

## 金线莲内生促生真菌的筛选及其促生机制探讨

王 涵<sup>1,2</sup>, 林清强<sup>3</sup>, 胡雪娇<sup>1</sup>, 武广珩<sup>1</sup>, 徐 庆<sup>4</sup>

- (1. 武夷学院生态与资源工程学院, 福建省生态产业绿色技术重点实验室, 福建 武夷山 354300;  
2. 武夷学院中国乌龙茶产业协同创新中心, 福建 武夷山 354300;  
3. 福建师范大学生命科学学院, 福建 福州 350117; 4. 邵武二都国有林场, 福建 邵武 354000)

**摘要:** 分离野生金线莲内生真菌, 考察它们系统发育地位; 构建菌苗共同生长的体系, 通过生长指标和有效成分变化评价菌株促生效应; 监测金线莲中若干酶的活性变化, 并对共生真菌促生机制进行探讨. 结果显示, 筛选的 12 株内生真菌分别归于 10 个种属, 亲缘关系较远. 其中多数内生真菌能够促进金线莲株高和黄酮含量, 但降低了多糖和游离氨基酸含量. 用熵权法对其中的 cw-10 和 cw-4 菌株进行评分, 数值接近, 但菌株 cw-10 对提高金线莲黄酮和多糖含量分别为菌株 cw-4 的 1.38 和 1.60 倍, 因而选定 cw-10 为优良促生菌株. 促生真菌对金线莲多酚氧化酶 (PPO) 和苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性没有太大影响, 但显著提高了过氧化物酶 (COD)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4CL) 和查尔酮异构酶 (CHI) 活性. 研究表明, 促生真菌通过刺激黄酮合成酶活性增加金线莲黄酮的累积, 其深入机制值得进一步探讨.

**关键词:** 金线莲; 内生真菌; 黄酮; 熵权法

中图分类号: S567.239 文献标志码: A

## Screening of *Anoectochilus roxburghii* Growth-promoting Endophytic Fungi and their Promoting Mechanism

WANG Hang<sup>1,2</sup>, LIN Qing-qiang<sup>3</sup>, HU Xue-jiao<sup>1</sup>, WU Guang-heng<sup>1</sup>, XU Qing<sup>4</sup>

(1. College of Ecological and Resources Engineering, Fujian Provincial Key Laboratory of Eco-Industrial Green Technology, Wuyi University, Wuyishan 354300, China;

2. Collaborative Innovation Center of Chinese Oolong Tea Industry, Wuyi University, Wuyishan 354300, China; 3. College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China;  
4. Erdu Stated Owned Forest Farm of Shaowu, Shaowu 354000, China )

**Abstract:** Endophytic fungi were isolated from wild *A. roxburghii* by plate culture and their phylogenetic tree was constructed based on molecular identification. Endophytic fungi were cultured with *A. roxburghii*, and the promoting effects of endophytic fungi were evaluated by plant growth indicators and medicinal components. Furthermore, enzymatic activities of *A. roxburghii* cultured with cw-4 and cw-10 strains were detected for analyzing promoting mechanism of the endophytic fungi. Results showed that the 12 selected endophytic fungi strains belonged to 10 different genera respectively. Most endophytic fungi improved stem length and flavonoid content of *A. roxburghii*, while decreased contents of polysaccharide and free amino acid. cw-4 and cw-10 strains were proposed as growth-promoting endophytic fungi for *A. roxburghii* simultaneously because of high evaluating values by entropy method. However, flavonoid and polysaccharide contents in *A. roxburghii* incubated with cw-10 strain were 1.38 and 1.60 times higher than cw-4 strain respectively. Finally, cw-10 was suggested to be the best growth-promoting endophytic fungi. And the two strains had not obvi-

收稿日期: 2018-07-29

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目 (2018J01721); 武夷学院博士科研启动基金 (YJ201504); 大学生创新训练计划建设项目 (201710397064)

通信作者: 王涵 (1970 - ), 男, 副教授, 研究方向为环境微生物. wanghan@wuyiu.edu.cn

ous effects on polyphenol oxidase ( PPO) and phenylalanine ammonia-lyase ( PAL) but increased activities of peroxidase ( COD) , 4-coumaric acid CoAligase ( 4CL) and chalcone isomerase ( CHI) . The study indicated that the growth-promoting endophytic fungi improved flavonoid content of *A. roxburghii* through stimulating activities of flavonoid synthetase , which needed to be studied profoundly.

**Key words:** *A. roxburghii*; endophytic fungi; flavonoid; entropy method

金线莲是一种兰科传统中草药, 由于野生资源稀少, 人工种植成为商品金线莲的主要来源. 然而, 人工栽培金线莲面临存活率和药用品质低下的问题, 其推广应用受到制约. 研究表明, 接种适宜的内生真菌可以提高栽培金线莲存活率<sup>[1]</sup>、形态增长<sup>[2]</sup>以及有效成分的合成, 如黄酮、多糖和氨基酸等<sup>[3-4]</sup>. 因此, 上述指标变化可作为内生真菌促生效应的判断依据.

