

蒲公英内生真菌的分离、鉴定及抑菌活性研究

高原, 王福玲, 贾琦, 刘微, 周艳岩, 李佳丽

(哈尔滨商业大学药学院细胞与分子生物学研究所, 哈尔滨 150076)

摘要:蒲公英为药食同源的一种传统植物,具有较好的抗菌消炎的功能,蒲公英提取物中含有多种具有抗菌活性的化合物,而植物内生真菌可产生与宿主植物相同或相似的代谢产物,可为抗菌化合物的开发利用开辟新途径。从蒲公英中分离获得蒲公英内生真菌,并选取金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、白色念珠菌(*Candida sporogenes*)等病原菌进行抑菌试验,对蒲公英内生真菌发酵产物进行了抑菌活性筛选,其中菌株 PGY5 具有较好的抑菌活性,对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度(MIC)值为 0.16 mg/mL,最小杀菌浓度(MBC)值为 0.31 mg/mL。对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、肠炎沙门氏菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌也具有明显的抑菌效果,最小抑菌浓度(MIC)值分别为 0.31 mg/mL,最小杀菌浓度(MBC)值为 0.63 mg/mL。通过对菌株 PGY5 的 ITS r-DNA 序列进行比对分析,菌株 PGY5 为烟曲霉菌(*Aspergillus fumigatus*),与 *Aspergillus fumigatus* JQ356539 具有 100% 的相似性。通过 LC-MS/MS 检测在内生真菌 PGY5 乙酸乙酯层中发现了一种活性成分木犀草苷,其常存在于蒲公英叶中。

关键词:蒲公英;内生真菌;鉴定;内转录间隔区;抑菌

doi:10.13304/j.nykjdb.2016.590

中图分类号:Q949.32 文献标识码:A 文章编号:1008-0864(2017)06-0055-06

Isolation and Identification of Endophytic Fungi from *Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz and Antibacterial Activity Study

GAO Yuan, WANG Fuling, JIA Qi, LIU Wei, ZHOU Yanyan, LI Jiali

(Cell and Molecular Biology Research Institute, College of Pharmacy, Harbin Commercial University, Harbin 150076, China)

Abstract: Dandelion is a traditional plant homology of medicine and food. It has good antibacterial and anti-inflammatory function. The dandelion extracts contains compounds with multiple antibacterial activity, while the endophytic fungi can produce the same or similar metabolites with the host plant. It can open up a new way for the development and utilization of antibacterial compounds. This study isolated endophytic fungi from dandelion and screened *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida sporogenes*, etc. pathogenic bacteria to conduct anti-bacteria test and screen the bacteriostatic activity of endophytic fungi tunning. Among them PGY5 had better bacteriostatic activity. The MIC and MBC values of *Staphylococcus aureus* were 0.16 mg/mL and 0.31 mg/mL, respectively. The MIC and MBC value of *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida sporogenes* were 0.31 mg/mL and 0.63 mg/mL, respectively. Endophyte PGY5 ITS r-DNA sequence was comparatively analyzed. PGY5 was identified as *Aspergillus fumigatus* and had 100% similarity with *Aspergillus fumigatus* JQ356539. An active ingredient galuteolin, which usually existed in Dandelion leaves, was found in ethyl acetate layer of endophytic fungi PGY5 by LC-MS/MS detection.

Key words: *Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz; endophytic fungi; identification; internal transcribed spacer; antibacterial

收稿日期:2016-09-26; 接受日期:2017-03-10

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12541204);黑龙江省普通高校微生物重点实验室(黑龙江大学)开放基金项目(2012MOI-6)资助。

