

何 强,陈文强,彭 浩,等. 濒危植物杜仲内生真菌及次生代谢产物活性研究进展[J]. 江苏农业科学,2017,45(2):20-23.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.02.005

濒危植物杜仲内生真菌及次生代谢产物活性研究进展

何 强¹, 陈文强^{1,2}, 彭 浩^{1,2}, 邓百万^{1,2}, 解修超^{1,2}, 王 颖¹

(1. 陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西汉中 723001; 2. 陕西省食用菌工程技术研究中心, 陕西汉中 723001)

摘要:杜仲是我国特有的濒危药材,研究表明内生真菌可以产生与宿主相同或相似的活性物质,利用杜仲内生真菌解决杜仲资源缺乏的问题具有较深远的应用前景。本研究较系统地阐述了近年来杜仲内生真菌的多样性、次生代谢产物和提高内生真菌活性代谢产物产量的技术和方法,提出了研究中亟待解决的问题,以便为濒危植物杜仲资源的保护、开发和利用提供理论依据。

关键词:濒危植物;杜仲;内生真菌;次生代谢产物;活性

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)02-0020-04

杜仲 (*Eucommia ulmoides*) 是杜仲科杜仲属植物,为落叶乔木,是我国特有的珍贵树种,别称思仙、思仲、木棉,是仅存于我国的第三纪孑遗植物,属于国家二类保护植物,主要分布于贵州、陕西、四川等省(区)^[1]。杜仲作为药材使用在我国已有两千多年的历史,其树皮经过干燥可入药,《神农本草经》《本草纲目》均把杜仲列为中上品,并明确记载其功效:“主治腰脊疼,补中、益精气、坚筋骨、强志、除阴下痒湿、小便余沥、安胎,久服轻身不老。”近代医学研究发现,杜仲除传统的医疗功效外,还具有双向调节血压、抗癌、抗病毒、愈伤和增强机体免疫功能等多种作用^[2],已引起国内外医药界广泛关注。杜仲不仅是珍贵药材,而且含有天然高分子材料杜仲胶。

植物内生真菌是指那些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而没有引起宿主明显病害症状的真菌^[3]。研究表明,植物内生菌具有促进植物生长发育^[4]、增强宿主抗逆性等功能^[5];而在与宿主相互作用的过程中,部分植物内生菌不仅具有促进宿主活性物质的生成和积累的能力,而且还能产生与宿主相同或相似的活性物质^[6]。植物内生真菌产生的次生代谢产物具有生物学功能多样性和化学结构多样性,这些次生代谢产物从功能

作用上可分为抑菌物质类、杀虫物质类、植物生长调节剂类、抗肿瘤活性物质类及其他活性产物类型^[7]。利用植物内生菌进行工业化发酵生产某些紧缺和新型药物,为解决某些药用植物生长缓慢、资源短缺等因素带来的药源紧张和生态破坏问题提供了新思路。

目前,对杜仲内生真菌的研究主要集中在内生真菌的分离方法、生物多样性和生物活性等方面。本研究对濒危植物杜仲内生真菌的多样性、次生代谢产物以及提高内生真菌活性代谢产物的技术和方法进行探讨,并对杜仲内生真菌研究中亟待解决的问题和前景进行展望,以期为濒危植物杜仲资源的有效保护、合理开发和综合利用提供依据。

1 杜仲内生真菌的多样性

近年来,人们开始关注并进行内生真菌的研究。目前从植物组织中已分离出大量的内生真菌类群,但是通过对内生真菌与宿主专一性分析可知,平均每种宿主有 4~5 种专一性内生真菌,按地球目前已知 25 万种植物计算,内生真菌总数可能超过 100 万种^[8],可见植物组织和器官中存在大量的内生真菌资源亟待研究。

1.1 杜仲内生菌的种类和优势菌群

杜仲内生真菌具有普遍性和多样性的特点。目前,从杜仲中分离到的内生菌共有十余属,且因地域、采集部位的差异而造成了菌株的多样性。王丽丽等综合运用形态特征和分子生物学技术从杜仲茎组织中分离到 41 株内生真菌,均为半知菌,属于 6 个属,分别是脉孢菌属 (*Neurospora*)、曲霉属 (*Aspergillus*)、白僵菌属 (*Beauveria*)、小菌核属 (*Sclerotium*)、盾壳霉

