

Studies on Antioxidant Activity of Endo-phytic Fungi Isolated from *Morinda citrifolia* (Noni) and Construction of Phylogenetic Tree

Wenting Ma, Yougen Wu*, Zhengbo Hu, Junfeng Zhang, Jing Yu

College of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou Hainan
Email: *wygeng2003@163.com

Received: Nov. 13th, 2017; accepted: Nov. 23rd, 2017; published: Nov. 30th, 2017

Abstract

The secondary metabolites were obtained by using ethyl acetate as solvent for 8 kinds of fermentation liquid extraction from endophytic fungi of Noni leaves and fruits. The antioxidant activity was analyzed by DPPH radical scavenging method, ABTS radical scavenging assay and FRAP total reduction capability, and the total polyphenols content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of the secondary metabolites were determined by using Folin-reagent method and AlCl₃ colorimetric method. The results showed that the antioxidant activities of 8 strains of Noni endophytic fungi were strong, the highest value of DPPH, ABTS and FRAP of the antioxidant capacity was 31.24 mmol/L-Trolox/g DW, 10.92 mmol/L-Trolox/g DW and 9.62 mmol/L, respectively. At 1 mg/mL, the content range of TPC and TFC was 17.99 - 79.03 mg/g, 48.38 - 158.97 mg/g, respectively. The strong antioxidant activity made the Noni endophytic fungi have the important value in exploring the natural antioxidant activity of products.

Keywords

Morinda citrifolia Linn., Endophytic Fungi, Antioxidant Activity, Phylogenetic Tree

诺丽内生真菌抗氧化活性的研究及其系统发育树的构建

马文婷, 吴友根*, 胡征波, 张军锋, 于靖

海南大学热带农林学院, 海南 海口
Email: *wygeng2003@163.com

*通讯作者。

摘要

本文以诺丽(*Morinda citrifolia* Linn.)果和叶中分离得到的8株内生真菌为研究对象, 使用乙酸乙酯萃取其次生代谢产物。采用DPPH自由基清除法、ABTS自由基清除法和FRAP总还原能力分析其抗氧化活性, 用福林-肖卡法和 AlCl_3 显色法测定其总多酚(TPC)、总黄酮(TFC)含量并构建其系统发育树。结果表明, 诺丽8株内生真菌菌株的抗氧化活性均较强, 其DPPH、ABTS和FRAP抗氧化能力的最高值, 分别为31.24 mmol/L-Trolox/g DW、10.92 mmol/L-Trolox/g DW和9.62 mmol/L。在1.0 mg/mL时, TPC、TFC含量范围值分别为17.99~79.03 mg/g, 48.38~158.97 mg/g。较强的抗氧化活性, 使得诺丽内生真菌在探寻天然抗氧化活性产物中具有重要价值。

关键词

诺丽, 内生真菌, 抗氧化活性, 系统发育树

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

诺丽(*Morinda citrifolia* Linn.)是茜草科巴戟天属的传统药用植物[1], 原产于南太平洋热带诸岛, 分布在中国的台湾、海南和西沙群岛[2]。在美国夏威夷被认为是上天赐予的宝贵礼物, 可用于各种疾病的治疗, 尤其是预防和抗肿瘤、抗氧化和降血糖与降血压等[3]。诺丽富含芦丁 rutin、黄酮醇 flavonol glycoside、木脂素、香豆素, 3-bisdemet hylpi 等抗氧化活性物质, 在医药工业具有较高的药用价值和潜在的应用前景[4] [5]。然而, 国内对诺丽内生真菌抗氧化活性的研究较少。诺丽在中国因其生长条件的限制和种群分布的局限性, 使得该物种种质资源并不丰富, 甚至处于濒危灭绝边缘, 故寻找新来源的抗氧化活性物质非常紧迫。植物内生真菌是寄生在植物的健康组织内无明显感染症状的共生真菌[6]。植物内生真菌(endophytic fungi)已被认为是一种新型的和有前景的天然活性化合物资源, 广泛应用于农业, 工业和医学领域[6]。

海南拥有适宜诺丽生长的热带沿海气候和土壤条件, 对诺丽的开发研究具有地理优势且内生真菌的药用价值已成为国际热点。本文以诺丽(*M. citrifolia*)果和叶中分离得到的8株内生真菌为研究对象, 采用DPPH自由基清除法、ABTS自由基清除法和FRAP总还原能力分析其抗氧化活性, 以期寻找一种新型天然抗氧化剂的潜在来源, 并为诺丽内生真菌在医药健康领域的应用价值提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

