

疏花水柏枝高产多酚内生真菌的筛选、鉴定及抗氧化活性分析

秦王阁阁¹, 孔玉珊¹, 蒋维¹, 李辉¹, 薛艳红^{1,2}, 刘呈雄^{1,2}, 刘士平^{1*}¹三峡大学生物与制药学院, 宜昌 443002; ²三峡大学生物与制药学院天然产物研究与利用湖北省重点实验室, 宜昌 443002

摘要:以疏花水柏枝 (*Myricaria laxiflora*) 淹水前后不同组织部位共分离到的 15 株具较高抗氧化活性的内生真菌为研究对象, 为明确其多酚类物质对其抗氧化能力的影响, 本文利用 Folin-Ciocalteu 试剂法对总多酚含量进行筛选, 对含量最高的菌株 MG-9 进行了分子鉴定和发酵条件优化, 在体外评价抗氧化能力的基础上, 分析了其粗提物对大肠杆菌、人神经母瘤细胞 SH-SY5Y 的氧化损伤的保护作用。结果表明在 MG-9 菌体相和发酵液中, 其多酚类物质含量分别达到 148 mg/g 和 270 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 分子和形态鉴定证实 MG-9 是一株曲霉 (*Aspergillus* sp.)。SDA 培养基、外源添加一定浓度的 Mg^{2+} 和 K^+ 可有效促进 MG-9 多酚类物质的积累。MG-9 的粗提物具有较高的抗氧化活性, 对自由基的清除率可达维生素 C 的 17%, 在氧化胁迫下可分别使大肠杆菌和神经细胞的成活率提高 245% 和 51.8%。进一步分析表明其粗提物可保护神经细胞膜的完整性, 有效减低乳酸脱氢酶的渗漏率。

关键词:疏花水柏枝; 内生真菌; 多酚; 抗氧化

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.3.018

Screening, Characterization and Antioxidant Analysis of Endophytic Fungi Yielding Polyphenols from *Myricaria Laxiflora*

QIN Wang-ge-ge¹, KONG Yu-shan¹, JIANG Wei¹, LI Hui¹, XUE Yan-hong^{1,2}, LIU Cheng-xiong^{1,2}, LIU Shi-ping^{1*}

¹College of Life Science and Pharmacy, Three Gorges University, Yichang 443002, China; ²Hubei Key Laboratory

of Natural Products Research and Development, College of Life Science and Pharmacy, Three Gorges University, Yichang 443002, China

Abstract: In this study, 15 endophytes with high antioxidant activity were selected from different tissues of *Myricaria laxiflora* pre-and post-flooding. To clarify the impact of polyphenols on the antioxidant capacity, the total polyphenol content (TPC) was screened by Folin-Ciocalteu method. MG-9, a strain with the highest TPC contents, was used to molecular identification and growth optimization. Based on the analysis of antioxidant capacity *in vitro*, the activity *in vivo* was also determined through the protective effects of MG-9 crude extracts to *E. coli* and human neuroblastoma cells SH-SY5Y under oxidative damage. The results showed that the TPC of MG-9 reached 148 mg/g in thallus and 270 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in fermentation broth, respectively. MG-9 was an *Aspergillus* sp. according to molecular and morphological identification. Exogenously adding a certain concentration of Mg^{2+} and K^+ to SDA medium can effectively promote the accumulation of TPC. The crude extracts had highly antioxidant activity, the radical scavenging rate of which got to 17% of vitamin C. Under oxidative stress, the crude extracts can increase the survival rate of *E. coli* cells by 245%, and 51.8% for human nerve cells. The further analysis indicated that the crude extract can protect the integrity of nerve cell membranes, and effectively reduce the LDH leakage rate.