收稿日期:2016-07-24

基金项目:陕西省“13115”科技创新工程(编号:2008ZDGC-04)。

作者简介:何 强(1992—),男,陕西西安人,硕士研究生,从事植物内生菌资源及相关开发利用研究。E-mail: heqiang0715@126.com。

通信作者:陈文强,教授,硕士生导师,主要从事微生物资源的保护与利用研究。E-mail: wenqiangc@126.com。

[78] 居述云,汪 洁,宓彦彦,等. 重金属污染土壤的伴矿景天/小麦—茄子间作和轮作修复[J]. 生态学报,2015,34(8): 2181-2186.

[79] 黑 亮,吴启堂,龙新宪,等. 东南景天和玉米套种对 Zn 污染污泥的处理效应[J]. 环境科学,2007,28(4):4852-4858.

[80] Zuo Y, Zhang F. Iron and zinc biofortification strategies in dicot plants by intercropping with gramineous species: a review [J]. Agronomy for Sustainable Development, 2009, 29(1): 63-71.

[81] 秦 欢,何忠俊,熊俊芬,等. 间作对不同品种玉米和大叶井口边草吸收积累重金属的影响[J]. 农业环境科学学报,2012,31(7):1281-1288.

[82] 赵 颖,刘利军,党晋华,等. 不同植物与玉米间作对玉米吸收多环芳烃和重金属的影响[J]. 环境工程,2014,32(7):138-141.

[83] 蔡 丽,夏丽飞,陈 枚,等. 樟茶间作对土壤养分及重金属含量的影响研究[J]. 茶叶科学技术,2013(2):9-12.

属(*Coniothyrium*)、离蠕孢属(*Bipolaris*)^[9]。杨明琰等采用组织分离法从秦岭药用植物杜仲茎部共分离到内生真菌 38 株^[10],经形态学鉴定分属于 9 属,其中青霉属(*Penicillium*)为优势菌群,拟青霉属(*Paecilomyces* sp.)、链格孢属(*Alternaria* sp.)和无孢属为常见属。孙奎等从杜仲植物根、茎、叶中分离获得 80 株内生真菌^[11],经形态显微观察,将其分类鉴定为 14 个属,以链格孢属、镰刀菌属(*Fusarium* sp.)为优势种群。马养民等从杜仲根、茎、叶中共分离出 62 株内生真菌,鉴定为 15 属^[12]。其中以链格孢属为优势种群,占总数的 25.81%;其次是青霉属(*Penicillium*),占总数的 16.13%。陈峻青等从杜仲的根、茎、叶中分离得到 52 株内生真菌^[13],经形态学观察,分属 10 个属,其中镰刀菌属、链格孢属、茎点霉属(*Phoma* sp.)、刺孢壳属(*Chaetomella* sp.)为优势属。梁雪娟从慈利、略阳和遵义 3 个杜仲产地的杜仲皮组织块中共分离出 152 株内生真菌^[14],经形态和分子手段相结合的方式对分离出的内生真菌进行鉴定,分属于 8 属,其中拟茎点霉属(*Phomopsis*)、间座壳属(*Diaporthe*)、链格孢属为 3 个杜仲产地内生真菌共有属,且为优势菌群。

1.2 内生真菌在杜仲不同组织的分布

健康杜仲组织中内生真菌分布普遍,不同组织中均能不同程度地分离得到内生真菌,特别是在茎和根部中,内生真菌丰富。内生菌具有较高的生物多样性水平,对同一植物而言,从中可分离到的内生真菌通常为数种至数十种,有的多达数百种^[15]。