对采自我国海南省不同市县的八成熟诺丽果和叶, 用纯净水洗净, 依次以2.6%次氯酸钠+75%酒精做6个梯度32组进行表面消毒: 次氯酸钠溶液消毒的时间为60~300 s, 乙醇溶液消毒的时间为30~180 s。然后用无菌水洗涤3次, 用无菌滤纸吸干水分后, 用灭菌过的手术刀将果和叶边缘部分去除, 果内部或

中心部分切分成 1 cm × 1 cm 大小的组织块, 叶内部或中心部分切分成 0.5 cm × 0.5 cm 大小的组织块[7]。果块和叶块进行无菌检测: 采用组织印迹法, 将果块和叶块置于马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)固体培养基平板上轻轻滚动或紧贴培养基放置 2 min, 移去果块和叶块, 25℃、黑暗条件下、恒温培养 8~10 天, 无杂菌长出即说明消毒后的果块表面和叶块表面无菌; 然后把果块和叶块放在灭菌的马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)固体培养基平板上, 25℃、黑暗条件下、恒温培养 8~10 天, 得到多株内生真菌, 采用 26 s rDNA D1/D2 区域和 ITS rDNA 测序鉴定菌株, 筛选出抗氧化性较高的 8 株菌(表 1)并构建其系统发育树。

2.2. 培养基与试剂

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)固体培养基, 马铃薯葡萄糖肉汤(PDB)液体培养基。

乙酸乙酯、无水乙醇均为国产分析纯, 没食子酸、芦丁、水溶性维生素 E 来自中国药品生物制品鉴定所; 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)、过硫酸钾、甲醇、醋酸钠缓冲液、三氯化铁、福林酚、碳酸钠、氯化银。

2.3. 粗提物发酵及制备

在超净工作台上, 将保留菌种接种到新 PDA 上开始活化, 用打孔器在活化菌落边沿处打孔获得直径为 6 mm 菌饼, 转接到装 300 mL PDB 的 500 mL 锥形瓶内, 在 25℃, 130 rpm 摇床内孵育 8~10 天。用减压抽滤法分离发酵液, 收集菌液, 然后用乙酸乙酯溶剂在 12 个小时之内等体积萃取 3 次, 静置待分层后收集萃取液, 40℃旋转蒸发浓缩, 在烘箱内加热烘干得粗提物。称重, 配制成 1.0 mg/mL 浓度供测试。

2.4. 抗氧化活性的研究

2.4.1. Trolox 标准溶液的配制

母液: 0.0626 g 的 Trolox 标准品用无水乙醇定容到 25 mL, 浓度为 10 mmol/L。

ABTS 法中的 Trolox 标准溶液: 200 μmol/L、400 μmol/L、600 μmol/L、800 μmol/L、1000 μmol/L、1200 μmol/L 和 1400 μmol/L。

DPPH 法中的 Trolox 标准溶液: 400 μmol/L、800 μmol/L、1200 μmol/L、1600 μmol/L、2000 μmol/L、2400 μmol/L 和 2800 μmol/L。

Table 1. The Endophytic Fungus libraries of Noni

表 1. 诺丽内生真菌样本库

Code	Closest (published) Genbank match	Accession number	Max Identity	Parts used ^a	Source ^b
M22	<i>Colletotrichum</i> LL-2015 isolate LJTI30	KP748221.1	99%	F	H (N 20°03'35"E 110°19'44")
M10	<i>Ascomycota</i> sp. AR-2010 isolate ATT242	HQ607907.1	100%	F	Q (N 19°16'56"E 110°37'46")
M20	Uncultured fungus clone CMH541	KF800630.1	99%	F	S (N 18°20'38"E 109°34'41")
M19	Fungal endophyte sp. g32	HM537036.1	100%	L	W (N 18°45'24"E 110°72'06")
M18	<i>Cladosporium cladosporioides</i> isolate SZ8M-5	JN226994.1	99%	F	W (N 18°45'24"E 110°72'06")
j22	<i>Cryptococcus</i> sp. 3 TMS-2011	HQ631014.1	99%	F	D (N 19°30'38"E 109°34'21")
j20	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> strain KKUY-0221	KM816742.1	99%	F	S (N 18°20'38"E 109°34'41")
j19	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	KX791366.1	95%	L	Q (N 19°16'56"E 110°37'46")

^a: L: 叶; F: 果实。The letter of L represents Noni leaf, and F is the meaning of Noni fruit. ^b: H: 海口; D: 儋州; S: 三亚; Q: 琼海; W: 万宁。The letter of H, D, S, Q, W represents Haikou city, Danzhou city, Sanya city, Qionghai city and Wanning city, respectively

FRAP 法中的 Trolox 标准溶液: 800 $\mu\text{mol/L}$ 、1600 $\mu\text{mol/L}$ 、2400 $\mu\text{mol/L}$ 、3200 $\mu\text{mol/L}$ 、4000 $\mu\text{mol/L}$ 、4800 $\mu\text{mol/L}$ 和 5600 $\mu\text{mol/L}$ 。