Key words: *Myricaria laxiflora*; endophytic fungi; polyphenols; antioxidant

植物内生菌 (Endophyte) 是一类共生在宿主体内的微生物, 经过漫长的“协同进化”, 内生真菌可产生与宿主植物一样或者具有相似生物活性的物质^[1]。近年来的研究表明, 植物内生真菌因其物种丰富, 数量庞大, 其发酵产物化学结构多样, 生物活

性广泛, 是开发新型天然产物的重要来源^[2], 在医药、食品、农业领域显示出巨大的应用潜力^[1,2]。

疏花水柏枝 (*Myricaria laxiflora*) 是一种特异分布在三峡河岸地区的多年生灌木, 每年要承受 4~6 个月的淹水胁迫^[3]。由于在淹水环境下植物体的供氧量减少, 不完全氧化产生的活性氧自由基将对植物体产生伤害^[4]。本实验室从疏花水柏枝中分离出一种叫 3,4-二甲氧基-5-羟基苯甲酸甲酯的多

酚类物质,具有极强的抗氧化能力^[5]。此外,在疏花水柏枝的根部分离到一株内生烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*),可产生多酚类物质,其发酵液粗提物的抗氧化活性达到同浓度维生素 C 的 30%^[6],表明多酚类物质及其内生菌在疏花水柏枝长期对抗水淹胁迫的生态适应过程中发挥着重要作用。

多酚类化合物是一类具有多个酚羟基的复杂的次生代谢产物,根据碳骨架的不同可以分成酚酸类、二苯乙烯、黄酮及木质素等^[7]。现代生药学研究表明,多酚类物质种类丰富多样,来源广泛,存在于多种药用植物和微生物中^[8],而且具有抗氧化、抗自由基、减肥、护肝、提高免疫力等多种生理活性^[7]。除了直接用于艾滋病、心血管病和抗癌药物中,还广泛作为添加剂用于保健品、食品化妆品中^[7,8]。

为了在疏花水柏枝的内生真菌筛选到具有潜在开发价值的天然多酚类抗氧化剂,探讨其是否可以通过产生多酚类物质协助宿主度过氧化胁迫期,本研究从疏花水柏枝分离到的具较高抗氧化活性的 15 株内生真菌出发^[9],在抗氧化能力筛选的基础上^[3],筛选出多酚类物质含量较高的菌株,经形态观察和分子鉴定为曲霉属物种,其在体内和体外均表现出较好的抗氧化能力。为了进一步提高该菌产多酚类物质的能力,我们探讨了该菌株的发酵条件,这些研究将对新型抗氧化剂的筛选与研发、明确特殊生境内生真菌与宿主的化学生态学功能等方面有一定的积极意义。

1 材料与方法

1.1 菌株、培养基

本实验所用的 15 株具较高抗氧化活性的内生真菌分离自淹水前后疏花水柏枝的根、茎、叶的不同部位^[9],所分离的菌株 4 °C 石蜡保藏;实验中所使用的培养基有 PDA 培养基、SDA、MDA、LB、DMEM/F-12 完全培养基等^[6,10]。菌株的 PDA 发酵液直接用总抗氧化试剂盒(T-AOC,南京建成生物工程研究所)进行初筛^[3]。

1.2 多酚类物质的测定

多酚类物质初筛时将上述菌株于 100 mL PDA 培养基中生长 2 周,然后菌悬液通过真空抽滤装置过滤,得菌体与发酵液。菌体用等体积 70% (体积比)丙酮常温浸提 24 h,浸提 3 次,超声 1.5 h,过滤菌丝,浸提液于 40 °C 条件减压浓缩并称取干物质重量。发酵液用等体积的乙酸乙酯萃取三次,合并萃

取液,将萃取液于 40 °C 条件下减压浓缩。将获得的菌体相和水相分别采用 Folin-Ciocalteu 法测定总多酚含量^[11],重复 3 次,以没食子酸为标准溶液作标准曲线^[7]。

1.3 菌株的鉴定分析

将 4 °C 保藏的 MG-9 接种于 PDA 固体培养基中,28 °C 培养 5 d,具体鉴定办法参照高媛等人的办法进行^[6]。将获得的序列经 Clustal W 进行多重对比,并用 PAUP4.0 软件进行序列比对并绘制系统发育树。

1.4 胞外抗氧化活性分析

取 MG-9 发酵液的粗提物,配置成 0.8 mg/mL,分别用 T-AOC^[3]、DPPH (1,1-二苯基-2-三硝基苯胍)自由基清除法^[11,12]和铁氰化钾(Potassium Ferricyanide,PF)还原力测定法^[11,12]测定其抗氧化能力,重复 3 次,以相同浓度的维生素 C 作为正对照。

