

核桃内生真菌抗氧化菌株的筛选及其代谢产物活性研究

庞俊倩,赵鑫丹,郝苑汝,高飞,翟梅枝*

西北农林科技大学林学院核桃研究中心,杨凌 712100

摘要:本试验以 29 株核桃内生真菌为研究对象,采用总还原力(FRAP 法)及 DPPH·清除试验评价其代谢产物的抗氧化能力,从中筛选出高活性菌株,并对该菌株发酵液进行浓缩萃取,研究各萃取物的抗氧化活性。结果表明,供试 29 株菌的代谢产物都表现出一定的抗氧化活性,其中菌株 LTS-6-6(*Pyrenochaeta*)为高活性菌株。该菌株发酵液乙酸乙酯萃取物(EAE)显示了较强的抗氧化活性,对 DPPH·的 EC₅₀为 7 μg/mL,总还原力为 527.59 ± 10.66 mg V_C/g,总酚和总黄酮含量分别达到 641.14 ± 7.50 mg 没食子酸/g,100.30 ± 8.44 mg 芦丁/g。该结果表明,核桃内生真菌代谢产物具有一定的抗氧化活性,是寻找天然抗氧化活性物质的良好资源。

关键词:核桃内生真菌;总还原能力;DPPH·;抗氧化活性

中图分类号:Q946.91;Q939.9

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)1-0040-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.1.006

Screening and metabolite activities of antioxidant strains from walnut endophytic fungi

PANG Jun-qian, ZHAO Xin-dan, HAO Yuan-ru, GAO Fei, ZHAI Mei-zhi*

Walnut Research Centre, College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

Abstract: In order to study the antioxidant capacity of endophytic fungi, the total antioxidant capacity (FRAP method) and DPPH· assay were used to evaluate the antioxidant capacity of the 29 endophytic fungi metabolites and screen a high strain. The active strain LTS-6-6 was extracted to study the antioxidant capacity of the extractant of each phase. The results showed that the metabolites of 29 strains showed a certain antioxidant capacity, and 9 strains with strong DPPH· clearance rate (clearance rate ≥ 50%) accounted for 31.03% of the tested strains. Among them, the strain LTS-6-6 (*Pyrenochaeta*) was a highly active strain. The ethyl acetate extract (EAE) of the fermentation broth showed strong antioxidant activity with the EC₅₀ of 7 μg/mL and a total antioxidant capacity of 527.59 ± 10.66 mg V_C/g. The total phenolic and total flavonoid contents were respectively reached 641.14 ± 7.50 mg gallic acid/g, 100.30 ± 8.44 mg rutin/g. The results indicated that the endophytic fungal metabolites of walnut had certain antioxidant capacity and were good resources for finding natural antioxidant active substances.

Key words: endophytic fungi of walnut; total reducing ability; DPPH·; antioxidant activity

由于食品、医药等工业的需求,从自然界中寻找天然的、安全的抗氧化剂受到越来越多的关注,植物资源是目前天然抗氧化剂的主要来源。内生真菌是生活在植物组织内,但不对其宿主造成明显病害症状的腐生、寄生、共生真菌及细菌等微生物^[1]。有研究表明,内生真菌普遍存在于植物组织当中,它们能够产生与宿主植物相同或相似的生物活性物质,许

多活性成分被证明具有明显的抗癌、抗菌、抗氧化等活性^[2],是获得抗菌、抗氧化药物先导化合物的重要来源。植物内生菌中得到的天然抗氧化剂结构新颖,活性显著,为天然抗氧化活性物质提供了又一丰富的资源。

核桃(*Juglans regia* L.)是胡桃科核桃属落叶乔木,在我国栽培历史悠久,分布广泛,资源丰富^[3]。核桃各组织本身具有抗氧化活性,Zhang等^[4]发现核桃青皮提取物不同溶剂的提取相具有不同程度的抗氧化作用,Wei等^[5]研究了核桃叶提取物及其各萃取部分的抗氧化活性,结果表明核桃叶 75% 乙醇

收稿日期:2019-06-27 接受日期:2019-12-25

基金项目:国家自然科学基金(31370552)