2.4.2. ABTS⁺·自由基清除法(ABTS)

自由基的产生使用 ABTS 与 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 反应体系[8]。ABTS 自由基的制备: 1) 配制 7 mM ABTS: 称 0.0960 g ABTS 粉末, 用蒸馏水定容至 25 mL; 2) 配制 140 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$: 称 0.3784 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, 用 ddH₂O 定容至 10 mL。ABTS 由 5 mL 7 mmol/L ABTS 溶液和 88 μL 140 mmol/L $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 水溶液避光反应 12 h 后获得, 该溶液提前 24 h 配制, 必须当天使用。使用前用无水乙醇稀释, 使吸光值在 732 nm 为 0.70 ± 0.02 。粗提液加到 2 mL ABTS 溶液中黑暗条件 6 min, 测定吸光值, 以溶剂作为对照, 最终结果以 $\mu\text{mol/L}$ Trolox 等量抗氧化能力(Trolox equal antioxidant capacity TEAC)表示。

2.4.3. DPPH 清除能力测定(DPPH) [9]

12.5 mg DPPH 溶解到甲醇中, 定容到 100 mL, 使用时稀释 5 倍到 25 mg/L, 现配现用。适当体积的粗提液加入 2 mL DPPH 甲醇溶液中, 黑暗条件 20 min 后在 517 nm 测量吸光值, 以提取溶剂作为对照, 最终结果以 TEAC 表示。

2.4.4. 总还原能力测试(FRAP) [9]

TPTZ 溶液的配制: 由 0.3 mol/L 醋酸盐缓冲液 25 mL, 10 mmol/L TPTZ 工作液 25 mL, 20 mmol/L FeCl_3 溶液 25 mL 组成。现用现配。适当体积的粗提液按次加入 1 mL ddH₂O 和 1.8 mL TPTZ 溶液, 摇匀, 水浴 37°C 反应 10 min, 593 nm 测量吸光值, 溶剂做对照。最终结果 TEAC 表示。

2.5. 抗氧化成分测定

2.5.1. 总多酚含量(TPC)测定

TPC 测定使用福林 - 肖卡法[10]。待测粗提液 0.05 mL 放到 5 mL 的 Eppendorf 试管中, 加入 3.85 mL ddH₂O, 摇匀, 再加 0.25 mL FC (用前 1:1 稀释), 充分摇匀, 1 min 之后, 加入 20% 的饱和 Na_2CO_3 溶液 0.75 mL, 混匀, 黑暗条件 2 h, 提取溶剂做对照, 765 nm 测量吸光值, 三个重复, 结果以没食子酸等价值(mg/100 g FW)表示。没食子酸标准溶液浓度: 0 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、250 mg/L、500 mg/L 和 1000 mg/L。

2.5.2. 总黄酮含量(TFC) 测定

总黄酮含量测定采用 AlCl_3 显色法[11], 稍作修改。待测提取液 0.3 mL 加入 5 mL Eppendorf 试管中, 然后分别加入 2 mL 0.1 mol/L AlCl_3 , 1 mL pH 为 5.2 的 NaAC-HAC 缓冲溶液, 用甲醇定容至 4 mL, 摇匀, 40°C 水浴显色 10 min, 以 0.1 mol/L AlCl_3 溶液为空白, 采用紫外 - 可见分光光度法, 510 nm 测量吸光值, 三个重复。结果以芦丁等价值(mg/100g FW)表示。芦丁标准溶液浓度: 0.1 g/L, 0.2 g/L, 0.4 g/L, 0.5 g/L, 0.6 g/L, 0.8 g/L, 1 g/L。

2.6. 统计分析

DPPH、FRAP、ABTS 法的抗氧化能力数据用 Microsoft Excel 版软件分析, TPC、TFC 与其抗氧化活性之间的相关性分析用 SAS V8。

2.7. DNA 序列分析及系统发育树构建

登陆 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 利用 BLAST 将测序获得的霉菌以基于核糖体 ITS 区域的序列和酵母菌以基于 26s rDNA D1/D2 区域的序列, 与 GenBank 中的已知序列进行比对, 寻找相似度最

高菌种,联合形态学特征,确定分离菌株的分类地位。并用 MEGA 5.2.1 软件按照邻接法(Neighbour-Joining, N-J), 自展数(bootstrap)为 1000, 构建系统发育树[12]。