1.5 胞内抗氧化活性分析

为进一步确定 MG-9 代谢物质在细胞内的活性,我们以原核生物代表(大肠杆菌 DH5 α)和真核生物代表(人神经母瘤细胞 SH-SY5Y)为对象,分别建立了 H₂O₂ 对大肠杆菌和人神经母瘤细胞的氧化损伤模型,测定了其粗提物对过氧化氢的损伤保护作用。

将处于对数生长期的大肠杆菌以 10% 的接种量接种于 LB 液体培养基中,于 37 °C、100 rpm 的摇床中培养 12 h 后,分别加入浓度为 200、400、600、800、1000 $\mu\text{mol/L}$ 的 H₂O₂ 溶液,再继续培养 12 h 后,用台盼蓝染色,血球板计数法测定每 0.1 立方毫米大肠杆菌的活菌数,计算大肠杆菌细胞的存活率,以确定最适 H₂O₂ 浓度。在评价粗提物对大肠杆菌的抗氧化保护活性时,先培养 12 h,分别加入浓度为 10 mg/mL 的发酵液粗提物共 3 mL,培养 12 h 之后,加入浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ 的 H₂O₂ 溶液,继续培养 12 h 后,测大肠杆菌的活菌数,计算大肠杆菌细胞的存活率,以同浓度的维生素 C 做对照,所有数据重复三次。

SH-SY5Y 的抗氧化保护试验方法参照 Huang 等的方法^[10]进行,采取本实验室成熟的 800 $\mu\text{mol/L}$ 的 H₂O₂ 溶液建立氧化损伤模型,用 MTT 法测 SH-SY5Y 细胞存活率。乳酸脱氢酶(LDH)渗漏率检测时将 MG-9 粗提物的浓度控制在 1000 $\mu\text{g/mL}$,具体按照试剂盒(Biovision,美国)提供的方法进行。所有数据通过 SPSS19.0 统计分析。

1.6 MG-9 的发酵条件优化

接种菌丝于发酵培养基 PDA、SDA、MDA 液体培养基中,500 mL 三角瓶装液量为 100 mL,37 °C、150 rpm 培养 2 W 后进行抽滤、浸提和减压浓缩(方法同前),分别获得水相、酯相和菌体相,然后测定其多酚类物质的含量。选择 SDA 液体培养基,按照 Mg^{2+} 0、0.3、0.5、0.7、1.0 (g/L), K^+ 0、0.5、1.0、1.5、2.0 (g/L) 的不同组合测定盐浓度对 MG-9 多酚

表 1 疏花水柏枝 15 株内生真菌的总抗氧化能力及多酚含量

Table 1 Polyphenols contents and antioxidant capacity of 15 endophytes from *M. laxiflora*

菌株 Isolates	来源 Origin	条件 Condition	总抗氧化值 ^[3] T-AOC(U/mL)	菌体多酚含量 TPC in thallus (mg/g) ^a	水相多酚含量 TPC in broth (μg/mL)
MG-9	根 Root	淹水后 After flooding	31.27 ± 0.33	148.72 ± 0.18	270.49 ± 0.75
HG-2	根 Root	淹水后 After flooding	24.85 ± 0.22	10.67 ± 0.18	98.57 ± 0.39
SG-4	根 Root	淹水前 Before flooding	15.85 ± 0.36	120.10 ± 0.31	148.57 ± 0.48
SG-5	根 Root	淹水前 Before flooding	20.20 ± 0.46	5.02 ± 0.15	148.57 ± 0.33
SG-6	根 Root	淹水前 Before flooding	21.03 ± 0.17	2.97 ± 0.22	184.29 ± 0.22
SG-8	根 Root	淹水前 Before flooding	14.63 ± 0.44	32.04 ± 0.13	280.71 ± 0.25
SG-16	根 Root	淹水前 Before flooding	19.65 ± 0.13	16.49 ± 0.11	140.04 ± 0.56
SG-17	根 Root	淹水前 Before flooding	29.64 ± 0.17	8.03 ± 0.04	64.43 ± 0.31
MY-15	叶 Leaf	淹水后 After flooding	27.47 ± 0.92	25.33 ± 0.50	280.71 ± 0.28
HY-1	叶 Leaf	淹水后 After flooding	34.88 ± 0.80	4.01 ± 0.17	143.21 ± 0.29
SY-15	叶 Leaf	淹水前 Before flooding	25.99 ± 0.47	10.75 ± 0.21	318.21 ± 0.26
QY-1	叶 Leaf	淹水前 Before flooding	55.90 ± 0.84	109.35 ± 0.22	62.85 ± 0.24
MJ-4	茎 Stem	淹水后 After flooding	11.76 ± 0.16	9.94 ± 0.01	14.74 ± 0.17
SJ-7	茎 Stem	淹水前 Before flooding	13.47 ± 0.61	58.91 ± 0.22	80.71 ± 0.48
SJ-19	茎 Stem	淹水前 Before flooding	14.36 ± 0.24	5.15 ± 0.01	23.57 ± 0.14
平均值 Average value	-	-	24.06	37.83	150.64
桦褐孔菌 <i>Inonotus obliquus</i> ^[13]	-	-	-	12.47	34.70
忍冬木层孔菌 <i>Phellinus lonicerinus</i> ^[14]	-	-	-	15.60	106.76