* 通信作者 E-mail:plum-zhai@163.com

提取物对 DPPH· 及 ABTS⁺ · IC₅₀ 均低于 V_C。这些研究表明,核桃不同组织提取物具有较高的抗氧化活性。根据宿主共生理论,内生真菌可以产生与宿主植物相同或相似的化合物,在核桃内生真菌中是否同样存在高活性抗氧化物质亟待研究。目前,对于核桃内生真菌的研究多集中在多样性和抗菌方面^[6,7],对抗氧化活性的研究报道较少,本研究以期核桃内生真菌高抗氧化菌株作为天然抗氧化剂的开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

1.1.1 材料

供试 29 株核桃内生真菌,均由本实验室从宜君、蓝田两地采集不同核桃组织中分离得到,经纯化后现保存于西北农林科技大学核桃研究中心实验室。菌种编号、分离部位、采样季节以及菌株归属见表 1。

1.1.2 培养基

马铃薯葡萄糖固体培养基(PDA),用于内生真菌的活化培养;马铃薯葡萄糖液体培养基(PDB),用于内生真菌的发酵培养。

1.1.3 主要试剂及仪器

主要试剂:V_C(上海源叶生物科技有限公司,纯度≥99%);芦丁(上海源叶生物科技有限公司,纯度≥99%);没食子酸(上海源叶生物科技有限公司,纯度≥99%);二苯代苦味肼基自由基(DPPH·,纯度>97%,东京化成工业株式会社);2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ,纯度≥98%,上海源叶生物科技有限公司);试剂均为分析纯。

主要仪器:UV-1200 紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器有限公司);SKY-2102C 型恒温震荡培养箱(上海苏坤实业有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种活化

将 4 ℃ 保存的内生真菌接种于 PDA 平面固体培养基上,在 28 ± 1 ℃ 下培养 4 ~ 6 天,待菌落长至直径 40 ~ 50 mm,保存用于液体发酵。

1.2.2 内生真菌的发酵

在无菌条件下用直径为 6 mm 的打孔器在活化好的内生真菌菌落外缘打取菌饼,用接种针接种至

含 300 mL 马铃薯葡萄糖液体培养基 500 mL 锥形瓶中,在 28 ± 1 ℃、180 rpm 摇床上震荡培养 7 天。

1.2.3 发酵产物及不同溶剂抗氧化样液的制备

发酵产物样品液制备:发酵液经双层滤纸过滤,在 60 ~ 65 ℃、70 rpm 的条件下,减压浓缩至浸膏状,配成 1 mg/mL 的样品溶液,备用。

高活性菌株萃取液制备:高活性菌株大量发酵(方法同 1.2.2),发酵液减压浓缩至原体积的 1/10,分别用等体积的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,每种溶剂萃取三次,减压浓缩成浸膏状,依次得到石油醚提取物(PEE)、乙酸乙酯提取物(EAE)、正丁醇提取物(BAE)及萃余物(WTE),备用。

1.2.4 DPPH· 自由基清除率测定

参照 Tan 等^[8]的方法稍作修改,取 2 mL DPPH· (0.1 mmol/L) 乙醇溶液,加入 2 mL 1 mg/mL 样品溶液,摇匀,室温避光下静置 30 min,在波长 517 nm 处测定吸光值。试验设置 3 组平行,结果取平均值,并以 V_C 为阳性对照。

1.2.5 总还原力测定

总还原力采用 FRAP 法,TPTZ 工作液配制参考 Kaushik 等^[9]的方法。用 V_C 作标样,绘制标准曲线,如图 1。

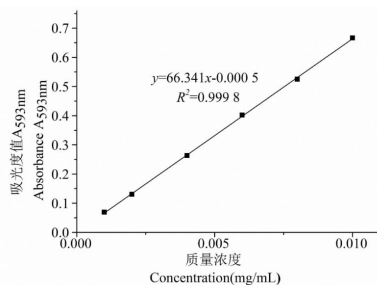


图 1 V_C 标准曲线

Fig. 1 Standard curve of Vc

1.2.6 总酚、总黄酮含量的测定

总酚含量测定采用福林酚法,参照 Rosana 等^[10]的方法。用没食子酸作标样,绘制标准曲线,如图 2(a)。黄酮含量的测定采用 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 显色法^[11],用芦丁作标样,绘制标准曲线,如图 2(b)。