3. 结果与分析

3.1. 清除 DPPH 自由基能力的测定

517 nm 测定吸光值, 所得标曲方程: $y = -0.0003x + 0.9403$, $R^2 = 0.9978$, 表现出显著的量效相关性。DPPH 是一种稳定的自由基, 其溶液呈紫色, 当与抗氧化剂反应时, 溶液变为浅黄色, 吸光度降低, 是评价物质抗氧化性的常用方法之一。由表 2 可知, 随着样品提取液浓度的增加, 对 DPPH 的清除能力也在逐渐增加, 说明样品提取液与清除 DPPH 的能力存在量效关系。m20、m18、j22、j20 的自由基清除能力均较强, 当体积为 225 μl 时, 其清除率均 ≥ 30 mmol/L-Trolox/g DW, 其余 4 种亦具有较强的清除能力。

3.2. ABTS⁺ · 自由基清除能力

732 nm 测定吸光值, 所得标曲方程: $y = -0.0004x + 0.6354$, $R^2 = 0.9936$ (图 1), 表现出显著的量效相关性。ABTS 是一种较为稳定的自由基, 其溶液呈蓝绿色, 当有自由基清除剂存在时, ABTS 溶液颜色变浅, 吸光值减小。8 种诺丽内生真菌均具有一定程度的 ABTS 活性(图 2), 其中 j22 和 j19 的自由基清除活性较强, 在体积为 18 μl 时, 清除率分别为 10.92 和 9.71 mmol/L-Trolox/g DW。而同等稀释倍数下, 其余 5 种皆具有一定的 ABTS⁺ · 自由基清除能力。

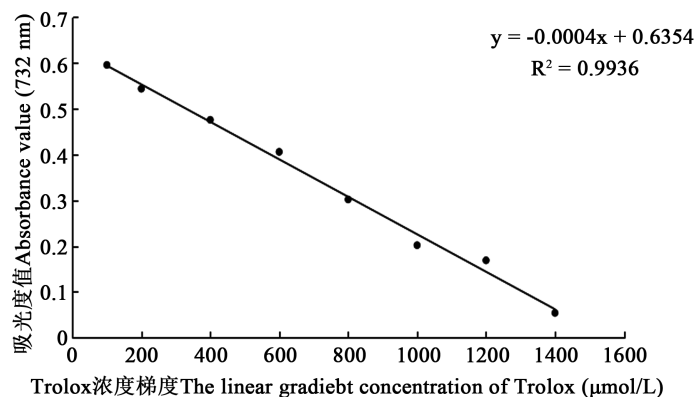


Figure 1. ABTS standard curve (732 nm)

图 1. ABTS 法标准曲线(732 nm)

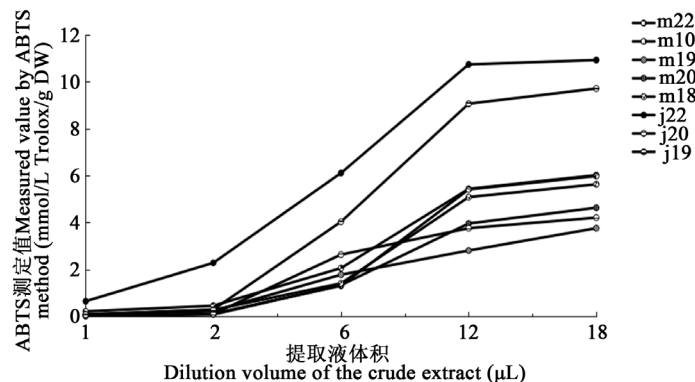


Figure 2. Determination of antioxidant activity of strains by ABTS

图 2. ABTS 法测定菌株的抗氧化活性

Table 2. Determination results of DPPH free radical scavenging activity of crud extract
表 2. 粗提取物清除 DPPH 自由基能力的测定结果

菌株 Code	粗提液各体积 Volume of crude extract (μl)				
	10 μl	25 μl	75 μl	140 μl	225 μl
m22	2.04	5.08	22.51	23.58	23.94
m10	4.18	10.44	27.31	28.68	29.01
m19	3.98	9.43	25.84	28.08	28.79
m20	4.69	11.98	29.74	30.97	31.24
m18	4.76	11.14	26.51	30.27	30.87
j22	4.99	12.38	28.48	30.58	31.21
j20	4.02	9.48	26.44	29.51	30.24
j19	2.67	6.18	21.28	26.64	27.03

3.3. FRAP 总还原能力的测定

593 nm 测定吸光值, 所得标曲方程: $y = 0.0001x + 0.2711$, $R^2 = 0.9863$ (图 3), 表现出显著的量效相关性。酸性情况下抗氧化物可以还原 Fe^{3+} -TPTZ 生产蓝紫色的 Fe^{2+} -TPTZ, 可作为样品总抗氧化能力的指标。如图 4 所示, 其中 j22 和 j19 的还原能力最强, 在体积为 90 μl 时, 还原力分别为 9.45 和 9.62 mmol/L。m19 和 m20 也具有较强的还原能力。