孙奎等研究表明,杜仲根部分布的内生真菌无论从数量还是种属上都占优势,根部分离 33 株,占总菌株的 41.25%^[11]。其中,根部不仅存在优势种群链格孢属、镰刀菌属和茎点霉属,而且拟青霉属(*Penicillium* sp.)、卵形孢霉属(*Oospora* sp.)、瘤座孢属(*Tubercularia* sp.)和尾孢属(*Cercospora* sp.)只在根部分布。杜仲各组织内生真菌的分布有所区别,根部组织分离得到的内生真菌最多,这可能是因为根部组织与土壤直接接触,而土壤中丰富的微生物可能会入侵到根部组织,从而形成内生真菌。同时,植株根部组织内营养丰富,适合内生真菌的生长。这些因素都为内生真菌的生长提供了良好的条件。姜交龙的研究也表明,杜仲根部组织分离出来的内生真菌的数量和种属数都显著高于其他组织^[16]。

马养民等研究表明,从杜仲根、茎、叶中分离的内生真菌种类和数量相差无几,分离率分别为 32.26%、33.87%、33.87%^[12]。陈峻青等研究表明,不同部位杜仲内生真菌的分布并不均匀,叶中分离的内生真菌数量大于根,叶中分离出 22 株内生真菌,占总菌株的 42.31%,根中分离出 16 株内生真菌,占总菌株的 30.77%^[13]。

1.3 不同季节对杜仲内生真菌种类的影响

梁雪娟采用 Simpson 优势度指数、Shannon 多样性指数和 Pielou 均匀度指数对杜仲皮内生真菌进行计算分析^[14],表明不同季节杜仲皮中内生真菌种群结构存有较大差异,多样性不一。秋季为杜仲内生真菌分离的最佳时期,在此季节分离杜仲内生真菌得到的种类和数量较多,而夏季分离得到的种类和数量均较少。这种差异由宿主植物的生长和外部环境的变化共同导致,春季宿主植物生长呈苏醒状态,生长态势逐渐增加,内生真菌在宿主植物体内的种群分布受到抑制,处于复

苏阶段;秋季宿主植物生长缓慢,逐渐停滞,利于内生真菌种群在宿主植物体内的生长分布,内生真菌种类丰富,在数量和种类上都达到了高峰。杨明琰等研究也表明,秋季杜仲内生真菌分离的种类和数量大于春季^[10]。这与陈远友等对不同季节苦楝内生真菌的研究结果^[17]一致,而与相延英等对不同季节三尖杉内生真菌的季节动态研究结果^[18]略有差异,经分析是由于不同产地气候及宿主种类不同,其内生真菌种群结构随季节的演替变化也存在差异。

2 杜仲内生真菌次生代谢产物

药用植物内生真菌不仅能够促进宿主的生长发育,增强抗逆性,使宿主植物具备更优良的生长特性,且部分内生真菌可以增强药用植物体内次生代谢产物的合成和积累,甚至内生真菌本身就能够产生与宿主相同或相似的活性物质^[19]。近年来,国内外有关专家对杜仲的活性成分进行了大量的研究,结果发现它主要含有黄酮类、苯丙素类、木脂素类、环烯醚萜类、多糖、杜仲胶及其他成分^[20]。杜仲活性成分的药用价值主要有降血压、维持血压平衡、抗衰老、抗氧化、增强免疫功能等作用。

2.1 杜仲内生真菌主要的次生代谢产物

植物内生菌具有生物学活性,能够有效地促进宿主植物生长,增强宿主抗病能力和对环境胁迫的抗性^[21-22],也可产生与宿主植物相同或相似的生物活性物质^[23-24],例如从短叶红豆杉(*Taxus brevifolia*)的韧皮部中分离得到产抗肿瘤活性物质紫杉醇的内生菌 *Taxomyces andreanae*^[23]。

杜仲有种类繁多的化学成分和广泛的药理药效,松脂醇二葡萄糖苷(PDG)是其主要的降压成分^[25],属于双环氧木脂素类。李爱华等首先从杜仲树皮中分离得到 8 株可产生 PDG 的内生真菌,最高产量可达 13.387 mg/L^[26]。随后,王维等采用响应面分析法对其发酵条件进行优化,该菌的 PDG 产量可以达到 30 mg/L^[27],从而为用发酵法生产 PDG 提供了可能。刘超等从杜仲皮中分离得到 3 株具有产生松脂醇二葡萄糖苷能力的拟茎点霉属内生真菌^[28],其中以菌株 XP-8 的 PDG 产量最高,达 11.65 mg/L。Shi 等通过高效液相色谱法(HPLC)检测到从杜仲树皮中分离的产 PDG 的内生真菌^[29]。

