

蒺藜内生真菌发酵液抗菌及抗肿瘤活性初步研究

武文斌 刘雅莉 岳高超 张雯*

(华东师范大学 生命科学学院 上海 200241)

摘要: 【目的】筛选出具有抗菌和抗肿瘤活性的蒺藜内生真菌。【方法】采用牛津杯法、稻瘟菌模型及肿瘤细胞模型评价蒺藜内生真菌 PDB 和察氏培养基发酵产物的抗菌活性和肿瘤细胞毒性。【结果】PDB 培养基发酵液和察氏培养基发酵液抑菌圈直径大于 10 mm 的菌株分别占总菌株数的 19.05%和 23.81%。PDB 培养基发酵液和察氏培养基发酵液对稻瘟菌的最小抑制浓度(MIC)低于 10%的菌株分别占总菌株数的 19.05%和 47.61%。对肿瘤细胞抑制率高于 50%的 PDB 发酵产物占 PDB 发酵产物总数的 52.38%，而对肿瘤细胞抑制率高于 50%的察氏发酵产物占察氏发酵产物总数的 28.57%。【结论】部分蒺藜内生真菌的发酵产物具有抗菌和抗肿瘤活性。

关键词: 蒺藜, 内生真菌, 抗菌, 抗肿瘤

Antagonism on microorganisms and cancer cells by the fermentation broth of endophytic fungi from *Tribulus terrestris* L.

WU Wen-Bin LIU Ya-Li YUE Gao-Chao ZHANG Wen*

(School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract: [Objective] The aim of the present study is to investigate the anti-microorganisms and anticancer activities of endophytic fungi isolated from *Tribulus terrestris* L.. [Methods] Endophytic fungi were cultured in PDB or Czapek medium to obtain different liquid fermentation. The

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 61172149)

*通讯作者: Tel: 86-21-54341011; ✉: wzhang@bio.ecnu.edu.cn

收稿日期: 2013-02-19; 接受日期: 2013-06-08

activities of fermentative products were tested by using Oxford plate assay system, *Magnaporthe oryzae* P-2b model and cancer cell model. **[Results]** The strains with their inhibition zone diameter of the PDB and Czapek broth greater than 10 mm were accounted for 19.05% and 23.81% respectively of the total strains. The strains of which the PDB broth and the Czapek broth with the MIC (Minimum inhibitory concentration) of *Magnaporthe oryzae* lower than 10%, were accounted for 19.05% and 47.61% respectively of the total strains. The PDB fermentation broth with the inhibitory action on cancer cells over 50% was accounted for 52.38% of the total PDB broth, and the Czapek fermentation broth with the inhibitory action on cancer cells over 50% was accounted for 28.57% of the total Czapek broth. **[Conclusion]** A certain amount of fermentative broth of endophytic fungi isolated from *Tribulus terrestris* L. had effective anti-microorganisms and anticancer activities.

Keywords: *Tribulus terrestris* L., Endophytic fungus, Anti-microorganisms, Anticancer

植物内生真菌(Endophytic fungus)是指生活在植物的根、茎、叶等器官的组织内部,但一般不引起植物体病害的一类真菌^[1]。近年来,国内外已陆续报道了从多种植物中分离获得了产生药理活性物质的内生真菌。例如,1993年 Strobel 首次报道了从短叶紫杉(*Taxus brevifolia* Nutt.)的树皮中分离出一株能产生紫杉醇(Taxol)的内生真菌 *Taxomyces andreanae*,掀起了从植物内生菌中寻找新活性物质的热潮^[2]。张玲琪等证明长春花的内生真菌尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum* Schlecht)可产生长春碱^[3], Shweta 等从植物 *Apodytes dimidiata* E. 中分离得到内生真菌 MTCC9667 和 MTCC9668, 两株真菌均能产生喜树碱和 9-甲氧基喜树碱, MTCC9668 还可产生 10-羟基喜树碱,而喜树碱和 10-羟基喜树碱是合成抗癌临床药物拓扑替康和伊立替康的重要前体物质^[4]。

