

- 研究[J]. 中成药, 2013, 35(6): 1274-1278.
- [17] 高鸿彬, 刘浩, 相秉仁. 半夏及其伪品天南星的近红外漫反射快速无损鉴别[J]. 光谱实验室, 2012, 29(2): 899-902.
- [18] 李欣逸, 解达帅, 张超, 等. 基于电子鼻技术的胆南星定性鉴别研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(8): 6-10.
- [19] 罗芬, 陆丹, 池玉梅, 等. 天南星药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(23): 3302-3305.
- [20] 李家磊, 管立军, 王崑仑, 等. 近红外光谱技术在药食同源品质评价中的应用进展[J]. 中国调味品, 2018, 43(5): 189-193.
- [21] 周雨枫, 杨哲萱, 董林毅, 等. 近红外光谱技术快速测定三七水分和醇溶性浸出物[J]. 药物评价研究, 2018, 41(11): 1994-1999.
- [22] 顾志荣, 许爱霞, 祁梅, 等. 基于傅里叶变换红外光谱指纹特征的甘肃 8 个主产区红芪药材鉴别研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(11): 62-67.
- [23] 陈仕学, 姚元勇, 黎兴艳. 不同地区八角莲的红外光谱分析[J]. 云南化工, 2018(1): 96-101.
- [24] 吴方斌, 高姗姗, 韦学敏, 等. 羌活与宽叶羌活药材的红外光谱鉴别[J]. 中药材, 2017, 40(3): 543-549.

## 华泽兰内生真菌的分离及其抑菌、抗肿瘤活性

张建芬, 林璟, 徐好仪, 张梦捷  
(浙江树人大学生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310015)

**摘要:** 目的 研究华泽兰内生真菌的分离及其抑菌、抗肿瘤活性。方法 采用组织分离法分离内生真菌, 通过形态学观察和其 ITS (5.8S) 序列的分子生物学方法鉴定内生真菌, KB 纸片法和 MTT 法分别对内生真菌代谢产物的乙酸乙酯提取物进行抑菌实验和体外抗肿瘤实验, PCR 法分析和检测内生真菌 PKS 和 NRPS 基因。结果 从中分离得到 8 株内生真菌, 分别鉴定为禾谷镰刀菌、间座壳属、链格孢属、层生镰刀菌、葡萄座腔菌属小新壳梭孢、细极链格孢、首都叶点霉。菌株 EC102、EC103、EC107、EC108、EC111 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、面包酵母都具有很好的抑菌活性, EC102、EC107、EC108、EC109 对人乳腺癌细胞株有较好的抗肿瘤活性。从华泽兰内生菌株中发现 4 个 NRPS 基因片段和 1 个 PKS 基因片段。结论 分离得到的内生真菌具有潜在的抑菌和抗肿瘤活性, 且能产生 NRPS 基因和 PKS 基因。

**关键词:** 华泽兰; 内生真菌; 抑菌; 抗肿瘤

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)01-0133-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.029

## Isolation of endophytic fungi from *Eupatorium chinense* and their antimicrobial, antitumor activities

ZHANG Jian-fen, LIN Jing, XU Hao-yi, ZHANG Meng-jie  
(College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China)

**ABSTRACT:** AIM To study the isolation of endophytic fungi from *Eupatorium chinense* and their antimicrobial and antitumor activities. **METHODS** The endophytic fungi were isolated by tissue separation method, and identified by morphological observation and molecular biological methods. The antimicrobial activity from the isolated endophytic fungi was detected using filter paper method. And the antitumor activity was detected by MTT assay. PKS and NRPS genes were analyzed by PCR. **RESULTS** Eight strains of the endophytic fungi were isolated and identified as *Fusarium graminearum*, *Diaporthe* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium proliferatum*, *Neofusicoccum parvum*, *Alternaria tenuissima*, and *Phyllosticta capitalensis*, respectively. The strains of EC102, EC103, EC107, EC108 and

收稿日期: 2018-10-30

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (LY18C010002); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201811842016)

作者简介: 张建芬 (1979—), 女, 博士, 教授, 从事微生物生产天然代谢产物研究。E-mail: grace\_zjf@126.com

EC111 had stronger bacteriostatic activities on *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, and *S. cerevisiae*. The EC102, EC107, EC108 and EC109 had stronger antitumor activities to human breast cancer cell. Four NRPS gene fragments and one PKS gene fragment were found from the endogenous strain. **CONCLUSION** The isolated endophytic fungi are potential antimicrobial and antitumor resource, and can produce NRPS and PKS genes.