注:^aTPC 即总多酚含量。

Note:^a TPC means Total Polyphenols Contents.

疏花水柏枝内生真菌都含有多酚类物质,在菌体相和水相都有,而且不同的内生菌含量差异很大(表 1)。比较分析表明内生菌多酚类物质的含量与淹水前后、不同组织来源关系不大,亦与总抗氧化能力无显著相关^[15]。但是,内生真菌 MG-9、SG-4、SG-8、SG-16、MY-15 比文献报道的桦褐孔菌^[13]和忍冬木层孔菌^[14]的多酚类物质含量高很多,选取多酚类物质含量较高、抗氧化能力较强的 MG-9 做进一步的研究。

2.2 MG-9 的鉴定

内生菌 MG-9 分离自淹水后疏花水柏枝的根

类物质的影响,每组设计三个重复。

2 结果与分析

2.1 高产多酚类物质菌株的筛选

本文先对多酚类物质的含量进行了初筛。选取总抗氧化能力大于 10 U/mL 的 15 株内生真菌^[3],在 PDA 培养基中生长 2 周分别对其菌体和发酵液进行了测量,结果如表 1 所示。

部,在固体 PDA 培养基中生长迅速,表面灰绿色,菌丝呈放射状生长,四周密集中间稀疏,边缘不整齐(图 1A),背面无色(图 1B),发酵液变成黄色(图 1C)。菌丝分枝复杂,有隔膜且大小不一,菌丝顶端形成成串的绿色或黄绿色球状节孢子(图 1D)。

将 MG-9 的总 DNA 提取后,以其为模板,使用通用上游引物 ITS1 和 ITS4 进行 PCR 扩增,回收产物后送 Sangon 公司测序。获得的 ITS 序列通过 Ed-itSeq 软件拼接,序列被提交 GenBank(序列号 KU757475),并与 GenBank 数据库进行 Blast 比对分析,依据比对结果下载相关序列构建系统发育树,结

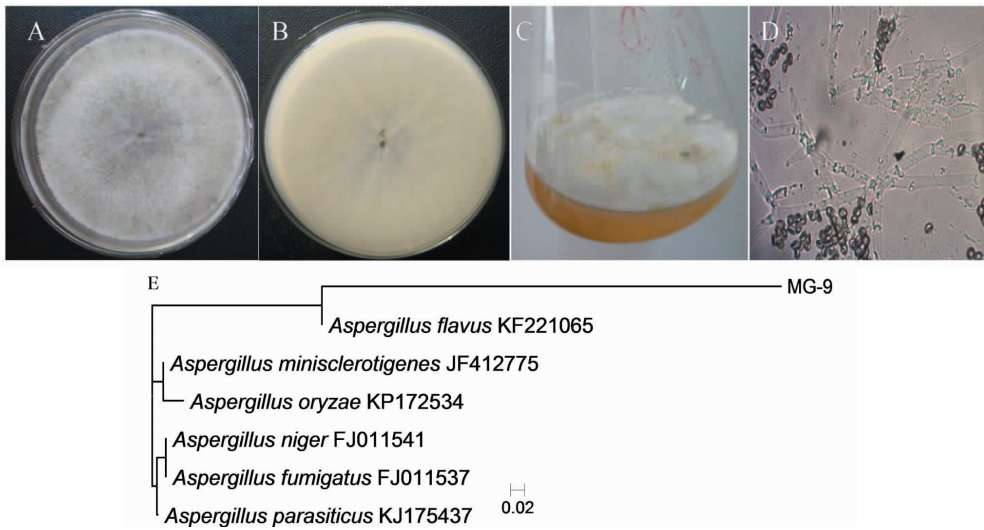


图1 MG-9 的菌落、显微形态及分子鉴定

Fig. 1 Morphology of colony, hyphae & conidia and molecular characterization of MG-9

