

浙江天目山和建德地区产银杏中内生真菌多样性的比较研究

贾敏[#], 蒋益萍[#], 张伟, 于洪升, 明乾良, 韩婷, 秦路平^{*}

第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433

摘要: **目的** 比较银杏内生真菌在浙江天目山地区和建德地区以及在同一地区雄株与雌株银杏中的种群结构。**方法** 利用PDA培养基对采集自天目山地区和建德地区以及天目山地区雄株和雌株的银杏内生真菌分别进行分离、纯化, 根据菌株群落的培养特征及5.8S和ITS区片段序列相似性比较和系统发育分析, 进行菌株鉴定。**结果** 从天目山地区和建德地区分别分离得到440、382株内生真菌。天目山地区内生真菌归属到9目、14科、19属、28种; 建德地区内生真菌归属到8目、10科、11属、26种。银杏各组织部位内生真菌的数量和种类按由多到少排序: 枝条>树皮>叶。天目山地区雄株银杏内生真菌在定殖率和菌株个数上均高于雌株银杏。**结论** 银杏内生真菌具有极其丰富的物种多样性, 天目山地区银杏内生真菌在种类和数量上均多于建德地区。天目山地区雌雄株银杏在菌种种类和数量上存在差异, 雄株银杏内生真菌在菌种数量上具有一定的优势。

关键词: 银杏; 内生真菌; 多样性

中图分类号: R282.4

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2014)03-0262-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.03.011

Comparison on diversity of endophytic fungi from *Ginkgo biloba* in Tianmu Mountain and Jiande area

JIA Min, JIANG Yi-ping, ZHANG Wei, YU Hong-sheng, MING Qian-liang, HAN Ting, QIN Lu-ping

Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: Objective To compare endophytic fungi isolated from *Ginkgo biloba* in Tianmu Mountain and Jiande area of Zhejiang province, and to compare the male and female plant population structures in Tianmu Mountain. **Methods** PDA medium was used to separate and purify the endophytic fungi in *G. biloba* from Tianmu Mountain area and Jiande area, as well as male and female samples in Tianmu Mountain area. The collected endophytic fungi were identified by morphology, 5.8S, and ITS sequences. **Results** Endophytic fungi (440 strains) were isolated from Tianmu Mountain area and belonged to 28 species, 19 genera, 14 families, and 9 orders, and 382 Strains of endophytic fungi were isolated from Jiande area and belonged to 26 species, 11 genera, 10 families, and 8 orders. The amount and species of endophytic fungi in different tissues of *G. biloba* ranked from more to less as branch > bark > leaf. In *G. biloba* of Tianmu Mountain area, the endophytic fungi colonization rate and strain amount of male plants were higher than those in female plants. **Conclusion** Endophytic fungi from *G. biloba* show a great diversity. The endophytic fungi amount and species from *G. biloba* in Tianmu Mountain area are more than those in Jiande area. There are also differences in endophytic fungi amount and species between male and female *G. biloba* in Tianmu Mountain area.

Key words: *Ginkgo biloba* L.; endophytic fungi; diversity

银杏 *Ginkgo biloba* L. 又称白果树, 为裸子植物亚门银杏纲银杏目银杏科银杏属多年生木本植物^[1], 素有裸子植物“植物界熊猫”和“活化石”之称^[2-3]。