**KEY WORDS:** *Eupatorium chinense* L.; endophytic fungi; antimicrobial activity; antitumor activity

华泽兰 *Eupatorium chinense* L. 为菊科泽兰属一年生或多年生草本植物,在我国主要分布于东南部至西南部。传统药理研究表明,华泽兰具有清热解毒、凉血利咽、抗炎镇痛等功效;现代研究表明,华泽兰富含结构新颖的萜类及黄酮类化合物,具有显著的抑菌和抑制肿瘤细胞活性<sup>[1-3]</sup>。刘梦元等<sup>[4]</sup>从华泽兰根中分离得到苯并呋喃类化合物,具有较强抑菌活性;尉小琴等<sup>[5]</sup>从华泽兰中分离得到泽兰苦内酯类化合物,对人胃癌 HGC-27 细胞及小鼠黑色素瘤 B16 细胞有显著的细胞毒活性。

Stierle 等<sup>[6]</sup>从短叶红豆杉 *Taxus brevifolia* 中分离到一株能够产生与宿主相同的抗肿瘤代谢产物紫杉醇的内生真菌 *Taxomyces andreanae*,而且从药用植物内生真菌中寻找活性成分成为研究的热点,大量的抑菌抗肿瘤活性成分从中分离出来,如紫杉醇、喜树碱、长春新碱、鬼臼毒素等<sup>[7]</sup>。从泽兰属中药内生真菌中筛选结构新颖、效价高、成药性良好的抑菌、抗肿瘤先导物颇具研究前景,但目前有关华泽兰内生菌产生抑菌、抗肿瘤活性代谢产物的研究尚未见报道。

植物内生真菌能够产生萜类、生物碱类、芳香类、肽类等活性次生代谢产物,可分为聚酮类和非核糖体多肽类化合物,生物合成过程分别是在聚酮合酶 (polyketide synthase, PKS) 和非核糖体肽合成酶 (non-ribosomal peptide synthetase, NRPS) 的催化下完成<sup>[8]</sup>。基于 PKS 和 NRPS 功能基因定向筛选的方法,可以预测菌株可能产生的化合物类型,发现新的聚酮类和非核糖体肽类<sup>[9]</sup>。

本研究以传统药用植物华泽兰为材料,从植物各部位分离内生真菌,并利用形态学特征结合 ITS 序列分析进行内生真菌的鉴定;筛选含有 PKS 和 NRPS 基因的功能菌株,预测其产生次生代谢产物的能力。在此基础上,通过活性筛选的方法从中挖掘出具有抑菌、抗肿瘤活性菌株。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试植物 华泽兰于 2016 年 9 月至 2016 年 11 月采自杭州西山国家森林公园,采用随机取

样法收集健康植株的根、茎、叶、花,装入无菌袋内带回实验室,用于内生真菌的分离。

1.1.2 培养基 采用 PDA 培养基进行内生真菌的分离和纯化,采用 PDB 培养基进行内生真菌的发酵培养,采用康乃馨叶片培养基 (CLA) 进行内生真菌的产孢培养。

1.1.3 试剂 真菌基因组 DNA 提取试剂盒购于生工生物工程 (上海) 有限公司; DNA marker 和 2× Taq PCR Master mix 均购于宝生物工程 (大连) 有限公司; PCR 扩增引物合成和 PCR 扩增产物测序均由生工生物工程 (上海) 有限公司完成。

1.2 内生真菌分离 采用组织分离法,参照汪滢等<sup>[10]</sup>报道。将健康华泽兰的根、茎、叶、花用自来水洗净,切为小段或小片。分别用 75% 乙醇和 3% 次氯酸钠溶液消毒 2 min,其间分别无菌水冲洗多次。样品晾干后,切成约 1 cm×1 cm 大小,接到 PDA 培养基上,28 ℃ 培养。将最后 1 次清洗样品所用无菌水涂布于 PDA 平板上作为对照,同样条件下培养、观察,以确保表面消毒彻底。挑取样品切口处长出的菌丝尖端部分,转接至新鲜 PDA 培养基上,多次纯化培养,直至获得纯菌株。

