

药用植物车前内生真菌分离及其抑菌活性初步分析^{*}

□毕江涛^{**} (宁夏大学新技术应用研究开发中心 银川 750021)

何 萍 王小霞 (宁夏大学生命科学学院 银川 750021)

王 静 (宁夏大学新技术应用研究开发中心 银川 750021)

关晓庆 (宁夏大学农学院 银川 750021)

摘 要:目的:研究药用植物车前可培养内生真菌多样性及其抑菌活性特征。方法:通过组织块法对内生真菌进行分离,并选择小麦全蚀病菌、枸杞黑果病菌、番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌和黄瓜立枯病菌 5 种植物病原真菌和枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌 4 种细菌作为指示菌,采用对峙法和改进的菌块法测定抑菌活性。结果:从车前根茎叶组织器官中分离出 13 株内生真菌,以茎部最多,叶部次之,根部最少,经形态学初步分类鉴定归于 2 个目 2 个科 5 个属;其中有 11 株菌对 1 种或多种植物病原真菌指示菌有不同程度的抑制作用,占菌株总数的 84.6%,6 株内生真菌对 1 种或多种供试细菌指示菌具有不同程度的抑制作用,占分离菌株总数的 46.2%,3 株活性菌株 PAEFS001、PAEFS007、PAEFS008 分别对 5 种供试植物病原真菌指示菌具有明显抑制作用,菌株 PAEFS001 属于束丝菌属,菌株 PAEFS007 和 PAEFS008 同属于曲霉属;1 株活性菌株 PAEFS003 分别对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌 2 种供试细菌指示菌有明显的抑制作用,属于梭孢霉属;药用植物车前内生真菌具有明显的抑菌活性,抑制植物病原真菌的范围较宽,对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用明显,具有一定的选择性。结论:从药用植物车前内生真菌寻找新的抑菌活性物质是可行的,通过对其进行开发和利用,对提高药用植物车前的综合利用价值具有重要意义。

关键词:药用植物 车前 内生真菌 分离 抑菌活性

doi: 10.11842/wst.2013.03.030 中图分类号:Q93 文献标识码:A

车前 (*Plantago asiatica* L.) 是车前科 (Plantaginaceae) 车前属多年生草本植物,为常用中药,在宁

夏和全国其它各地均有分布。车前全身是宝,嫩可食用,成可入药。2010 版《中国药典》记载其性味甘寒,入肝、肾、肺、小肠经,具有清热利尿通淋、祛痰、凉血、解毒等作用,临床主要用于热淋涩痛、水肿尿

收稿日期:2012-09-24

修回日期:2012-10-22

^{*} 宁夏银川市科技局科技攻关项目(2010452) 宁夏药用植物内生菌资源开发和利用研究 负责人 毕江涛。

^{**} 通讯作者:毕江涛,副研究员,博士,主要研究方向:微生物生态与微生物资源。

少、暑湿泄泻等。车前中含有多种化学成分,如多糖类、黄酮及其苷类、环烯醚萜类、苯乙酰咖啡酰糖脂类、萜类以及挥发油等,研究表明其具有利尿、镇咳、祛痰、抗炎、缓泻等诸多药理作用^[1~2]。另外,车前分布广泛,抗逆性强,价格低廉,药食同源,成为有待开发的保健蔬菜,随着人们生活水平的逐步提高和对健康的日益重视,越来越倾向于利用中草药进行医疗和保健,车前的需求量也呈上升趋势^[3,4]。因此,需加强对车前资源进行开发和利用,对其内生菌进行研究,以拓展车前资源的综合利用价值。

植物内生菌(Endophyte)是指在生活史的一定阶段或全部阶段生活于健康植物各种组织和器官内部或细胞间隙的真菌或细菌,包括一些在生活史的某一阶段营表面生的腐生菌,以及对宿主暂时没有伤害的潜伏性病原菌和菌根菌^[5,6]。目前,药用植物内生真菌已经成为药用植物资源研究的一个新热点^[7,8]。植物内生真菌是植物微生态系统中的一个重要组成部分,其次级代谢中产生的生物活性物质具有很好的开发利用价值,且某些药用植物内生真菌具备合成宿主某些代谢产物的能力,利用药用植物内生真菌开发新药源具有巨大潜力^[9,10]。以往对车前的研究大多集中在生物学特性和分类、化学成分、药理药效、人工栽培和组织培养、基因资源等方面^[11~17],而对其内生真菌的研究相对较少,仅吴萍茹等^[18]从车前草(*Plantago major* L.)茎部分离到内生真菌拟青霉属菌株 W-90,并对其次生代谢产物进行研究。本研究以宁夏野生车前为材料,开展内生真菌的分离及其抑菌活性分析,以期对车前内生真菌的利用提供基础资料。