银杏是传统的药用植物, 已阐明的药理作用包括抗过敏、抗衰老、抗血小板活化因子、抗氧化、抗菌等, 尤其银杏制剂对心脑血管的确切作用已使其成

收稿日期: 2013-09-12

作者简介: 贾敏 (1981—), 讲师, 在职博士, 主要从事内生真菌与药用植物品质相关性研究。E-mail: jm7.1@163.com

蒋益萍 (1987—), 助教, 在职硕士, 主要从事中药资源及品质评价研究。E-mail: msjyp@163.com

*通信作者 秦路平 Tel: (021)81871300 E-mail: qinmmu@126.com

[#]并列第一作者

为目前全球销售量最高的植物药之一。内生真菌是指在生活史中的某一个阶段或整个阶段生活在植物组织内,对植物组织没有引起明显病害症状的真菌^[4-7]。它广泛存在于不同种类、不同地域的植物组织内。从目前的报道看,所有被研究过的植物都有内生真菌的存在,包括种子植物^[4]、裸子植物^[8-9]、蕨类^[10]、藻类^[10]、地衣^[11]和苔藓^[12]。本课题组对银杏内生真菌进行了研究,发现了一些具有特殊活性以及能够产生特殊化合物的菌种^[13]。本研究拟对浙江天目山地区及建德地区产银杏内生真菌进行大样本量的采集、分离及比较,同时对天目山地区雌株和雄株内生真菌也进行比较,以了解不同生态条件对内生真菌多样性的影响。

1 材料

1.1 样品与仪器

银杏样品于2009年5月采自浙江天目山地区,2009年5月采自浙江建德地区,经第二军医大学药学院生药学教研室秦路平教授鉴定为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L.。5333型PCR仪(德国Eppendorf公司)。

1.2 培养基

PDA培养基:蒸馏水1L,马铃薯200g,葡萄糖20g,琼脂15g。

1.3 DNA提取试剂

CTAB提取缓冲液(0.1 mol/L Tris-HCl, pH 8.0, 1.4 mol/L NaCl, 2% CTAB, 20 mmol/L EDTA), TE缓冲液(1 mmol/L EDTA, 10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0)。

1.4 PCR所用材料

Taq DNA polymerase, MgCl₂, 10×PCR Buffer, dNTPs Mix, 引物ITS 4、ITS 5均由上海生工生物工程有限公司提供。

2 方法

2.1 内生真菌的分离

将新采来的银杏植株在纯蒸馏水下冲洗干净(除去表面的尘土和杂质),用无菌滤纸吸干表面的水分,放入超净台中,做消毒处理:70%乙醇漂洗1 min, 2.5%次氯酸钠溶液漂洗3 min, 70%乙醇漂洗30 s, 无菌水浸泡30 s, 无菌滤纸吸干表面水分。将消毒过的植株切成0.6 cm×0.6 cm的组织块,每4个组织块放于含有50 μg/mL青霉素(用来抑制细菌的生长)的PDA培养基平板中。将其封口,并在恒温(26℃)条件下培养1个月,观察生长情况。

待菌落从组织块周围长出后,转移到新的PDA培养皿上培养,分离纯化后的菌株在2% PDA斜面上培养保存。

2.2 内生真菌的分子鉴定

2.2.1 DNA提取及PCR扩增 按照Guo等^[11]方法进行基因组DNA的提取。内生真菌的ITS和5.8S基因通过引物ITS 5(5' GGAAGTAAAAGTCGTAA CAAGG 3')和ITS 4(5'TCCTCCGCTTATTGATAT GC3')进行扩增。PCR扩增在PCR仪中进行。50 μL PCR反应体系包括:5 μL 10×PCR反应buffer, 1 μL DNA模板, 4 μL 25 mmol/L MgCl₂, 正向和反向引物4 μL 10 mol/L dNTP, 1 μL 10 μmol/L, 0.2 μL 2.5 U的Taq DNA酶, 33.5 μL灭菌水。PCR反应循环参数为:95℃、3 min, 94℃、40 s, 52℃、50 s, 72℃、1 min, 35个循环;72℃、10 min。PCR产物经溴化乙啶(0.5 μg/mL)染色的1%琼脂糖凝胶电泳检测后交由上海申速生物技术有限公司进行序列测定。