1.3 内生真菌鉴定 观察内生真菌的平板菌落形态、菌丝形态和孢子形态,结合《真菌鉴定手册》对分离到的真菌进行表型鉴定<sup>[11]</sup>,分子生物学鉴定参照相关文献报道的方法<sup>[10]</sup>。采用 CTAB 法提取内生真菌的基因组 DNA,以此为模板,ITS1、ITS4 为引物,对内生真菌进行 PCR 扩增,在 GenBank 数据库中用 BLAST 进行比对分析。采用 MEGA5 软件的 Neighbor-Joining (邻接) 法构建内生真菌的系统发育树,Bootstrap 1 000 次进行稳定性检验。

1.4 内生真菌 PKS 和 NRPS 基因检测和分析 以内生真菌菌株基因组 DNA 为模板,按照文献的方法,采用兼并引物 KAF1 (5'-GARKSICAYGGI-ACIGGIAC-3')、KAR1 (5'-CCAYTGIGCICCRTGIC-CIGARAA-3') 和 AUG003 (5'-CCGGCACCACCG-GNAARCCHAA-3')、AUG007 (5'-CCGGACCAT-GTCGCCNGTBYKRTA-3') 进行 PKS、NRPS 功能

基因的PCR扩增<sup>[9-10]</sup>。PCR产物经纯化后测序。利用BLASTx软件将获得的PKS和NRPS基因序列转化为氨基酸序列，在线进行序列的同源性比对。

1.5 内生菌发酵培养和活性成分提取 将筛选出的内生真菌接种PDB发酵培养基(100 mL/500 mL)，25℃培养7~10 d。活性成分的提取参照文献[10]报道的方法，发酵液用布氏漏斗过滤。发酵滤液用等体积乙酸乙酯萃取3次，收集萃取液45℃下减压浓缩至干，用抑菌、抗肿瘤实验。

1.6 抑菌活性测定 采用滤纸片法。以革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis*、革兰氏阴性菌大肠杆菌 *Escherichia coli*、真菌面包酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 为指示菌，分别吸取测试样品溶液(以乙酸乙酯稀释至10 mg/mL) 15 μL滴加于空白药敏纸片(直径6 mm)上，将纸片贴到涂布有0.2 mL指示菌菌液(约1×10<sup>6</sup> CFU/mL)的LB平板上，以乙酸乙酯为空白对照，100 μg/mL氨苄青霉素为阳性对照，37℃培养24 h，测定各样品抑菌圈

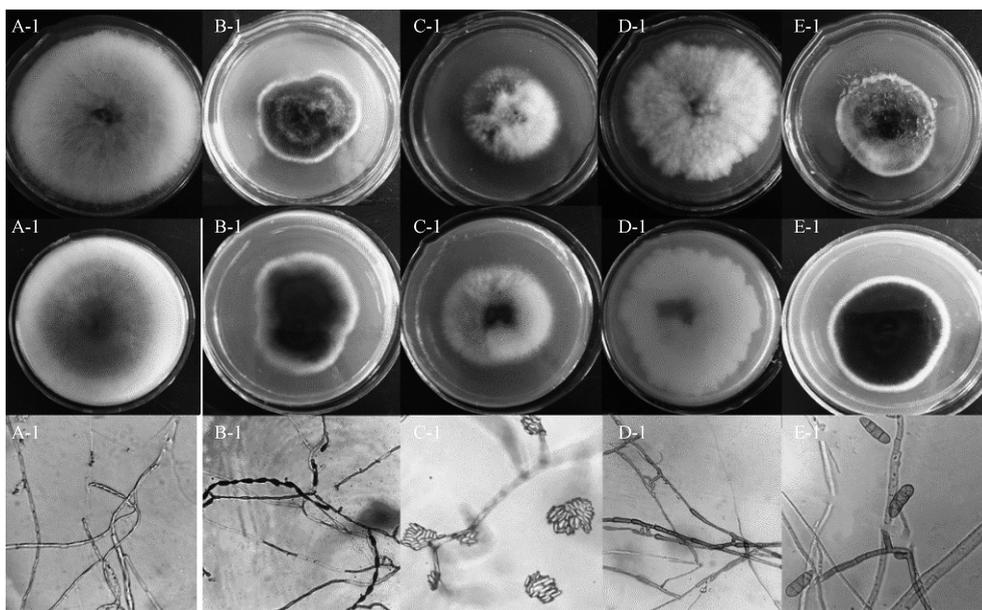
直径。

1.7 抗肿瘤活性检测 采用MTT法<sup>[5]</sup>。以人乳腺癌细胞株MDA-MB-231和MCF-7为检测瘤株，完全培养基为阴性对照，阿霉素为阳性对照。细胞在96孔板中培养后，于490 nm波长处检测各孔吸光度(A)，计算IC<sub>50</sub>。