Chen 等研究表明^[30],从杜仲内分离出内生真菌 *Sordariomycete* sp. B5 可以产生绿原酸。闫兴民通过高效液相色谱法发现,2 株菌的初代培养中产生绿原酸,经分子鉴定分别为链格孢属、黑孢属,7 个菌株可产生桃叶珊瑚苷,但在随后的培养中却无法检测到绿原酸和桃叶珊瑚苷的存在^[31]。有关杜仲内生真菌产绿原酸的次级代谢产物合成机制尚有待进一步研究。

目前,杜仲药材主要由杜仲皮炮制而成,其中黄酮类化合物含量的高低是判断杜仲能否用于制药及其产品品质的重要指标^[32]。由于杜仲生长缓慢,仍不能满足市场对杜仲药材的需求,若能筛选出产与杜仲相似活性成分的内生真菌,就有可能利用发酵技术的优势生产相应的有效成分。霍娟等从杜仲叶片中分离到的 1 株刺孢壳属菌株,通过薄层分析(TLC)和高效液相色谱(HPLC)测定得知此菌株与其宿主杜仲一样能够产生的抗氧化活性物质为黄酮类化合物^[33]。沈书庆从杜仲植株中共分离得到 44 株内生真菌^[34],其中菌株 DZ11 能产

出与其宿主相同或相似的黄酮类物质槲皮素,并且产量相对稳定,经过 10 次传代,其发酵液中槲皮素的含量几乎不变。通过紫外分光光度法和 TLC 法测定槲皮素的最高产量,分别为 0.418、0.340 mg/L。

2.2 杜仲内生真菌抗菌活性研究进展

苏印泉等以金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌为靶菌株,对 20 株杜仲内生真菌及其次生代谢物进行抗菌活性筛选,发现有 3 株内生真菌及其次生代谢产物的抑菌作用较强^[35]。李雅等研究了 49 株杜仲内生真菌及其次生代谢物对苹果腐烂病病菌(*Cytospora* sp.)、番茄灰霉病病菌(*Botrytis cinerea*)、西瓜枯萎病病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)、黄瓜枯萎病病菌(*Fusarium oxysporium* f. sp. *cucumerinum*)、玉米大斑病病菌(*Helminthosporium turcicum*)和白菜黑斑病病菌(*Alternaria brassicae*)6 种植物病原真菌的抑菌活性,其中 4 株内生菌的次生代谢产物对 6 种测试菌都有抑制作用^[36]。

杨明琰等研究表明,杜仲内生真菌 DZ05 具有广谱的抗菌活性,特别对番茄灰霉病病菌、番茄叶霉病病菌和苹果炭疽病病菌抑菌圈达 40mm 以上^[10],说明它在这几种病原菌的生物防治领域具有潜在的应用价值。

孙微微等对杜仲内生真菌抗菌活性筛选做了大量研究,发现 1 株炭疽菌属(*Colletotrichum*)杜仲内生真菌 DZGS07 对苹果炭疽菌有较强拮抗作用,具有较强的营养和空间竞争能力,显微镜观察表明它能造成病原菌菌丝畸形等现象^[37]。同时,丁婷等以玉米纹枯病菌为指示菌,对杜仲内生真菌梭孢壳属(*Thielavia*)的真菌 DZGS08 进行研究,发现它对玉米纹枯病菌具有较好的拮抗作用,抑菌带宽度大于 10 mm;玉米盆栽试验结果显示,防治效果为 34.03%^[38]。拮抗菌株 DZGS08 还能造成病原菌菌丝扭曲和畸形等现象。丁婷等还通过浓度梯度法获得杜仲内生真菌抗性突变株 DZJ07-2,发现它可在小麦根际定殖,且能诱导小麦植株根部的多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸酶(PAL)防御酶活性的提高,在一定程度上增强了小麦对纹枯病的抗性^[39]。