3.4. TPC 和 TFC

于 765 nm 和 510 nm 处测定吸光度, 标准品没食子酸、芦丁的浓度为横坐标(X), 吸收值为纵坐标(Y) 绘制标准曲线。所得线性回归方程为: $y = 0.0013x - 0.0027$, $R^2 = 0.9991$ (图 5), $y = 1.4703x + 0.0152$, $R^2 = 0.9966$ (图 6), 表现出显著的量效相关性。

诺丽内生真菌提取物抗氧化活性成分 TPC 和 TFC 如图 7 所示, m18、j22、j19 具有较高含量的总酚和总黄酮, 在浓度为 1.0 mg/mL 时, m20 的 TPC 含量达 79.03 mg/g, m18 和 j22 的 TFC 含量分别为 144.49 和 158.97 mg/g。

3.5. 种属鉴定

通过 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库, 进行 BLAST 比对霉菌 ITS 区域序列和酵母菌的 26 s rDNA D1/D2 区域序列, 应用 MEGA 5.2.1 软件按照 N-J 法构建聚类分析树状图, 序列相似性 $\geq 99\%$, 即为相同种。已确定 8 个菌株的分类归属(图 8 和图 9)。分别属于担子菌门(*Basidiomycota*)、子囊菌门(*Ascomycota*)两个类群。3 种酵母菌分属于嗜盐酵母属(*Sterigmatomyces*)、隐球菌属(*Cryptococcus*)、蔷薇色酵母属(*Rhodotorula*), 5 种霉菌属于刺盘孢属(*Colletotrichum*)、枝孢属(*Cladosporium*), 还有 m10、m19、m20 未确定属。

4. 讨论

生活质量的不断提高, 使人类对延缓衰老及治疗相关疾病日渐重视, 渴望寻求安全、高效的清除自由基、活性氧等抗氧化天然产物已成了国内外研究热点。已有大量诺丽抗氧化活性物质的研究[4] [5] [13] [14] [15], 但在诺丽内生真菌抗氧化活性方面则较少报道。因此, 本试验以诺丽果和叶中分离鉴定的 8 株内生真菌为对象, 研究其抗氧化性, 实验结果表明, 诺丽 8 株内生真菌菌株的抗氧化活性均较强,

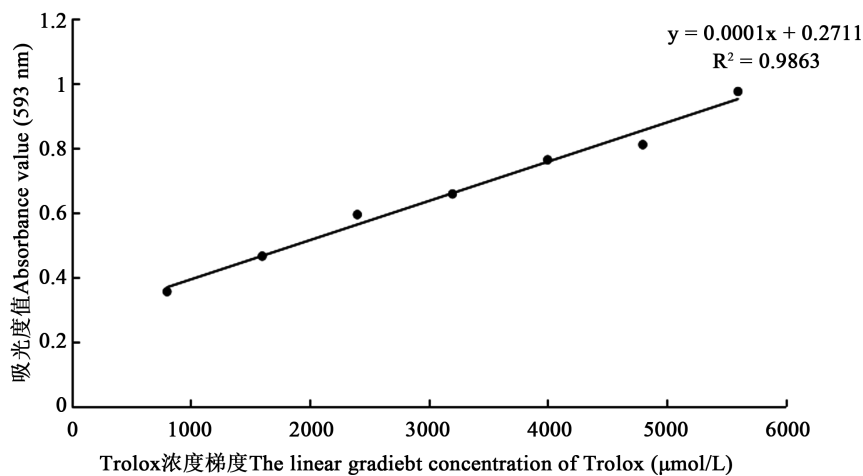


Figure 3. FRAP standard curve (593 nm)

图 3. FRAP 法标准曲线(593 nm)