作者简介:高原,讲师,博士,主要从事内生真菌次生代谢产物活性研究。E-mail: gaoyuan527@126.com

蒲公英 (*Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz) 为菊科多年生草本植物, 主要含有黄酮类、三萜类、倍半萜内酯类、色素类、挥发油和植物甾醇类等化学成分, 具清热解毒、利尿通淋、消肿散结等多种功效^[1]。植物内生菌 (endophyte) 是指那些在生活史的一定阶段或全部阶段生活于健康植物的各种组织和器官内部的真菌或细菌。研究表明, 药用植物内生真菌可以产生与其宿主植物相同或相似生理活性成分以及特殊活性物质^[2,3]。目前对内生真菌来源的抗细菌和抗真菌物质的研究已逐渐展开。Stroble 等^[4] 从雷公藤 (*Tripterygium wilfordii*) 中分离得到一株栎树拟隐孢壳 (*Cryptosporiopsis cf. quercina*) 内生真菌, 它能产生一种新型环肽抗生素——cryptocandin, 对癣菌及白色念珠菌有强烈的抑杀作用。姜广策等^[5] 从中国南海红树中分离具有抗菌活性的内生真菌, 该菌株能够产生灰黄霉素 A 和醌类抗生素等。戴传超等^[6] 从大戟科药用植物中得到的内生真菌可产生对多种致病菌具有抗性的活性物质。大量产抗菌素内生菌的发现, 为我们从内生菌中寻找产药用抗菌素的内生菌奠定了基础。

内生真菌发酵产物较药用植物更易进行工业化生产、更易诱变提高有效产物的含量、发酵产物较植物成分单一、有效成分更易分离。因此, 从内生真菌中开发新型、高效、安全的抗菌活性物质具有很好的发展前景^[7]。本文通过对蒲公英内生真菌的研究, 可以对与蒲公英次生代谢产物相同或相似的内生真菌产物进行开发和利用。

本文从蒲公英中分离内生真菌, 并对蒲公英内生真菌进行抗菌活性的筛选, 获得一株具有良好抑菌活性的内生真菌, 并对其进行分类鉴定, 初步检测发现一株内生真菌能够产生活性产物木犀草苷。本研究为生产新型、高效抗菌活性物质, 开发出更多的药用微生物资源奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 蒲公英新鲜植株 采自黑龙江省尚志市帽儿山。

1.1.2 菌种 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC6538、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) ATCC25922、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)

ATCC6633、肠炎沙门氏菌 (*Salmonella enteritidis*) ATCC13076、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) ATCC14442、白色念珠菌 (*Candida sporogenes*) ATCC10231 购自黑龙江省微生物研究所。

1.1.3 其他材料与试剂 木犀草苷标准品 ($\geq 98\%$, 上海伊卡生物技术有限公司); 次氯酸钠 (西陇化工股份有限公司); 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (北京奥博星); 链霉素 (Sigma) 牛肉粉 (北京奥博星生物技术有限公司); 蛋白胨 (北京奥博星生物技术有限公司); 琼脂粉 (北京奥博星生物技术有限公司); 葡萄糖 (天津市天力化学试剂有限公司); 氯化钠 (国药集团化学试剂有限公司); 安琪酵母浸粉 (安琪酵母股份有限公司); 无水乙醇 (天津基准化学试剂有限公司); 蒲地蓝口服液 (济川药业集团有限公司)。

1.1.4 仪器与设备 RE-52AA 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); HH-2 型恒温水浴箱 (江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司); SHB-III 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); 电热鼓风干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司); BSA6202S-CW 电子分析天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); BSA223S-CW 精密电子分析天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); PB-10 pH 计 (Sartorius); 生化培养箱 (上海一恒科学仪器有限公司); BP-9082 型精密恒温培养箱 (上海一恒科学仪器有限公司); ZHWY-2102 恒温培养振荡器 (上海智城分析仪器制造有限公司); SX-700 型高压灭菌锅 (TOMY); XSP-12CD 型光学显微镜 (上海泸杏光学仪器有限公司); 高效液相色谱仪 Agilent1100 (Agilent); 质谱仪 API3000 (Applied Biosystems)。

