

研究报告

蜘蛛香内生真菌及其根际土壤真菌群落多样性

古玉梅, 申敏, 赵爽*

云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650500

古玉梅, 申敏, 赵爽. 蜘蛛香内生真菌及其根际土壤真菌群落多样性[J]. 微生物学通报, 2024, 51(7): 2475-2485.

GU Yumei, SHEN Min, ZHAO Shuang. Fungal diversity in the plant and rhizosphere soil of *Valeriana jatamansi* Jones[J]. Microbiology China, 2024, 51(7): 2475-2485.

摘要: 【背景】药用植物蜘蛛香(*Valeriana jatamansi* Jones)有着悠久的用药历史, 应用广泛, 然而关于蜘蛛香内生真菌及其根际土壤真菌群落多样性方面的研究尚未见报道。【目的】探究蜘蛛香不同组织部位内生真菌及根际土壤真菌多样性及结构类群, 为蜘蛛香真菌资源的开发与利用奠定基础。【方法】基于真菌 rRNA 基因 ITS1 区, 应用 Illumina MiSeq PE250 高通量测序技术测定蜘蛛香根、茎、叶内生真菌和根际土壤真菌, 并结合生物信息学分析蜘蛛香内生真菌和根际土壤真菌群落结构。【结果】蜘蛛香根、茎、叶、根际土壤 4 个样品共获得 1 776 731 条有效序列, 7 399 个 OTU, 分属于 17 门 65 纲 146 目 331 科 767 属 1 269 种; 这 4 个样品中, 真菌丰富度排序为根际土壤>茎>根>叶, 多样性为根际土壤>茎>叶>根。这 4 个样品共有的 OTU 为 192 个, 特有的 OTU 排列呈现根际土壤>茎>根>叶。在门水平上, 根、茎、叶内生真菌和根际土壤真菌群落的优势菌均为子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*); 在属水平上, 汉纳氏菌属(*Hannaella*)为叶和茎中的优势菌属, 小不整球壳属(*Plectosphaerella*)为根中的优势属, 根际土壤中未分类的真菌(*unclassified_fungi*)占比较高。真菌网络关系显示, 每个属在平均丰度上存在一个甚至多个与其存在关联的属, 大多数属间存在正相关关系。【结论】蜘蛛香中存在较为丰富的真菌资源, 且不同组织器官内生真菌和根际土壤真菌群落组成存在明显差异。本研究探讨了药用植物蜘蛛香内生真菌和根际土壤真菌的生物信息, 为蜘蛛香的资源保护及真菌资源的开发利用提供了理论依据。

关键词: 蜘蛛香; 内生真菌; 高通量测序; 根际土壤真菌; 多样性

资助项目: 云南省基础研究专项-面上项目(202101AT070263); 云南省应用基础研究计划-中医联合专项(202301AZ070001-058); 云南省南药可持续利用研究重点实验室研究生项目(202105AG070012XS23093)

This work was supported by the Basic Research Project of Yunnan Province-General Project (202101AT070263), the Yunnan Provincial Applied Basic Research Program-Traditional Chinese Medicine Joint Project (202301AZ070001-058), and the Postgraduate Project of Yunnan Provincial Key Laboratory of Sustainable Utilization of Southern Medicine (202105AG070012XS23093).

*Corresponding author. E-mail: zm_zs@126.com

Received: 2023-10-17; Accepted: 2024-01-05; Published online: 2024-02-26

Fungal diversity in the plant and rhizosphere soil of *Valeriana jatamansi* Jones

GU Yumei, SHEN Min, ZHAO Shuang*

College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, Yunnan, China

Abstract: [Background] *Valeriana jatamansi* Jones has a long history of medical use and is widely used. However, the fungal diversity in the plant and rhizosphere soil of *V. jatamansi* remains to be reported. [Objective] To explore the diversity and structures of endophytic fungal communities in the rhizosphere soil and different tissues of *V. jatamansi* and lay a foundation for the development and utilization of endophytic fungal resources in this plant. [Methods] The ITS1 region of fungal rRNA gene was sequenced by the Illumina MiSeq PE250 platform to analyze the endophytic fungi in the root, stem, leaf, and rhizosphere soil samples of *V. jatamansi*. The bioinformatics tools were used to analyze the sequencing results and reveal the fungal community structures in the plant and rhizosphere soil of *V. jatamansi*. [Results] A total of 1 776 731 valid sequences and 7 399 OTUs were obtained from the root, stem, leaf, and rhizosphere soil samples of *V. jatamansi*, belonging to 1 269 species, 767 genera, 331 families, 146 orders, 65 classes of 17 phyla. The richness of endophytic fungi followed the trend of rhizosphere soil>stem>root>leaf, and the diversity was in the order of rhizosphere soil>stem>leaf>root. There were 192 common OTUs shared by the four samples, and the number of unique OTUs showed the trend of rhizosphere soil>stem>root>leaf. At the phylum level, the dominant fungi in the root, stem, leaf, and rhizosphere soil samples were *Ascomycota* and *Basidiomycota*. At the genus level, *Hannaella* was the dominant genus in the leaf and stem samples, *Plectosphaerella* was the dominant genus in the root samples, and the unclassified_fungi accounted for a relatively high proportion in the rhizosphere soil samples. The fungal network showed that each genus was associated with one or more genera in the average abundance, most of the genera were positively correlated with each other. [Conclusion] There were abundant endophytic fungal resources in *V. jatamansi*, and the endophytic fungal community composition showed significant differences in different tissues and rhizosphere soil of the plant. This study explored the biological information of endophytic fungal resources in *V. jatamansi*, providing a theoretical basis for the protection of *V. jatamansi* resources and the development and utilization of endophytic fungal resources.

