

桃儿七内生真菌分离及其抑菌活性初步研究

毕江涛¹, 何萍², 吕雯¹, 关晓庆³, 贺达汉³

1. 宁夏大学 新技术应用研究开发中心, 宁夏 银川 750021

2. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021

3. 宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021

摘要: 目的 探明桃儿七内生真菌资源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5种植物病原真菌和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 从桃儿七根、茎、叶中分离出49株内生真菌, 根部最多, 22株, 其次为茎部, 18株, 叶部最少, 9株; 经形态学分类鉴定归于2个目, 3个科, 9个属, 梭孢霉属为优势菌属; 有22株菌对1种或多种供试植物病原真菌有不同程度的抑制作用, 占分离菌株数的44.8%, 有8株菌对2种或多种供试植物病原真菌有明显的抑制作用, 其占所分离菌株总数的16.3%, 有3株菌对4种或多种供试植物病原真菌有明显抑制作用, 2株内生真菌分别对2种供试指示细菌具有明显的抑制作用。结论 桃儿七内生真菌具有多样性和明显的抗外源真菌活性, 抑菌活性菌株主要分布在曲霉属、单孢枝霉属、梭孢霉属, 其内生真菌的研究和开发具有重要的生态和经济意义。

关键词: 桃儿七; 内生真菌; 分离; 抑菌活性; 梭孢霉属

中图分类号: R282.15 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)12-1667-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.12.028

Study on isolation of endophytic fungi from *Sinopodophyllum hexandrum* and their antimicrobial activities

BI Jiang-tao¹, HE Ping², LV Wen¹, GUAN Xiao-qing³, HE Da-han³

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: Objective To explore the resource diversity of endophytic fungi from the endangered *Sinopodophyllum hexandrum* and its antimicrobial activity. **Methods** The endophytic fungi were isolated by tissue block method. Five pathogenic fungi and four bacteria were used as indicators to test the antimicrobial activity by agar plate antagonistic action and improved agar gel diffusion methods. **Results** The results indicated that 49 endophytic fungi strains were isolated from the roots, stems, and leaves of *S. hexandrum*, the most was from the roots (22), then from the stems (18), but the least was from the leaves (19); The isolated strains attributed to nine genera, three families, and two orders, and *Fusidium* sp. was the dominant genera based on morphological characters; For the isolated strains, 22 of them expressed the inhibition to one or more pathogenic fungi, amounting to 44.8% of the total isolates, and eight strains were found to have significant inhibition against two or more pathogenic fungi, making up 16.3% of the total isolated strains, and three isolated endophytic fungal strains showed the evident inhibition against four or more indicating pathogenic fungi, and the two isolated strains showed the obvious antibacterial activity against the two indicating bacteria. **Conclusion** The endophytic fungi isolated from *S. hexandrum* have the diversity and evident inhibition against exterior fungi, active strains belong to the fungi of *Aspergillus* sp., *Hormodendrum* sp., and *Fusidium* sp., respectively, and its research and development are of ecological and economic significances.

Key words: *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying; endophytic fungi; isolation; antimicrobial activity; *Fusidium* sp.

桃儿七 (*Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying) 主要分布在宁夏、陕西、甘肃、青海、西藏、四川、云南各省, 药用部分根和茎含鬼臼毒素 (podophyllotoxin), 其糖苷衍生物是治疗睾丸癌、

收稿日期: 2012-09-25

基金项目: 宁夏科技攻关项目 (宁科计字 2010168)

作者简介: 毕江涛 (1964—), 男, 副研究员, 博士, 主要从事微生物生态与微生物资源研究。E-mail: jiangtaobi@hotmail.com

淋巴瘤、白血病、小细胞肺癌的重要药物^[2-3]。由于该物种野生资源稀少，加上过度采挖，从而导致其种群数量急剧减少，已被列入《中国珍稀植物名录》，并被《中国植物红皮书》收录^[4]。