1.2 试验方法

1.2.1 蒲公英内生真菌的分离与培养 新鲜蒲公英, 洗涤剂洗净表面污垢, 清水冲洗。无菌条件下进行组织表面消毒: 75% 的乙醇 100 mL 浸泡 30 s, 无菌水漂洗 2~3 次, 10% 的 NaClO 溶液 100 mL 分别浸泡 1 min, 无菌水 100 mL 漂洗 2~3 次, 每次 1 min, 最后用无菌滤菌纸吸干表面水分, 备用^[8]。将蒲公英叶剪成 0.5 cm×0.5 cm 组织块, 放置于加入氨苄青霉素 (10 mg/mL) 的 PDA 培养基上, 30℃ 培养 3~10 d, 以最后一次无菌水涂抹印记作为阴性对照。待长出真菌后, 挑去尖端菌丝, 反复纯化, 保存备用。

将已纯化的蒲公英内生真菌菌种活化后,接种于 200 mL 马铃薯葡萄糖液体(PDB)培养基中,30℃摇床培养 2 周后,菌种四层纱布过滤后烘干,乙酸乙酯浸提,发酵培养液乙酸乙酯萃取后,二者合并后浓缩得浸膏。

1.2.2 蒲公英内生真菌的抑菌活性筛选 采用滤纸片法对不同蒲公英内生真菌发酵产物进行筛选,用打孔器将定性滤纸打成 6 mm 直径的圆片,置于培养皿中灭菌。无菌条件下在牛肉膏蛋白胨和 YPD 培养基上涂布致病菌菌悬液,摆放浸泡 30 min 内生真菌发酵提取液的灭菌滤纸片,细菌 37℃培养 24 h 后,真菌 30℃培养 48 h 后观察记录结果。观察生长情况,测量每一个抑菌圈的直径^[9]。

1.2.3 最小抑菌浓度的测定 最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC),指能够抑制细菌生长、繁殖的最低药物浓度。通过二倍肉汤稀释法^[10],采用 96 孔板,对蒲公英内生真菌萃取物进行抗菌活性筛选,将内生真菌萃取物溶于生理盐水,倍比稀释,得到样品浓度分别为 10 mg/mL、5 mg/mL、2.5 mg/mL、1.25 mg/mL、0.625 mg/mL、0.312 5 mg/mL、0.156 3 mg/mL。分别加入经稀释后 10⁵的致病菌,包括金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*E. coli*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、肠炎沙门氏菌(*S. enteritidis*)、铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)、白色念珠球菌(*C. sporogenes*),白色念珠球菌 30℃过夜培养 24 h,其余菌株 37℃过夜培养 12 h,观察菌液生长情况,菌液透明澄清时所对应的药液浓度即为 MIC^[11],实验重复三次。

1.2.4 最小杀菌浓度的测定 最小杀菌浓度(minimal bactericidal concentration, MBC),指杀死 99.9%的供试微生物所需的最低药物浓度。MBC 是根据 MIC 的测定结果,选取 MIC、2MIC 和 4MIC 对应样品的菌液,并点植于营养琼脂培养基上,37℃过夜培养,观察病原菌生长状况,不生长菌落对应的浓度即为 MBC。

1.2.5 蒲公英内生真菌的鉴定 选取纯化后的真菌菌丝,转接于察氏培养基上,点接法观察菌落特征,插片法进行显微镜观察。按《真菌鉴定手册》^[12]鉴定菌株到属。

菌株总 DNA 提取采用 CTAB 法^[13],以 ITS1 (5'-TCCGTAGCTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-

TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 为引物,通过 PCR 获得 ITS r-DNA 扩增片段。PCR 反应体系(50 μL)为:10×PCR buffer 5 μL, MgCl₂ (25 mmol/L) 4 μL, dNTP (2.5 mmol/L) 4 μL,上游引物(0.5 μmol/L) 5 μL,下游引物(0.5 μmol/L) 5 μL, Taq (5 U/μL) 0.2 μL, 无菌去离子水 26.8 μL。PCR 扩增程序:95℃ 3 min;95℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 1 min, 30 个循环。DNA 片段回收纯化后送往上海生物工程有限公司测序,所得结果在 GenBank 上进行同源性比对,并利用 MEGA5.0 构建系统发育树,确定菌株分类地位^[14]。