本文选取传统药用植物蒺藜(*Tribulus terrestris* L.)作为宿主植物分离内生菌,蒺藜系蒺藜科蒺藜属一年生草本植物,在我国大部分地区均有分布,具有降压、调血脂、镇痛、利尿、催欲、抗癌和抗菌等多种药理活性^[5]。已有的研究也表明,从蒺藜全草中提取的蒺藜皂苷具有降低血

糖^[6]、甘油三酯、胆固醇^[7]等功效,同时能够抑制肾癌^[8]、肝癌^[9]、乳腺癌^[10]细胞的生长。目前有关蒺藜内生真菌的研究尚未见报道。在前期工作中,我们从山东泰山地区的新鲜蒺藜茎部分离得到 21 株内生真菌,为明确这些内生真菌中是否有与宿主植物相同或相似药理活性的菌株,本文对这些内生真菌发酵产物的抗菌及抗肿瘤活性进行了研究,为寻找新型天然抗菌抗肿瘤的活性物质提供一条新途径。同时,还针对天然培养基和人工培养基对蒺藜内生真菌发酵产物活性的影响做了初步探索。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

由作者从山东泰山地区采摘的新鲜蒺藜植株的茎部分离得到,现保存于华东师范大学资源植物化学实验室。所有菌株经 ITS 鉴定,所得序列登陆 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)提交至 GenBank,获得的序列号及 BLAST 检索的近似种见表 1。

1.2 内生真菌发酵产物的制备

将分离到的各菌种,接种于 PDA 培养基 25 °C

表 1 蒺藜内生真菌
Table 1 Endophytic fungi from *Tribulus terrestris* L.

菌种编号 Strain No.	序列号 Accession No.	所在属 Genus	近似种 The nearest type strain	相似度 Identity (%)
JL-3	JX867215	漆斑菌属	<i>Myrothecium roridum</i> strain F04	99
JL-5	JX867216	刺盘孢属	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> strain CMON36	99
JL-6	JX867217	刺盘孢属	<i>Colletotrichum capsici</i> strain C-II-1	99
JL-7w	JX867218	链格孢属	<i>Alternaria tenuissima</i> strain L4	99
JL-11	JX867219	链格孢属	<i>Alternaria tenuissima</i> strain DHMJ12	99
JL-13	JX867220	茎点霉属	<i>Phoma</i> sp. TMS-2011 voucher MS5p50-9	99
JL-14	JX867221	茎点霉属	<i>Phoma</i> sp. CPO 10.003	100
JL-16	JX867222	茎点霉属	<i>Phoma</i> sp. TMS-2011 voucher MS5p50-9	99
JL-17	JX867223	茎点霉属	<i>Phoma</i> sp. TMS-2011 voucher MS5p50-9	100
JL-19	JX867224	链格孢属	<i>Alternaria tenuissima</i> strain DHMJ16	99
JL-21	JX867225	茎点霉属	<i>Phoma</i> sp. TMS-2011 voucher MS5p50-9	99
JL-22-2	JX867226	栓菌属	<i>Trametes hirsuta</i> strain SYBC-L8	100
JL-22-3	JX867227	葡萄孢盘属	<i>Botryotinia fuckeliana</i> isolate Bot. 1283	99
JL-23	JX867228	拟茎点霉属	<i>Phomopsis</i> sp. strain GJS 83-377	99
JL-26	JX867229	镰刀菌属	<i>Fusarium</i> sp. NRRL 25124	99
JL-29	JX867230	明脐菌属	<i>Exserohilum rostratum</i> isolate L3	100
JL-31	JX867231	葡萄座腔菌属	<i>Botryosphaeria dothidea</i> strain HNg-2s-1	99
JL-34	JX867232	镰刀菌属	<i>Fusarium brachygibbosum</i> strain NRRL 34033	99
JL-37	JX867233	双极霉属	<i>Cochliobolus</i> sp. TR035	100
JL-T3	JX867234	镰刀菌属	<i>Fusarium chlamydosporum</i> isolate DB-L39	100
JL-T6	JX867235	镰刀菌属	<i>Fusarium</i> sp. NRRL 25124	99