目前，在濒危药用植物资源稀缺的情况下，筛选具有活性的内生真菌作为药用植物替代资源的研究已经成为热点^[5]。内生真菌对植物生长发育进行积极调控，具有促生抗逆等重要生物学功能^[6-7]，并能产生与宿主相同或相似的生理活性物质，有抗菌、抗肿瘤、免疫抑制、抗氧化、杀虫、除草等生物活性^[8-16]。根据植物-内生菌共生原理和宿主生物学特性，该实验对濒危药用植物桃儿七内生真菌进行分离，并对具有抗菌活性的菌株进行初步筛选，从而为桃儿七内生真菌资源的开发利用提供依据。

1 材料

桃儿七 *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying 于 2011 年 8 月初采自宁夏泾源县，由笔者鉴定。地理位置东经 106°12'57.1"，北纬 35°28'41.4"，海拔高度 2 607 m。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 24 h 内进行表面消毒。以营养琼脂 (nutrient agar, NA)、马铃薯葡萄糖琼脂 (potato dextrose agar, PDA) 为培养基；供试植物病原真菌的选取以造成宁夏当地主要农作物和经济作物常见病害为依据，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* 由宁夏农林科学院植物保护研究所提供；供试指示细菌选取革兰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；革兰阴性菌大肠杆菌 *Escherichia coli*、革兰阳性菌金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、革兰阴性菌铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* 人体病原细菌，由宁夏医科大学附属医院检验科提供。

2 方法

2.1 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%乙醇漂洗 1 min，0.1%的升汞漂洗 3 min，75%乙醇漂洗 30 s，无菌水漂洗 5 次以进行表面消毒。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 的片段，置于 PDA 平板上，用封口膜将培

养皿密封，28 °C 进行避光培养 3~5 d；同时，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^[17-19]。

2.2 内生真菌的形态观察与初步分类鉴定

以点植培养法进行菌落观察和常规镜检，从纯化培养数日的菌落上挑取菌丝，连同分生孢子用乳酸石炭酸棉蓝染色液染色制成玻片，置于光学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^[20-21]。

2.3 抑菌活性的初步筛选

对供试植物病原真菌的拮抗作用初筛采用平板对峙培养法^[22-25]，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，同时以接病原真菌的平板作对照，处理和对照均设 3 次重复，置于 28 °C 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作为抑菌活性强弱的指标^[26]，拮抗带宽度小于 2 mm，表明抑菌活性弱，拮抗带宽度介于 2~5 mm，表明抑菌活性为中等，拮抗带宽度大于 5 mm，表明内生真菌抑菌活性强，以此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^[27-28]，取融化并保温在 45 °C 左右的 NA 培养基倒入 90 mm 无菌培养皿中制成平板，按无菌操作法分别接入 2~3 环供试指示细菌于培养皿中，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，距皿边缘距离不得小于 10 mm，小心放入培养基中，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 °C 以下保持 12~14 h，使菌块中的抗菌素扩散，将培养皿置于 28 °C 下恒温培养 3~5 d，观察内生真菌对指示细菌的拮抗作用，并测定抑菌圈的直径，以抑菌圈直径平均值作为抑菌活性强弱的指标^[29]，抑菌圈直径小于 10 mm，表明内生真菌抑菌活性弱，

抑菌圈直径介于 10~15 mm, 表明抑菌活性中等, 抑菌圈直径大于 15 mm, 表明抑菌活性强。

3 结果与分析

3.1 内生真菌分离部位及菌株数量

从桃儿七中共分离到内生真菌 49 株, 其中根部 22 株, 占分离菌株数的 44.9%, 茎部 18 株, 占分离菌株数的 36.7%, 叶部 9 株, 占分离菌株数的 18.4%, 从分离部位可以看出, 分离的菌株数量根部最多, 其次为茎部, 叶部最少。

通过菌落和显微形态特征观察, 初步鉴定为 2 个目, 3 个科, 9 个属, 其中以丝孢目为优势菌群, 共有内生真菌 42 株, 占菌株总数的 85.7%; 其次为无孢菌群, 共有 7 株菌, 占内生真菌总数的 14.3%。在丝孢目中分离到的菌株共有 7 个属, 梭孢霉属有 30 株, 占分离到的内生真菌菌株总数的 61.2%, 为优势菌属。在无孢目中分离到的菌株共有 2 个属, 其中组丝核菌属有 4 株, 为无孢类群中的优势菌属。桃儿七内生真菌在种类组成上具有多样性特征, 见表 1。