1.2.6 蒲公英内生真菌代谢产物检测 精确称量内生真菌乙酸乙酯萃取物溶于色谱甲醇,浓度为 10 μg/mL,0.22 μm 滤膜过滤。采用高效液相色谱-质谱联用(LC-MS/MS)法检测。色谱条件:Agilent 1100, API3000;色谱柱:HIQ SIL C18 柱, 250 mm×4.6 mm;流动相:甲醇-水(含 1%的甲酸),梯度洗脱:91%甲醇 0~10 min, 91%~57%甲醇 10~25 min, 57%~91%甲醇 25~40 min;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL,用木犀草苷标准品做对照。质谱条件:离子源为 ESI 源,多反应监测(MRM)负离子扫描,离子喷雾电压:-4 500 V,去簇电压(DP),碰撞电压(CE),入口电压(EP)和出口电压(CXP)分别为-60 V、-25 V、-10 V、-5 V。用于分析的木犀草苷离子质荷比(m/z)为:447.3→284.9。

2 结果与分析

2.1 蒲公英内生真菌的分离及抑菌活性筛选

从新鲜蒲公英根部、叶部分离获得 50 株内生真菌,分别编号为 PGY1-PGY50。其中有 6 株具有一定的抑菌活性,通过滤纸片法对 50 株内生真菌发酵产物进行抑菌效果的观察并测量抑菌圈直径(表 1)。

从表 1 可以看出,6 种蒲公英内生真菌发酵产物均具有一定的抑菌效果,其中菌株 PGY5 具有较为明显的抑菌效果,可选取该菌株做进一步 MIC 和 MBC 的测定。选取抗菌消炎类中药口服液蒲地蓝作为阳性对照,阳性对照品(蒲地蓝)有较明显的抑菌作用。

2.2 蒲公英内生真菌的抑菌和杀菌活性分析

将内生真菌发酵产物按 1.3.3 和 1.3.4 MIC 和

表 1 蒲公英内生真菌发酵产物对致病菌的抑菌直径 (mm)

Table 1 Bacterial inhibition diameters (mm) of dandelion endophyte fermentation products.

供试菌 Test strains	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	肠炎沙门氏菌 <i>Salmonella enteritidis</i>	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	白色念珠菌 <i>Candida sporogenes</i>
PGY11	8.40±0.31	—	—	—	—	—
PGY23	8.81±0.44 a	—	6.84±0.36 b	6.64±0.40 b	6.62±0.38 b	6.24±0.40 c
PGY17	6.22±0.38 b	—	9.42±0.50 a	9.24±0.60 a	9.20±0.66 a	—
PGY28	10.61±0.52 a	6.22±0.34 c	8.44±0.48 b	8.84±0.52 b	8.81±0.54 b	6.22±0.42 c
PGY5	10.62±0.55 a	9.24±0.48 b	9.00±0.42 b	9.00±0.44 b	9.20±0.48 b	8.00±0.46 c
PGY30	6.24±0.32 a	6.20±0.35 a	—	—	—	—
蒲地蓝 Pudilan	9.60±0.40 b	10.21±0.50 a	10.42±0.54 a	10.20±0.52 a	10.00±0.54 a	9.00±0.46 b

注:数据用均值±标准差 (n=3) 表示, 不同小写字母表示在 P<0.05 上差异显著。
Note: Values are means ± SD (n=3) of three determinations, Different small letters indicate significant difference at P<0.05 level.

MBC 测定操作方法,观察 96 孔板内的各种病原菌的生长结果(表 2)。

实验结果表明:菌株 PGY5 对于金黄色葡萄球菌有较强抗菌效果,MIC 值为 0.16 mg/mL,MBC 值为 0.31 mg/mL。菌株 PGY5 对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、肠炎沙门氏菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌也具有明显的抑菌效果,MIC 值为 0.31 mg/mL,MBC 值为 0.63 mg/mL。

表 2 蒲公英内生真菌发酵产物的最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC)

Table 2 MIC and MBC value of dandelion endophyte fermentation products.