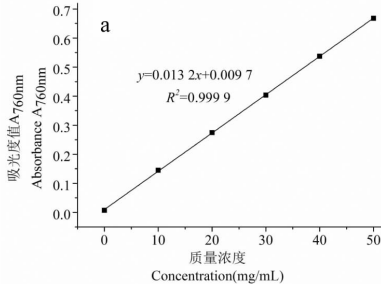
1.2.7 数据分析

采用 IBM SPSS Statistics 24 统计分析软件,试验结果用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,数据统计分析

以单向方差分析法进行差异显著性检验分析($P < 0.01$)。

2 结果与分析

2.1 抗氧化活性菌株的筛选



2.1.1 供试 29 株核桃内生真菌的发酵产物对 DPPH· 的清除作用

29 株内生真菌的发酵产物对 DPPH· 清除率结果见表 1。

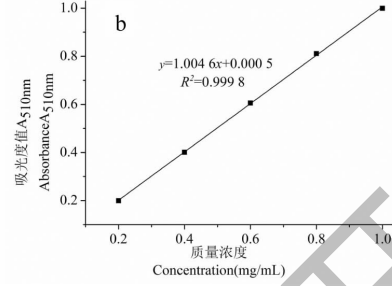


图 2 没食子酸(a)、芦丁(b)标准曲线

Fig. 2 Standard curve of gallic acid(a) and rutin(b)

表 1 29 株核桃内生真菌的发酵产物对 DPPH· 清除率

Table 1 Scavenging effects of fermentation products of 29 walnut endophytic fungi on DPPH· radical

编号 Strain No.	季节 Season	组织 Part (tissue) of the plant	属 Genus	DPPH· 清除率 DPPH· scavenging rate(%)
LTS-1-1	春 Spring	根 Root	砖红镰刀菌黄杨变种 <i>Fusarium lateritium</i>	12.39 ± 2.12
OLTS-2-1	春 Spring	一年生茎 1-year-old twig	聚生小穴壳属 <i>Dothiorella gregaria</i>	2.44 ± 0.06
LTL-2-2	春 Spring		交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	9.30 ± 0.19
LTL-2-6	春 Spring		交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	22.32 ± 0.84
LTL-2-4	春 Spring		茎点霉属 <i>Phoma</i>	19.23 ± 0.15
LTL-2-5	春 Spring		交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	15.48 ± 0.8
YJL-2-4	春 Spring		花核菌属 <i>Anthina</i>	56.33 ± 0.91
YJL-2-5	春 Spring		花核菌属 <i>Anthina</i>	65.62 ± 1.05
LTL-3-3	春 Spring	两年生茎 2-year-old twig	交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	25.78 ± 0.62
LTS-3-1	春 Spring		花核菌属 <i>Anthina</i>	58.83 ± 0.69
YJL-3-5	春 Spring		花核菌属 <i>Anthina</i>	77.16 ± 0.52
LTS-3-1	夏 Summer		鬼伞属 <i>Coprinellus</i>	44.57 ± 0.08
VTS-LN-2	秋 Autumn		交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	49.41 ± 0.06
LTL-3-1	春 Spring		花核菌属 <i>Anthina</i>	66.31 ± 1.44
LTL-3-2	春 Spring		交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	30.58 ± 0.06
YJL-4-1	秋 Autumn	干茎 Trunk	德氏霉属 <i>Drechslera</i>	42.19 ± 0.06
YJS-5-2	春 Spring	叶 Leaf	束丝菌属 <i>Ozonium</i>	8.85 ± 0.73
LTS-5-5	春 Spring		小卵孢霉属 <i>Ovularia</i>	33.47 ± 0.25
YJL-5-3	春 Spring		派伦霉属 <i>Peyronellaea</i>	78.28 ± 0.36
LTL-5-4	春 Spring		交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	56.84 ± 0.75
LTL-5-2	春 Spring		茎叶核菌属 <i>Ectostroma</i>	23.93 ± 0.87
LTS-5-3	春 Spring		黑葱花霉属 <i>Periconia</i>	21.65 ± 0.37
LTS-5-4	春 Spring		茎点霉属 <i>Phoma</i>	13.31 ± 0.07
SYS-6-3	秋 Autumn	果 Fruit	拟盘多毛孢属 <i>Pestalotiopsis Steyaert</i>	23.20 ± 2.15