## 2 结果

2.1 内生真菌的分离与鉴定 采用平板分离法，从华泽兰中分离得到内生真菌43株。根据内生真菌菌株的平板菌落形态特征和显微镜下的形态特征，去重后共得到内生真菌8株。

在PDA培养基上，部分菌株的菌落形态见图1、表1。各菌株的菌落形态丰富，有绒毛状、絮状、花瓣状，颜色有白色、粉红色、红色、黑色、绿色等；有的菌株生长较快，菌丝发达，有的生长较慢。图1表明，EC2、EC7、EC8菌株生长较快，菌丝发达，迅速长满整个平板，而EC4、EC9生长较慢。



注：A~E分别为菌株EC102、EC104、EC107、EC108和EC109的正面平板菌落形态(1)、反面平板菌落形态(2)和显微镜下分生孢子形态(3，×400)。

图1 部分内生真菌形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics on some entophytic fungi

以华泽兰内生真菌的基因组DNA为模板，以ITS1和ITS4为引物，成功扩增了其ITS区序列，测序结果提交GeneBank经Blast比对分析和进化树分析，基于ITS区序列的系统发育分析见图2。由此可知，8株菌株分别与*Fusarium graminearum*、*Diaporthe* sp、*Alternaria alternata*、*Fusarium proliferatum*、

*Neofusicoccum parvum*、*Alternaria tenuissima*、*Phyllosticta capitalensis*的亲缘关系最近(序列相似度98%以上)，将其ITS区序列提交Genbank，获得登录号。结合形态学特征和5.8SrDNA/ITS区序列分析结果，菌株EC102、EC103鉴定为禾谷镰刀菌*Fusarium graminearum*

表1 内生真菌表型鉴定

Tab. 1 Phenotype identification of entophytic fungi

编号	菌落形态(PDA平皿)	显微特征
EC102	菌丝呈绒毛状,白色至红色,反面中间呈玫瑰红色	菌丝发达,分支状,菌丝具隔膜,分生孢子镰刀形,具2~3个隔膜
EC103	菌丝呈绒毛状,白色至浅红色,反面呈浅洋红色	菌丝发达,分支状,菌丝具隔膜,分生孢子镰刀形,具隔膜
EC104	菌落呈绒毛状,菌丝橄榄绿色,反面黑色,中间颜色深	菌丝发达呈交织的分支状,菌丝有横隔,分生孢子呈椭圆形
EC105	菌落呈絮状,菌丝白色至灰黑色,反面白色至灰黑色	菌丝有隔膜,分生孢子呈卵形,黄褐色,具有横隔
EC107	菌丝白色至粉色絮状,反面浅橙色至肉桂褐色	菌丝具隔膜,大分生孢子镰刀形,具隔膜,小分生孢子呈卵形
EC108	菌落呈絮状,菌丝白色,反面白色至深绿色	菌丝发达,细长有隔,分生孢子纺锤形,无隔膜
EC109	菌落呈绒毛状,菌丝灰黑色至黑色,反面黑色	菌丝无隔膜,分生孢子呈卵形,黄褐色,具有横隔
EC111	菌落生长慢,墨绿色,质地较致密,边缘清晰	菌丝无隔膜,分生孢子器轮生,球形,分生孢子球形、黑色