培养 7 d 后, 打孔器打孔, 分别取 3 个菌片接种至 PDB 液体培养基或察氏液体培养基(250 mL 三角瓶中装有 150 mL 培养液)中, 25 °C、100 r/min 发酵 7 d 后, 过滤除去菌丝, 使用真空旋转蒸发器于 60 °C 将发酵液浓缩 20 倍。

1.3 抗细菌活性内生真菌的筛选

供试菌株金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)为华东师范大学生命科学学院赖玉平教授实验室赠送。被测药物为蒺藜内生真菌的 PDB 和察氏培养基发酵浓缩液。

采用牛津杯法^[11]测定其抑菌作用, 取浓度为

10^6-10^7 CFU /mL 的供试菌悬浮液 0.06 mL, 涂布于已倒好 LB 培养基的平板上, 在平板上等距离放入 3 个灭菌牛津杯, 以未接种的灭菌培养基为对照, 取 0.05 mL 发酵浓缩液加入牛津杯中, 细菌 37 °C 培养 18-24 h 后移去牛津杯, 量取抑菌圈直径, 直径越大抗菌活性越强。根据抑菌环大小来判断抑菌作用大小。

1.4 抗稻瘟菌活性内生真菌的筛选

稻瘟菌(*Magnaporthe oryzae*), 购于中国农业微生物菌种保藏管理中心, 编号 200649A2。检测方法^[12]: 将稻瘟菌接种于稻叶-土豆培养基上, 27 °C 培养 12-14 d, 加入适量无菌水后刮取孢子,

4 层纱布过滤除去菌丝, 得到孢子悬浮液, 然后加入 2% 酵母提取物溶液, 并用无菌水调节, 使其最终孢子浓度为 4×10^4 个/mL, 以每孔 50 μ L 的量加入 96 孔培养板中。两种不同培养基条件下得到的发酵浓缩液, 各取 50 μ L 加入 96 孔板第一行各孔中, 每一列从第一行开始依次倍半稀释到最后一孔(即 8 个浓度)。将加好样品的 96 孔板在 27 $^{\circ}$ C 培养 16 h, 倒置显微镜观察孢子生长和菌丝变形的情况, 以不再抑制稻瘟菌生长作为判断终点, 得到最小抑制浓度(MIC)。上述实验均平行操作 3 次。

活性指标: 根据菌丝的卷曲、膨胀、分枝过多或念珠状等形态生长异常现象可分为 5 个等级, 分别为: (A) 菌丝完全抑制, 孢子不萌发; (B) 菌丝强烈抑制; (C) 菌丝中度抑制; (D) 菌丝轻度抑制; (E) 正常生长的菌丝, 记录生长完全抑制的 MIC。

1.5 抗肿瘤活性内生真菌的筛选

采用人体前列腺癌 PC3 细胞株和鼠乳腺癌 4T1 细胞株(购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库, ATCC No. 分别为 CRL-1435 和 CRL-2539)为供试细胞进行抗肿瘤实验。取处于对数生长期的细胞, 消化后稀释细胞悬液至 1×10^5 个/mL, 加入到 96 孔细胞培养板中, 每孔 100 μ L, 3 孔复孔, 培养 12 h 后, 弃培养液, 分别加入含有 4% 发酵浓缩液的 RPMI1640 培养基 100 μ L, 而对照组加入等体积的 RPMI1640 培养基。培养 48 h 后, 每孔加冷的三氯乙酸(50%, W/V) 50 μ L, 轻轻混匀; 4 $^{\circ}$ C 孵育 60 min; 去除孔内溶液, 流水冲洗 5 遍, 风干; 每孔加入 50 μ L SRB, 室温孵育 10 min; 1% 醋酸洗 5 遍, 去除未结合到细胞的染料, 风干; 加 100 μ L Tris (10 mmol/L) 溶解结合到细胞的染料。混匀后, 于酶标仪上 515 nm 处测 OD 值。存活率=(OD 试验/OD 对照) \times 100%。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 18.0