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 Strain No.	季节 Season	组织 Part (tissue) of the plant	属 Genus	DPPH · 清除率 DPPH · scavenging rate (%)
LTL-6-6	夏 Summer		交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	11.63 ± 2.01
LTS-6-6	夏 Summer		须壳孢属 <i>Pyrenochaeta</i>	96.47 ± 0.99
LTS-6-4	夏 Summer		黑葱花霉属 <i>Periconia</i>	44.38 ± 0.01
LTS-6-1	夏 Summer		交链孢霉属 <i>Alternaria</i>	52.60 ± 1.58
LTL-6-5	夏 Summer		小卵孢霉属 <i>Ovularia</i>	26.36 ± 0.88

注:供试浓度:1 mg/mL。

Note: Test concentration: 1 mg/mL.

由表 1 可见,供试 29 株核桃内生真菌的发酵产物均具有一定的抗氧化活性,但抗氧化活性各不相同。在供试浓度 1 mg/mL 时,样品 LTS-6-6 抗氧化活性能力最强,对 DPPH · 自由基的清除率为 96.47% ± 0.99%;样品 YJL-3-5、YJL-5-3、YJL-2-4、LTS-3-1、YJL-2-5、LTL-3-1、LTL-5-4 和 LTS-6-1 也显示了较强的抗氧化能力,对 DPPH · 的清除率均超过 50%,其他 20 个样品对 DPPH · 清除率都小于 50%,尤其菌株 LTS-2-1、LTL-2-2、YJS-5-2 的发酵产物的抗氧化能力最弱,DPPH · 清除率都小于 10%。鉴于此,将对 DPPH · 清除率超过 50% 的 9 株真菌作为活性菌株,进一步考察它们的总还原力。

9 株内生真菌发酵产物对 DPPH · 清除率大于 50% 的活性菌株。测试样品对 DPPH · 呈现出了不同程度的清除作用,从分离部位看,一年生茎 2 株、两年生茎 3 株、叶 2 株和果 2 株。由此可看出,活性菌株主要来自于当年生或两年生组织中。从归属来看,5 株属于花核菌属,即:YJL-2-4、YJL-2-5、YJL-3-5、LTL-3-1、LTS-3-1。在浓度为 1 mg/mL 时,这 5 株内生真菌的发酵产物对 DPPH · 清除率在 56.33% ~ 77.16%;2 株归属为交链孢霉属,清除率在 52.60% ~ 56.84%;另外 1 株来自于派伦霉属,清除率 78.28%;一株来自于须壳孢属,清除率为 96.47%。从分离地点看,来自宜君的 4 株,来自蓝田的 5 株。综合分析认为,核桃内生真菌中花核菌属、交链孢霉属与其他菌属相比,发酵产物具有较好的抗氧化活性。

2.1.2 较强活性菌株总还原力比较

抗氧化物质的抗氧化活性与其还原力存在着直接的联系。亚铁还原能力测定是评价物质抗氧化能力的一种通用的方法,通常物质的还原能力越强,抗氧化能力就越强^[12]。对 9 株 DPPH · 清除率超过

50% 的菌株发酵产物进行总还原力测定。结果如图 3 所示。

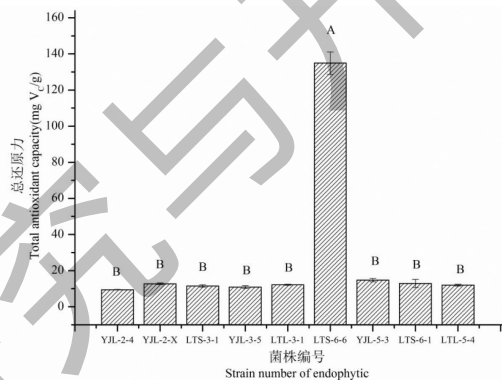


图 3 活性菌株的总还原力

Fig. 3 The total antioxidant capacity of 9 active strains of better DPPH · radical