供试菌 Test strains	最小抑菌浓度 (mg/mL) MIC(mg/mL)	最小杀菌浓度 (mg/mL) MBC(mg/mL)
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	0.16	0.31
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	0.31	0.63
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	0.31	0.63
肠炎沙门氏菌 <i>Salmonella enteritidis</i>	0.31	0.63
铜绿假单胞菌 <i>Candida sporogenes</i>	0.31	0.63
白色念珠菌 <i>Candida sporogenes</i>	0.31	0.63

2.3 蒲公英内生真菌的鉴定

2.3.1 形态学鉴定 按上述 1.3.5 方法对菌株进行形态学鉴定。菌株 PGY5 菌落呈绿色,由中央

向四周散落成不定型状,扩展至整个平皿(图 1)。显微镜下观察,孢子呈圆球状,大小为 10.0 μm×10.0 μm。结合《真菌鉴定手册》^[12] 初步判断菌株属于曲霉属(*Aspergillus* sp.)。

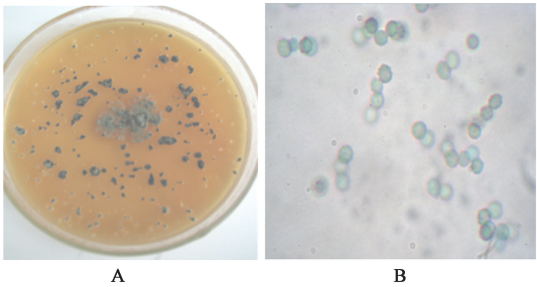


图 1 蒲公英内生真菌 PGY5 的 (A) 菌落形态和 (B) 显微形态 (放大倍数 100×)

Fig.1 Colonial morphology (A) and micro morphology (B) of dandelion endophyte PGY5 (magnification times 100×).

2.3.2 分子生物学鉴定 经测序获得菌株 PGY5 的 ITS-rDNA 序列,用 BLAST 与 GenBank 数据库中的序列比较,从中获得与该菌株序列相近种属的 ITSS-rDNA 序列,构建系统发育树(图 2)。结合真菌形态学及分子生物学比对结果,菌株 PGY5 鉴定为烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*), GenBank 登陆号为 KY120167,与 *Aspergillus fumigatus*(JQ356539) 具有 100% 的相似性。

2.4 蒲公英内生真菌代谢产物的检测

采用高效液相色谱-质谱联用 (LC-MS/MS) 法成对捕捉检测结果显示,在内生真菌 PGY5 的乙酸乙酯层中,检测出了木犀草苷,出峰时间为

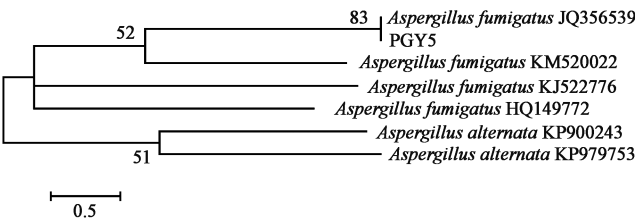


图 2 内生真菌 PGY5 ITS 序列系统进化树发育分析

Fig.2 Phylogenetic tree analysis of endophyte PGY5 ITS sequence.

