbiol Chin*, 36(1): 1. [赫荣乔, 2009. 植物内生菌成为我国当前微生物研究领域的热点 [J]. *微生物学通报*, 36(1): 1.]

LI J, 2010. Resources of endophytic actinobacteria associated with *Artemisia annua* and their influences on the growth and artemisinin biosynthesis of host plant [D]. Kunming: Yunnan University: 5. [李洁, 2010. 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: 5.]

LI LL, LI QA, YI HX, et al., 2019. Isolation of endophytes

- from *Ginkgo biloba* and screening of their antimicrobial activity [J]. *Biotic Res*, 41(3): 249-254. [李玲玲, 李青爱, 易回香, 等, 2019. 银杏内生菌的分离及其抑菌活性筛选 [J]. *生物资源*, 41(3): 249-254.]
- LI LL, LUO HC, ZHANG XS, 2015. Identification of endophytic fungi in *Bupleurum* and screening of antimicrobial activities [J]. *Biotechnol Bull*, 31(10): 165-170. [李玲玲, 罗合春, 张先淑, 2015. 柴胡内生真菌鉴定与抑菌活性筛选 [J]. *生物技术通报*, 31(10): 165-170.]
- LIU JH, WU LF, ZHANG HW, 2011. Isolation and preliminary identification of endophytes from *Artemisia annua* Linn [J]. *Amino Acid Biotic Resour*, 33(4): 27-30. [刘金花, 吴玲芳, 章华伟, 2011. 黄花蒿内生菌的分离与初步鉴定 [J]. *氨基酸和生物资源*, 33(4): 27-30.]
- QIAN YX, KANG JC, GENG K, et al., 2014. Study on antitumor and antioxidant activities of the endophytic fungi isolated from *Artemisia annua* [J]. *J Fungal Res*, 12(1): 44-50. [钱一鑫, 康冀川, 耿坤, 等, 2014. 青蒿内生真菌的抗肿瘤抗氧化活性 [J]. *菌物研究*, 12(1): 44-50.]
- SHENG Q, KE X, JI HJ, et al., 2011. Biodiversity, bioactive natural products and biotechnological potential of plant-associated endophytic actinobacteria [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 89(3): 457-473.
- TIAN XM, WU YF, ZHANG Y, 2008. Isolation and screening of endophytes from *Artemisia annua* and their antagonistic activity to plant pathogens [J]. *Acta Agric Boreal-Occident Sin*, 17(4): 186-196. [田小曼, 吴玉锋, 张钰, 等, 2008. 青蒿内生菌的分离及抗病活性物质的筛选 [J]. *西北农业学报*, 17(4): 186-196.]
- WANG Y, DAI CC, 2011. Endophytes: A potential resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation [J]. *Ann Microbiol*, 61(2): 207-215.
- WANG ZW, CHEN YG, WANG QC, et al., 2014. Progresses and perspectives of studies on plant endophytic microbes in China [J]. *Microbiol Chin*, 41(3): 482-496. [王志伟, 陈永敢, 王庆璨, 等, 2014. 中国植物内生微生物研究的发展和展望 [J]. *微生物学通报*, 41(3): 482-496.]
- WEI BY, HUANG HY, LI SX, et al., 2008. Screening of antifungal activity of endophytic fungi from *Artemisia annua* [J]. *Hunan Agric Sci*, (4): 100-101. [魏宝阳, 黄红英, 李顺祥, 等, 2008. 黄花蒿内生真菌的抑菌活性筛选 [J]. *湖南农业科学*, (4): 100-101.]
- WEN X, 2009. Antibacterial effect of artemisinin-based [J]. *J Ginseng Res*, 21(4): 38-39. [文学, 2009. 青蒿素抗菌作用研究 [J]. *人参研究*, 21(4): 38-39.]
- ZHANG LY, LIN XM, ZHAN Y, et al., 2011. Antimicrobial activity and GC-MS analysis of the volatile oil of *Artemisia annua* [J]. *Chin J Exp Trad Med Form*, 17(22): 60-63. [张丽勇, 林秀梅, 战月, 等, 2011. 不同方法提取青蒿挥发油成分分析及抗菌活性比较 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 17(22): 60-63.]
- ZHANG TJ, WANG YF, LIU D, et al., 2016. Historical story on natural medicinal chemistry: Artemisinin—A milestone of traditional Chinese medicine study [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 47(19): 3351-3361. [张铁军, 王于方, 刘丹, 等, 2016. 天然药物化学史话: 青蒿素——中药研究的丰碑 [J]. *中草药*, 47(19): 3351-3361.]

(责任编辑 周翠鸣)