表 1 桃儿七内生真菌种群组成

Table 1 Composition of endophytic fungi isolated from *S. hexandrum*

目	科	属	内生真菌 / 株
无孢目	无孢科	组丝核菌属 <i>Phacodium</i> sp.	4
Agnomycetales	Agonomycetaceae	束丝菌属 <i>Ozonium</i> sp.	3
丝孢目	丛梗孢科	曲霉属 <i>Aspergillus</i> sp.	5
Hyphomycetales	Moniliaceae	梭孢霉属 <i>Fusidium</i> sp.	30
		青霉属 <i>Penicillium</i> sp.	3
		色串孢霉属 <i>Tolura</i> sp.	1
		侧苗霉属 <i>Pullularia</i> sp.	1
	暗梗孢科	黑葱花霉属 <i>Periconia</i> sp.	1
	Dematiaceae	单孢枝霉属 <i>Hormodendrum</i> sp.	1

3.2 内生真菌抑菌活性

从桃儿七中分离到 49 株内生真菌, 通过对供试植物病原真菌和供试指示细菌的抑菌试验, 发现 3 株菌均对 4 种供试植物病原真菌有明显抑制作用, 占菌株总数的 6.1%, 8 株菌对 2 种或多种供试植物病原真菌有明显的抑制作用, 占所分离菌株总数的 16.3%, 有 22 株菌对 1 种或多种供试植物病原菌有不同程度的抑制作用, 占分离菌株数的 44.8%, 见表 2。

在分离的对供试植物病原真菌指示菌有明显抑制作用的 3 株菌中, 菌株 SHEFR017 对番茄灰霉病菌、枸杞黑果病菌、黄瓜立枯病菌、小麦全蚀病菌有明显抑制作用; 菌株 SHEFS024 对番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌、枸杞黑果病菌、黄瓜立枯病菌具有明显抑制作用, 同时对小麦全蚀病菌也具有一定的抑制作用; 菌株 SHEFS030 对番茄灰霉病菌、枸杞黑果病菌、黄瓜立枯病菌、小麦全蚀病菌具有明显抑制作用, 同时对黄瓜枯萎病菌具有一定的抑制作用。

从表 3 可以看出, 有 2 株内生真菌分别对 2 种细菌指示菌有明显的抑制作用, 占分离菌株数的 4.1%, 有 2 株内生真菌菌株对 1 种细菌指示菌铜绿

假单孢菌具有明显抑制作用。对供试细菌指示菌有明显抑制作用的 2 株菌中, 菌株 SHEFR031 和 SHEFR034 分别对枯草芽孢杆菌和铜绿假单孢菌具有明显抑制作用。总体上, 所分离的桃儿七内生真菌菌株对细菌指示菌抑菌活性普遍较弱, 抑菌范围较窄。

3.3 抑菌活性菌株菌属分布

试验显示, 内生真菌菌株 SHEFR017、SHEFS024、SHEFS030 对 4 种供试植物病原真菌具有明显抑菌活性, 具有广谱高活性特征, 在目水平上分布于丝孢目, 在科水平上分布于丛梗孢科和暗梗孢科 2 个科, 在属水平上分布于曲霉属、单孢枝霉属和梭孢霉属 3 个属; 另外, 菌株 SHEFR031 和 SHEFR034 分别对 2 种供试细菌指示菌有明显的抑菌活性, 具有一定的选择性, 菌株在目水平上分布于丝孢目, 在科水平上分布于丛梗孢科, 在属水平上均归属于梭孢霉属。