Keywords: *Valeriana jatamansi* Jones; endophytic fungi; high-throughput sequencing; fungi in rhizosphere soil; diversity

蜘蛛香(*Valeriana jatamansi* Jones)为败酱科缬草属植物, 又名马蹄香、鬼见愁、雷公七、香草子、臭药等^[1]; 蜘蛛香始载于李时珍的《本草纲目》, 在1977、2010、2015、2020年版《中华人民共和国药典》中均有记载, 一直是我国传

统中药和民族药用植物。多种中成药如香果健消片^[2]、仙人掌胃康胶囊^[3]、醒脾养儿颗粒^[4]等均含有蜘蛛香。

内生菌是指在生活史中的某一阶段或整个阶段生活在植物组织内且不会引起明显病害症状的

微生物^[5],可分为内生真菌、内生细菌和内生放线菌。有研究表明,植物内生真菌普遍存在于植物组织中,形成了植物体内的微生态体系^[6]。内生真菌与宿主形成共生关系,宿主为内生真菌提供场所和营养,而内生真菌能够促进宿主生长^[7]和分泌次级代谢产物^[8],具有多方面的研究价值。高通量测序技术可以直接检测出宿主植物组织中内生菌的基本情况,具有测序速度快、测序基数大、准确率高等优点,可准确反映植物内微生物的物种组成和比例^[9],为全面分析植物组织中微生物多样性提供了便利,已广泛应用于微生物多样性及群落分析等研究。目前已对多花黄精^[10]、虎耳草^[11]、灯盏花^[12]等多种药用植物结合高通量测序方法分析了内生真菌多样性。

随着市场对蜘蛛香需求量的增加,其野生资源被过度采挖,并且由于蜘蛛香开花少、结果少、花落籽落的特点导致很难利用种子繁殖,然而利用根茎繁殖则须耗用大量可用资源,因此寻找蜘蛛香药用资源可持续的替代途径十分必要。近年来,国内外对蜘蛛香的研究主要集中在化学成分分析和药理活性等方面,而关于其内生真菌及根际土壤真菌方面的研究尚未见报道。本研究采用高通量测序方法分析蜘蛛香根、茎、叶部位的内生真菌及根际土壤部位真菌,探讨蜘蛛香中真菌多样性及群落组成,初步分析其优势菌属,为蜘蛛香真菌资源的开发与利用奠定基础,希望能够为缓解蜘蛛香资源紧缺寻找到可替代的途径。

1 材料与方法

1.1 样品

蜘蛛香采自贵州省毕节市,经云南中医药大学赵爽副教授鉴定为缬草属蜘蛛香(*V. jatamansi*)。

1.2 主要试剂和仪器

土壤、植物通用真菌基因组 DNA 试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;2× PCR Buffer for KOD FX Neo, dNTPs, KOD FX Neo, 东洋纺(上

海)生物科技有限公司;SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒、引物合成,生工生物工程(上海)股份有限公司;PBS 溶液,云南罗德宝生物科技有限公司。

高速冷冻离心机,赛默飞世尔科技有限公司;电泳仪和凝胶成像系统,赛智科技有限公司;Illumina MiSeq PE250 测序平台,北京百迈客生物科技有限公司。

1.3 蜘蛛香植物组织处理

选取 3 株健康蜘蛛香植株,用 70%乙醇冲洗干净蜘蛛香表面的灰尘及泥土,用无菌滤纸吸干水分后在无菌条件下从蜘蛛香上取下新鲜的根、茎、叶并剪切成小块,保存于 2 mL 旋盖冻存管中标注编号后迅速于液氮中冷冻 3 h,用于后续实验。

1.4 蜘蛛香根际土壤处理

手动摇晃采集的蜘蛛香植株,去除根部大部分松散的土壤,取根际周围 1–2 mm 的土壤,收集得到根际土壤,将根际土壤放入盛有无菌 PBS 溶液的无菌瓶中振荡,将清洗下来的土壤同 PBS 溶液一起倒入 50 mL 无菌管中并标注编号,4 °C、6 000 r/min 离心 15 min 去上清,获得表面无菌的样品,将样品置于液氮中冷冻 3 h 用于后续真菌 DNA 的提取。

1.5 ITS 文库的构建及高通量测序

使用土壤、植物通用真菌基因组 DNA 试剂盒提取各样本 DNA,经 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测浓度和纯度,使用 ITS1F (5'-CTTGGTCATTGAGGAAGTAA-3')和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCTCATCGATGC-3')引物进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(10 μL): DNA 模板(30 ng/μL) 1 μL,正、反向引物(10 μmol/L)各 0.3 μL,2× PCR Buffer for KOD FX Neo 5 μL, dNTPs (2 mmol/L each) 2 μL, KOD FX Neo (1 U/μL) 0.2 μL, ddH₂O 补足 10 μL。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 40 s, 25 个循环; 72 °C 7 min。PCR 产物经 1.8%琼脂糖凝胶电泳检测,利用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒进行产物纯化,并使用

ABI Step One Plus 实时 PCR 系统进行定量。纯化后的扩增子送北京百迈客生物科技有限公司利用 Illumina MiSeq PE250 平台进行双端测序。