黄酮类化合物通过植物次生代谢途径产生, 是金线莲重要活性成分<sup>[5]</sup>. 其中, PAL 是连接初生代谢和次生代谢的关键酶, 催化苯丙氨酸脱氨基形成肉桂酸<sup>[6]</sup>. 4CL 催化香豆酸与 CoA 的酯化反应, 形成反式香豆酰 CoA<sup>[6]</sup>. 此后在 CHI 催化下查尔酮异构化形成柚皮素, 其他黄酮类化合物由此进一步转化形成<sup>[7]</sup>. 因此, 上述酶活性的变化能够反映植物体黄酮合成的活跃程度. 目前, 金线莲内生真菌促生机制方面的研究不多, 大都局限于金线莲形态结构的影响. 虽然也有少数研究关注内生真菌对药用成分的促进作用或生理酶活性变化, 但对其如何促进金线莲生长或药用成分产生, 没有明确答案.

现有内生真菌促生效应评定大都凭研究者经验判断, 由于评判的指标较多, 容易产生偏差. 主成分分析、因子分析、灰色关联法、模糊综合评价法或熵权法等被广泛应用于农作物品质分析<sup>[8-11]</sup>, 可借鉴于金线莲促生真菌的筛选. 其中, 熵权法的权重易计算, 对评估指标数量没有太大限制, 适宜于内生真菌促生效应评判.

因此, 本研究从野生金线莲中分离内生真菌, 并对菌苗共生培养后金线莲形态和生理指标变化进行主观评估和熵权法计算, 筛选促生真菌. 进一步通过分析金线莲接菌后相关酶活性的变化, 尤其是黄酮合成代谢通路关键酶活性的变化, 对内生真菌的药用植物促生机制做有益探讨.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

野生金线莲采集自福建省南平地区, 金线莲组培苗为邵武二都国有林场提供的福建尖叶金线莲.

### 1.2 内生真菌的分离鉴定

#### 1.2.1 内生真菌的分离

取野生健壮的金线莲, 将根部切成小段; 在无菌条件下, 于 75% 酒精、0.1% 氯化汞依次消毒, 经无菌水清洗后切片置于 PAD 平皿; 25 °C 恒温培养, 待菌丝从根段内长出后挑取, 并纯化培养数代.

#### 1.2.2 内生真菌的分子鉴定

试剂盒 (上海生工生物工程股份有限公司) 提取内生真菌 DNA, 以 ITS1 和 ITS4 为正反引物扩增真菌 ITS 序列, 送至上海生工生物工程股份有限公司测序, 并通过 NCBI 数据库进行同源性比对, 最后应用 MEGA7.0 软件构建系统发育树.

### 1.3 金线莲接菌培养及其效应

#### 1.3.1 菌苗培养体系建立

选取同一批次长势基本一致的金线莲组培苗移栽至改良 MS 共生培养基<sup>[12]</sup>中; 活化不同菌株, 将其切成小块接种于培养瓶中央, 同时设置不接菌的空白对照, 每种处理重复 5 瓶; 置于人工培养箱培养 (温度 25 °C、光照周期 12/12 h、光照强度 1 600 lx).

#### 1.3.2 金线莲生长指标和有效成分监测

菌苗培养 2 个月后, 测量不同处理组培苗的株高、鲜质量和最大叶宽; 同时采用苯酚-硫酸法测

定多糖含量<sup>[13]</sup>, 紫外分光光度法测定总黄酮含量<sup>[14]</sup>, 茚三酮显色法测定游离氨基酸含量<sup>[15]</sup>.

### 1.3.3 生理酶活性检测

金线莲 PAL 和 CHI 活性测定参照 Lister 等的方法<sup>[16]</sup>; 4CL 活性测定参照 Knoblock 和 Hahlbrock 的方法<sup>[17]</sup>; PPO 活性测定参照 William 等的方法<sup>[18]</sup>; POD 酶活性测定采用愈创木酚比色法<sup>[19]</sup>.