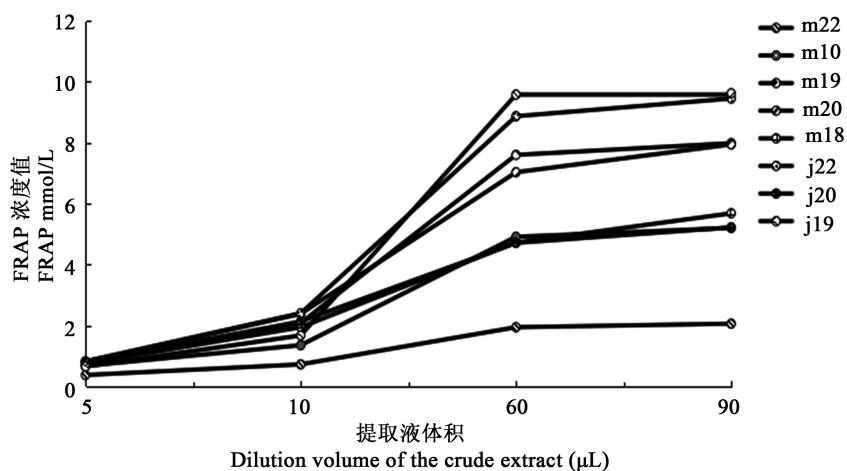


Figure 4. Determination of antioxidant activity of strains by FRAP

图 4. FRAP 法测定菌株的抗氧化活性

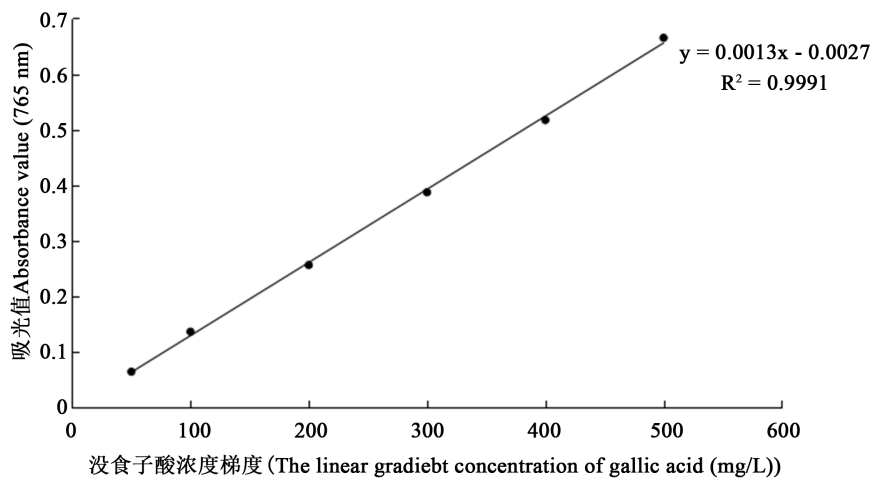


Figure 5. Gallic acid standard curve (765 nm)

图 5. 没食子酸标准曲线(765 nm)

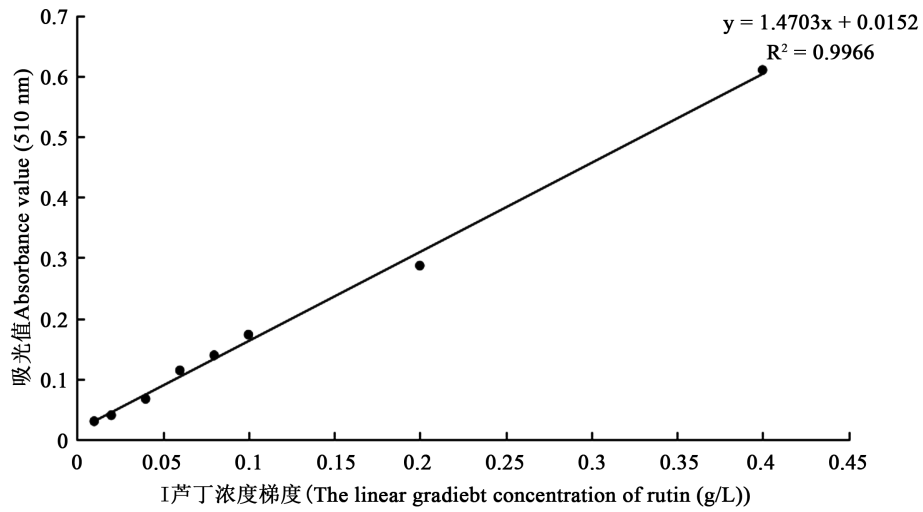


Figure 6. Rutin standard curve (510 nm)
图 6. 芦丁标准曲线(510 nm)

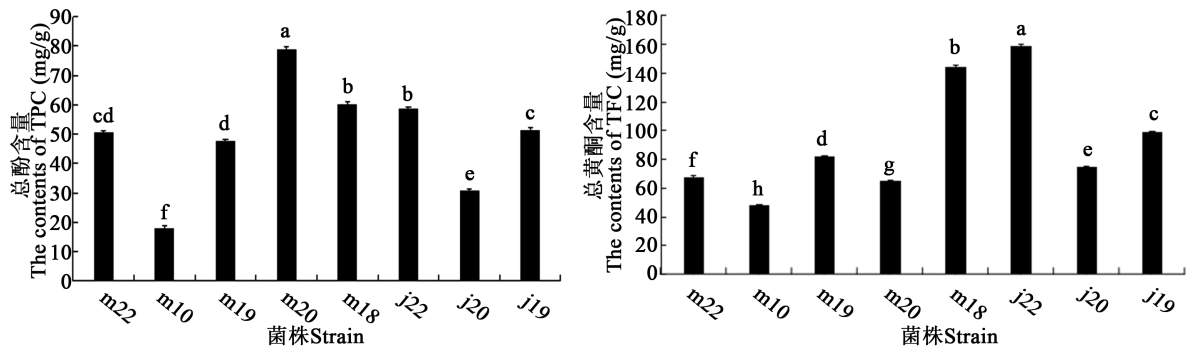


Figure 7. Total TPC content and total TFC content of the crude extracts from 8 strain fungal endophytic. Note: Different letters indicated significant between each other $p < 0.05$
图 7. 8 种内生真菌粗提物总多酚和总黄酮含量。注：不同字母表示彼此之间存在显著性差异($p < 0.05$)