1.6 数据处理和分析

测序获得的原始数据通过 FLASH v1.2.11 软件进行拼接, 使用 Trimmomatic v0.33 对拼接得到的序列进行质量过滤并去除嵌合体, 得到高质量的 reads, 使用 UPARSE 软件在 $\geq 97\%$ 的相似度下聚类为 OTU。使用 QIIME2 2020.6 对样品进行 α 多样性分析, 通过 Spearman 秩相关分析数据构建相关性网络。

2 结果与分析

2.1 蜘蛛香根、茎、叶内生真菌及根际土壤真菌测序结果分析

对蜘蛛香根、茎、叶及根际土壤共 4 个样本(每个样本 3 个重复)进行 ITS 高通量测序, 共获得 1 790 941 对 reads, 原始数据进行双端 reads 质控、拼接后共产生 1 776 731 条 clean reads, 序列读长分布为 190–460 bp。ACE 指数、Chao1 指数用于表示样品真菌丰富度; Shannon 指数、Simpson 指数用于表示样品真菌多样性。箱线图(图 1)通过中位数高低判断不同样本组之间的 α 多样性指数大小。供试样品 α 多样性指数如表 1 所示, 根际土壤真菌的 Chao1 指数、ACE 指数、Simpson 指数和 Shannon 指数均高于根、茎、叶样品中的真菌, 分别为 1 559.33、4 678、0.97 和 7.52; 而叶的 Chao1 指数和 ACE 指数最低, 分别为 549.67 和 1 649; 根的 Simpson 指数和 Shannon 指数最低, 分别为 0.93 和 5.37。由此可知, 蜘蛛香根、茎、叶和根际土壤的真菌丰富度排序为根际土壤>茎>根>叶, 多样性为根际土壤>茎>叶>根。

样品稀释曲线可用于验证测序数据量是否足以反映样品中的物种多样性, 并间接反映样品中物

种的丰度程度。图 2 为蜘蛛香不同组织及根际土壤部位样品稀释曲线图, 从图 2 中可以看出 4 个样本急剧上升到一定高度后趋于平缓, 表明测序数据量充足、测序深度已基本覆盖样品中的所有物种。

2.2 蜘蛛香根、茎、叶及根际土壤部位 OTU 分布

Venn 图可以展示样品间共有和特有特征的数目, 直观地表现样品间特征的重合情况。由图 3 可知, 蜘蛛香根、茎、叶和根际土壤 4 个样本中的真菌共划分为 7 399 个 OTU, 4 个部位的 OTU 数量分别为根 1 971 个、茎 2 312 个、叶 1 317 个、根际土壤 3 633 个, 根际土壤>茎>根>叶; 检测到的真菌共有 OTU 为 192 个, 占有 OTU 数的 2.59%。根、茎、叶和根际土壤 4 个样本中特有 OTU 分别为 1 186、1 546、734 和 2 772 个, 分别占真菌总 OTU 的 16.03%、20.89%、9.92%、37.46%。表明 4 个样品中特有 OTU 占比较高, 不同样品中特有的真菌群落组成有较大的差异, 根际土壤部分真菌的特有 OTU 数量最多, 为 2 772 个; 叶中的最少, 为 734 个。除共有物种和特有物种外, 不同组织之间存在相同或相似的物种。

2.3 蜘蛛香根、茎、叶内生真菌和根际土壤真菌群落结构分析

2.3.1 门水平群落结构

对蜘蛛香样品丰度前 10 的真菌门类进行注释。由图 4 可以看出, 蜘蛛香根、茎、叶和根际土壤中真菌门类主要包括子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)、被孢霉门(*Mortierellomycota*)、毛霉门(*Mucoromycota*)、罗兹菌门(*Rozellomycota*)、壶菌门(*Chytridiomycota*)、球囊菌门(*Glomeromycota*)、油壶菌门(*Olpidiomycota*)、梳霉门(*Kickxellomycota*)、未分类的真菌(*unclassified_fungi*)及其他物种(*others*)。