注: A: 菌落形态; B: 背面形态; C: 发酵液; D: 菌丝和分生孢子(400×); E: 基于 ITS 序列构建的系统发育树。

Note: A: Morphology of colony; B: Back of the dish; C: Fermentation broth; D: Hyphae and conidia (400×); E: Phylogenetic tree.

果表明 MG-9 菌株与曲霉 (*Aspergillus*) 聚为一支, 同源性程度高, 相似度达 99% ~ 100% (图 1E), 对照《真菌鉴定手册》^[16], 比较分析 MG-9 和曲霉的形态特征, 判断 MG-9 是一株曲霉。

2.3 MG-9 在细胞外的抗氧化能力

虽然 MG-9 的多酚类物质在菌体相中浓度高, 但由于菌体干物质少 (0.1 ~ 0.2 mg/100 mL), 故

大部分多酚类物质产生在发酵液中, 所以用发酵液的粗提物进行抗氧化活性评价, 具体结果见表 2。实验结果表明, MG-9 发酵液的粗提物均显示一定程度的抗氧化性, 虽然总抗氧化活性 (T-AOC) 相对较小, 但是自由基清除率接达 16.99%, 达到维生素 C 的 17%。

表 2 不同方法测定 MG-9 发酵液的抗氧化能力

Table 2 Antioxidant activity of MG-9 fermentation broth by various methods

待测物 Substance	DPPH 法 DPPH method (%)	总抗氧化活力 T-AOC (U/mL)	铁氰化钾法 PF method (OD)
MG-9	16.99 ± 1.37	0.33 ± 0.05	0.304 ± 0.04
Vc	98.67 ± 0.24	19.95 ± 0.11	2.430 ± 0.19
空白 Control	0.00	-	-

2.4 MG-9 在细胞内的抗氧化能力

为进一步评价 MG-9 粗提物的抗氧化活性, 我们分别建立了大肠杆菌和人神经母瘤细胞的过氧化氢损伤模型, 检测其是否对原核细胞和真核细胞具有氧化损伤保护作用。实验结果表明 200 μM 的 H₂O₂ 溶液可以导致近 50% 的大肠杆菌细胞死亡 (图 2A), 选择该浓度建立氧化应激损伤模型, 以进行后续实验。

MG-9 的发酵液粗提物对大肠杆菌的氧化损伤具有明显的保护作用 (图 2B)。在 200 μmol/L 的

H₂O₂ 存在下, 大肠杆菌的生长明显受到抑制, 但是这种抑制效应能被 MG-9 进行弥补和挽救, 使得大肠杆菌细胞的成活率提高了 245% (图 2B)。同时需要指出的是, 这种保护作用并不是由于促进大肠杆菌细胞的生长引起, 因为在不加 H₂O₂ 时, 效果并不明显, 充分说明 MG-9 所起的效果抗氧化保护作用所致 (图 2B)。

为进一步明确 MG-9 的粗提物对真核细胞是否具有氧化损伤保护作用, 我们选用人神经母瘤细胞 SH-SY5Y, 测定了在 800 μmol/L 的 H₂O₂ 存在下神

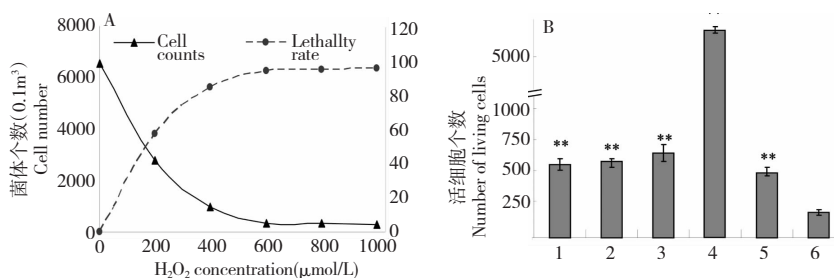


图2 MG-9的粗提物对大肠杆菌的氧化损伤保护

Fig. 2 Protective effects of MG-9 crude extract to *E. coli* undergoing oxidative damage