4 讨论

植物内生真菌生活在植物中, 并受环境的影响, 是植物-微生物-环境长期共同作用的结果。张琨等^[30]从陕西太白山桃儿七分离出 20 株丝状真菌, 组丝

表 2 桃儿七内生真菌抑制植物病原真菌活性

Table 2 Antifungal activity of endophytic fungi isolated from *S. hexandrum*

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	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
SHEFR001	-	-	-	-	-	SHEFS011	++	+++	+++	+++	++
SHEFR002	-	-	-	-	-	SHEFS013	-	+++	++	-	++
SHEFR003	-	-	+	-	-	SHEFS014	-	+++	+++	-	++
SHEFR005	-	-	+	-	-	SHEFS015	-	+++	++	+++	++
SHEFR007	-	-	-	-	-	SHEFS016	-	+	-	+	-
SHEFR008	-	-	-	-	-	SHEFS017	-	++	-	+++	-
SHEFR009	-	+++	-	-	-	SHEFS018	+	++	-	+++	-
SHEFR010	-	+	-	-	-	SHEFS019	++	-	-	-	-
SHEFR012	-	-	-	-	-	SHEFS021	++	-	-	-	-
SHEFR015	-	-	-	-	-	SHEFS024	+++	+++	+++	+++	++
SHEFR016	-	-	-	-	-	SHEFS025	++	+	+++	++	+
SHEFR017	+++	-	+++	+++	+++	SHEFS027	+++	++	+++	++	++
SHEFR018	-	-	-	-	-	SHEFS028	++	++	+++	+++	+++
SHEFR019	-	-	-	-	-	SHEFS030	+++	+	+++	+++	+++
SHEFR023	-	-	-	-	-	SHEFS031	++	-	+++	+++	+++
SHEFR026	+++	-	+	+	+++	SHEFL001	-	+	++	++	+
SHEFR027	++	+	+++	-	++	SHEFL002	+	-	++	++	+++
SHEFR028	++	-	+	-	+	SHEFL003	++	++	++	+	+
SHEFR030	-	+++	+++	++	++	SHEFL004	-	-	-	-	-
SHEFR031	-	-	-	+	-	SHEFL009	-	-	-	-	-
SHEFR032	-	+	++	-	-	SHEFL010	+	-	-	-	-
SHEFR034	+++	++	++	++	+	SHEFL013	+	-	-	-	-
SHEFS002	-	-	-	-	-	SHEFL014	+	-	-	-	-
SHEFS008	-	-	-	-	-	SHEFL015	-	-	-	-	-
SHEFS009	-	-	-	-	-						

SH-桃儿七; EF-内生真菌; R-根; S-茎; L-叶; “+”-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

SH-*S. hexandrum*; EF-endophytic fungi; R-roots; S-stems; L-leaves; “+”-< antagonistic band with 2 mm; “++”-2—5 mm; “+++”-> 5 mm; “-”-no antagonistic activity

核菌属 2 株, 交链孢属 1 株, 毛霉属则多达 17 株, 占总数的 85%, 为优势属。李海燕等^[31]从云南桃儿七中分离了 28 株真菌, 其中 86%为半知菌类, 从梗孢属为优势属。本研究通过对宁夏桃儿七内生真菌的分离和初步分类鉴定, 所分离到的内生真菌分布于 2 个目、3 个科、9 个属, 梭孢霉属为优势菌群, 这说明不同来源的植株, 由于其生长环境的不同, 分离到的内生真菌的数量和种类会存在差异。因此,

内生真菌在种类和数量上的差异及其多样性为从中发现新菌株和有活性的代谢产物提供了广泛的研究空间。

本实验在分离到的内生真菌菌株中, 无孢类群的菌株数量占分离菌株总数的 14.3%, 远低于 Fisher 等^[32]报道的 41.3%, 即不产孢菌株占总菌株数的比例低于已有报道比例, 说明该试验所采用的培养方法是可行的^[32-34]。另外, 实验中所分离的曲霉属、