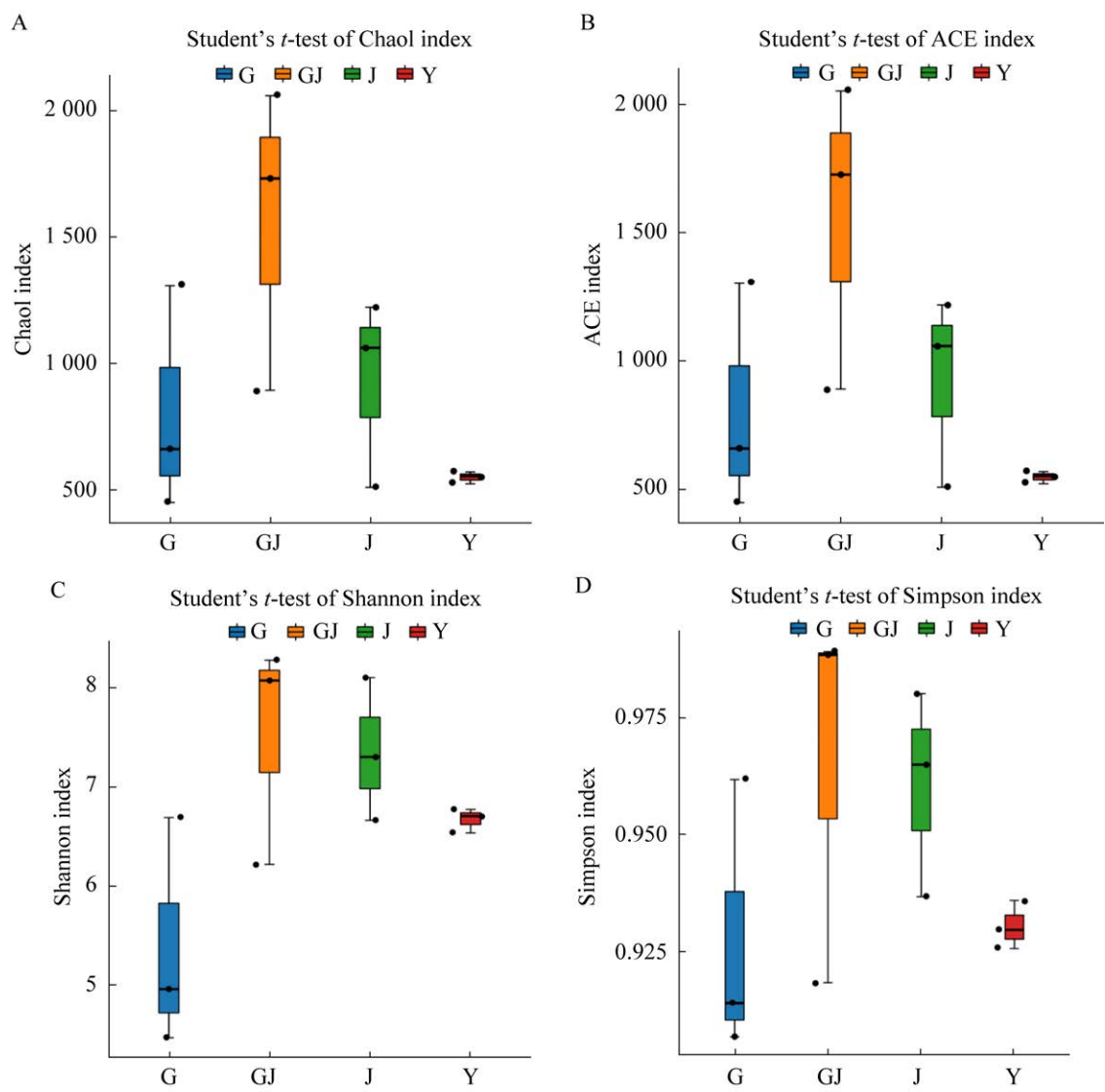


图 1 多样性指数分组箱线图 G、J、Y、GJ 分别表示根、茎、叶、根际土壤. 下同

Figure 1 Diversity index grouping box plot. G, J, Y and GJ represent root, stem, leaf, and rhizosphere soil, respectively. The same below.

表 1 蜘蛛香根、茎、叶内生真菌及根际土壤中真菌的 α 多样性指数

Table 1 Alpha diversity index of endophytic fungi in roots, stems and leaves of *Valeriana jatamansi* and fungi in rhizosphere soil

样品	Chao1 指数	ACE 指数	Simpson 指数	Shannon 指数	覆盖度
Sample	Chao1 index	ACE index	Simpson index	Shannon index	Coverage rate (%)
G	805.66	2 417	0.93	5.37	1
J	930.67	2 792	0.96	7.35	1
Y	549.67	1 649	0.93	7.35	1
GJ	1 559.33	4 678	0.97	7.52	1

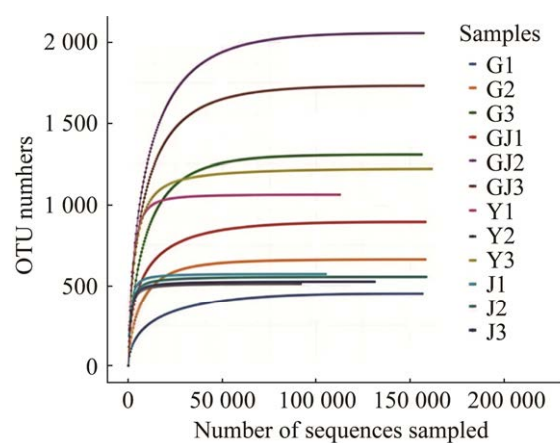


图2 蜘蛛香根、茎、叶及根际土壤样品的稀释曲线
Figure 2 Dilution curve of roots, stems, leaves, and rhizosphere soil samples of *Valeriana jatamansi*.

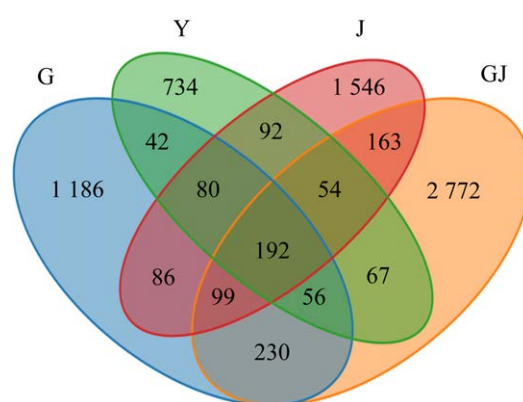


图3 真菌 OTU 分布 Venn 图
Figure 3 Venn diagram of fungal OTUs distribution.