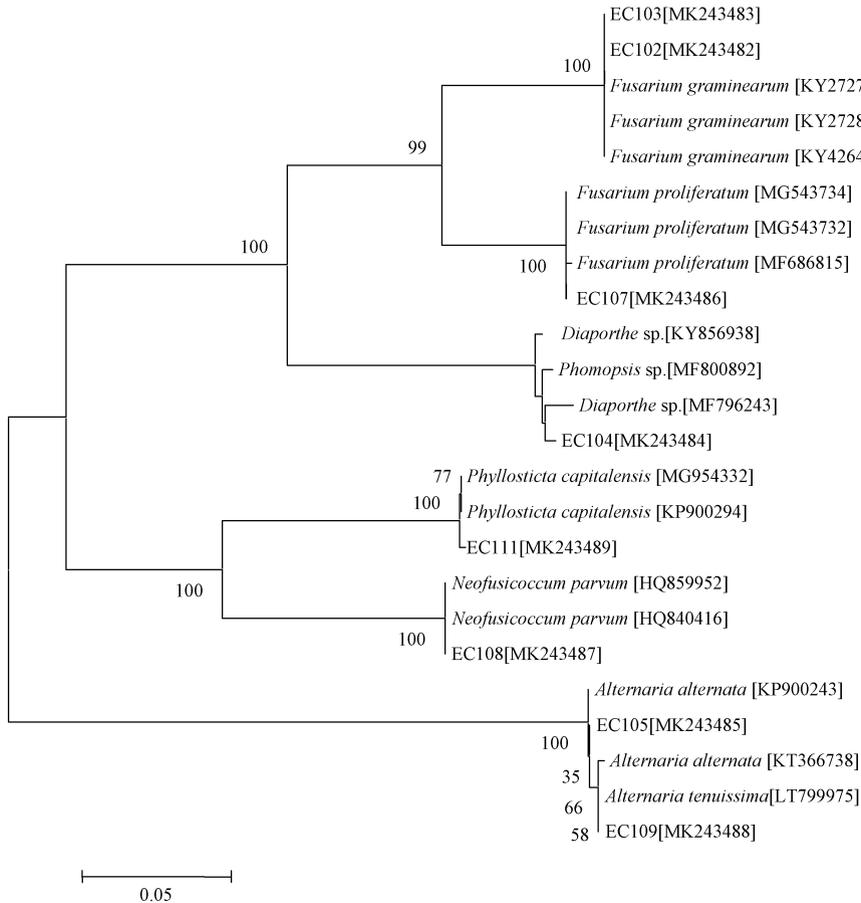


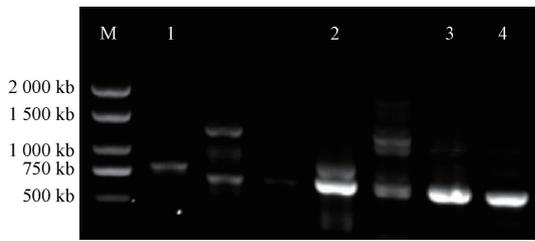
图2 内生真菌 18S rRNA 序列系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of entophytic fungi 18s rRNA sequence

(GeneBank 登陆号 MK243482 和 MK243483); 菌株 EC104 鉴定为间座壳属 *Diaporthe* sp (GeneBank 登陆号 MK243484); 菌株 EC105 鉴定为链格孢属 *Alternaria alternata* (GeneBank 登陆号 MK243485); 菌株 EC107 鉴定为层生镰刀菌 *Fusarium proliferatum* (GeneBank 登陆号 MK243486); 菌株 EC108 鉴定为葡萄座腔菌属小新壳梭孢 *Neofusicoccum parvum* (GeneBank 登陆号 MK243487); 菌株 EC109 鉴定为细极链格孢 *Alternaria tenuissima* (GeneBank 登陆号 MK243488); 菌

株 EC111 鉴定为首都叶点霉属 *Phyllosticta capitalensis* (GeneBank 登陆号 MK243489)。

2.2 NRPS 和 PKS 基因分析 华泽兰内生菌株的 NRPS 和 PKS 基因扩增电泳图见图 3, 可见产物条带在 600 ~ 700 bp 左右。本研究共得到了 3 个 NRPS 基因片段, 占总量的 37.5%; 1 个 PKS 基因片段, 占总量的 12.5%。将测序得到的 NRPS 和 PKS 基因片段用 BLAST 比对, 结果见表 2, 可知 NRPS 片段与 GenBank 中已知 NRPS 序列的相似度并不高, 仅为 70% ~ 83%, 表明对分离到 8 株菌株



注：M为Marker，1为EC111的PKS基因扩增产物，2~4分别为EC104、EC107、EC111的NRPS基因扩增产物。

图3 部分菌株的PKS和NRPS基因扩增电泳图

Fig. 3 Electrophoretogram of PKS and NRPS gene amplification of some strains

表2 NRPS和PKS基因的相似菌株及相似度

Tab. 2 Similar strains and similarities of NRPS and PKS genes

编号	NRPS基因	相似度/%	编号	PKS基因	相似度/%
EC104	<i>Fusarium solani</i> MF680452. 1	83	EC111	<i>Phyllosticta</i> sp KY629575. 1	82
EC107	<i>Fusarium fujikuroi</i> XM 023581222. 1	77			
EC111	<i>Aspergillus novofumigatus</i> XM 024826703. 1	70			