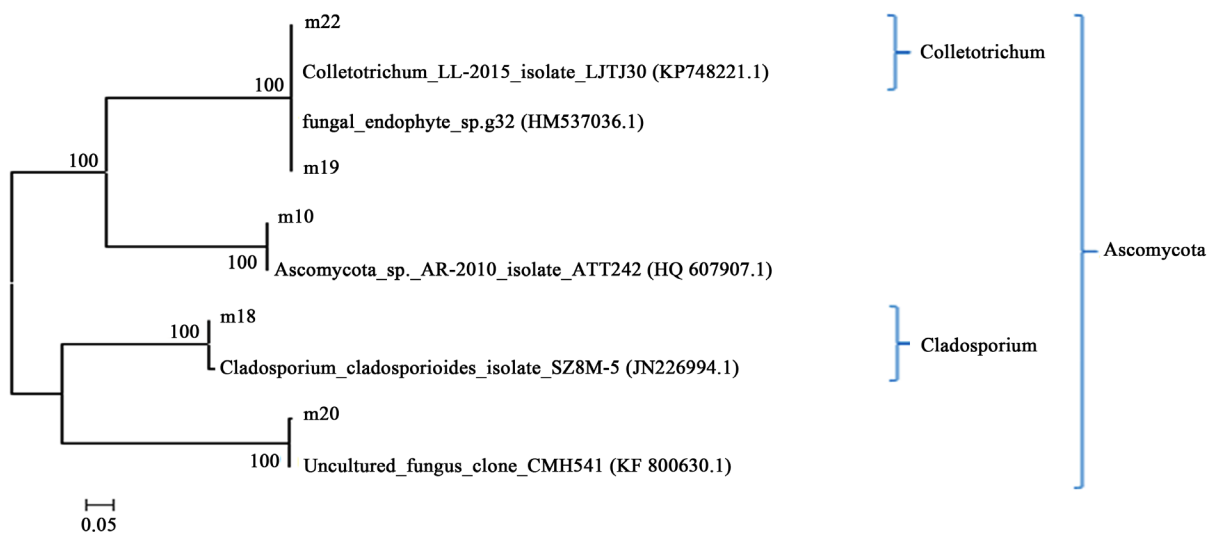


Figure 8. Phylogenetic analysis based on rDNA ITS sequence
图 8. 基于 rDNA ITS 序列的系统发育分析

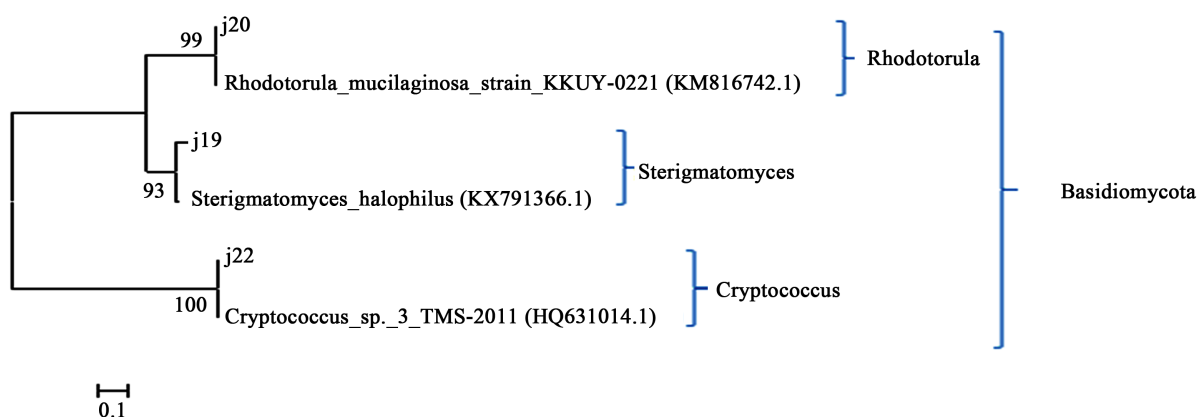


Figure 9. Phylogenetic analysis based on 26s rDNA D1/D2 sequence
图 9. 基于 26s rDNA D1/D2 序列的系统发育分析