### 1.4 熵权法综合评价

通过隶属函数处理数据, 熵权法确定权重, 计算促生真菌评价得分. 其中  $i$  ( $i=1, 2, \dots, n$ ) 为不同真菌接菌处理,  $j$  ( $j=1, 2, \dots, m$ ) 为促生指标,  $X_{ij}$  为第  $j$  菌株处理下  $i$  促生指标的数值, 计算公式如下:

#### (1) 数据的非负数化处理

$$X'_{ij} = \frac{X_{ij} - \min(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{nj})}{\max(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{nj}) - \min(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{nj})} + 1;$$

$$X'_{ij} = \frac{\max(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{nj}) - X_{ij}}{\max(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{nj}) - \min(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{nj})} + 1.$$

#### (2) 计算第 $i$ 菌株接菌处理第 $j$ 项指标的比重

$$P_{ij} = \frac{X'_{ij}}{\sum_{i=1}^n X'_{ij}}$$

#### (3) 计算信息熵及其冗余度

$$e_j = -k * \sum_{i=1}^n P_{ij} \log(P_{ij}) \quad k = 1/\ln n;$$

$$g_j = 1 - e_j.$$

#### (4) 计算指标权重

$$W_j = \frac{g_j}{\sum_{j=1}^m g_j}$$

#### (5) 计算各指标评价得分

$$S_j = \sum_{j=1}^m W_j * P_{ij}.$$

### 1.5 数据统计分析

采用 Excel 软件进行数据处理与熵权法计算, 不同处理金线莲生长数据采用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析, Origin 8.0 进行制图.

## 2 结果与分析

### 2.1 内生真菌的分离结果及其形态观察

从野生金线莲根部成功分离 20 株内生真菌, 排除 8 株菌丝过发达真菌. 显微观察表明, 余下 12 株真菌菌丝呈锐角的二叉分支状, 菌丝有隔膜, 部分菌丝隔膜在分支不远处形成 (图 1). 这与已报道的兰科植物内生真菌菌丝有隔、分支几近直角等特征的相似性较高, 可初步确定其为兰科共生真菌<sup>[20]</sup>.

### 2.2 内生真菌同源性比较

系统发育分析表明, 12 株内生真菌分属子囊菌门、担子菌门和接合菌门 (图 2). 其中 7 株菌为子囊菌门, 包括坐囊菌属 (cw-5)、*Cladophialophora* sp. (cw-11)、*Cladosporium haerospermum* (cw-2)、*Exophila pisciphila* (cw-8) 和 *Pezizula ericae* (cw-22), 而 cw-12 菌株仅确定到粪壳菌纲, cw-10 菌株与炭垫属真菌相似度为 91%. 担子菌门菌株 cw-6、cw-13、cw-21 菌株与 *Tanatephorus* sp. 或 *Rhizoctonia* sp. ITS 序列相近, 结合其形态特征, 将这些菌株鉴定为 *Rhizoctonia* sp.. cw-4 确定为担子菌烟

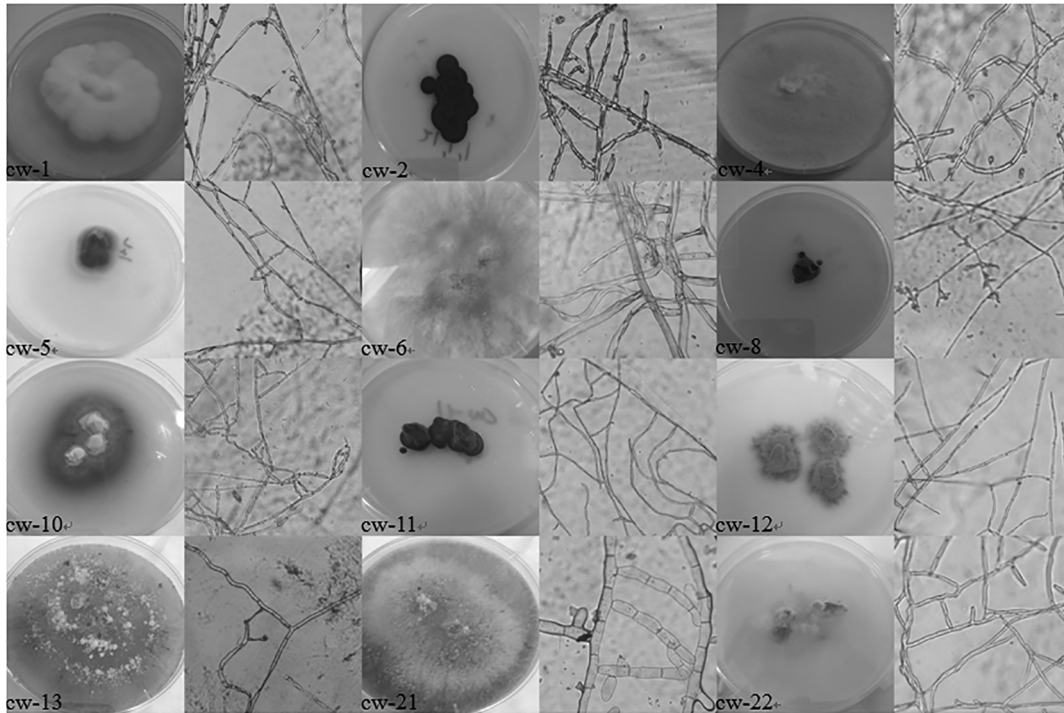


图1 部分内生真菌形态观察 (40 ×)

Fig. 1 Morphology of endophytic fungi (40 ×)

管菌属 *Bjerkandera adusta*. , cw-1 为接合菌门伞形霉属 *Umbelopsis dimorpha*.