注:A:不同浓度H₂O₂溶液对大肠杆菌的致死率;B:MG-9的粗提物的氧化损伤保护效应。

Note:A:The lethal rate of *E. coli* under different concentrations of H₂O₂ solution;B:Protective effects of MG-9 crude extract to oxidative damage. 1: MG-9 + Normal cells,2:VC + Normal cells,3:MG-9 + Normal cells + H₂O₂,4:VC + Normal cells + H₂O₂,5:Normal cells,6:Normal cells + H₂O₂. Data are shown as the means ± standard deviation (n=3), and ** means extremely significant difference with P < 0.01 compared with the model group.

经细胞的存活率(图3)。结果表明MG-9的粗提物对神经细胞的氧化损伤具有较好的保护效果,在1000 μg/mL浓度时,神经细胞存活率提高了51.8%(图3A),说明MG-9的粗提物对真核细胞同样具有抗氧化作用。

LDH活性是一种细胞膜的完整性和细胞毒性的重要评价指标,氧化损伤将导致LDH从细胞内渗漏到细胞液中^[17]。研究发现,800 μM的H₂O₂处理

后LDH的漏出率达正常细胞的12倍,说明H₂O₂导致神经细胞氧化损伤的部分原因,是由于破坏了神经细胞细胞膜的完整性,导致神经细胞胞内LDH释放到培养液中(图3B)。但在添加MG-9的粗提物后,这种渗漏作用得到有效缓解,LDH渗透率较H₂O₂刺激过的神经细胞降低了74.4%,说明MG-9可以降低因H₂O₂导致的细胞膜损伤,从而起到保护神经细胞的作用。

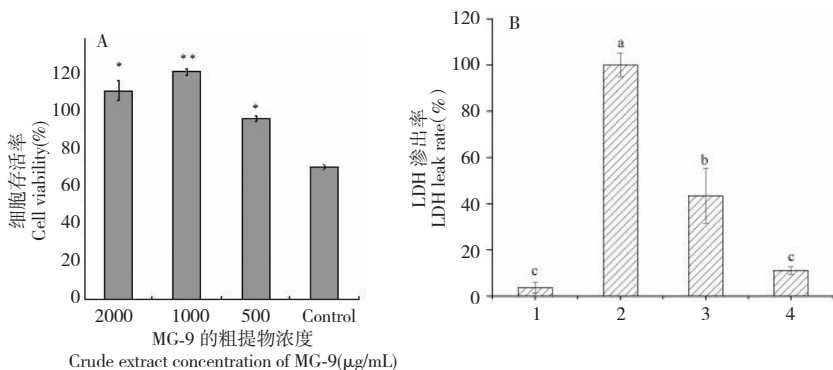


图3 MG-9的粗提物对神经细胞的氧化损伤保护

Fig. 3 Protective effects of MG-9 crude extract on nerve cells undergoing oxidative damage

注:A:MG-9的粗提物对H₂O₂存在下神经细胞生长的影响;B:MG-9的粗提物对神经细胞LDH渗透率影响。

Note:A:The growth influence of nerve cells to MG-9 crude extract under H₂O₂ stress, * means significant difference with P < 0.05 and ** for 0.01, n=3;B:LDH leakage rate affected by MG-9 crude extract. 1:Control group,2:The maximum exudation rate,3:H₂O₂ treatment,4:MG-9 treatment.

2.5 MG-9的发酵条件优化

为进一步探讨不同培养条件对MG-9产多酚类物质的影响,我们先比较了PDA、SDA、MDA等培养基种类和不同K⁺、Mg²⁺等盐浓度下多酚类物质的含量。

不同培养基种类对MG-9产多酚类物质的影响

较大,其中SDA最有利于多酚类物质的生成(图4A),这与我们前期在另一个内生菌SG17的研究是一致的^[6],在后期实验中选择选择SDA培养基进行其他因素的优化。而且,培养基对水相中的多酚类物质影响最大,而对于菌体相和酯相影响却不明显(图4A)。不同的盐浓度对多酚类物质的生产有一