注:A,B,C,D 代表显著性差异, $P < 0.01$ 。Note: A,B,C,D represent significant differences compared with each other, $P < 0.01$ 。

由图 3 可见,供试 9 株活性菌株的总还原力依次为:LTS-6-6 > YJL-5-3 > LTL-3-1 > YJL-2-5 > LTL-5-4 > YJL-3-5 > LTS-6-1 > LTS-3-1 > YJL-2-4。其中,菌株 LTS-6-6 的总还原力为 130.47 mg V_c/g,显著高于其他菌株;其余 8 株内生真菌的总还原力均在 15 mg V_c/g 以下,总还原力最低的是 YJL-2-4,仅为 9.54 mg V_c/g。故选择 LTS-6-6 作为抗氧化高活性菌株进行下一步研究。

2.2 高活性菌株 LTS-6-6 不同部位萃取物的抗氧化活性评价

2.2.1 高活性菌株 LTS-6-6 不同萃取物的总酚、总黄酮含量及总还原力

对高活性菌株 LTS-6-6 各萃取物的总还原力和总酚、总黄酮含量进行测定,结果如表 2 和图 4 所示。

表2 LTS-6-6 不同部位萃取物的总酚、总黄酮含量及总还原力

Table 2 Total phenol content, total flavonoid and total antioxidant capacity of different extracts from LTS-6-6

测定指标 Index	不同部位萃取物 Different extracts from LTS-6-6			
	PEE	EAE	BAE	WTE
总还原力 Total antioxidant capacity (mg V _C /g)	66.48 ± 0.21 ^C	527.59 ± 10.66 ^A	149.08 ± 3.62 ^B	60.60 ± 1.28 ^C
总酚 Total phenolic content (mg gallic acid/g)	180.53 ± 9.64 ^B	641.14 ± 7.50 ^A	93.30 ± 8.04 ^C	38.91 ± 0.54 ^D
总黄酮 Total flavonoid content (mg rutin/g)	35.62 ± 1.41 ^B	100.30 ± 8.44 ^A	15.72 ± 1.41 ^{BC}	11.24 ± 0.70 ^C

注: A、B、C、D 代表显著性差异, 同一指标相互比较, $P < 0.01$ 。

Note: A, B, C, D represent significant differences. Compared with each other in dependence of the same index, $P < 0.01$.

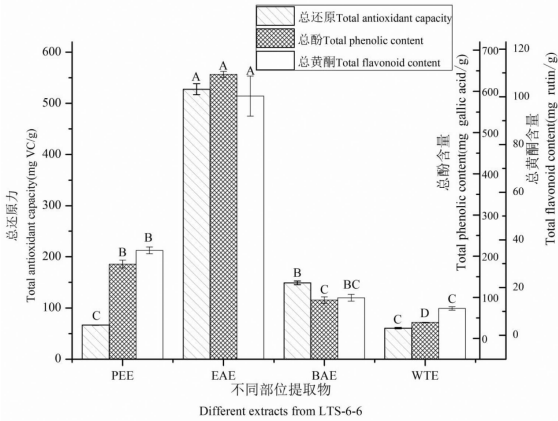


图4 LTS-6-6 不同部位萃取物的总酚、总黄酮含量及总还原力

Fig. 4 Total phenol content, total flavonoid and total antioxidant capacity of different extracts from LTS-6-6

注: A, B, C, D 代表显著性差异, 同一指标相互比较, $P < 0.01$ 。

Note: A, B, C, D represent significant differences. Compared with each other in dependence of the same index, $P < 0.01$.