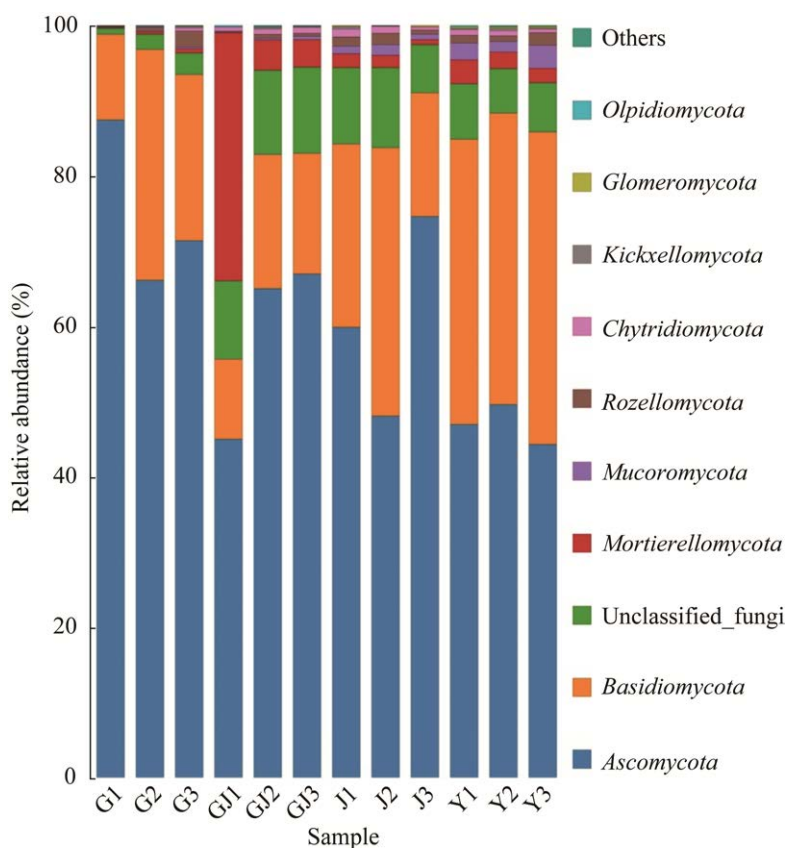


图4 蜘蛛香 4 个样本中真菌门水平上物种组成
Figure 4 Species composition at the level of fungal phylum in four samples of *Valeriana jatamansi*.

蜘蛛香各样本真菌的主要优势菌门均为子囊菌门和担子菌门,在蜘蛛香根、茎、叶和根际土壤中,子囊菌门的平均相对丰度分别为72.02%、60.86%、46.97%和59.02%,呈现根>茎>根际土壤>叶的趋势,担子菌门的平均相对丰度分别为21.37%、25.49%、39.42%和14.82%,呈现叶>茎>根>根际土壤的趋势;被孢霉门在根际土壤中平均相对丰度为13.56%,仅次于子囊菌门和担子菌门,而在根中平均相对丰度仅占0.37%。从门水平上的物种组成分析出蜘蛛香根、茎、叶和根际土壤4个样本中真菌群落结构

组成具有组织差异性。

2.3.2 属水平群落结构

由图5所示,蜘蛛香根、茎、叶和根际土壤中真菌属类主要分布有汉纳氏菌属(*Hannaella*)、未分类的真菌(*unclassified_fungi*)、小不整球壳属(*Plectosphaerella*)、未分类的子囊菌门(*unclassified_Ascomycota*)、枝霉孢属(*Cladosporium*)、未分类的肉座菌目(*unclassified_Hypocreales*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、曲霉属(*Aspergillus*)、*Modicella*及其他物种(*Others*),同时各样品中均有未识别的属。其中汉纳氏菌属为