其 DPPH、ABTS 和 FRAP 抗氧化能力的最高值,分别为 31.24 mmol/L-Trolox/g DW、10.92 mmol/L-Trolox/g DW 和 9.62 mmol/L, TPC、TFC 的含量在 1.0 mg/mL 时范围值分别为 17.99~79.03 mg/g, 48.38~158.97 mg/g。经筛选其抗氧化活性较高的有三株菌 m18、j19 和 j22, 分布属于嗜盐酵母属(*Sterigmatomyces*)、隐球菌属(*Cryptococcus*)、枝孢属(*Cladosporium*)。可见诺丽内生真菌的菌株普遍具有抗氧化活性, 故可作为筛选天然抗氧化剂开发的重要生物资源, 也证明诺丽内生真菌可以产生较多抗氧化活性物质, 与文献[16] [17] 描述的植物内生真菌可以产生与植物本身相似或相同的生理活性物质相符。值得说明的是, 并非所有的诺丽内生真菌都具有显著的抗氧化活性, 而且其抗氧化产物以及抗氧化机理是否与其宿主植物诺丽相同, 有待进一步探讨。

基金项目

海南省中药现代化专项: 海巴戟内生真菌抗肿瘤活性的次生代谢产物研究[专项编号: (2015ZY15)]。

参考文献 (References)

- [1] 何明霞, 杨清. 海巴戟的引种栽培及发展前景[J]. 中国热带农业, 2006(4): 28-29.
- [2] 广东省植物研究所. 海南植物志(第三卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1974: 330-331.
- [3] 乔治. 诺丽与诺贝尔奖[J]. 知识经济, 2007, 2(24): 78-79.
- [4] Yutaka, K., Barbara, M., Kyoko, I., *et al.* (2004) Isolation and Partial Characterization of Sulfates from the Body Wall of Sea Cucumber *Stichopus japonicus* and Their Ability to Inhibit Osteoclastogenesis. *Carbohydrate Research*, **339**, 1339-1346. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.02.025>
- [5] 张建军, 王林元, 欧丽娜, 等. 诺丽果汁对老龄小鼠抗氧化功能影响的实验研究[J]. 食品工业科技, 2013(7): 392-406.
- [6] Saikkonen, K., Faeth, S.H., Helander, M., *et al.* (1998) Fungal Endophytes: A continuum of Interactions with Host Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **29**, 319-343. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319>
- [7] Fisher, P.J., Petrini, O. and Sutton, B.C. (1993) A Comparative Study of Fungal Endophytes in Leaves, Xylem and Bark of Eucalyptus in Australia and England. *Sydowia*, **45**, 338-345.
- [8] Gião, M.S., Pereira, C.I., Pintado, M.E., *et al.* (2013) Effect of Technological Processing upon the Antioxidant Capacity of Aromatic and Medicinal Plant Infusions: From Harvest to Packaging. *LWT-Food Science Technology*, **50**, 320-325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.007>
- [9] Xie, Q., Liu, Z.H. and Li, Z.Q. (2015) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of Six *Pinus taxa* Native to China. *Molecules*, **20**, 938-939. <https://doi.org/10.3390/molecules20059380>
- [10] 潘峰, 陈艾萌, 朱小庆, 等. 暗紫贝母内生真菌 *Fusarium* sp. A14 次生代谢产物抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(3): 376-381.

- [11] 郑帅. 刺五加内生真菌抗氧化活性研究[D]: [硕士学位论文]. 黑龙江: 黑龙江中医药大学, 2015: 23-28.
- [12] 伍晓丽, 宋旭红, 杨宏国, 等. 玄参内生真菌分离、鉴定及系统发育分析[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(5): 902-911.
- [13] 胡鸣旭, 张洪才, 于纯淼, 等. 诺丽果提取物的抗氧化活性及心肌保护作用研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(2): 31-36.
- [14] Sang, H.M. and Liu, G.M. (2003) New Unusual Iridoids from the Leaves of Noni (*Morinda citrifolia* L.) Show Inhibitory Effect on Ultraviolet B-Induced Transcriptional Activator Protein-1 (AP-1) Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **11**, 2499. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(03\)00180-9](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(03)00180-9)
- [15] Li, J.H., Sara, L.S., Hilary, B.V., *et al.* (2008) Fermented Noni Exudate (fNE): A Mediator between Immune System and Anti-Tumor Activity. *Oncology Reports*, **20**, 1505-1509.
- [16] Strobel, G.A. (2002) Rainforest Endophytes and Bioactive Products. *Critical Reviews in Biotechnology*, **22**, 315-333. <https://doi.org/10.1080/07388550290789531>
- [17] 谷苏, 邵华, 蒋晓华, 等. 药用植物内生真菌多样性及其活性成分的潜在应用价值[J]. 中国药理学杂志, 2001, 36(1): 14-15.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org