软件进行分析 (One-Way Anova), 组间用多重比较分析, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 蒺藜内生真菌抗细菌活性菌株的初步筛选

本研究中选用的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌一般作为革兰氏阴性菌和阳性菌的代表。蒺藜内生真菌发酵液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性研究结果(表 2)表明, 在 21 株蒺藜内生真菌中, PDB 培养基发酵液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都具有较强抑制作用(抑菌圈直径大于 10 mm)的菌株有 JL-7w、JL-16、JL-17 和 JL-22-2 共 4 株, 占总菌株数的 19.05%; 察氏培养基发酵液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都具有较强抑制作用的菌株有 JL-5、JL-6、JL-16、JL-19 和 JL-22-3 共 5 株, 占总菌株数的 23.81%。其中, JL-16 的两种发酵液均具有一定的抗细菌活性, 提示两种培养基对于 JL-16 的代谢产物影响作用较小。蒺藜内生真菌发酵液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果见表 2。同时结果还显示, 金黄色葡萄球菌对蒺藜内生真菌发酵浓缩液比大肠杆菌更为敏感, 尤其经察氏培养基培养的发酵液, 对金黄色葡萄球菌均显示出不同程度的抑菌活性。

2.2 抗稻瘟菌活性内生真菌的初步筛选

蒺藜内生真菌对稻瘟菌的抑制作用(表 3)显示, 在 PDB 培养基发酵液中 JL-3、JL-7w、JL-16 和 JL-17 的 MIC 值相对较小(发酵液浓度低于 10%), 占总分离菌株的 19.05%; 察氏培养基发酵液中 JL-3、JL-7w、JL-13、JL-22-3、JL-23、JL-29、JL-31、JL-34、JL-37 和 JL-T3 菌株的 MIC 值相对较小, 占总分离菌株的 47.61%, 表明察氏发酵液对于稻瘟菌具有更好的抑制作用。

表 2 蒺藜内生真菌不同发酵液的抑菌环直径
Table 2 Inhibition zone of different fermentation of endophytic fungi from *Tribulus terrestris* L. (mm, n=3)

菌株编号 Strain No.	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>		大肠杆菌 <i>E. coli</i>	
	PDB 发酵液 PDB fermentation	察氏发酵液 Czapek fermentation	PDB 发酵液 PDB fermentation	察氏发酵液 Czapek fermentation
	JL-3	—	6.0	21.3±1.2
JL-5	6.0	14.0±1.7	—	32.0±1.2
JL-6	26.7±1.5	38.7±2.3	—	23.0
JL-7w	12.3±2.1	6.0	19.0±2.3	33.3±0.9
JL-11	10.0	6.0	—	31.3±0.4
JL-13	—	6.0	—	31.3±0.7
JL-14	6.0	6.0	—	36.6±0.2
JL-16	15.7±4.0	12.0±2.6	11.0±0.2	33.3±0.6
JL-17	18.0±1.0	6.0	14.5±1.1	29.1±1.2
JL-19	11.3±0.6	12.3±0.6	—	37.0
JL-21	—	6.0	—	—
JL-22-2	13.3±0.6	6.0	35.0±0.7	13.3±2.1
JL-22-3	23.7±1.5	27.7±2.5	—	24.7±0.8
JL-23	—	32.3±2.5	—	—
JL-26	6.0	21.7±1.2	—	6.0
JL-29	6.0	13.3±1.5	—	6.0
JL-31	—	22.0±1.0	24.3±1.4	—
JL-34	—	12.7±2.1	—	—
JL-37	—	6.0	—	—
JL-T3	—	17.3±1.5	—	—
JL-T6	6.0	6.0	—	6.0