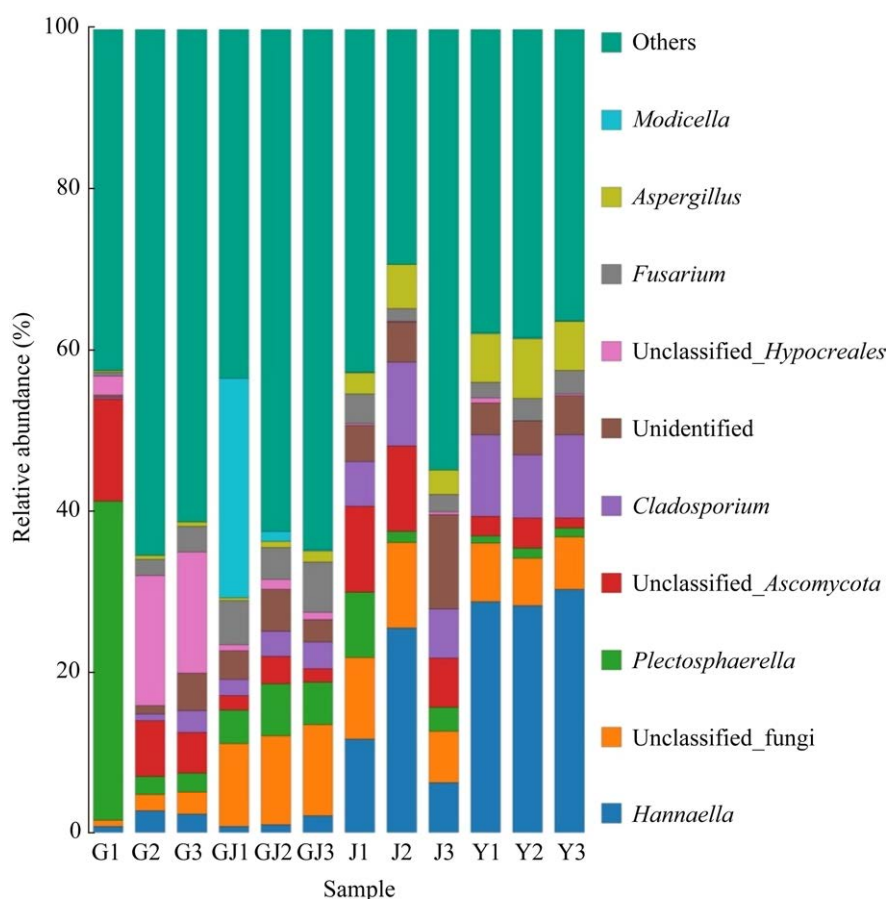


图5 蜘蛛香4个样本中真菌属水平上物种组成

Figure 5 Species composition of endophytic fungi in four samples of *Valeriana jatamansi* at genus level.

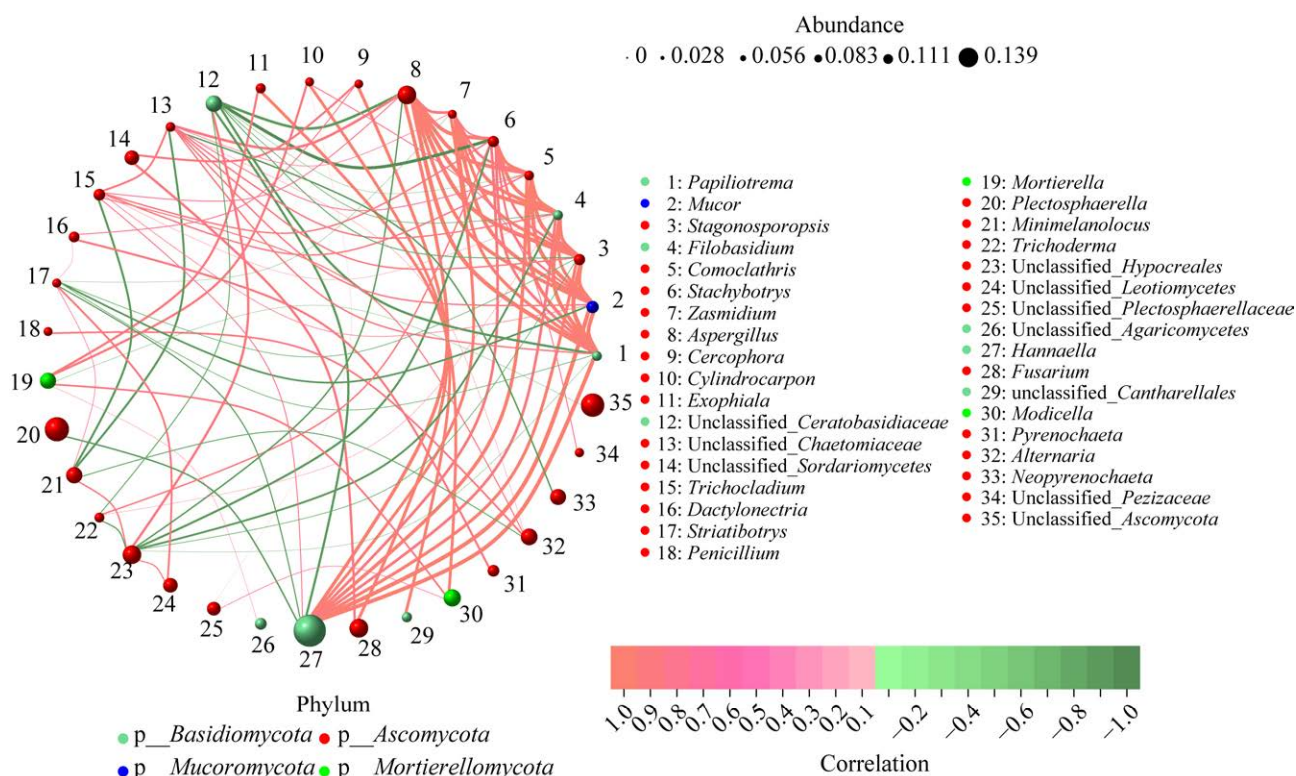


图7 蜘蛛香内生真菌网络关系图

Figure 7 Endophytic fungi network diagram of *Valeriana jatamansi*.

大于其他属。每个属在平均丰度上存在一个甚至多个与其存在关联的属，其中汉纳酵母属(*Hannaella*)、曲霉属(*Aspergillus*)和多个不同的属之间存在相关性，同时也有不存在相关性的属，如葡萄穗霉属(*Stachybotrys*)和肉座菌目未分类属(*unclassified_Hypocreales*)、小不整球壳属(*Plectosphaerella*)和汉纳酵母属(*Hannaella*)等少数几个属之间呈负相关关系。

3 讨论与结论

真菌作为微生物中的重要组成部分,在宿主和生态系统中发挥着重要的作用,群落结构的组成是其功能发挥的基石,因此,研究真菌的群落结构有助于挖掘和分析其生态功能。本研究通过高通量测序技术对蜘蛛香不同组织部位内生真菌及根际土壤真菌群落组成和多样性进行分析,结果表明,根际土壤部分的真菌多样性及丰富度