4. 45 min,质荷比 (m/z) 为 447.3→284.9,如图 3 所示。木犀草苷是木犀草素-7-O-葡萄糖苷^[15],是从许多药用植物中发现的黄酮类化合物,通常存在于蒲公英叶中,具有抗菌、消炎、清除自由基等活性。在内生真菌代谢产物中检测得到木犀草苷可能与其宿主环境的影响有关,内生真菌 PGY5 的抗菌活性也可能受到木犀草苷的影响。

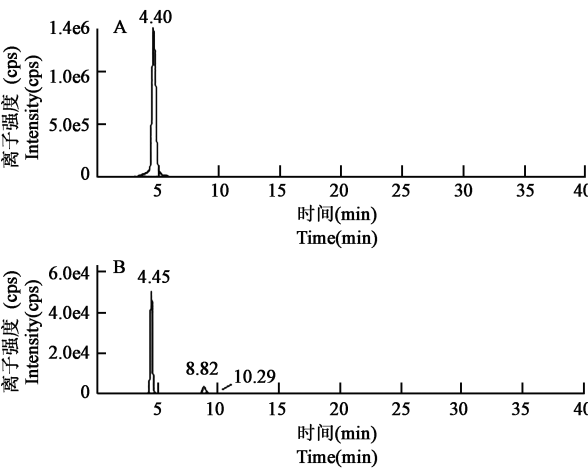


图 3 内生真菌 PGY5 乙酸乙酯层提取物 LC-MS/MS 检测

Fig.3 LC-MS/MS analysis of the EtOAc extracts from PGY5.

A.木犀草苷标准品;B.内生真菌 PGY5
A.Luteoloside standard; B.PGY5 EtOAc extracts.

3 讨论

对蒲公英内生真菌进行了分离纯化,并通过滤纸片法对获得内生真菌的发酵产物抑菌活性进行筛选,筛选出一株具有较好抑菌活性的蒲公英内生真菌 PGY5。通过选取常见致病菌菌株,对内生真菌 PGY5 发酵提取物的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度进行测定,对于常见致病菌具有明显

的抑杀作用。通过形态学和分子生物学的方法,对内生真菌 PGY5 进行了鉴定,通过系统发育分析初步判定 PGY5 为烟曲霉菌 (*Aspergillus fumigatus*)。对内生真菌 PGY5 代谢产物进行 LC-MS/MS 检测,初步检测出了一种活性成分—木犀草苷,推测其抗菌活性与该化合物有关。关于蒲公英的抗菌活性的研究已经比较成熟,但是关于蒲公英内生真菌的研究目前较少,对蒲公英内生真菌进行分离筛选不仅可以了解这种药食同源的植物的微环境,为其宿主与内生真菌的互利互惠关系提供一定的研究基础,同时,蒲公英内生真菌中的次生代谢产物的研究和开发可以对于发现天然有效的抗菌化合物提供帮助,本课题组也将对蒲公英内生真菌的次生代谢产物进行进一步的研究,并对代谢产物的抗菌机制进行深入探讨。

参 考 文 献

[1] 纪晓宇, 彭苑霞, 刘 敏, 等. 蒲公英不同提取物对大肠杆菌体外抑菌活性的作用[J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(1): 116-120.
Ji X Y, Peng Y X, Liu M, et al.. In-vitro antibacterial activity of Herba Taraxaci extract on Escherichia coli [J]. J. Guangzhou Univ. Tradit. Chin. Med., 2015, 32(1): 116-120.

[2] 李俊峰, 刘文洪, 张贝贝, 等. 铁皮石斛内生菌的分离及代谢产物活性的初步研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(3): 970-974.
Li Y F, Liu W H, Zhang B B, et al.. Preliminary study on separation of endophytes from dendrobium officinale and activity of metabolites [J]. Chin. J. Tradit. Chin. Med. Pharm., 2016, 31(3): 970-974.

[3] 金 蕊, 杨明攀, 刘飞虎. 工业大麻内生真菌菌群结构及其在植株内的空间分布特征[J]. 中国农学通报, 2013, 29(36): 313-318.
Jin R, Yang M Z, Liu F H. Composition and distribution of endophytic fungi in Cannabis sativa L. [J]. Chin. Agric. Sci. Bull., 2013, 29(36): 313-318.

[4] Strobel G A, Miller R V, Miller C, et al.. Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus Cryptosporiopsis cf. quercina [J]. Microbiology, 1999, 145(8): 1919-1926.

[5] 姜广策, 林永成, 周世宁, 等. 中国南海红树内生真菌 No.