一、材料与方法

1. 材料

(1)供试材料。

车前(*Plantago asiatica* L.)于2011年7月采自宁夏银川市金凤区。采样时挑选无病害健康植株,取材部位为植物根、茎、叶,采集后48小时内进行表面消毒。

(2)主要仪器。

HJ-CJ-2D 超净工作台(上海苏净实业有限公司),GRX-9053A 热空气消毒箱(上海跃进医疗器械有限公司),FL-107CCD 生物显微镜(江西江凤仪

器科技有限公司),GMSX-280 灭菌器(北京市永光明医疗仪器厂),STX-250 生化培养箱(上海跃进医疗器械有限公司)。

(3)培养基。

营养琼脂(Nutrient agar, NA)、马铃薯葡萄糖培养基(Potato dextrose agar, PDA),均由北京陆桥技术有限责任公司制造。

(4)供试指示菌。

供试植物病原真菌的选取以宁夏重要农作物和经济作物常见病害为依据,植物病原真菌为小麦全蚀病菌(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*)、枸杞黑果病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporium* f. sp. *cucumeris*)、黄瓜立枯病菌(*Rhizoctonia solani*),由宁夏农科院植保所提供;供试指示细菌为革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),由西北农林科技大学无公害农药研究中心提供;革兰氏阴性菌大肠杆菌(*Escherichia coli*)、革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、革兰氏阴性菌铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),由宁夏医科大学附属医院检验科提供。

2. 方法

(1)内生真菌的分离与纯化。

内生真菌的分离采用组织块法,分离材料用自来水冲洗,然后依次用75%的酒精漂洗1 min,0.1%的升汞漂洗3 min,75%的酒精漂洗30 s,无菌水漂洗5次进行表面消毒。消毒后的材料用无菌手术剪剪成叶(2~5) mm×(2~5) mm,根和茎(5~10) mm 大小的片段,置于PDA平板上,用封口膜将培养皿密封,28℃进行避光培养3~5 d。同时采用组织印记法^[19],将表面消毒的植物组织片段不经剪切直接在培养基表面轻抹,相同条件下培养作为对照,培养3 d后对照培养基中无真菌长出,证明表面消毒彻底,分离到的真菌是植物内生真菌。每皿接4~5个样品,观察材料切口处长出菌丝(菌落),取切口处菌丝,转接至新的PDA培养基上继续培养,采用尖端菌丝挑取法对所分离的内生真菌进行纯化,纯化后转接到PDA斜面上编号并保存^[20,21]。

(2)内生真菌的形态观察与初步分类鉴定。

采用点植培养法进行菌落观察和常规镜检,从纯化培养3~5 d的菌落上挑取菌丝,连同分生孢子用乳酸石炭酸棉蓝染色液染色制成玻片,置于显微

镜下观察菌丝形态、孢子梗形态、孢子形态以及孢子与营养体着生关系,对照有关资料初步确定真菌的分类学地位至属^[22,23]。

(3)拮抗真菌的初步筛选。

采用对峙培养法对供试植物病原真菌的拮抗作用进行初筛^[24~26],将5种植物病原真菌分别接种于平板中央,内生真菌接种于平板边缘,相距25 mm,同时以只接病原真菌的平板作对照,处理和对照均重复3次,置于28℃下恒温避光培养4 d后,观察病原真菌菌落周围的变化,测定拮抗带宽度,以拮抗带宽度平均值的大小作为抑菌活性强弱的指标,初步筛选出对病原真菌生长具有抑制作用的内生真菌。对供试指示细菌的拮抗作用初步筛选采用改进的菌块法^[27~29],按无菌操作法分别接入2~3环供试指示细菌于培养皿中,取融化并保温在45℃左右的NA培养基倒入90 mm无菌培养皿中制成平板,轻轻以手搓法摇动使其混匀,待培养基稍微凝固后迅速用灭菌接种环取内生真菌菌块3~4块(直径约5 mm),分3~4点等距离均匀放置,距皿边缘距离不小于10 mm,小心放入培养基中,尽量使菌块带菌丝的一面贴在培养基表面,用封口膜密封后将培养皿置低温10℃下保持12~14 h,使菌块中的抗菌素扩散,再将皿置于28℃下恒温培养3~5 d,观察内生真菌菌落周围的抑菌圈,并测定抑菌圈直径。