可见, 各内生真菌亲缘关系较远, 其中子囊菌门真菌占优势. 子囊菌门7株真菌聚在一大支上. 其中, cw-8与cw-11菌株亲缘关系较近, 聚在同一簇. 然而, cw-10与cw-12菌株聚在另一簇. 其余菌株分属的担子菌门菌株与接合菌门的遗传距离较近, 聚在同一支上, 其中隶属担子菌门的cw-6、cw-13、cw-21菌株聚在一较小分支, 经鉴定同为丝核菌属.

### 2.3 接菌后金线莲生长状况

接菌培养8周, 12株内生真菌表现出不同的效应(图3). 其中cw-6、cw-13、cw-21菌落在菌苗体系里迅速占据生存空间, 植株下部叶发黄、茎部较细且易断, 但并未致死. 第3周时, cw-22菌株处理的幼苗下部已全部腐烂死亡. cw-8菌株虽与幼苗共生状态良好, 但其根部发红、软化. 其余处理幼苗共生状况良好, 且生长速率不一. 然而, 前4周对照组金线莲的生长速率普遍高于接菌处理, 这可能是由于金线莲对内生真菌的侵入不适所致.

### 2.4 内生真菌的促生效应及其主观评价

不同内生真菌对金线莲幼苗促生效果差异显著(表1). 较对照, 与菌株cw-2、cw-4和cw-10一起培养的单株苗平均增高分别达到148.50% ( $P < 0.01$ )、164.60% ( $P < 0.01$ )和135.86% ( $P < 0.05$ ), 显著促进了株高增长. 但内生真菌对金线莲鲜质量没有太大影响, 对照鲜质量同样没有明显变化(数据未显示), 可能与移栽后环境条件的改变有关. 同时, 各菌株对金线莲叶宽影响也不显著, 仅cw-4菌株对于叶宽有一定的促进作用. 从有效药用成分考虑, 接菌处理金线莲的总黄酮含量均高于对照组, 其中cw-10菌株明显刺激了总黄酮和多糖含量增长, 分别是对照组的154.64% ( $P < 0.01$ )和117.33% ( $P < 0.01$ ), 而cw-1、cw-6、cw-8和cw-13菌株只对总黄酮有显著的促进作用. 内生真菌明显抑制了金线莲游离氨基酸含量, 大部分呈显著负相关 ( $P < 0.01$ ), 低于对照.

由于内生真菌对金线莲游离氨基酸含量普遍具有抑制作用, 对金线莲鲜质量及叶宽的作用也不明显, 因此选择总黄酮、多糖以及株高作为内生真菌促生作用的核心指标. 总黄酮和多糖为金线莲主要活性成分, 株高代表金线莲生长状况, 以这3项指标判断内生真菌的促生效应较为合理. 虽然cw-10菌株对金线莲株高的增长作用不如cw-4菌株, 但对总黄酮和多糖含量的刺激效应更强, 推荐cw-10