最高,特有的 OTU 数量也最多,可能由于植物根际分泌物含有利于微生物生长的有益元素,有助于土壤中微生物的聚集和繁殖。不同组织中茎的内生真菌多样性最高,叶中次之,而根中最低,表明蜘蛛香不同组织中内生真菌群落的丰富度和多样性存在一定差异,这与铁皮石斛^[13]、烟草^[14]、女贞^[15]中内生真菌的分布相一致。据文献报道,内生菌在宿主植物体内可不断流动在各组织部位间^[16], OTU 图及群落结构分析表明,蜘蛛香根际土壤和不同组织部位之间的真菌既存在相似性,又存在差异性和独立性。微生物菌群可能在植物不同部位和根际土壤间进行着不断的更换和重组,从而形成一个独特的微生态环境。

将蜘蛛香根、茎、叶内生真菌和根际土壤真菌这 4 个样本进行物种注释,分属于 17 门 65 纲 146 目 331 科 767 属 1 269 种。其中子囊菌门和担子菌门为优势菌门,这与大多数植物中真

菌优势菌门的报道^[11-12,17]一致。在属水平上, *Hannaella* 为叶和茎中的优势菌属, Yang 等^[18]发现 *Hannaella* 对苹果青霉病具有防治效果, 文献报道 *Plectosphaerella* 在其他植物内具有生防作用^[19-20], *Fusarium*^[6]、*Aspergillus*^[21]在其他物种中也有发现, 其中 *Aspergillus* 在橡胶树红根病生防菌剂的选择中具有较好的生防潜力, 但这些优势菌属在蜘蛛香中是否具有相同作用还需进一步研究验证。通过 LEfSe 分析, 初步探索蜘蛛香根、茎、叶内生真菌与根际土壤真菌定殖偏好性, 真菌的差异化定殖可能在植物的生长发育、代谢物质的产生等方面具有一定的作用, 如茎中的 *Pyrenomataceae* 相对丰度显著高于其他 3 个部位。同时发现, 蜘蛛香中存在着大量的未分类菌群, 一方面说明了高通量测序在鉴定微生物中具有一定的优势, 可以检测到一些现存的数据库中尚未分类的门、属等; 另一方面也说明蜘蛛香中含有大量的未知菌群种类有待探索, 而这些新发现的未分类菌群是否对宿主植物的生长、代谢物的产生起调控作用, 值得进一步深究。

本研究应用高通量测序技术对药用植物蜘蛛香根、茎、叶内生真菌和根际土壤真菌进行了多样性分析, 发现其富含丰富的真菌资源。在此次结果中发现样本中个别重复差异较大, 经过仔细对比分析, 发现有差异的重复均来自同一植株样本。由于蜘蛛香为多年生草本植物, 而本次采集的样本为同一产地、同一种群的野生植株, 无法确定其生长年限, 导致测序结果中个别重复差异较大。后续会对不同生长年限、不同产地的蜘蛛香真菌资源进行全面分析, 同时对蜘蛛香中的真菌进行分离培养, 筛选出具有促生长作用或潜在药用价值的目标菌株, 为蜘蛛香真菌资源的保护和开发利用提供参考依据。

REFERENCES

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部): 2020 年

版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 385.

National Pharmacopoeia Commission. People's Republic of China (PRC) pharmacopoeia (part I): 2020 edition[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 385 (in Chinese).

- [2] 梅佳华, 田璟, 孙杏倩, 高家菊, 普娟, 马云淑. 基于分子对接技术和网络药理学方法探讨香果健消片治疗肠易激综合征的作用机制[J]. 西部中医药, 2023, 36(3): 55-61. MEI JH, TIAN J, SUN XQ, GAO JJ, PU J, MA YS. The mechanism of treating irritable bowel syndrome by Xiangguo Jianxiao Tablets based on molecular docking technology and network pharmacology[J]. Western Journal of Traditional Chinese Medicine, 2023, 36(3): 55-61 (in Chinese).
- [3] 卢素琳, 钟恒亮, 张贵林, 王玉英, 万秀芳, 周训文. 苗药仙人掌胃康胶囊抗溃疡作用的实验研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2000, 9(3): 158-160, 186. LU SL, ZHONG HL, ZHANG GL, WANG YY, WAN XF, ZHOU XW. Experimental study of *Cactus Weikang* capsule on antiulcer action[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2000, 9(3): 158-160, 186 (in Chinese).
- [4] 马韩铮, 王雪峰. 醒脾养儿颗粒的临床应用进展[J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(22): 27-28, 31. MA HZ, WANG XF. Progress in clinical application of xingpi yang'er granules[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2015, 24(22): 27-28, 31 (in Chinese).
- [5] TIWARI P, KANG S, BAE H. Plant-endophyte associations: rich yet under-explored sources of novel bioactive molecules and applications[J]. Microbiological Research, 2023, 266: 127241.
- [6] 吴婷, 王梦迪, 黄倩儿, 朱波, 秦路平. 延胡索不同组织器官内生真菌菌群结构与多样性分析[J]. 中草药, 2023, 54(16): 5372-5378. WU T, WANG MD, HUANG QE, ZHU B, QIN LP. Fungal community and diversity of endophytic fungi in different tissues of *Corydalis yanhusuo*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(16): 5372-5378 (in Chinese).
- [7] 隋丽, 万婷玉, 路杨, 徐文静, 张正坤, 李启云. 内生真菌对植物促生、抗逆作用研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(6): 1325-1331. SUI L, WAN TY, LU Y, XU WJ, ZHANG ZK, LI QY. Review of fungal endophytes on plant growth promotion and stress resistance[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2021, 37(6): 1325-1331 (in Chinese).
- [8] 王鹤鸣, 李凤姿, 张鸾, 张秀峰, 尹静. 野生大豆内生真菌及发酵液中高质量分数次生代谢产物菌株筛选[J]. 中草药, 2015, 46(22): 3401-3408. WANG HM, LI FZ, ZHANG L, ZHANG XF, YIN J. Screening of strains with high content of secondary