2.2.2 序列数据分析 每个形态型菌株的ITS和5.8S基因为靶序列,在GenBank数据库中用Blast程序来搜索序列。挑选与形态型序列最相近的参考序列,用于系统发育分析。5.8S基因和ITS区序列通过Clustal X1.81程序来进行序列间的匹配排序^[15]。这些被匹配排序后的数据,用Clustal X1.81作邻接法(Neighbor joining, NJ)分析,随机挑取1个序列,重复比对1 000次,保存其中遗传距离最短的系统发育树^[16]。在系统的进化分析中,碱基之间的空缺(gaps)作为碱基的缺失处理(missing),所有的碱基状态为无序并且不加权。

2.3 数据分析

对不同地区及同一地区不同雌株和雄株得到的银杏内生真菌进行定殖率、分离率、相对频率等指标进行统计。相对频率指所有样品中分离到的某种内生真菌的菌株数占分离到总菌株数的比率。分离频率指单个植株中分离到的某一指定类型内生真菌的菌株数占这个植株中分离得到总的内生真菌菌株数的比率^[17]。

3 结果

3.1 银杏不同产地内生真菌的组成

在采集的天目山地区银杏中分离得到内生真菌440株,经鉴定属9目14科19属28种;建德地区银杏中分离得到的内生真菌382株,经鉴定属8目10科11属26种,见表1、2。

表 1 天目山地区银杏内生真菌鉴定结果

Table 1 Identification of endophytic fungi from *G. biloba* in Tianmu Mountain area

菌种号	鉴定结果	菌种号	鉴定结果
T1	<i>Nectria</i> sp.	T15	<i>Phoma macrostoma</i>
T2	<i>Bjerkandera adusta</i>	T16	<i>Fusarium tricinctum</i>
T3	<i>Xylaria</i> sp.	T17	<i>Pestalotiopsis clavispora</i>
T4	<i>Myrothecium</i> sp.	T18	<i>Phomopsis eucommicola</i>
T5	<i>Bionectria ochroleuca</i>	T19	<i>Chaetomium globosum</i>
T6	<i>Fusarium</i> sp.	T20	<i>Diaporthe melonis</i>
T7	<i>Phaeosphaeria</i> sp.	T21	<i>Botryosphaeria dothidea</i>
T8	<i>Phoma herbarum</i>	T22	<i>Fusarium solani</i>
T9	<i>Amphisphaearaceae</i> sp.	T23	<i>Phomopsis liquidambari</i>
T10	<i>Fusarium proliferatum</i>	T24	<i>Phomopsis fukushii</i>
T11	<i>Phoma glomerata</i>	T25	<i>Pestalotiopsis</i> sp.
T12	<i>Leptosphaeria microscopica</i>	T26	<i>Trichoderma atroviride</i>
T13	<i>Hypocrea lixii</i>	T27	<i>Alternaria</i> sp.
T14	<i>Glomerella acutata</i>	T28	<i>Fusarium equiseti</i>

表 2 建德地区银杏内生真菌鉴定结果

Table 2 Identification of endophytic fungi from *G. biloba* in Jiande area

菌种号	鉴定结果	菌种号	鉴定结果
J1	<i>Coprinellus radians</i>	J14	<i>Irpex lacteus</i>
J2	<i>Phomopsis</i> sp.	J15	<i>Diaporthe</i> sp.
J3	<i>Trametes versicolor</i>	J16	<i>Diaporthe melonis</i>
J4	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	J17	<i>Fusarium</i> sp.2
J5	<i>Botryosphaeria</i> sp.	J18	<i>Mucor racemosus</i>
J6	<i>Fusarium solani</i>	J19	<i>Fusarium</i> sp.1
J7	<i>Phomopsis camptothecae</i>	J20	<i>Phomopsis liquidambari</i>
J8	<i>Bionectria</i> sp.	J21	<i>Fusarium oxysporum</i>
J9	<i>Trametes hirsuta</i>	J22	<i>Phomopsis quercella</i>
J10	<i>Phomopsis</i> sp.2	J23	<i>Diaporthe phaseolorum</i>
J11	<i>Fusarium</i> sp.4	J24	<i>Fusarium lacertarum</i>
J12	<i>Chaetomium</i> sp.	J25	<i>Schizophyllum commune</i>
J13	<i>Fusarium</i> sp.5	J26	<i>Fusarium</i> sp.3