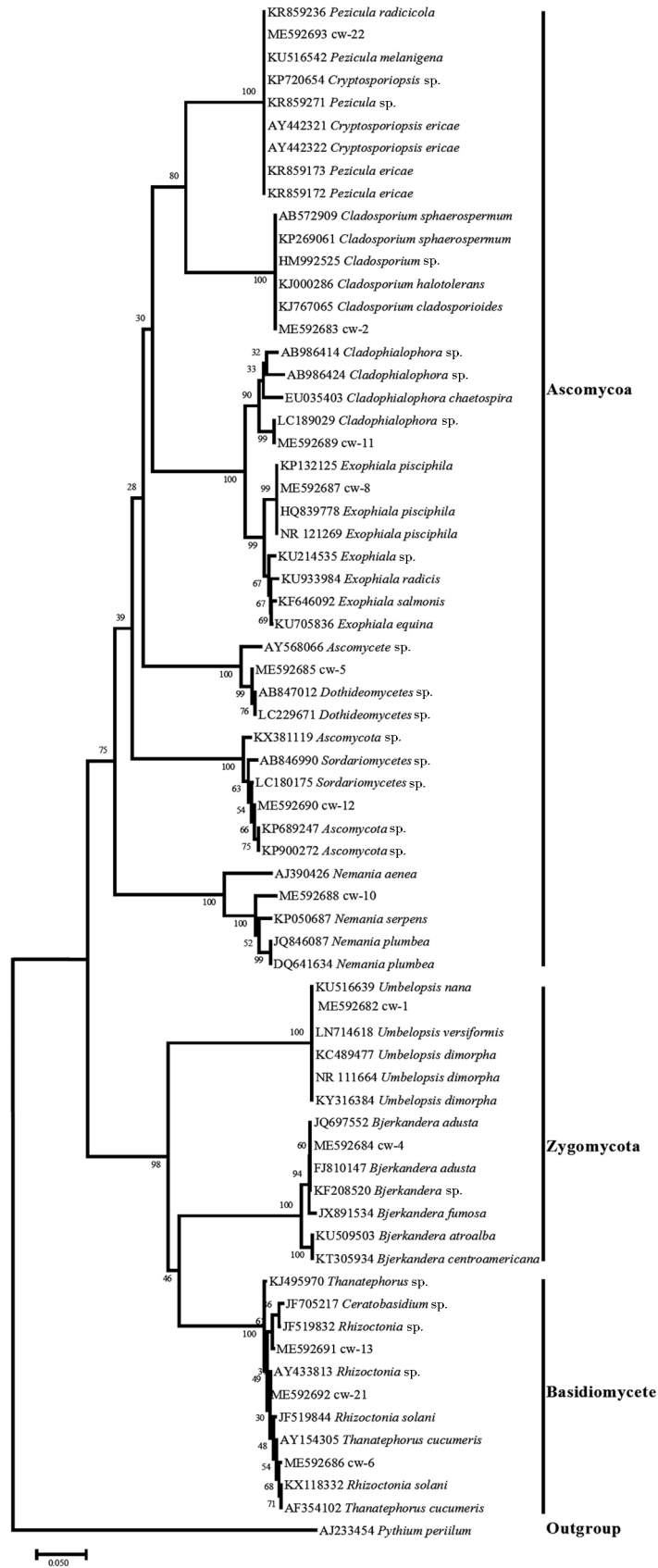
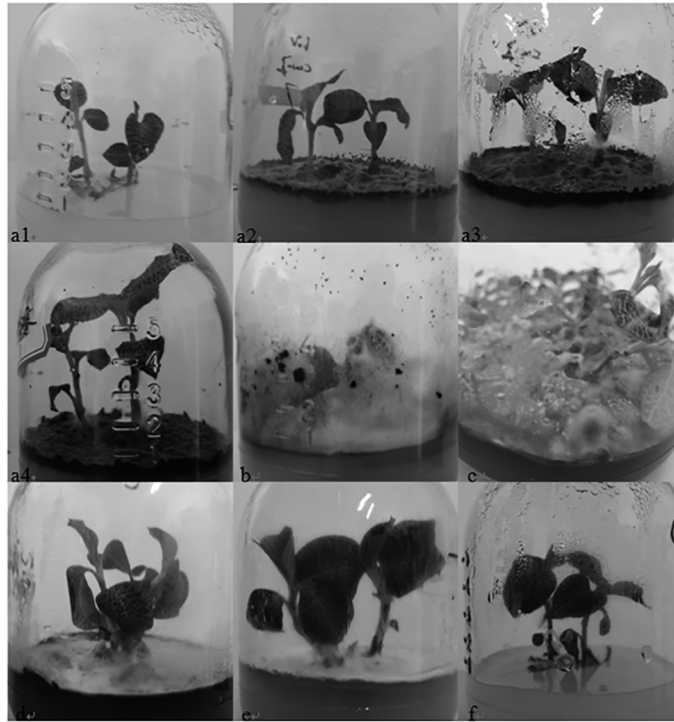


图 2 基于 ITS 序列同源性的 12 株内生真菌系统发育树

Fig. 2 Phylogeny tree of 12 endophytic fungi based on their ITS sequences

菌株为金线莲最优促生真菌.



a1. 初始幼苗 (2017-06-01); a2. cw-2 接菌处理幼苗 (2017-06-11); a3. cw-2 接菌处理幼苗 (2017-06-26); a4. cw-2 接菌处理幼苗 (2017-08-01); b. cw-6 接菌处理幼苗 (2017-08-01); c. cw-22 接菌处理幼苗 (2017-08-01); d. cw-10 接菌处理幼苗 (2017-08-01); e. cw-4 接菌处理幼苗 (2017-08-01); f. 空白对照 (2017-08-01)