(4)数据处理。

分离频率(Relative frequency of isolation, RF)指分离到的某一指定类型内生真菌的菌株数占分离总的内生真菌菌株数的百分率,用来判断该菌种是

否为植物内生菌群优势菌^[30]。

二、结果与分析

1. 内生真菌分离部位及菌株数量

从药用植物车前共分离到内生真菌13株,其中根部2株,占分离菌株总数的15.4%,茎部7株,占分离菌株总数的53.7%,叶部4株,占分离菌株总数的30.8%,见表1,从分离部位可以看出,分离的菌株数量茎部最多,其次为叶部和根部。

通过菌落和显微形态特征观察,将分离内生真菌初步鉴定为2个目,2个科,5个属,见表2,其中丝孢目有内生真菌9株,占分离菌株总数的69.2%,为优势菌群;在丝孢目中分离到的菌株分布于3个属,其中曲霉属有5株,分离频率为38.5%,为优势菌属;无孢目内生真菌4株,占分离菌株总数的30.8%,分离到的菌株分布于组丝核菌属和束丝菌属。

2. 内生真菌抑菌活性

(1)抗植物病原真菌指示菌活性分析。

通过对供试植物病原真菌拮抗试验,见表3,发现有11株菌对1种或多种植物病原真菌指示菌有不同程度的抑制作用,占分离菌株总数的84.6%,3株内生真菌分别对5种植物病原真菌指示菌具有明显的抑制作用,占菌株总数的23.1%,即菌株PAEFS001、PAEFS007、PAEFS008均对番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌、枸杞黑果病菌、黄瓜立枯病菌、小麦全蚀病菌5种植物病原真菌具有明显抑制作用;另外有5株菌对枸杞黑果病菌指示菌具有明显抑制作用,为分离菌株总数的38.5%。

表1 车前内生真菌分离部位及其菌株*

分离部位	根	菌株名称	茎	菌株名称	叶	菌株名称
菌株编号	PAEFR002	组丝核菌属	PAEFS001	束丝菌属	PAEFL001	梭孢霉属
	PAEFR003	梭孢霉属	PAEFS002	曲霉属	PAEFL002	青霉属
			PAEFS003	梭孢霉属	PAEFL003	组丝核菌属
			PAEFS004	曲霉属	PAEFL004	曲霉属
			PAEFS006	束丝菌属		
			PAEFS007	曲霉属		
			PAEFS008	曲霉属		
合计/株	2		7		4	
所占比例/%	15.4		53.8		30.8	

*: PA 车前; EF 内生真菌; R 根; S 茎; L 叶。

表2 车前内生真菌种群组成

目	科	属	合计/株	分离频率/%
无孢目 Agonomycetales	无孢科 Agonomycetaceae	组丝核菌属(<i>Phacodium</i> sp.)	2	15.4
		束丝菌属(<i>Ozonium</i> sp.)	2	15.4
丝孢目 Hyphomycetales	丛梗孢科 Moniliaceae	青霉属(<i>Penicillium</i> sp.)	1	7.7
		梭孢霉属(<i>Fusidium</i> sp.)	3	23.1
		曲霉属(<i>Aspergillus</i> sp.)	5	38.5

表3 车前内生真菌抑制植物病原真菌活性*

菌株编号	番茄灰霉病菌	黄瓜枯萎病菌	枸杞黑果病菌	黄瓜立枯病菌	小麦全蚀病菌
PAEFR002	-	-	-	-	++
PAEFR003	-	-	+	-	++
PAEFS001	+++	+++	+++	+++	+++
PAEFS002	-	-	++	-	-
PAEFS003	-	-	-	-	-
PAEFS004	-	++	+++	++	+++
PAEFS006	-	-	+++	-	-
PAEFS007	+++	+++	+++	+++	+++
PAEFS008	+++	+++	+++	+++	+++
PAEFL001	-	-	-	-	-
PAEFL002	-	-	++	-	-
PAEFL003	-	++	+	++	-
PAEFL004	-	-	-	++	-