2.3 抗肿瘤活性内生真菌的筛选

蒺藜内生真菌对肿瘤细胞的抑制作用(表 4)表明: 对于 4T1 细胞株, 经 PDB 发酵液处理抑制率高于 50%的有 11 株, 占总菌株数的 52.38%, 其中 JL-14、JL-16、JL-17 和 JL-29 发酵液的抑制率达 90%以上; 经察氏发酵液处理抑制率高于 50%的有 6 株, 占总菌株数的 28.57%。而对于 PC3 细胞株, 经 PDB 发酵液处理抑制率高于 50%的也有 11

株, 占总菌株数的 52.38%, 其中 JL-14、JL-16 和 JL-17 发酵液的抑制率达 90%以上; 经察氏发酵液处理抑制率高于 50%的也有 6 株, 占总菌株数的 28.57%。结果表明, 除个别菌株外, 蒺藜内生真菌的发酵液对于两种肿瘤细胞的抑制作用较为一致; PDB 发酵液抑制肿瘤细胞的活性显著高于察氏发酵液; 而对于 2 个肿瘤细胞株均有 50%以上抑制率的有 5 株, 为 JL-3、JL-5、JL-7w、JL-13 和 JL-14。

表 3 蒺藜内生真菌的抗真菌活性
Table 3 Antifungal activities of endophytic fungi from *Tribulus terrestris* L.

菌种编号 Strain No.	MIC (PDB 培养基发酵液浓度) MIC (Concentration of PDB Fermentation, %)	MIC (查氏培养基发酵液浓度) MIC (Concentration of Czapek fermentation, %)
JL-3	1.0	1.0
JL-5	15.0	20.0
JL-6	35.0	10.0
JL-7w	7.5	7.5
JL-11	75.0	3.5
JL-13	75.0	7.5
JL-14	45.0	15.0
JL-16	1.0	20.0
JL-17	1.5	15.0
JL-19	45.0	15.0
JL-21	35.0	25.0
JL-22-2	35.0	10.0
JL-22-3	25.0	5.0
JL-23	15.0	2.0
JL-26	75.0	15.0
JL-29	45.0	3.5
JL-31	75.0	7.5
JL-34	75.0	3.5
JL-37	75.0	7.5
JL-T3	45.0	7.5
JL-T6	75.0	25.0

3 讨论

实验结果发现,对于大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和稻瘟菌而言,大部分察氏培养基发酵液的抑制活性均高于PDB培养基发酵液,推测其原因为PDB培养基中的营养较为丰富,对于微生物的生长有一定的催进作用,从而影响了实验结果。对于肿瘤细胞,PDB培养基发酵液的活性好于察氏培养基发酵液,可能是由于发酵液中残留的PDB培养基成分对肿瘤细胞的影响较小所致。因此,在检测内生真菌不同活性时,应注意培养基

的选择,尽量减少发酵液中残留培养基对实验结果造成的影响。

稻瘟菌和人体细胞均属真核细胞,生理基础相似,其微管和微管蛋白结构也相似,因此日本东京大学开发建立了稻瘟菌模型,以观察稻瘟菌的分生孢子或菌丝形态生长异常或生长抑制为指标来筛选抗肿瘤药物^[13]。本实验中的结果也证实了这一点,JL-3、JL-7w、JL-16和JL-17的发酵液对于稻瘟菌和肿瘤细胞均具有良好的抑制作用,其中,JL-3属于*Myrothecium roridum*,异咯嗪和单端孢霉烯类大环内酯是漆斑菌属真菌的次