图3 接菌苗生长状况

Fig. 3 Growth of *A. roxburghii* inoculated with endophytic fungi

表1 内生真菌对金线莲的共生效应

Tab. 1 Effects of endophytic fungi on *A. roxburghii*

处理	单株苗平均增高		最大叶宽		总黄酮/%	多糖/%	游离氨基酸/%
	cm	%	cm	%			
cw-1	1.99	1.16	2.35	-8.50	1.20**	27.25	0.54**
cw-2	2.58**	1.48	2.50	-9.10	1.06	20.30**	0.77**
cw-4	2.69**	1.65	2.95	1.07	1.09	21.15**	0.92
cw-5	1.63	0.94	2.60	-0.95	1.03	27.47	0.67**
cw-6	1.52	-0.87	2.85	1.04	1.21**	22.65**	0.84
cw-8	1.57	-0.90	2.50	-0.91	1.21**	26.06	0.68**
cw-10	2.35*	1.36	2.50	-0.91	1.50**	33.71**	0.67**
cw-11	1.59	-0.92	2.25	-0.82	1.06	30.27	0.56**
cw-12	2.00	1.15	2.60	-0.94	1.00	28.26	0.46**
cw-13	1.84	1.06	2.15	-0.78	1.14*	25.43*	0.55**
cw-21	1.76	1.02	2.45	-0.89	1.04	28.01	0.50**
CK	1.73		2.75		0.97	28.73	0.88

注: CK 为不接菌对照; \*\* 为差异极显著 ( $P < 0.01$ ), \* 为差异显著 ( $P < 0.05$ )

### 2.5 熵权法结合主观评价评定促生真菌

依据熵权法计算, 金线莲株高增长量、游离氨基酸、总黄酮、多糖和最大叶宽等指标的权重分别为 0.267、0.207、0.188、0.172 和 0.166. 据此计算各菌株评价得分, 排名前 5 的菌株得分依次为 cw-10、cw-4、cw-2、cw-6 和 cw-1, 与实际共生状况基本相符 (表 2). 由上述可知, 菌株 cw-10 和 cw-4 对金线莲的促生效果最好. 鉴于总黄酮和多糖在金线莲药用品质中的重要作用, 对 cw-10 和 cw-

4 菌株处理金线莲的总黄酮和多糖含量进行比较. cw-10 菌株综合得分虽与 cw-4 相近, 但它的多糖和总黄酮含量分别为 cw-4 菌株的 1.38 倍和 1.60 倍, 株高也显著增长. 综合熵权法与主观评判, 将 cw-10 菌株评定为金线莲优良促生真菌.

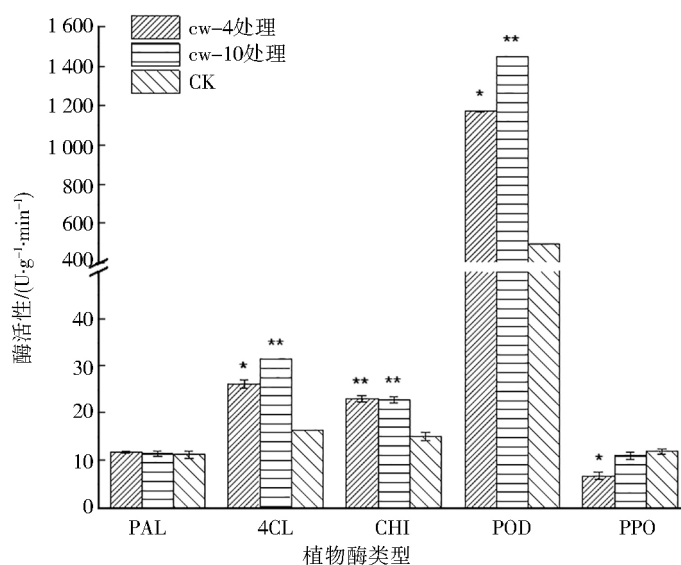
表 2 内真菌促生效应综合排名

Tab. 2 Growth-promoting rankings of endophytic fungi based on entropy method

处理	得分	排名
cw-1	0.088	5
cw-2	0.096	3
cw-4	0.110	2
cw-5	0.085	7
cw-6	0.093	4
cw-8	0.087	6
cw-10	0.113	1
cw-11	0.080	11
cw-12	0.085	8
cw-13	0.080	10
cw-21	0.081	9

## 2.6 促生真菌对金线莲酶活性的影响

为探讨内生真菌促生机制, 对 cw-4 和 cw-10 菌株共生金线莲的酶活性进行分析 (图 4). 接种促生真菌对金线莲 PPO 活性没有太大影响, cw-4 菌株反而降低了 PPO 活性. PPO 与植物体抵御病原微生物侵染有关<sup>[21]</sup>, 结果可能反映金线莲适应 2 株内生真菌的共生. 菌株共生大幅度提升了金线莲 POD 活性, cw-4 和 cw-10 菌株共生与对照比较均达到极显著水平. 由于 POD 参与植物体诸多生理过程, 表征某一时期植物体基础代谢的活跃程度<sup>[22]</sup>. 因此, cw-4 和 cw-10 菌株共生金线莲的株高增长可能与 POD 活性提升有关. 值得注意的是, 金线莲黄酮合成不同阶段酶对菌株共生的响应存在差别. 不同处理间 PAL 活性几乎没有差异, 菌株共生明显刺激了 4CL 活性, 而对 CHI 活性的提升均达到极显著水平. 由此可知, 促生真菌通过提高黄酮合成酶活性, 尤其是合成中后期的酶活性, 增加金线莲黄酮产量.