* 拮抗带宽度大小为3次重复试验的平均值；+ 拮抗带宽度小于2 mm；++ 拮抗带宽度介于2~5 mm；+++ 拮抗带宽度大于5 mm；- 无拮抗活性。

(2) 抗细菌指示菌活性分析。

通过对供试细菌指示菌拮抗试验,见表4,发现6株内生真菌对1种或多种供试细菌指示菌具有不同程度的抑制作用,占分离菌株总数的46.2%,其中1株内生真菌PAEFS003分别对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌2种供试细菌指示菌有明显的抑制作用,占分离菌株总数的7.7%;另外,菌株PAEFL001、PAEFL002分别对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌有明显抑制作用,这可能与车前具有抗菌作用有关,同时表明车前内生真菌对供试细菌指示菌抑制作用具有一定的选择性。

从以上结果可以看出,车前

表4 车前内生真菌抑制细菌活性*

菌株编号	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌
PAEFR002	-	-	-	-
PAEFR003	-	-	-	-
PAEFS001	-	-	-	-
PAEFS002	+	-	+	-
PAEFS003	+++	-	+++	-
PAEFS004	++	-	-	-
PAEFS006	+	-	-	-
PAEFS007	-	-	-	-
PAEFS008	-	-	-	-
PAEFL001	-	-	+++	-
PAEFL002	+++	-	-	-
PAEFL003	-	-	-	-
PAEFL004	-	-	-	-

* 抑菌圈直径大小为3次重复试验的平均值；+ 抑菌圈直径小于10 mm；++ 抑菌圈直径10~15 mm；+++ 抑菌圈直径大于15 mm；- 无拮抗作用。

内生真菌具有广泛的抑菌作用,抑菌活性明显,对植物病原真菌抑制范围较宽,且对植物病原真菌产生拮抗作用的内生真菌菌株数多于对细菌具有拮抗作用的菌株数,同时所分离内生真菌对细菌抑菌活性具有一定的选择性。

(3)高活性菌株菌属分布。

抑菌活性试验结果显示,内生真菌菌株 PAEFS001、PAEFS007、PAEFS008 对供试 5 种植物病原真菌指示菌具有明显抑制作用,为高活性菌株,其中菌株 PAEFS001 在目水平上分布于无孢目,在科水平上分布于无孢科,在属水平上属于束丝菌属;菌株 PAEFS007、PAEFS008 在目水平上均分布于丝孢目,在科水平上均分布于丛梗孢科,在属水平上同属曲霉属;内生真菌菌株 PAEFS003 分别对供试 2 种细菌指示菌具有明显抑制作用,为高活性菌株,其在目水平上分布于丝孢目,在科水平上分布于丛梗孢科,属于梭孢霉属。

三、讨论

从目前已研究过的药用植物看,内生真菌在药用植物体内普遍存在。不同植物种类,内生真菌的种类和数量不同,即使是同一种植物,不同组织器官分离的内生真菌种类和数量也不同^[7]。对于一种植物而言,从中可分离到的内生真菌通常为数十种,有的甚至多达数百种^[31],造成这种差异可能与不同部位微环境等因素有关。另外,采用不同的表面消毒程序和分离培养基获得的内生真菌群落组成也有较大差异^[32]。本试验仅仅采用常规培养法进行培养,且为了确保分离菌株的内生性,消毒时间严格,可能造成许多内生真菌被杀死,供试药用植物车前中还可能存在未分离的内生真菌,同时由于内生真菌长期生活在植物体内,许多内生真菌尚不能人工培养,在后续试验中要进一步摸索更为合适的分离方法,保证内生真菌分离种类的多样性和可靠性。

药用植物内生真菌是一类重要的微生物资源,开发药用植物内生真菌,寻找新的抗菌活性物质具有重要的理论意义和实用价值。本试验采用对峙法(菌株活体或胞内活性物质)和改进的菌块法(胞内和胞外活性物质)进行植物病原真菌和病原细菌拮抗真菌活性试验,结果表明,大多数车前内生真菌对供试植物病原真菌具有不同程度的抑菌活性,尤

其是对枸杞黑果病菌抑菌活性菌株数量较多,且抑菌活性明显,同时分离的内生真菌对革兰氏阳性菌(枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌)抑菌活性也非常明显。孔阳等^[33]采用纸片扩散法利用不同溶剂对车前提取物进行抗菌活性研究,结果表明车前粗提物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、青霉和假丝酵母等常见致病菌抑制作用明显,并对常见植物病原菌黄瓜枯萎病菌、番茄灰霉病菌、苹果腐烂病菌、草莓镰刀菌、烟草赤星等有较好的抑制作用,这些在一定程度上支持本试验的结果,同时表明药用植物内生真菌是一类重要的生物资源,可以作为高效无毒、无公害的新型植物源抗菌剂进行研究。