3.2 天目山地区和建德地区银杏内生真菌不同组织部位比较

2009 年 5 月分别采自天目山地区和建德地区各 20 株银杏进行内生真菌的分离, 对菌种种类、分离的菌株数和分离组织部位进行统计, 结果见表 3、4。

建德地区叶的优势菌为 *Coprinellus radians*、*Fusarium oxysporum*, 分别占建德地区银杏内生真

菌总数的 0.9%、1.3%; 天目山地区叶优势菌为 *Pestalotia psis* sp.、*Pestalotiopsis clavispora*, 分别占天目山银杏内生真菌总数的 1.6%、2.0%。从内生真菌种类上来看, 天目山和建德地区银杏叶的内生真菌在种类上存在明显的差异; 从分离数量来看, 两地区银杏叶分离得到的内生真菌数量均较少, 各自分离内生真菌总数的 4% 左右。

表 3 天目山和建德地区银杏不同组织部位分离得到内生真菌的相对频率

Table 3 Relative frequency of endophytic fungi isolated from different tissues of *G. biloba* in Tianmu Mountain and Jiande areas

菌 种	天目山产银杏组织内生真菌相对频率/%			建德产银杏组织内生真菌相对频率/%		
	叶	枝条	树皮	叶	枝条	树皮
<i>Amphisphaearaceae</i> sp.	—	—	0.2	—	—	—
<i>Xylaria</i> sp.	—	0.2	—	—	—	—
<i>Trichoderma atroviride</i>	—	1.5	—	—	—	—
<i>Trametes hirsuta</i>	—	—	—	0.3	—	—
<i>Trametes versicolor</i>	—	—	—	0.2	—	—
<i>Schizophyllum commune</i>	—	—	—	0.3	—	—
<i>Phomopsis</i> sp.1	—	0.9	—	—	—	—
<i>Phomopsis</i> sp.2	—	—	—	—	4.2	—
<i>Phomopsis</i> sp.3	—	—	—	—	1.8	—
<i>Phomopsis quercella</i>	—	—	—	—	5.8	—
<i>Phomopsis liquidambari</i>	—	0.2	—	—	3.1	—
<i>Phomopsis fukushii</i>	—	21.7	0.7	—	5.8	—
<i>Phomopsis camptothecae</i>	—	—	—	—	3.4	—
<i>Phoma macrostoma</i>	—	0.9	—	—	—	—
<i>Phoma herbarum</i>	0.7	0.9	—	—	—	—
<i>Phoma glomerata</i>	—	4.1	—	—	—	—
<i>Phaeosphaeria</i> sp.	—	—	2.3	—	—	—
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	1.6	0.2	—	—	8.1	—
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	2.0	0.7	0.7	—	—	—
<i>Nectria</i> sp.	—	1.6	—	—	—	—
<i>Mucor racemosus</i>	—	—	—	—	—	9.5
<i>Myrothecium</i> sp.	—	0.2	—	—	—	—
<i>Leptosphaeria microscopica</i>	0.7	0.9	—	—	—	—
<i>Irpex lacteus</i>	—	—	—	0.3	—	—
<i>Hypocrea lixii</i>	—	0.9	—	—	—	—
<i>Glomerella acutata</i>	—	0.7	—	—	—	—
<i>Fusarium</i> sp.1	—	—	—	—	—	1.8
<i>Fusarium</i> sp.2	—	—	—	—	2.1	—
<i>Fusarium</i> sp.3	—	—	—	—	—	1.0
<i>Fusarium</i> sp.4	—	—	—	—	—	1.8
<i>Fusarium</i> sp.5	—	—	—	—	—	0.3
<i>Fusarium tricinctum</i>	—	5.2	1.6	—	—	—
<i>Fusarium solani</i>	—	—	4.5	—	—	8.9
<i>Fusarium proliferatum</i>	—	0.7	10.5	—	—	4.7
<i>Fusarium oxysporum</i>	—	—	2.3	1.3	—	10.2
<i>Fusarium lacertarum</i>	—	—	—	—	—	2.4
<i>Fusarium equiseti</i>	—	0.7	—	—	—	—
<i>Diaporthe</i> sp.	—	—	—	0.3	2.1	—
<i>Diaporthe phaseolorum</i>	—	—	—	—	4.5	—