表3 桃儿七内生真菌抑制病原细菌活性

Table 3 Antibacterial activity of endophytic fungi isolated from *S. hexandrem*

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	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
SHEFR001	+++	-	-	-	SHEFS011	+++	-	-	++
SHEFR002	+++	-	-	+	SHEFS013	+++	-	-	-
SHEFR003	-	-	-	-	SHEFS014	-	-	-	-
SHEFR005	+++	-	-	-	SHEFS015	-	-	-	+++
SHEFR007	+++	-	-	-	SHEFS016	-	-	-	-
SHEFR008	-	-	-	-	SHEFS017	-	-	-	-
SHEFR009	+++	-	-	-	SHEFS018	-	-	-	-
SHEFR010	++	-	-	-	SHEFS019	-	-	-	-
SHEFR012	-	-	-	-	SHEFS021	-	-	-	-
SHEFR015	+++	-	-	-	SHEFS024	-	-	-	-
SHEFR016	-	-	-	-	SHEFS025	+++	-	-	-
SHEFR017	++	-	-	-	SHEFS027	+++	-	-	-
SHEFR018	-	-	-	-	SHEFS028	+++	-	-	-
SHEFR019	+++	-	-	-	SHEFS030	-	-	-	-
SHEFR023	-	-	-	+++	SHEFS031	-	-	-	-
SHEFR026	+++	-	-	-	SHEFL001	-	-	-	-
SHEFR027	+++	-	-	-	SHEFL002	-	-	-	-
SHEFR028	-	-	-	-	SHEFL003	-	-	-	-
SHEFR030	-	-	-	-	SHEFL004	-	-	-	-
SHEFR031	+++	-	-	+++	SHEFL009	-	-	-	-
SHEFR032	-	-	-	-	SHEFL010	-	-	-	-
SHEFR034	+++	-	-	+++	SHEFL013	-	-	-	-
SHEFS002	+++	-	-	-	SHEFL014	-	-	-	-
SHEFS008	-	-	-	-	SHEFL015	-	-	-	-
SHEFS009	-	-	-	-					

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10mm;“++”-抑菌圈直径10~15mm;“+++”-抑菌圈直径大于15mm;“-”-无拮抗作用

Average diameter of inhibiting zone was detected for three times;“+”-diameter of inhibiting zone < 10 mm;“++”-diameter of inhibiting zone 10—15 mm;“+++”-diameter of inhibiting zone > 15 mm;“-”-no antagonistic activity

单孢枝霉属和梭孢霉属菌株具有明显的抑菌活性,这与秦盛等^[35]从3种仙人掌分离出的曲霉属具有较高抑菌活性和 Qin 等^[36]分离的梭孢霉属 *Fusidium* sp. 具有中等抗真菌活性的结果相一致,关于单孢枝霉属的抑菌活性鲜见报道。李海燕等^[37]从桃儿七地下茎分离到一株内生真菌为曲霉属,利用薄层层析对该真菌菌株 97T31 的培养物进行了分析,结果表明该真菌培养物含有鬼臼毒素。在本试验中筛选的菌株 SHEFR017 归属于曲霉属,其发酵产物是否产鬼臼毒素有待于进一步研究。

由于微生物发酵产物较植物成分单一,有效成分容易分离等优势,同时其易培养,易控制,生长快,不受资源的限制,并可通过诱变育种、细胞融

合、基因工程等手段改良菌种性能,从而为大幅度提高产量,组织工业化生产提供了可能。因此,开展珍稀濒危药用植物桃儿七内生真菌的发掘研究,将对桃儿七资源的保护和开发利用具有重要的推动作用。

参考文献

[1] 田英,郭帅,彭励,等.宁夏六盘山濒危植物桃儿七的生存现状及保护对策研究[J].农业科学研究,2006,27(2):82-85.
 [2] 刘飞,伍晓丽,曾纬.桃儿七内生真菌多样性研究进展[J].重庆中草药研究,2007,56(2):39-42.
 [3] Kong Y, Xiao J J, Meng S C, et al. A new cytotoxic flavonoid from the fruit of *Sinopodophyllum hexandrum*