药用植物车前内生真菌具有明显的抑菌活性,其与宿主植物化学成分及其药理作用具有密切的关系。吴萍茹等^[18]按常规方法从车前草茎部分离到一株拟青霉属内生真菌 W-90,其发酵液和粗提物具有一定的抗菌活性,并采用现代分离技术和波谱技术,对次级代谢产物进行深入研究,发现其为车前草的主要有效成分乌苏酸,其为五环三萜类化合物,具有抗炎、抗菌、抗肿瘤等生物活性^[1,34]。该事实表明,药用植物的生理活性物质也可以由该植物体分离所得的某些内生真菌产生。因此,从药用植物车前内生真菌寻找新的抑菌活性物质是可行的,通过对内生真菌的开发和利用,对提高药用植物车前的综合利用价值具有重要作用。

参考文献

- 1 李敏,程敏.中药车前草化学成份与药理研究新进展.现代中医药, 2005, 3(3):60~61.
- 2 童声,范杰平,徐薇等.江西道地药材车前草中总黄酮超声辅助提取研究.时珍国医国药, 2012, 23(3):553~555.
- 3 马原松.车前草的生物学特性及栽培技术.河南农业科学, 2006 (9):109~110.
- 4 夏道宗,陈佳,邹庄丹,马齿苋,车前草复合保健饮料的研制及其抗氧化作用研究.食品科学, 2009, 30(4):118~122.
- 5 Hyde K D, Soytong K. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, 2008, 33:163~173.
- 6 郭良栋.内生真菌研究进展.菌物系统, 2001, 20(1):148~152.
- 7 孙剑秋,郭良栋,藏威,等.药用植物内生真菌及活性物质多样性研究进展.西北植物学报, 2006, 26(7):1505~1519.
- 8 Li H Y, Qing C, Zhang Y, et al. Screening for endophytic fungi with antitumor and antifungal activities from Chinese medicinal plants. *World J Microb Biot*, 2005, 21(8-9):1515~1519.
- 9 Premjanu N, Jayanthi C. Endophytic fungi a repository of bioactive compounds-A review. *International Journal of Institutional Pharmacy*