注: CK为对照组; \*\*为差异极显著 ( $P < 0.01$ ), \*为差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 4 促生真菌对金线莲酶活性的影响

Fig. 4 Effects of endophytic fungi on enzymatic activities

### 3 讨论

迄今, 已被分离的金线莲内生真菌的种类较少, 大多隶属瘤菌根菌属或丝核菌属. 预选的 12 株金线莲内生真菌, 仅 3 株为丝核菌属, 其余 9 株分布的种属均未作为金线莲内生真菌被报道过. 它们大多分属子囊菌门或担子菌门, 这与已分离的兰科内生真菌的分类学地位一致<sup>[23]</sup>. cw-10 菌株初步被判断为炭垫属, 目前该属的相关研究较少, 与兰科植物的共生关系则未见报道. 本研究分离的金线莲内生真菌种属与其他研究差异较大, 可能与野生金线莲的生长年限、采集地点以及季节变化引起的真菌对植物体的定殖能力有关<sup>[24]</sup>. 结果表明, 金线莲内生真菌种属分布可能比已报道的种类要广泛得多, 因此目前对它们的归属认知存在一定缺陷, 未来需要就金线莲内生真菌多样性展开深入研究.

熵权法的计算结果较好地表征了内生真菌与金线莲之间的共生效应, 与主观判断的结论较为一致. 由于熵权法主要依据数据的离散程度来确定权重, 仅代表数据间的差异, 与实际情况是否相符有待具体考证. 就本研究而言, 虽然接种内生真菌均提高了金线莲的总黄酮含量, 但是由于不同菌株间数据分布较为均匀, 使得总黄酮指标总体权重偏低. 表明应用熵权法评定真菌促生效应时必须分析其评判结果, 如果与实际情况出现偏差应及时纠正调整.

植物次级代谢需要初生代谢提供物质和能量. 本研究表明, 大部分菌苗培养降低了金线莲多糖和氨基酸的含量, 可能与次级代谢途径的激活有关. 由于大量的多糖与氨基酸被分解消化, 参与金线莲次级合成代谢, 造成累积量减少. 比较苯丙氨酸、莽草酸作为黄酮类化合物的前体更为有效<sup>[25]</sup>, 说明金线莲黄酮合成过程可能存在绕过 PAL 作用的途径. 这个理论可解释本研究菌苗共生对 PAL 活性没有影响的现象. 然而是否为金线莲黄酮合成过程的普遍现象, 还需要进一步调查. 同时, CHI 对金线莲黄酮的累积相当敏感, 在研究金线莲黄酮合成中应当引起关注.

### 参考文献:

- [1] 唐明娟, 孟志霞, 郭顺星. 内生真菌对福建金线莲栽培及酶活性的影响 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43 (12): 890 - 893.
- [2] 陈雨薇, 唐军荣, 段雪甜, 等. 金线莲组培苗菌根化研究 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31 (9): 3778 - 3780.
- [3] 关璟, 王春兰, 郭顺星, 等. 真菌对福建金线莲总黄酮含量的影响 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43 (13): 1031 - 1032.
- [4] 陈晓梅, 郭顺星, 王春兰. 四种内生真菌对金线莲无菌苗生长及多糖含量的影响 [J]. 中国药学杂志, 2005, 39 (1): 18 - 21.
- [5] 周新, 李宏杰. 黄酮类化学物的生物活性及临床应用进展 [J]. 中国新药杂志, 2007, 46 (5): 350 - 354.
- [6] DURBIN M L, LEARN G H, HULTLEY C A, et al. Evolution of the chalcone synthase gene family in the genus *Ipomoea* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1995, 92 (8): 3338 - 3342.
- [7] DOXIN R A, PAIVA N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism [J]. Plant Cell, 1995, 7 (7): 1085 - 1097.
- [8] 苏李维, 李胜, 马绍英, 等. 葡萄抗寒性综合评价方法的建立 [J]. 草业学报, 2015, 24 (3): 70 - 79.
- [9] 唐忠厚, 魏猛, 陈晓光, 等. 不同肉色甘薯块根主要营养品质特征与综合评价 [J]. 中国农业科学, 2014, 47 (9): 1705 - 1714.
- [10] 李橙, 杨志新, 刘树庆, 等. 河北省主产区葡萄品质综合评价方法的比较分析 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39 (17): 10229 - 10234.
- [11] 杨禹伟, 陈华, 姜波, 等. 一种加工番茄品质的多性状评价方法 [J]. 中国农业大学学报, 2017, 22 (1): 131 - 137.
- [12] 于雪梅. 金线莲与内生真菌相互作用机理研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2000.
- [13] 唐楠楠, 陶佳青, 陈常理, 等. 台湾金线莲与浙江金线莲多糖含量及抗氧化活性比较研究 [J]. 西北植物学报, 2016, 36 (3): 521 - 526.
- [14] 关璟, 王春兰, 郭顺星, 等. 福建金线莲总黄酮提取工艺的研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43 (21): 1615 - 1617.