- [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(50): 367-370.
- [4] 杨 晖, 郭 琪, 赵长崎, 等. 珍惜药用植物桃儿七细胞工程及内生菌研究进展 [J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(11): 94-99.
- [5] 陈向东. 植物内生菌是有待深入开发的资源宝库 [J]. 微生物学通报, 2012, 39(2): 282.
- [6] Rodriguez R L, White Jr J F, Arnold A E, *et al.* Fungal endophytes: diversity and functional roles [J]. *New Phytol*, 2009, 182(2): 314-330.
- [7] 张祺玲, 杨宇红, 谭周进, 等. 植物内生菌的功能研究进展 [J]. 生物技术通报, 2010, 7: 28-34.
- [8] 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.
- [9] 邹文欣, 谭仁祥. 植物内生菌研究进展 [J]. 植物学报, 2001, 43(9): 881-892.
- [10] Wiyakrutta S, Sriubolmas N, Panphut W, *et al.* Endophytic fungi with anti-microbial, anti-cancer and anti-malarial activities isolated from Thai medicinal plants [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2004, 20: 265-272.
- [11] 史佳琴, 周松林, 王海霞, 等. 槐树内生真菌抗氧化活性的初步研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(8): 250-253.
- [12] 阙东枚, 戴好富, 黄贵修, 等. 见血封喉内生真菌 *Rhizoctonia* sp. J5 化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(3): 424-427.
- [13] Verma V C, Kharmar R N, Strobel G A. Chemical and functional diversity of natural products from plant associated endophytic fungi [J]. *Nat Prod Commun*, 2009, 4: 1511-1532.
- [14] Yu H, Zhang L, Li L, *et al.* Recent development and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes [J]. *Microbiol Res*, 2010, 165(6): 437-439.
- [15] 姚玉秀, 魏希颖. 药用植物内生真菌生物活性及其成分研究 [J]. 药用生物技术, 2011, 18(2): 185-188.
- [16] Sathish L, Pavithra N, Ananda K. Antimicrobial activity and biodegrading enzymes of endophytic fungal from *Eucalyptus* [J]. *Int J Pharm Sci Res*, 2012, 3(8): 2574-2583.
- [17] 苏印泉, 朱红薇, 马希汉, 等. 杜仲内生真菌的抑菌活性筛选 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(6): 1153-1157.
- [18] 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 [J]. 微生物学通报, 2008, 35(9): 1455-1460.
- [19] 王家明, 宋亚琼, 刘宏亮, 等. 雷公藤内生真菌的分离鉴定及抗肿瘤活性菌株筛选 [J]. 西北林学院学报, 2011, 26(5): 145-148.
- [20] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [21] 巴尼特 H L, 亨特 B B. 半知菌属图解 [M]. 沈崇尧, 译. 北京: 科学出版社, 1977.
- [22] 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 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(3): 307-311.
- [23] 张苗苗, 张 蓉, 王生荣. 高寒草地植物内生真菌的分离及其抑菌活性初探 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(7): 3072-3075.
- [24] 徐 磊, 王艳红, 郑友兰. 温莪术内生真菌对植物病原真菌抑菌活性的研究 [J]. 华西药学杂志, 2009, 24(6): 591-594.
- [25] 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 [J]. 安徽农业大学学报, 2010, 37(4): 748-752.
- [26] 郭小炜, 冯俊涛, 易晓华, 等. 大花金挖耳内生菌的分离及抑菌活性筛选 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(2): 377-383.
- [27] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- [28] 孙 奎, 苏印泉. 无花果内生真菌的抑菌活性研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(23): 12455-12459.
- [29] 陆晓东, 王 琦. 骆驼蓬内生真菌抑菌活性的研究 [J]. 菌物研究, 2010, 8(2): 103-106.
- [30] 张 琨, 黄建新, 曹 莉, 等. 桃儿七内生菌及产鬼臼类物质菌株的筛选 [J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2008, 38(3): 431-434.
- [31] 李海燕, 曾松仁, 张玲琪. 云南桃儿七植株地下茎内生真菌多样性及有价值菌株的筛选 [J]. 西南农业学报, 1999, 12(4): 123-125.
- [32] Fisher P J, Petrini O, Petrini L E, *et al.* Fungal endophytes from the leaves and twigs of *Quercus ilex* L. from England, Majorca and Switzerland [J]. *New Phytol*, 1994, 127: 133-137.
- [33] 邵士成, 吴少华, 陈有为, 等. 云南元江印楝植物内生真菌的种类组成 [J]. 生物多样性, 2008, 16(1): 63-67.
- [34] 王利娟, 贺新生. 植物内生真菌分离培养的研究方法 [J]. 微生物学杂志, 2006, 6(4): 55-60.
- [35] 秦 盛, 邢 珂, 吴少华, 等. 3 种仙人掌植物内生真菌抑菌活性研究 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 917-921.
- [36] Qin S, Krohn K, Flörke U, *et al.* Two new fusidilactone from the fungal endophyte *Fusidium* sp. [J]. *Eur J Org Chem*, 2009, (19): 3279-3284.
- [37] 李海燕, 王志军, 张玲琪, 等. 一种桃儿七内生真菌的分离初报 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 1999, 21(3): 243.