由表2和图4可知,就总还原力而言,EAE的总还原力最高,为 $527.59 \pm 10.66 \text{ mg V}_C/\text{g}$,显著高于其它溶剂提取物;BAE总还原力居中,为 $149.08 \pm 3.62 \text{ mg V}_C/\text{g}$;WTE和PEE总还原力最低,分别为 60.60 ± 1.28 和 $66.48 \pm 0.21 \text{ mg V}_C/\text{g}$,仅为EAE的

1/9、1/8。就总酚含量而言,EAE的含量最高,为 $641.14 \pm 7.50 \text{ mg}$ 没食子酸/g;WTE总酚含量最低,为 $38.91 \pm 0.54 \text{ mg}$ 没食子酸/g。不同溶剂提取物总酚含量之间差异显著,EAE的总酚含量分别为PEE、BAE、WTE的4倍、7倍、16倍。就总黄酮而言,EAE的总黄酮含量最高,为 $100.30 \pm 8.44 \text{ mg/g}$,分别为PEE、BAE、WTE的3倍、6倍、9倍。

众多研究^[13,14]表明,黄酮类和多酚类物质是天然抗氧化剂的主要物质基础。在对高活性菌株发酵产物的各萃取物总酚、总黄酮、总还原力测定的基础上,分析总酚、总黄酮含量和总还原力的相关性,总还原力与总酚、总黄酮含量呈正相关性,相关系数分别为0.8771、0.9177。萃取后,乙酸乙酯部分多酚和黄酮类物质得到富集,含量最高。不同萃取物中的总还原力和总酚含量之间呈现出明显的量效关系,即总酚和总黄酮含量高的萃取相,总还原力也强。由此推断,高活性菌株LTS-6-6发酵产物的抗氧化活性物质主要是多酚类和黄酮类。

2.2.2 不同浓度LTS-6-6萃取物对DPPH·的清除率

高活性菌株LTS-6-6不同浓度萃取物对DPPH·清除率见表3和图5。

表3 不同部位萃取物对DPPH·清除率

Table 3 Scavenging effects on DPPH· radical of different extracts from LTS-6-6

浓度 Concentration (mg/mL)	供试样品清除率 Scavenging effects of different samples (%)				
	V _C	PEE	EAE	BAE	WTE
0.001	7.83 ± 0.00	4.74 ± 2.61	5.56 ± 1.06	0.06 ± 1.00	0.85 ± 1.00
0.005	53.38 ± 0.02	9.11 ± 0.97	29.52 ± 1.17	7.52 ± 0.01	2.67 ± 0.00
0.010	91.71 ± 0.00	19.30 ± 0.43	58.46 ± 0.12	14.77 ± 2.28	4.93 ± 4.00
0.020	94.52 ± 0.01	35.45 ± 0.32	88.97 ± 1.76	27.08 ± 3.63	9.74 ± 0.05
0.030	95.75 ± 0.02	50.15 ± 0.11	94.78 ± 1.06	39.06 ± 0.74	15.34 ± 2.02

续表 3 (Continued Tab. 3)

浓度 Concentration (mg/mL)	供试样品清除率 Scavenging effects of different samples (%)				
	V _C	PEE	EAE	BAE	WTE
0.040	96.74 ± 0.00	65.20 ± 2.74	94.94 ± 0.35	53.12 ± 0.09	19.79 ± 0.42
0.050	96.89 ± 0.04	74.78 ± 0.43	95.02 ± 0.02	64.36 ± 2.63	26.46 ± 1.05
0.100	97.10 ± 0.03	91.68 ± 0.14	97.79 ± 2.47	94.79 ± 0.00	50.45 ± 0.00