续表 3

菌 种	天目山产银杏组织内生真菌相对频率/%			建德产银杏组织内生真菌相对频率/%		
	叶	枝条	树皮	叶	枝条	树皮
<i>Diaporthe melonis</i>	—	1.0	—	—	11.0	—
<i>Coprinellus radians</i>	—	—	—	0.9	—	—
<i>Chaetomium</i> sp.	—	—	—	—	—	3.0
<i>Chaetomium globosum</i>	—	0.7	—	—	—	—
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	—	1.1	—	—	—	—
<i>Bjerkandera adusta</i>	—	—	8.6	—	—	—
<i>Fusarium proliferatum</i>	—	0.7	—	—	—	—
<i>Bionectria</i> sp.	—	—	—	—	—	1.0
<i>Bionectria ochroleuca</i>	—	—	4.5	—	—	—
<i>Alternaria</i> sp.	—	11.6	—	—	—	—
<i>Fusarium</i> sp.6	1.1	—	0.2	—	—	—

表 4 建德地区与天目山银杏各组织部位分离的内生真菌菌株数量比较

Table 4 Comparison on amounts of endophytic fungi isolated from different tissues of *G. biloba* in Tianmu Mountain and Jiande areas

组织	数量/个	
	天目山	建德
树叶	15	26
枝条	200	255
树皮	169	161

建德地区枝条中的优势菌为 *Pestalotiopsis* sp.、*Diaporthe melonis*, 分别占建德地区银杏内生真菌总数的 8.0%、11.0%; 天目山地区枝条优势菌为 *Alternaria* sp.、*Phomopsis fukushii*, 分别占天目山银杏内生真菌总数的 11.6%、21.6%。天目山银杏枝条中的菌株在菌株数量和菌种种类上都多于建德地区。

建德地区树皮中的优势菌为 *Fusarium solani*、*Mucor racemosus* 和 *Fusarium oxysporum*, 分别占建德地区银杏内生真菌总数的 8.9%、9.3%、10.2%。天目山地区树皮中的优势菌为 *Bjerkandera adusta*、*Fusarium proliferatum* 分别占天目山银杏内生真菌总数的 8.6%、10.5%。天目山和建德地区银杏树皮中的菌株在菌种种类上存在明显差异; 从数量上看, 建德地区银杏树皮中内生真菌较多。

从属的水平上看建德地区 *Pestalotiopsis*、

Mucor、*Diaporthe*、*Phomopsis*、*Fusarium* 5 个属的内生真菌分别占建德地区总菌株数的 8%、9%、11%、25%、35%, 为优势菌; 而天目山地区 *Phoma*、*Bjerkandera*、*Alternaria*、*Phomopsis*、*Fusarium* 5 个属的内生真菌分别占天目山总菌株数的 7%、9%、12%、24%、27%, 为优势菌。*Phomopsis*、*Fusarium* 两个属的内生真菌在两个地区均为优势菌。