以上研究结果表明,杜仲内生真菌具有普遍的抗菌活性,在植物病害的生物防治领域有一定的应用前景。

3 提高杜仲内生真菌活性代谢产物产量的方法

目前,有关提高杜仲内生真菌活性代谢产物产量的报道较少,且多数集中在活性代谢产物菌株培养基优化方面。李爱华等以 1 株 PDG 高产菌株作为研究对象,应用 Plackett-Burman 试验设计,对影响菌株发酵产 PDG 的诸多因子进行了评价,筛选出了影响发酵产 PDG 的主要内在因素^[26]。通过响应曲面法对主要影响因子进行优化与评价,最终验证试验得出,当麦芽糖 31.43 g/L、可溶性淀粉 46.26 g/L、NH₄Cl 2.38 g/L、NaNO₃ 2.27 g/L、FeSO₄ 0.14 g/L、KH₂PO₄ 1.47 g/L 时,可获得 PDG 最大产量为 27.628 mg/L,而在原来的查氏培养基上 PDG 的产量仅为 13.387 mg/L,产量显著提高^[26]。另外,研究表明利用葡萄糖作为培养基碳源时不能产生 PDG,这可能与 PDG 代谢途径有关。刘超等通过分类鉴定确定产 PDG 菌株 XP-8 为拟茎点霉属,优化其生长条件,发现在 28 ℃、pH 值 5.0 时生长最快^[28];该菌株对麦芽糖和葡萄糖的利

用能力较强,不能利用苹果酸,对硝酸钠的利用能力较强,但不能利用天门冬氨酸。沈书庆对杜仲内生真菌产槲皮素菌株 DZ11 培养基进行筛选优化,发现它在豆芽汁培养基上菌丝不但生长快而且较为浓密^[34]。通过单因素分析试验,确定发酵菌株的最佳碳源、氮源、pH 值、温度分别是蔗糖、脲、7.0、28 ℃。通过正交试验,得出适合杜仲内生真菌产槲皮素菌株 DZ11 菌丝生长的培养基:蔗糖 25 g/L,脲 2 g/L,装量为 120 mL 或 300 mL;适合杜仲内生真菌槲皮素积累的培养基:蔗糖 30 g/L,脲 2.5 g/L,装量为 100 mL 或 300 mL。通过优化产活性代谢产物菌株培养基,有利于提高杜仲内生真菌产活性代谢产物菌株的分离率,筛选新的菌株,获得稳定高效的次生代谢产物。

4 讨论与展望

杜仲内生真菌的多样性及次生代谢产物活性研究中亟待解决的问题有以下几点:

(1)与濒危植物杜仲共生的微生物除了内生真菌以外还有内生细菌和内生放线菌,而杜仲内生细菌和放线菌是否具有多样性和普遍性有待进一步研究。内生细菌在杜仲组织也有被分离的报道,并且具有抗菌活性。龚凤娟等从杜仲根中分离到 5 株 ACC 脱氨酶活性较高的内生细菌,其中 4 株菌对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌均有较好的抑菌活性^[40]。

(2)分离部位、分离时间和采集地域的不同也会造成杜仲内生真菌的分离有显著的差异性。因此,须要对杜仲内生真菌遗传差异性做系统性研究。

(3)有关杜仲内生真菌研究重点主要集中在初步筛选产活性成分的菌株,例如分离产绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷的菌株,但有杜仲关内生真菌产次生代谢产物的机制尚不清楚,合成相关基因是在共生时由宿主转移至内生真菌,还是内生真菌与宿主同时进化获得了合成能力有待进一步研究。