(下转第 95 页)



- [11] 杨波,王全九,郝姗姗. 佳芦河流域1988—2013年土壤侵蚀时空变化特征 [J]. 水土保持学报, 2017, 31 (5): 87-92.
- [12] 谢颖颖,邵争,兰小机,等. 喀斯特山区土地利用变化与土壤侵蚀耦合关系研究——以毕节试验区为例 [J]. 水土保持研究, 2017, 24 (6): 1-5.
- [13] 吴芳芳,曹月娥,卢刚,等. 准东地区土壤风蚀影响因子分析与风蚀量估算 [J]. 水土保持学报, 2016, 30 (6): 56-60.
- [14] 鄢新余,陈志强,黄锦祥,等. 南方红壤侵蚀区典型小流域土壤侵蚀敏感性研究 [J]. 水土保持通报, 2014, 34 (2): 7-10.
- [15] 陈海滨,陈志彪,陈志强. 南方红壤侵蚀区地形对土壤有机质空间分布的影响——以长汀县河田地区为例 [J]. 福建农业学报, 2010, 25 (3): 369-373.
- [16] 鄢新余. 南方红壤侵蚀区芒萁生长特征及土壤养分效应 [D]. 福州: 福建师范大学, 2015.
- [17] 李晓锦. 基于混合像元分解的植被覆盖度估算及动态变化分析 [D]. 西安: 西北大学, 2011.
- [18] 杨现羽. 不同坡度、垄沟位置及配置对坡面土壤水土流失的影响研究 [D]. 晋中: 山西农业大学, 2016.
- [19] 丛鑫,边振,薛春珂,等. 不同坡度条件下的水土流失特征研究 [J]. 中国农村水利水电, 2017 (5): 124-128.
- [20] 刘刚,闫静雯,谢云,等. 黑土坡耕地土壤有机质空间变异及其与土壤侵蚀的关系——以黑龙江省鹤山农场为例 [J]. 地理科学, 2016, 36 (11): 1751-1758.
- [21] 金旭. 宁化紫色土区不同生态恢复措施下物种多样性与土壤理化性质研究 [D]. 福州: 福建师范大学, 2014.
- [22] 刘小梅,吕殿青. 土壤容重对红壤坡地降雨侵蚀和入渗的影响 [J]. 长沙大学学报, 2013, 27 (2): 13-15.

(责任编辑: 黄家瑜)

(上接第79页)

- [15] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 193-194.
- [16] LISTER C E, LANCASTER J E. Developmental changes in enzymes of flavonoid biosynthesis in the skins of red and green apple cultivars [J]. Journal of the Science Food & Agriculture, 1996, 71 (3): 313-320.
- [17] KNOBLOCK K H, HAHLBROCK K. Isoenzymes of p-coumarate: CoA ligase from cell suspension cultures of *Glycine max* [J]. European Journal of Biochemistry, 1975, 52 (2): 311-320.
- [18] WILLIAM N, DE T M, KAUFFMANN S, et al. Identification and characterization of maize pathogenesis-related proteins. Four maize PR proteins are chitinases [J]. Plant Molecular Biology, 1988, 11 (4): 529-538.
- [19] 张龙翔. 生化实验方法和技术 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1981.
- [20] 胡陶,李潞滨,杨凯,等. 中国兰属植物菌根真菌的分离与鉴定 [J]. 北京林业大学学报, 2000, 30 (3): 132-135.
- [21] STEFFENS J C. Comparison of polyphenol oxidase expression in glandular trichomes of *Solanum* and *Lycopersicon* species [J]. Plant Physiology, 1992, 100 (4): 1885-1890.
- [22] TARTOURA K A H. Effect of abscisic acid on endogenous IAA, auxin protector levels and peroxidase activity during adventitious root initiation in *Vigna radiata*, cuttings [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2001, 23 (2): 149-156.
- [23] 黄运峰,杨小波. 兰科菌根研究综述 [J]. 热带亚热带植物学报, 2008, 16 (3): 283-288.
- [24] MASUHARA G, KIMURA S, KATSUYA K. Seasonal changes in the mycorrhizae of *Bletilla striata* (Orchideae) [J]. Transactions of the Mycological Society of Japan, 1988, 29 (1): 25-31.
- [25] SATAFFORD H A. Flavonoid evolution: an enzymic approach [J]. Plant Physiology, 1991 (96): 680-685.

(责任编辑: 余望)