由此可知, 银杏各组织部位内生真菌的数量和种类按由多到少排序为: 枝条>树皮>叶。天目山地区的银杏内生真菌在定殖率、内生真菌数量方面均比建德地区要高。

3.3 天目山地区雌株和雄株银杏比较

采集了天目山地区雌株和雄株银杏各 20 株, 对分离得到的内生真菌数量、种类进行了统计和分析, 结果见表 5。可以看出 *Trichoderma atroviride*、*Phomopsis fukushii*、*Leptosphaeria microscopica* 和 *Fusarium tricinctum* 4 株银杏内生真菌在雌株和雄株上的分布有着明显的差异。雄株银杏内生真菌无论在定殖率和菌种数量上均有一定的优势。从雌株上分离得到的 *Phomopsis fukushii* 菌株明显多于雄株, 而从雄株上分离得到的 *Fusarium tricinctum* 菌株明显多于雌株。*Leptosphaeria microscopica* 和 *Trichoderma atroviride* 2 株菌株分离数量较多并且仅在雄株银杏枝条上分离得到。

4 讨论

本实验采集建德地区和天目山地区以及天目山地区雌株和雄株银杏, 分别进行内生真菌的分离和

表 5 天目山地区不同种类银杏各个组织部位分离得到的内生真菌的相对频率

Table 5 Relative frequency of endophytic fungi isolated from different tissues of *G. biloba* in Tianmu Mountain area

菌 种	相对频率/%			
	雄株枝条	雄株树皮	雌株枝条	雌株树皮
<i>Alternaria alternata</i>	13.3	13.6	—	—
<i>Amphisphaearaceae</i> sp.	—	—	1.5	—
<i>Bjerkandera adusta</i>	—	—	28.6	34.2
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	1.4	0.2	—	—
<i>Fusarium equiseti</i>	2.2	—	—	—
<i>Fusarium proliferatum</i>	1.1	—	21.6	20.0
<i>Fusarium</i> sp.6	—	—	—	2.9
<i>Fusarium tricinctum</i>	17.5	2.8	9.8	5.0
<i>Fusarium solani</i>	—	—	23.2	30.0
<i>Glomerella acutata</i>	2.2	—	—	—
<i>Leptosphaeria microscopica</i>	4.0	—	—	—
<i>Myrothecium</i> sp.	1.1	0.4	—	—
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	0.7	1.3	1.4	5.0
<i>Pestalotiopsis sydowia</i>	—	0.3	—	—
<i>Phaeosphaeria</i> sp.	—	—	9.8	2.9
<i>Phoma glomerata</i>	8.2	7.5	—	—
<i>Phoma herbarum</i>	1.1	2.4	—	—
<i>Phoma macrostoma</i>	—	2.9	—	—
<i>Phomopsis camptothecae</i>	12.1	6.0	—	—
<i>Phomopsis fukushii</i>	24.6	58.3	2.8	—
<i>Phomopsis liquidambari</i>	—	1.2	0.1	—
<i>Phomopsis</i> sp.1	2.2	1.5	1.4	—
<i>Trichoderma atroviride</i>	5.9	—	—	—
<i>Xylaria</i> sp.	0.6	—	—	—

鉴定, 通过比较得知天目山地区所分离出的银杏内生真菌在种类和数量上多于建德地区, 天目山自然条件优越, 生物资源丰富, 属亚热带湿润型季风气候, 年均气温 16 ℃, 平均降水量 1 400 mm。建德地区属亚热带北缘季风气候, 年平均气温 17.4 ℃, 年均总降水量 1 600 mm。研究表明, 不同地区银杏内生真菌在数量和种类上的差异受地理环境、温度、湿度、光照等综合因素的影响^[15-16]。在浙江省天目山地区野生状态的银杏分布广泛, 是否因为银杏中的内生真菌具有保护宿主植物的能力, 是否能从银杏内生真菌中筛选出具有生物防治功能的菌株, 将有待进一步研究分析。