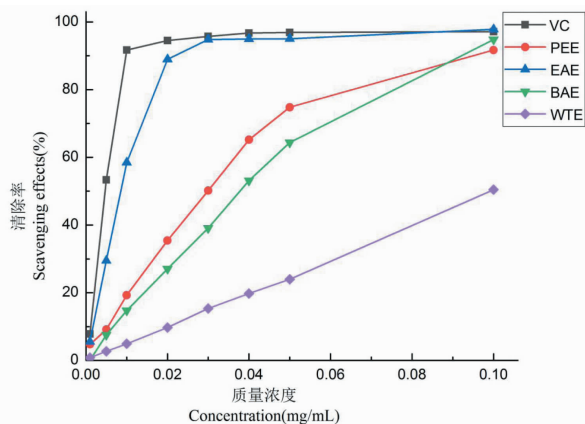


图 5 高活性菌株不同萃取物对 DPPH· 的清除作用

Fig. 5 Scavenging effects of different extracts from LTS-6-6 on DPPH· radical

由表 3 和图 5 可看出,高活性菌株发酵产物不同萃取物对 DPPH· 均表现出一定的清除能力,清除率都随着浓度增大而升高,增大幅度均呈现出先逐渐增大后趋于稳定的现象。在 0~0.1 mg/mL 的浓度范围内,EAE 活性显著高于其他萃取物;在 0.02 mg/mL 时,EAE 对 DPPH· 的清除率即达到 88.97%,其 EC_{50} 为 7 $\mu\text{g/mL}$,仅次于 V_C (EC_{50} 为 4 $\mu\text{g/mL}$)。在 0.1 mg/mL 时,PEE 和 BAE 对 DPPH· 的清除率分别为 91.81% 和 94.79%, EC_{50} 分别为 26 $\mu\text{g/mL}$ 和 33 $\mu\text{g/mL}$ 。WTE 对 DPPH· 的清除能力最弱,在 0.1 mg/mL 时清除率仅为 50.44%, EC_{50} 为 109 $\mu\text{g/mL}$ 。由此看出,不同萃取物中,对 DPPH· 清除能力由高到低依次为 EAE > PEE > BAE > WTE,说明抗氧化活性物质主要集中在乙酸乙酯萃取相。这与图 4 所示乙酸乙酯萃取相中总酚和总黄酮含量最高的结果相一致。这为高活性菌株 LTS-6-6 中的抗氧化活性物质的后续分离纯化提供了重要参考依据。

3 结果与讨论

本研究采用总还原力测定(FRAP 法)和 DPPH· 自由基清除率评价了 29 株核桃内生真菌的抗氧化能力,供试菌株均表现出一定的抗氧化能力,其中以

核桃青果皮中分离得到的菌株 LTS-6-6 抗氧化能力最强。

抗氧化剂可以抑制自由基的反应过程或干扰自由基连锁反应的引发与扩散过程,本研究以总还原力测定(FRAP 法)和 DPPH· 自由基清除率两种方法,对核桃内生真菌的发酵产物的抗氧化活性进行探索,由于两者的抗氧化作用机制不同,研究结果也稍有差异。本研究结果显示,BAE 的总还原力高于 PEE,但在 DPPH· 清除试验中,BAE 的清除能力较弱, EC_{50} 略高于 PEE。

部分内生真菌能够参与植物活性成分的合成,产生与宿主植物相同的化合物及其衍生物^[15]。Wei 等^[16]通过 DPPH· 及 ABTS⁺· 法评价了核桃青皮的抗氧化能力,结果发现,核桃青皮 80% 乙醇提取物抗氧化能力与 V_C 相当,并且总酚含量和抗氧化能力呈正相关关系。在本试验中,高活性菌株 LTS-6-6 从核桃青果皮中分离得到,其发酵产物也表现出较好的抗氧化活性,这可能与宿主共生理论有关。另外,Pan 等^[17]报道的川贝母内生真菌中的抗氧化活性成分为多酚类、黄酮类物质。Huang 等^[18]研究了 29 株传统中草药分离到的内生真菌的抗氧化活性,并发现其抗氧化能力和发酵液中的多酚含量相关性较好。本研究结果与其一致。

核桃是我国重要的经济作物,种植范围广泛,内生真菌资源丰富。Liu 等^[19]采用组织分离法对蓝田不同季节核桃树的不同组织部位内生真菌进行分离,共分离获得隶属于 47 个属的核桃内生真菌 676 株;Yimaer 等^[20]研究了陕西山阳县、蓝田县与宜君县不同生境春季核桃内生真菌的多样性,从 576 块组织块中共分离得到 392 株内生真菌。本研究仅从实验室保存的大量菌株中选择了 29 株进行抗氧化活性的探索,可供筛选菌株还很多,有望从中发现更有潜在价值的高活性菌株。