- 1403 次级代谢物的研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2000, 39(6): 68-72.
- Jiang H C, Lin Y C, Zhou S N, *et al.*. Studies on the secondary metabolites of mangrove fungus No. 1403 from the south China sea [J]. Acta Sci. Nat. Univ. Sunyatseni, 2000, 39(6): 68-72.
- [6] 戴传超, 余伯阳, 赵玉婷, 等. 大戟内生菌的抑菌活性及其与宿主相关性研究[J]. 应用生态学报. 2005, 17(7): 1290-1294.
- Dai C C, Yu B Y, Zhao Y T, *et al.*. Correlation between inhibition activity of endophytic fungus from *Euphorbia pekinensis* and its host [J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2005, 17(7): 1290-1294.
- [7] 葛飞, 唐尧, 龚倩, 等. 40 株银杏内生真菌抗菌活性比较及其活性成分研究[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1554-1559.
- Ge F, Tang R, Gong Q, *et al.*. Comparison on antimicrobial activity of 40 endophytic fungi strains from *Ginkgo biloba* and preliminary analysis on ingredients with antimicrobial activity [J]. Chin. Tradit. Herbal Drugs, 2016, 47(9): 1554-1559.
- [8] 冉火苗, 孔望君, 蒋会芳, 等. 盐生海芦笋抗菌内生细菌的筛选与鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(3): 79-86.
- Ran H M, Kong W J, Jiang H F, *et al.*. Isolation and identification of endophytic bacteria from *Salicornia bigelovii* Torr. and their antimicrobial activities [J]. Food Fermentation Industries, 2016, 42(3): 79-86.
- [9] 刘丽娟, 徐鸿雁, 王宏伟, 等. 蒲公英有效成分抑菌试验研究[J]. 北方园艺, 2013(1): 180-181.
- Liu L J, Xu H Y, Wang H W, *et al.*. Study on effective antimicrobial ingredients experimental of *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz [J]. Northern Hortic., 2013(1): 180-181.
- [10] 曹奕, 孙晓红, 陈燕, 等. 微量肉汤稀释法测定长裙竹荪多种提取物对食品中常见细菌的抑制效果[J]. 食品工业科技, 2013(7): 106-112.
- Cao Y, Sun X H, Chen Y, *et al.*. Antibacterial effect of several extracts of *Dictyophora indusiata* to bacteria common in food determined by micro-broth dilution method [J]. Sci. Tech. Food Industry, 2013(7): 106-112.
- [11] Li N, Gao C., Peng X., *et al.*. Aspidin BB, a phloroglucinol derivative, exerts its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* by inducing the generation of reactive oxygen species [J]. Res. Microbiol., 2014, 165(4): 263-272.
- [12] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 科学技术出版社, 1979.
- [13] 吴发红, 黄东益, 黄小龙, 等. 几种真菌 DNA 提取方法的比较[J]. 中国农学通报, 2009, 25(8): 62-64.
- Wu F H, Huang D Y, Huang X L, *et al.*. Comparing study on several methods for DNA extraction from endophytic fungi [J]. Chin. Agric. Sci. Bull., 2009, 25(8): 62-64.
- [14] Chen K H, Miadlikowska J, Arnold A E, *et al.*. Phylogenetic analyses of eurotiomycetous endophytes reveal their close affinities to *Chaetothyriales*, *Eurotiales*, and a new order-*Phaeomoniellales* [J]. Mol. Phylogenet. Evol., 2015, 85(3): 117-130.
- [15] 邹晓华, 王双虎, 周云芳, 等. 木犀草素和木犀草苷在大鼠体内的药动学研究[J]. 中国药房, 2012, 27(22): 3058-3061.
- Zou X H, Wang S H, Zhou Y F, *et al.*. Pharmacokinetic study on luteolin and cynaroside in rats [J]. Chin. Pharm., 2012, 27(22): 3058-3061.

(责任编辑:李艳华,温小杰)