表3 内生真菌发酵产物的抑菌活性 ( $\bar{x}\pm s$ )

Tab. 3 Antimicrobial activities of fermentation broth of endophytic fungi ( $\bar{x}\pm s$ )

编号	抑菌圈直径/mm			
	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	面包酵母
氨苄青霉素	21.5±1.6	25.7±1.2	14.6±1.5	0
EC102	12.4±1.3	11.1±1.8	11.9±0.7	18.5±0.8
EC103	8.1±0.9	10.8±0.6	11.2±1.5	16.1±0.9
EC104	0	13.3±2.1	0	0
EC105	9.8±1.1	9.8±0.6	0	17.2±1.8
EC107	14.3±2.3	14.3±0.3	12.3±2.3	12.3±1.0
EC108	10.0±0.8	22.5±2.0	16.4±2.5	11.0±0.9
EC109	0	22.3±2.5	0	0
EC111	13.2±0.7	11.7±0.5	15.5±1.2	12.5±2.2

占总分离菌株的50%；EC104和EC109只对金黄色葡萄球菌有抑菌作用；EC108和EC109对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径达到22mm。

2.4 内生真菌代谢产物的抗肿瘤活性 将内生真菌发酵液的乙酸乙酯提取物作用对数生长期的人乳腺癌细胞株MDA-MB-231进行抗肿瘤试验，结果见表4。显微镜下发现，在96孔板培养物中具有抑制效果的细胞不同程度脱落、变形甚至凋亡；8株菌株的乙酸乙酯提取物对人乳腺癌细胞株MDA-

的NRPS和PKS基因研究较少。因此，对其深入探讨将有可能发现新型聚酮类和非核糖体多肽类化合物。

2.3 内生真菌代谢产物的抑菌活性 对分离纯化得到的内生真菌进行液体培养，发酵液经乙酸乙酯提取后，分别得到华泽兰内生真菌乙酸乙酯提取物，以金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和面包酵母作为指示菌，进行抑菌活性测定，结果见表3，表明菌株EC102、EC103、EC107、EC108、EC111对供试的4株菌株都有较好的抑菌效果，

MB-231均有不同程度的抗肿瘤活性，其中效果最明显的是EC102、EC108，其次是EC107、EC109。然后，将EC102、EC107、EC108、EC109乙酸乙酯提取物作用对数生长期的人乳腺癌细胞株MCF-7进行抗肿瘤实验，发现它们均有不同程度的抗肿瘤活性，其中效果最好的是EC109。综合抑菌实验和抗肿瘤实验结果，菌株EC102、EC107、EC108、EC109的代谢产物同时具有抑菌和抗肿瘤活性。

表4 内生菌发酵产物对MDA-MB-231和MCF-7的抑制活性 ( $\bar{x}\pm s$ )

Tab. 4 Inhibitory activities of fermentation broth of endophytic fungi to MDA-MB-231 and MCF-7 ( $\bar{x}\pm s$ )

MDA-MB-231		MDA-MB-231		MCF-7	
编号	IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	编号	IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	编号	IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
对照(阿维素)	1.21±0.15			对照(阿维素)	1.50±0.21
EC102	17.57±4.06	EC107	31.65±1.32	EC102	29.95±2.01
EC103	40.25±3.21	EC108	19.56±0.42	EC107	50.76±3.49
EC104	41.22±2.26	EC109	36.86±1.40	EC108	32.03±1.88
EC105	55.11±2.24	EC111	41.38±3.01	EC109	18.80±2.14

### 3 讨论

药用植物具有非常丰富的内生真菌资源,而泽兰属植物内生真菌的研究主要集中在入侵植物紫茎泽兰 *Eupatorium adenophorum* 上。本研究首次从华泽兰中分离得到8株植物内生菌,分析了华泽兰内生真菌的NRPS和PKS基因,发现4个NRPS基因片段和1个PKS基因片段。目前对药用植物内生真菌PKS和NRPS的研究相对较少,研究华泽兰中两者有助于发现新的聚酮类和非核糖体肽类化合物。