- and Life Sciences, 2012, 2(1):135~162.
- 10 陈向东. 植物内生菌是有待深入开发的资源宝库. 微生物学通报, 2012, 39(2):282.
 - 11 杨亚军, 周秋贵, 曾红, 等. 车前草化学成分及新生物活性物质研究进展. 中成药, 2011, 33(10):1771~1776.
 - 12 张彤, 柳淑玉, 柳晨. 车前草的药理作用及临床应用进展. 时珍国医国药, 2005, 16(1):67.
 - 13 李小平, 朱培林, 曾志斌, 等. 车前栽培技术及相关研究进展. 江西林业科技, 2006(4):44~48.
 - 14 Makowczyńska J, Andrzejewska-Golec E. Micropropagation of *Plantago asiatica* L. through culture of shoot-tips. *Acta Societatis Botanicarum Poloniae*, 2003, 72(3):191~194.
 - 15 张雨良, 张智俊, 杨峰山, 等. 新疆盐生植物车前 PmNHX1 基因的克隆及生物信息学分析. 中国生物工程杂志, 2009, 29(1):27~33.
 - 16 胡生福, 雷俊萍. 车前种质资源遗传多样性 ISSR 分析. 安徽农业科学, 2012, 40(5):2681~2683.
 - 17 伍小红, 金山. 车前草果汁保健复合饮料的研制. 农产品加工, 2011(11):67~68.
 - 18 吴萍茹, 马旭闽, 方金瑞. 车前草内生真菌 W-90 次级代谢产物的研究. 海峡药学, 2005, 17(6):116~119.
 - 19 何佳, 刘笑洁, 赵启美, 等. 植物内生真菌分离方法的研究. 食品科学, 2009, 30(15):180~183.
 - 20 陈苹, 戴好富, 解修超, 等. 海南粗榧内生真菌的分离与初步鉴定. 微生物学通报, 2008, 35(9):1455~1460.
 - 21 姜国银, 杨本寿, 虞泓. 两种植物内生菌分离的影响因素研究. 云南大学学报(自然科学版), 2011, 33(5):610~614.
 - 22 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1982:405~649.
 - 23 巴尼特 H L, 亨特 B B 著. 沈崇尧译. 半知菌属图解. 北京: 科学出版社, 1977:64~211.
 - 24 袁保红, 杜青平, 邓祖军. 小连翘内生真菌种群分布及其抗菌性研究. 广东药学院学报, 2007, 23(3):307~311.
 - 25 王建美, 田呈明, 过颂新, 等. 黄栌根内生真菌分离鉴定及拮抗真菌筛选. 菌物研究, 2008, 6(1):35~39.
 - 26 蔡永欣, 花日茂, 柏钰, 等. 喜树内生真菌的分离及其对植物病原菌的抑制作用测定. 安徽农业大学学报, 2010, 37(4):748~752.
 - 27 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术. 西安: 世界图书出版公司, 2000:104~105.
 - 28 孙奎, 苏印泉. 无花果内生真菌的抑菌活性研究. 安徽农业科学, 2010, 38(23):12455~12459.
 - 29 何璐, 纪明山, 王勇, 等. 一株苦参内生真菌的抑菌特性及活性成分的结构鉴定. 中国农业科学, 2011, 44(15):3127~3133.
 - 30 黄芳, 韩婷, 秦路平. 牡荆内生真菌的分离与鉴定. 中国中药杂志, 2011, 36(14):1945~1950.
 - 31 邹文欣, 谭仁祥. 植物内生菌研究进展. 植物学报, 2001, 43(9):881~892.
 - 32 Schulz B, Wanke U, Draeger S, et al. Endophytes from herbaceous plants and shrubs: effectiveness of surface sterilization methods. *MycolRes*, 1993, 97(12):1447~1450.
 - 33 孔阳, 马养民, 李彦军, 等. 车前草提取物抗菌活性研究. 中国酿造, 2010(10):151~153.
 - 34 付少彬, 杨俊山, 崔晋龙, 等. 药用植物内生菌对乌苏酸的微生物转化筛选. 中国药理学杂志, 2011, 46(16):1225~1228.

Isolation of Endophytic Fungus from *Plantago Asiatica* L. and Its Microbial Inhibition Activity

Bi Jiangtao¹, He Ping², Wang Xiaoxia², Wang Jing¹, Guan Xiaoqing³

(1. Research and Development Center for New Techniques, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;

2. College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;

3. School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: This study was aimed to explore the resource diversity and microbial inhibition activity of endophytic fungi from medicinal plant *Plantago asiatica* L. The endophytic fungi were isolated from the root, stem and leaf of the host by tissue inoculation culture and five plant pathogenic fungi and four bacteria strains used as indicating microbes to test microbial inhibition activity by agar plate antagonistic action and modified agar gel diffusion methods. The results indicated that thirteen fungal endophytic strains were isolated from the host. Most of them came from stem, then leaf, and root as the least in number. The isolated strains attribute to five genera, two families, and two orders based on morphological characteristics. For the isolated strains, eleven of them were found to have some microbial inhibition activities against one or more indicating fungi, making up 84.6% of the total isolates. Six isolated strains had some antimicrobial activities against one or more indicating bacteria, amounting to 46.2% of the total isolates. Three isolated active strains, which are PAEFS001, PAEFS007 and PAEFS008, ex-

hibited evident inhibition activities against five kinds of pathogenic fungi used in the trials respectively. The strain of PAEFS001 ascribed to *Ozonium* sp. Both strains of PAEFS007 and PAEFS008 ascribed to *Aspergillus* sp. One active strain of PAEFS003 showed evident antibacterial activities to *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*, which belonged to *Fusidium* sp. The endophytic fungi from medicinal plant *Plantago asiatica* L. have evident antimicrobial activities. Their inhibition activities against pathogenic fungi have relatively broad spectrum. And their inhibition activities to both *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* as G+ are evident and have certain selectivity. It is feasible to find new bioactive compounds associated with endophytic fungi from *Plantago asiatica* L. Further research and development of the endophytic fungi will be important for the integrated utilization of the host.

Keywords: Medicinal plant, *Plantago asiatica* L., endophytic fungi, isolation, inhibition activity

(责任编辑:叶丽萍 张志华,责任译审:王 晶)