(4)现有研究已证明杜仲内生菌具有抗菌活性,但缺乏对抗菌活性成分的分离及抑菌机制的深入研究。并且尚未有将杜仲内生真菌代谢产物应用于药物生产的实例。

杜仲属国家濒危药材,传统的采集和消耗珍贵野生植物的做法,势必会造成资源的日益匮乏和环境的不断恶化,故在研究杜仲内生真菌多样性及次生代谢产物活性的同时应加大对杜仲资源的保护与利用,尤其是对野生杜仲资源保护。杜仲内生真菌种类丰富,其应用主要集中在 2 个方面:一是利用内生真菌进入杜仲组织内,促进杜仲生长,增加其抗逆性,并且刺激诱导杜仲细胞生成具有药理活性的次生代谢产物,如绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷和京尼平苷酸等;另一方面是利用内生真菌在试验条件下进行发酵,以此来生产具有广泛药用价值的物质,如微生物农药、抗生素和抗癌、抗肿瘤药物等。

杜仲是我国特有树种,并且具有种类繁多的化学成分和广泛的药理药效,应用前景极为广阔,在医药领域有较大潜力。利用杜仲内生真菌发酵产活性成分与从植物中提取有独特的优势,内生真菌不仅能在简单的培养基上良好地生长,产生大量的发酵产物,还可在生物反应器中人为控制各种参数,并可通过诱变育种等手段改变菌种性能以提高活性成分产量,便于实现大规模工业化生产,前景广阔;此外,对于天然药物新生成途径的开发及濒危药用植物杜仲的保护具有十分重

要的经济及生态效益。利用微生物发酵技术解决杜仲资源缺乏的问题将成为研究热点,相信随着研究的深入,杜仲内生真菌在开发利用杜仲资源方面前景光明。

参考文献:

- [1] 张康健, 张 檀. 中国神树——杜仲[M]. 北京: 经济管理出版社, 1997: 2–23.
- [2] 王亚琴, 张康健. 杜仲次生代谢物的研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(7): 836–837.
- [3] Stone J K, Bacon C W, White J F. An overview of endophytic microbes: endophytism defined[M]. New York: Microbial Endophytes, 2000: 3–29.
- [4] Hallmann J, Quadthallmann A, Mahaffee W F, et al. Bacterial endophytes in agricultural crops [J]. Canadian Journal Microbiology, 1997, 43(10): 895–914.
- [5] Castillo U F, Strobel G A, Ford E J, et al. Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophyticon *Kennedia nigriscans* [J]. Microbiology, 2002, 148 (9): 2675–2685.
- [6] Strobel G, Stierle A, Stierle D. *Taxomyces andreana*: a proposed new taxon for abulbiferous by phomycete associated with pacific yew (*Taxus brevifolia*) [J]. Mycotaxon, 1993, 40(7): 71–81.
- [7] 易晓华. 植物内生真菌次生代谢产物研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(21): 255–260.
- [8] Petrini O, Fungal endophytes of tree leaves[M]//Andrews J H, Hirano S S. Microbial ecology of leaves. New York: Springer-Verlag, 1991: 179–197.
- [9] 王丽丽, 白方文, 张西玉, 等. 杜仲内生真菌的分离鉴定及其抑菌活性研究[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2009, 32(4): 508.
- [10] 杨明琰, 田 稼, 马 瑜, 等. 杜仲内生真菌的分离鉴定及抗菌活性研究[J]. 西北植物学报, 2012, 32(1): 193.
- [11] 孙 奎, 苏印泉. 杜仲内生真菌的分离及其鉴定[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(4): 731–733.
- [12] 马养民, 田从丽, 张弘弛. 杜仲内生真菌的分离鉴定及抗菌活性筛选[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 552–554.
- [13] 陈峻青, 王伊文, 冯成亮, 等. 杜仲内生真菌的分离鉴定及其对异甜菊醇的生物转化研究[J]. 东南大学学报(医学版), 2011, 30(6): 861–865.
- [14] 梁雪娟. 杜仲皮有效成分与其内生真菌的相关性研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014: 1–7.
- [15] 谭小明, 周雅琴, 陈 娟. 药用植物内生真菌多样性研究进展[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(18): 1563–1580.
- [16] 姜交龙. 植物内生真菌分离及其代谢产物抑菌性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 1–16.
- [17] 陈远友, 单淑芳. 苦楝内生真菌的生物多样性研究[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(14): 60–63.
- [18] 相延英, 明乾良, 李文超, 等. 三尖杉内生真菌的季节动态和组织分布研究[J]. 药学实践杂志, 2013, 31(4): 267–270.
- [19] 丁常宏, 都 晓, 伟徐莹. 药用植物内生真菌的功能研究进展[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(18): 1563–1580.
- [20] Cheng J, Zhao Y Y, Cui Y X, et al. Studies on flavonoids from leave of *Eucommia ulmoides* Oliver[J]. China Chin Mater Med, 2000, 25(5): 284–285.
- [21] Malinowski D P, Belesky D P. Tall fescue aluminum tolerance is affected by *Neotyphodium coenophialum* endophyte[J]. Journal of Plant Nutrition, 1999, 22(8): 1335–1349.
- [22] Lu H, Zou W X, Meng J C, et al. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua* [J]. Plant Science, 2000, 151(1): 67–73.
- [23] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew [J]. Science, 1993, 260(9): 214–216.
- [24] Zhang Z B, Zeng Q G, Yan R M, et al. Endophytic fungus *Cladosporium cladosporioides* LF70 from *Huperzia serrata* producing Huperzine A [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(3): 479–486.
- [25] 罗丽芳, 吴卫华, 欧阳冬生, 等. 杜仲的降压成分及降压机制[J]. 中草药, 2006, 37(1): 150–152.
- [26] 李爱华, 樊明涛, 师俊玲. 杜仲内生菌的分离及产 PDG 菌株的筛选[J]. 西北植物学报, 2007, 27(3): 616–619.
- [27] 王 维, 师俊玲, 杨保伟. 茎尖菌属产松脂醇二葡萄糖苷的培养条件优化[J]. 农业工程学报, 2008, 24(6): 287–290.
- [28] 刘 超, 师俊玲, 周小娟, 等. 产 PDG 杜仲内生菌的分离筛选和分类鉴定及生长条件研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(1): 203–209.
- [29] Shi J, Liu C, Liu L, et al. Structure identification and fermentation characteristics of pinoresinol diglucoside produced by *Phomopsis* sp. isolated from *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. Applied Microbiol Biotechnol, 2011, 93(4): 1475–1483.
- [30] Chen X M, Sang X X, Li S H, et al. Studies on a chlorogenic acid-producing endophytic fungi isolated from *Eucommia ulmoides* Oliver [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2010, 37(5): 447–454.
- [31] 闫兴民. 杜仲内生真菌的分离与拮抗菌株的筛选[D]. 郑州: 河南大学, 2015: 1–29.
- [32] 尉 芹, 王冬梅, 马希汉, 等. 杜仲叶总黄酮含量测定方法研究[J]. 西北农业科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(5): 119–123.
- [33] 霍 娟, 陈双林. 杜仲内生真菌抗氧化活性[J]. 南昌大学学报(理科版), 2004, 28(3): 270–275.
- [34] 沈书庆. 濒危药用植物杜仲活性成分内生真菌的研究[D]. 西安: 西北大学, 2008: 1–50.
- [35] 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.
- [36] 李 雅, 宋晓斌, 马养民, 等. 杜仲内生真菌对植物病原真菌的抑菌活性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(2): 69–73.
- [37] 孙微微, 丁 婷. 杜仲内生真菌中抗苹果炭疽病活性菌株的筛选[J]. 安徽农业大学学报, 2013, 40(6): 981–987.
- [38] 丁 婷, 孙微微, 王 帅, 等. 杜仲内生真菌中抗玉米纹枯病活性菌株的筛选[J]. 植物保护, 2014, 40(6): 29–35.
- [39] 丁 婷, 孙微微, 韩亚惠, 等. 杜仲内生真菌 DJZJ07 在小麦根际定殖及对根部酶活的影响[J]. 核农学报, 2015, 29(6): 1149–1155.
- [40] 龚凤娟, 恩特马克·布拉提白, 张宇凤, 等. 具有 ACC 脱氨酶活性的杜仲内生细菌的分离鉴定及其抗菌活性[J]. 微生物学通报, 2011, 38(10): 1526–1532.