表 4 蒺藜内生真菌发酵液处理肿瘤细胞的存活率
Table 4 Viability of cells treated with fermentation of endophytic fungi from *Tribulus terrestris* L. ($\bar{x}\pm s$)

菌种编号 Strain No.	4T1 (%)		PC3 (%)	
	察氏发酵液 Czapek fermentation	PDB 发酵液 PDB fermentation	察氏发酵液 Czapek fermentation	PDB 发酵液 PDB fermentation
空白对照 Blank control	100±2.43	100±1.04	100±0.32	100±0.84
JL-3	27.65±1.01**	31.86±2.40**	44.09±3.45**	28.73±1.67**
JL-5	31.24±1.03**	27.44±1.53**	48.48±1.74**	24.86±1.17**
JL-6	30.01±1.08**	59.15±1.94**	46.86±1.08**	82.87±4.55**
JL-7w	23.82±1.19**	12.16±0.87**	41.95±1.51**	24.72±3.05**
JL-11	80.49±4.64**	39.05±0.87**	77.96±0.78**	39.12±2.76**
JL-13	24.55±2.03**	18.78±0.89**	39.95±3.94**	23.74±3.36**
JL-14	26.50±1.50**	5.04±0.53**	40.53±1.51**	9.23±1.08**
JL-16	82.00±3.76**	5.55±0.61**	78.22±0.34 *	9.11±0.83**
JL-17	91.49±3.85 *	5.78±0.42**	81.60±3.04**	9.49±1.21**
JL-19	88.18±4.48*	144.13±9.82**	74.94±3.73**	130.79±3.41**
JL-21	72.49±1.64**	47.61±0.24**	76.07±0.65**	42.24±5.36**
JL-22-2	90.56±4.50 *	97.57±4.14	78.41±1.81**	94.73±2.18
JL-22-3	94.55±8.72**	93.41±1.89	82.88±1.93**	97.80±2.66
JL-23	75.68±5.81**	82.65±6.41**	76.07±2.83**	89.92±7.85*
JL-26	86.90±1.96**	46.03±4.63**	86.85±3.06**	40.57±5.35**
JL-29	81.78±5.95**	9.79±0.94**	79.97±9.25**	15.78±1.62**
JL-31	71.51±1.86**	79.65±4.12 *	79.97±5.21**	109.80±2.45**
JL-34	97.88±13.17	92.71±6.22	84.35±3.23**	81.50±1.44**
JL-37	93.89±4.91	87.64±2.50**	86.04±3.16**	111.14±2.20**
JL-T3	52.64±0.54**	45.83±1.80**	77.42±3.26**	50.33±6.42**
JL-T6	51.05±1.63**	74.22±0.61**	78.71±1.16**	86.66±23.28

注: 与空白对照组比较, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$.

Note: Compared with blank, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$.

生代谢的重要产物^[14-15]。JL-7w 属于 *Alternaria tenuissima*, 链格孢霉能产生多种代谢物, 其中以链格孢毒素(Altenuene, ALT)、细格菌毒素 I、II、III (Altartoxin I、II、III, ATX-I、ATX-II、ATX-III)和 AAL 毒素(AAL toxins)为代表的至少有 10 种代谢物对动物和植物具有毒性^[16]。JL-16 和 JL-17 属于 *Phoma* sp., 王维等研究发现杜仲内

生菌茎点霉菌株 SP-16F 能够产出杜仲的主要降压成分——松脂醇二葡萄糖苷, 并对其培养条件进行了优化^[17]。本研究中 JL-16 和 JL-17 PDB 培养基发酵液的活性好于察氏培养基发酵液, 而 JL-3 和 JL-7w 发酵液的活性不受培养基影响, 始终对于稻瘟菌和肿瘤细胞都有良好的抑制作用。同时, 这些菌株的发酵液对于大肠杆菌和金黄色