银杏为雌雄异株植物, 其雄株和雌株内生真菌是否存在差异, 值得探讨。根据银杏产地及不同性

别植株所分离的内生真菌种类的差异, 可以对银杏内生真菌进行次生代谢产物的分离。本实验对天目山地区雌株和雄株银杏进行了内生真菌的分离, 对分离得到的内生真菌在数量和种类上进行了分析, 雄株的银杏树皮和枝条当中分离到的内生真菌在数量上均多于雌株银杏, 从雄株上分离得到的 *Fusarium tricinctum* 多于雌株, 而从雌株上分离得到 *Phomopsis fukushii* 多于雄株。说明对一些雌雄异株植物内生真菌的研究中, 要充分考虑植株性别这一特殊因素, 避免雌雄株内生真菌的差异对于实验结果产生的影响。

参考文献

- [1] 林清洪, 黄维南, 林光荣, 等. 银杏资源的合理开发与利用 [J]. 福建农业科技, 2006, 28(3): 15-16.

- [2] 崔月菱, 施建芝, 王梅荣, 等. 银杏资源的开发利用 [J]. 河北林业技术, 1995, 23(2): 47-49.
- [3] 梁立兴, 李虹, 李少能, 等. 我国银杏茶开发的现状 [J]. 林业科技通讯, 1999, 29(10): 9-10.
- [4] D'Amico M, Frisullo S, Cirulli M. Endophytic fungi occurring in fennel, lettuce, chicory, and celery-commercial crops in southern Italy [J]. *Mycol Res*, 2008, 112(Pt 1): 100-107.
- [5] Jiang S, Qian D W, Yang N Y, *et al.* Biodiversity and antimicrobial activity of endophytic fungi in *Angelica sinensis* [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(4): 264-271.
- [6] 毕江涛, 何萍, 吕雯, 等. 桃儿七内生真菌分离及其抑菌活性初步研究 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1667-1672.
- [7] 李艳玲, 王德才, 史仁玖, 等. 泰山黄精内生真菌的分离鉴定及抑菌活性研究 [J]. 中草药, 2013, 44(11): 1490-1494.
- [8] Wang Y, Guo L D. A comparative study of endophytic fungi in needles, bark, and xylem of *Pinus tabulaeformis* [J]. *Canadian J Bot*, 2007, 85(10): 911-917.
- [9] Kriel W M, Swart W J, Crous P W. Foliar endophytes and their interactions with host plants, with specific reference to the gymnospermae [J]. *Adv Bot Res*, 2000, 33: 1-34.
- [10] Zuccaro A, Schoch C L, Spatafora J W, *et al.* Detection and identification of fungi intimately associated with the brown seaweed *Fucus serratus* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74(4): 931-941.
- [11] Li W C, Zhou J, Guo S Y, *et al.* Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China [J]. *Fungal Diversity*, 2007, 25: 69-80.
- [12] Davis E C, Franklin J B, Shaw A J, *et al.* Endophytic *Xylaria* (Xylariaceae) among liverworts and angiosperms: phylogenetics, distribution, and symbiosis [J]. *Am J Bot*, 2003, 90(11): 1661-1667.
- [13] 于洪升, 李琳, 韩婷, 等. 银杏内生真菌的分离鉴定及其生物活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16): 2133-2137.
- [14] Guo L D, Huang G R, Wang Y, *et al.* Molecular identification of white morphotype strains of endophytic fungi from *Pinus tabulaeformis* [J]. *Mycol Res*, 2003, 107(6): 680-688.
- [15] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, *et al.* The CLUSTAL-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [16] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. *Mol Biol Evol*, 1987, 4(4): 406-425.
- [17] Gange A C, Dey S, Currie A F, *et al.* Site- and species-specific differences in endophyte occurrence in two herbaceous plants [J]. *J Ecol*, 2007, 95(4): 614-622.
- [18] Salminen S O, Richmond D S, Grewal S K. Influence of temperature on alkaloid levels and fall armyworm performance in endophytic fall fescue and perennial ryegrass [J]. *Entomol Ex Appl*, 2005, 115: 417-426.
- [19] Bills G F, Polishook J D. Recovery of endophytic fungi from *Chamaecyparis thyoides* [J]. *Sydowia*, 1992, 44: 1-12.