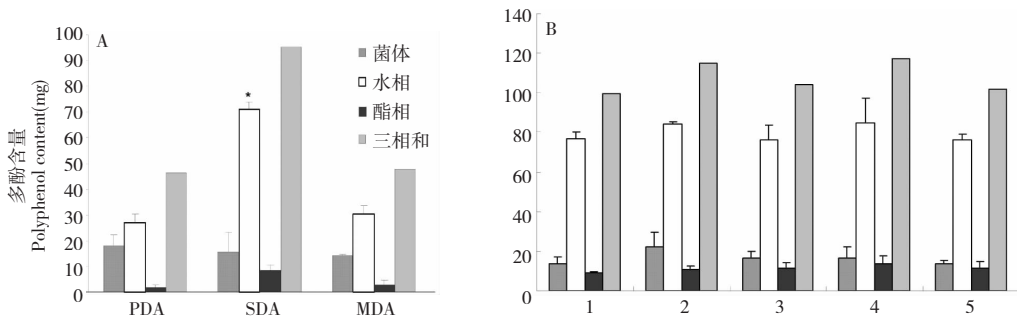


图4 培养基及盐浓度对 MG-9 多酚类物质的影响

Fig. 4 Polyphenols contents of MG-9 response to various medium and salinity concentrations

注:A:不同培养基下的多酚类含量;B:不同盐浓度下的多酚类含量。

Note:A:Polyphenols contents under various medium, and * means significant difference with $P < 0.05$;B:Polyphenols contents under various salinity concentrations. 1:No additional K^+ or Mg^{2+} , 2:0.5 g/L K^+ and 0.3 g/L Mg^{2+} , 3:1.0 and 0.5, 4:1.5 and 0.7, 5:2.0 and 1.0 respectively.

定影响,随着盐浓度的增大,多酚类物质含量呈现增加后减少的趋势,当外源添加 0.5 g/L K^+ 和 0.3 g/L Mg^{2+} 时最有利于多酚类物质的生产(图 4B)。

3 讨论与结论

植物内生菌因其与宿主紧密的生态关系,可产生具有广谱活性的多种次生代谢产物,近年来成为了微生物学和天然产物化学的一个备受关注的交叉点^[1,2]。本研究从能耐受低氧胁迫的植物疏花水柏枝的内生真菌出发,选择了一株具有较高抗氧化活性和较高多酚类物质含量的菌株 MG-9 作为研究对象,对其进行了生物学鉴定、抗氧化能力评价。分子和形态鉴定表明 MG-9 是一株曲霉,它具有较高的抗氧化活性,能对大肠杆菌细胞和神经细胞起到抗氧化保护的效果,可保护细胞膜的完整性。SDA 培养基、外源添加一定浓度的 Mg^{2+} 和 K^+ 可有效促进 MG-9 多酚类物质的积累。这一系列研究结果表明,菌株 MG-9 是一种极具潜在开发价值的抗氧化剂资源。

当前抗氧化剂广泛应用在食品、药品、化妆品等领域,但是目前还没有一种标准方法可以用来准确的评价物质的抗氧化能力^[11,12],这也限制了抗氧化研究的进一步发展。本文结合 3 种体外测定办法和 2 种体内测定办法进行综合评价内生真菌抗氧化能力,取得了不错的效果。几种方法的实验结果可能不一致,要相互之间进行验证,不能以简单的一种办法判断其抗氧化能力大小。本文建立的对原核生物大肠杆菌和真核神经细胞进行抗氧化保护验证,为将来科学评价物质的抗氧化能力奠定了基础。通过比较分析,体外的方法可以作为初步筛选,大肠杆菌