葡萄球菌也具有一定的抑制活性。探明这些菌种发酵液中的有效作用成分是否与蒺藜的活性成分相一致将作为今后工作的重点。

植物内生真菌为我们提供了一个寻找抗菌抗肿瘤物质的新资源库, 具有潜在的开发利用价值。但是, 在内生真菌的研究工作中仍存在一些问題, 如有些内生真菌在人工培养基上不能正常生长, 无法保证分离到宿主的全部内生真菌从而错过发现有效菌株的机会; 内生真菌在不同培养基上的产物不同, 无法保证内生真菌在宿主体内和培养基上产出的有效成分相一致。因此, 寻找适当的培养基分离培养内生菌也将成为有关内生菌研究的重要课题。

参 考 文 献

- [1] Tan RX, Zou WX. Endophytes: a rich source of functional metabolites[J]. *Natural Product Reports*, 2001, 18(4): 448–459.
- [2] Strobel G, Stierle A, Stierle D, et al. *Taxomyces andreanae*, a proposed new taxon for a bulbiferous hyphomycete associated with Pacific yew (*Taxus brevifolia*)[J]. *Mycotaxon*, 1993, 47: 71–80.
- [3] 张玲琪, 郭波, 李海燕, 等. 长春花内生真菌的分离及其发酵产生药用成分的初步研究[J]. *中草药*, 2000, 31(11): 805–807.
- [4] Shweta S, Zuehlke S, Ramesha BT, et al. Endophytic fungal strains of *Fusarium solani*, from *Apodytes dimidiata* E. Mey. ex Arn (Icacinaceae) produce camptothecin, 10-hydroxycamptothecin and 9-methoxycamptothecin[J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(1): 117–122.
- [5] 顾关云, 蒋昱. 蒺藜及其同属植物的化学与药理学研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2009, 24(4): 198–202.
- [6] 李明娟, 瞿伟菁, 王熠非, 等. 蒺藜皂苷的降血糖作用[J]. *中药材*, 2002, 25(6): 420–422.
- [7] 褚书地, 瞿伟菁, 逢秀凤, 等. 蒺藜皂苷对高脂血症的影响[J]. *中药材*, 2003, 26(5): 341–344.
- [8] 杨煌建, 瞿伟菁, 孙斌. 蒺藜皂苷对肾癌细胞的实验影响[J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(16): 1271–1274.
- [9] 孙斌, 瞿伟菁, 张晓玲, 等. 蒺藜皂苷对人肝癌细胞 BEL-7402生长抑制和诱导凋亡作用的研究[J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(7): 681–684.
- [10] 孙斌, 瞿伟菁, 柏忠江. 蒺藜皂苷对乳腺癌细胞 Bcap-37的体外抑制作用[J]. *中药材*, 2003, 26(2): 104–106.
- [11] 刘冬梅, 李理, 杨晓泉, 等. 用牛津杯法测定益生菌的抑菌活力[J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(3): 110–111.
- [12] 郭蕾, 吴锦忠, 许强芝, 等. 利用稻瘟霉模型筛选粗疣合叶苔内生真菌中的活性菌株[J]. *中草药*, 2009, 7(7): 1090–1094.
- [13] 郭文, 蒋继志. 利用稻瘟霉模型初级筛选抗肿瘤物质研究进展[J]. *生物学通报*, 2010, 45(4): 1–3.
- [14] 王伟, 姜荣. 络石内生真菌 *Myrothecium roridum*(IFB-E009)次生代谢产物的研究[J]. *安徽农业科学*, 2012(30): 14663–14667.
- [15] Shen L, Shi DH, Song YC, et al. Chemical constituents of liquid culture of endophyte IFB-E012 in *Artemisia annua*[J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2009, 7(5): 354–356.
- [16] 杨欣. 063链格孢霉毒素研究进展[J]. *国外医学: 卫生学分册*, 2000, 27(3): 182–188.
- [17] 王维, 师俊玲, 杨保伟. 茎点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.