参考文献

1 Tan RX, Zou WX. Endophytes: a rich source of functional

- metabolites[J]. Nat Prod Rep,2001,18:448-449.
- 2 Qin WGG, Kong YS, Jiang W, et al. Screening, characterization and antioxidant analysis of endophytic fungi yielding polyphenols from *Myricaria laxiflora* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29: 461-467.
 - 3 Zhai MZ, Yan T, Wang Y, et al. Research advances on chemical ingredients and biological activity of green husk and leaves from *Juglans regia* L. [J]. Acta Bot Bor-Occid Sin (西北植物学报), 2011, 31: 2133-2138.
 - 4 Zhang WX, He KZ, Pu Q. Antimicrobial and antioxidant activities of extracts from walnut green husks[J]. Chin J Appl Environ Biol(应用与环境生物学报), 2014, 20(1): 87-92.
 - 5 Wei H, Yan XJ, Yang JW, et al. Determination of polyphenols content and antioxidant capacity of walnut leaf [J]. Guihaia (广西植物), 2018, 38(5): 54-59.
 - 6 Wang W, Zhai MZ, Xu WT, et al. Studies on endophytic fungi from *Juglans regia* L. I Isolation and metabolites activities of endophytic fungi[J]. Acta Agr Bor-Occid Sin(西北农业学报) 2008, 17(1): 77-81.
 - 7 Liu ZX, Yimaer A, Hui JC, et al. Antimicrobial activity of the metabolites of endophytic fungus from *Juglans regia* L. in Shaanxi[J]. J Southwest For Univ(西南林业大学学报), 2017, 37: 126-131.
 - 8 Tan J, Wang BC, Zhu LC. Study on scavenging activities of free radical by Quercetin-Cu(II) complexes [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2007, 18: 800-801.
 - 9 Kaushik A, Jijta C, Kaushik JJ, et al. FRAP (ferric reducing ability of plasma) assay and effect of *Diplazium esculentum* (Retz) Sw. (a green vegetable of North India) on central nervous system [J]. Indian J Nat Prod Res, 2012, 3: 228-231.
 - 10 Rosana CM, Massimo R, Luciano B, et al. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines [J]. Food Chem, 2003, 82: 409-416.
 - 11 Bao Q, Liu LM, Wang YL, et al. Research overview on content determination methods of total flavonoids in effective parts of Chinese materia medica [J]. Chin J Infor TCM(中国中医药信息杂志), 2018, 25: 136-140.
 - 12 Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M. Antioxidant activity of *Ke-lussia odoratissima* Mozaff. in axcmodel and food systems [J]. Food Chem, 2007, 105(1): 57-64.
 - 13 Zhu XQ, Zheng MS, Zou XH, et al. Antioxidant activity of different extracts from different medicinal parts of *Lespedeza culneate*(Dum. Cours.) G. Don [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2012, 23: 166-168.
 - 14 Wu S, Yin M, Shan Y, et al. In vitro antioxidant activities of extracts from *Kosteletzkya virginica* (L.) Presl [J]. Food Sci Tech(食品科技), 2014, 39: 193-197.
 - 15 Zou WX, Tan RX. Recent advances on endophyte research [J]. Acta Bot Sin, 2001, 43: 881-892.
 - 16 Wei H, Yang JW, Yan XJ, et al. Determination of total phenols content and antioxidant capacity of walnut green Husks [J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学), 2017, 45: 121-123.
 - 17 Pan F, Su TJ, Deng KL, et al. Antioxidant activities and metabolic constituents of endophytic *Fusarium tricinctum* CBY11 isolated from *Fritillaria cirrhosa* [J]. Mycosystema(菌物学报), 2017, 36: 752-765.
 - 18 Huang WY, Cai Y Z, Jie X, et al. A potential antioxidant resource: endophytic fungi from medicinal plants [J]. Econ Bot, 2007, 61(1): 14-30.
 - 19 Liu ZX, Yimaer A, Mao GR, et al. Diversity and temporal-spatial distribution of endophytic fungi from *Juglans regia* L. in Lantian, Shaanxi [J]. J Northeast For Univ(东北林业大学学报), 2017, 45(3): 90-95.
 - 20 Yimaer A, Liu ZX, Mao GR, et al. Isolation and diversity of endophytic fungi from *Juglans regia* L. in spring under different habitats [J]. J Northwest For Univ(西北林学院学报), 2016, 31: 184-189.