抑菌活性实验表明,菌株EC102、EC103、EC107、EC108、EC111对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、面包酵母都具有很好的抑菌活性;抗肿瘤活性实验表明,它们对2种肿瘤细胞株均有不同程度的抗肿瘤活性,其中效果最好的是EC102、EC108乙酸乙酯提取物,两者代谢产物同时具有较强的抑菌、体外抗肿瘤作用。研究表明,镰刀菌属的次级代谢产物通常会具有较好的抑菌活性和抗肿瘤活性<sup>[12-15]</sup>,卢围等<sup>[13]</sup>从小花棘豆中分离到镰刀菌 *Fusarium proliferatum*,能产抗肿瘤活性物质苦马豆素;郑里翔等<sup>[14]</sup>发现,镰刀菌 *Fusarium* sp. JN 158所产色素对MCF-7乳腺癌细胞有明显抑制作用;刘雷等<sup>[15]</sup>从川麦冬中分离得到镰刀菌属内生真菌,对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌等有抑制作用;Ratnaweera等<sup>[16]</sup>从仙人掌中分离得到内生真菌 *Fusarium* sp的代谢产物,具有抑菌作用。但有关葡萄座腔菌属代谢产物抗菌抗肿瘤的研究报道较少,故可进一步研究菌株EC102、EC108代谢产物中抗菌、抗肿瘤活性成分的组成及其结构,探明这些内生真菌是否产生与宿主华泽兰相同或相似的萜类及黄酮类次级代谢产物,或是新的活性物质,以期为抗肿瘤、抗菌药物的开发提供参考。

#### 参考文献:

[ 1 ] Wu S Q, Xu N Y, Sun Q, et al. Six new sesquiterpenes from *Eupatorium lindleyanum*[J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95(9): 1637-1644.

[ 2 ] Chun J, Li R J, Cheng M S, et al. Alantolactone selectively suppresses STAT3 activation and exhibits potent anticancer activity in MDA-MB-231 cells[J]. *Cancer Lett*, 2015, 357(1): 393-403.

[ 3 ] Kim A, Im M, Yim N H, et al. Reduction of metastatic and angiogenic potency of malignant cancer by *Eupatorium fortunei* via suppression of MMP-9 activity and VEGF production[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 6994-6994.

[ 4 ] 刘梦元,虞丽娟,李燕慈,等. 华泽兰根的化学成分及其体外抑菌活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2015, 27(11): 1905-1909; 1949.

[ 5 ] 尉小琴,刘呈雄,邹坤,等. 华泽兰化学成分及其抗肿瘤活性研究[J]. *中药材*, 2016, 39(8): 1782-1785.

[ 6 ] 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.

[ 7 ] 马养民,冯成亮. 植物内生真菌抗肿瘤活性成分研究进展[J]. *有机化学*, 2008, 28(10): 1697-1706.

[ 8 ] 杨瑞先,张拦,彭彪彪,等. 芍药内生真菌的鉴定及产生活性次生代谢产物的评估[J]. *微生物学报*, 2017, 57(10): 1567-1582.

[ 9 ] 任丹,张波,张小平,等. 川楝内生真菌的遗传及PKS、NRPS基因的多样性[J]. *中草药*, 2014, 45(10): 1461-1467.

[ 10 ] 汪滢,王国平,王丽薇,等. 一株多花黄精内生真菌的鉴别及其抗菌代谢产物[J]. *微生物学报*, 2010, 50(8): 1036-1043.

[ 11 ] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1979.

[ 12 ] Cui J L, Guo S X, Xiao P G. Antitumor and antimicrobial activities of endophytic fungi from medicinal parts of *Aquilaria sinensis*[J]. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)*, 2011, 12(5): 385-392.

[ 13 ] 卢围,路浩,赵宝玉,等. 小花棘豆产苦马豆素内生真菌的筛选与鉴定[J]. *畜牧兽医学报*, 2011, 42(30): 429-436.

[ 14 ] 郑里翔,蔡宇杰,徐敏娟,等. 镰刀菌 *Fusarium* sp. JN 158色素的鉴定及其抗肿瘤活性[J]. *食品与生物技术学报*, 2015, 34(5): 463-469.

[ 15 ] 刘雷,潘峰,杨远兵,等. 川麦冬内生真菌分离和鉴定及抑菌活性初步研究[J]. *中草药*, 2016, 47(8): 1382-1391.

[ 16 ] Ratnaweera P B, Silva E D, Williams D E, et al. Antimicrobial activities of endophytic fungi obtained from the arid zone invasive plant *Opuntia dillenii* and the isolation of equisetin, from endophytic *Fusarium* sp[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15: 220.