的抗氧化保护试验可以作为进一步筛选,神经细胞的抗氧化保护试验可以作为动物实验前的一次筛选,但是一定要将几种办法综合使用,合理评价物质的抗氧化能力。

未来的实验要在进一步鉴定物种的基础上,明确其起抗氧化作用的物质基础,根据活性跟踪的方法分离得到高抗氧化活性的化合物,为进一步研究新型多酚类抗氧化剂奠定基础。

参考文献

- García A, Rhoden SA, Rubin CJ, et al. Diversity of foliar endophytic fungi from the medicinal plant *Sapindus saponaria* L. and their localization by scanning electron microscopy. *Biol Res*, 2012, 45: 139-148.
- Venugopalan A, Srivastava S. Endophytes as *in vitro* production platforms of high value plant secondary metabolites. *Bio-technol Adv*, 2015, 33: 873-877.
- Zeng W, Qin W, Tian W, et al. Antioxidant activity in vitro of endophytic fungi from *Myricaria laxiflora*, a riparian plant with strong tolerance ability of flooding. *J Pure Appl Micro-bio*, 2015, 9(1): 87-95.
- Zhang Y(张阳), Li RL(李瑞莲), Zhang DS(张德胜), et al. Research progress of waterlogging to plants. *Crop Res*(作物研究), 2011, 25: 420-424.
- Tian W(田伟), Bi YT(毕玉婷), Zhou QL(周启龙), et al. Effects of gallate esters on antioxidation of nerve cells. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2013, 25: 1423-1427.
- Gao Y(高媛), Lei Q(雷旗), Jiang W(蒋维), et al. Molecular characterization and phenolic acids analysis of an endophytic fungus with high antioxidant activity. *Microbiol China*(微生物学通报), 2016, 43: 1235-1243.

- 7 Brglez ME, Knez HM, Škerget M, *et al.* Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 2016, 21(7):1-38.
- 8 Mandal SM, Chakraborty D, Dey S. Polyphenols act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signal Behav*, 2010, 5:359-368.
- 9 Tian W, Bi YH, Zeng W, *et al.* Diversity of endophytic fungi of *Myricaria laxiflora* grown under pre-and post-flooding conditions. *Genet Mol Res*, 2015, 14:10849-10862.
- 10 Huang SL, He HB, Zou K, *et al.* Protective effect of tomatine against hydrogen peroxide-induced neurotoxicity in neuroblastoma(SH-SY5Y) cells. *J Pharm Pharmacol*, 2014, 66:844-854.
- 11 Prior RL, Wu XL, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*, 2005, 53:4290-4302.
- 12 Valavanidis A, Nisiotou C, Papageorgiou Y, *et al.* Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *J Agric Food Chem*, 2004, 52:2358-2365.
- 13 Zhang MM(张梅梅), Wei ZW(魏志文), Liu YB(刘玉冰), *et al.* Optimization on determination of polyphenols from *Inonotus obliquus* by Folin-Ciocalteu colorimetry. *Mycosystema*(菌物学报), 2011, 30:295-304.
- 14 Yu HY(余海尤), Cao CL(曹春蕾), Cui BK(崔宝凯). Polyphenol content and antioxidant activities of *Phellinus lonicericola* in liquid culture. *Mycosystema*(菌物学报), 2012, 31:933-939.
- 15 Kong YS(孔玉珊). Antioxidant capacity of the phenolic acid from endophytic fungi of *Myricaria laxiflora* to nerve cells. Yichang: Three Gorges University(三峡大学), MSc. 2016.
- 16 Wei JC(魏景超). Fungi Identification Manual(真菌鉴定手册). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1979. 90-121.
- 17 Speen A, Jones C, Patel R, *et al.* Mechanisms of CDDO-imidazolide-mediated cytoprotection against acrolein-induced neurocytotoxicity in SH-SY5Y cells and primary human astrocytes. *Toxicol Lett*, 2015, 238(1):32-42.

《天然产物研究与开发》青年编委会

青年编委(以姓氏笔划为序)

Members

丁克	王红兵	戈惠明	尹文兵	尹胜	吕兆林
DING Ke	WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin
伍婉卿	刘相国	孙昊鹏	孙桂波	孙黔云	李芸霞
WU Wanqing	LIU Xiangguo	SUN Haopeng	SUN Guibo	SUN Qianyun	LI Yunxia
李良成	李国友	邱莉	汪海波	沐万孟	张炳火
LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo	MU Wanmeng	ZHANG Binghuo
陈益华	林茂祥	林昌俊	欧阳杰	易华西	罗应刚
CHEN Yihua	LIN Maoxiang	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi	LUO Yinggang
周文	胡友财	袁涛	夏永刚	高慧敏	唐金山
ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin	TANG Jinshan
黄胜雄	韩淑燕	蓝蔚青	廖晨钟	潘卫东	薛永波
HUANG Shengxiong	HAN Shuyan	LAN Weiqing	LIAO Chenzhong	PAN Weidong	XUE Yongbo