- production in endophytic fungi and fermentation liquid from wild soybean[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2015, 46(22): 3401-3408 (in Chinese).
- [9] 李秋桦, 夏体渊, 任祺, 裴妍, 尹敏, 陈泽斌, 唐佐芯, 字学庆. 基于高通量测序技术解析三七不同部位内生细菌多样性[J]. 西南农业学报, 2021, 34(10): 2182-2190.
LI QH, XIA TY, REN Z, PEI Y, YIN M, CHEN ZB, TANG ZX, ZI XQ. Analysis of endophytic bacterial diversity in different parts of *Panax notoginseng* based on high throughput sequencing[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2021, 34(10): 2182-2190 (in Chinese).
- [10] 李明健, 陈晓芳, 成忠均, 任秀秀, 张翔宇. 多花黄精内生真菌及根际土真菌群落组成分析[J]. 湖北农业科学, 2023, 62(8): 13-20.
LI MJ, CHEN XF, CHENG ZJ, REN XX, ZHANG XY. Analysis of endophytic fungi and the rhizosphere soil fungi communities of *Polygonatum cyrtoneura* Hua[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2023, 62(8): 13-20 (in Chinese).
- [11] 陈美琪, 王兴, 黎俊彦, 谭绮雯, 李鉴滨, 姚华雄, 张玉鑫, 谢思韵, 邓祖军. 基于高通量测序和组织分离法的虎耳草内生真菌多样性分析及其抗氧化活性研究[J]. 中草药, 2023, 54(6): 1924-1934.
CHEN MQ, WANG X, LI JY, TAN QW, LI JB, YAO HX, ZHANG YX, XIE SY, DENG ZJ. Study of endophytic fungi diversity of *Saxifraga stolonifera* based on high-throughput sequencing method and tissue isolation method and their antioxidant activities[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(6): 1924-1934 (in Chinese).
- [12] 赵祎, 石瑶, 汤雯婷, 李海燕. 灯盏花内生真菌多样性、群落结构及生态功能预测[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4812-4824.
ZHAO Y, SHI Y, TANG WT, LI HY. Diversity, community structure, and ecological roles of endophytic fungi in *Erigeron breviscapus*[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4812-4824 (in Chinese).
- [13] 胡克兴, 侯晓强, 郭顺星. 铁皮石斛内生真菌分布[J]. 微生物学通报, 2010, 37(1): 37-42.
HU KX, HOU XQ, GUO SX. Distribution of endophytic fungi in *Dendrobium officinale*[J]. Microbiology China, 2010, 37(1): 37-42 (in Chinese).
- [14] 李盼盼, 袁晓龙, 李金海, 申国明, 高林, 李青诚, 高加明, 张鹏. 湖北烟草内生真菌生物多样性和种群结构分析[J]. 微生物学报, 2018, 58(10): 1853-1863.
LI PP, YUAN XL, LI JH, SHEN GM, GAO L, LI QC, GAO JM, ZHANG P. Biodiversity and community structure of endophytic fungi isolated from *Nicotiana tabacum* L.[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 58(10): 1853-1863 (in Chinese).
- [15] 李斌, 史鸿翔, 刘兰兰, 杨璞, 张欣, 陈航, 冯颖, 陈晓鸣. 女贞叶、茎、根及根际土壤真菌群落结构及功能群特征[J]. 林业科学, 2022, 58(5): 102-112.
LI B, SHI HX, LIU LL, YANG P, ZHANG X, CHEN H, FENG Y, CHEN XM. Characteristics of community structure and functional group of fungi in leaf, stem, root and rhizosphere soil of *Ligustrum lucidum*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2022, 58(5): 102-112 (in Chinese).
- [16] 郭龙妹. 铁皮石斛内生真菌群落结构的地域性差异及其形成机制研究[D]. 上海: 上海中医药大学硕士学位论文, 2019.
GUO LM. Study on the regional difference and formation mechanism of endophytic fungi community structure in *Dendrobium candidum*[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2019 (in Chinese).
- [17] LI R, DUAN WY, RAN ZF, CHEN XL, YU HX, FANG L, GUO LP, ZHOU J. Diversity and correlation analysis of endophytes and metabolites of *Panax quinquefolius* L. in various tissues[J]. BMC Plant Biology, 2023, 23(1): 275.
- [18] YANG QY, ZHANG X, SOLAIRAJ D, LIN RL, WANG KL, ZHANG HY. TMT-based proteomic analysis of *Hannaella sinensis*-induced apple resistance-related proteins[J]. Foods, 2023, 12(14): 2637.
- [19] 李莹, 秦明一, 张超, 王殿东, 田雪亮. 黄瓜内生真菌对根结线虫生防活性测定[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(3): 634-637.
LI Y, QIN MY, ZHANG C, WANG DD, TIAN XL. Biocontrol against *Meloidogyne incognita* by an endophytic fungus *Plectosphaerella* sp. from cucumber root galls[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(3): 634-637 (in Chinese).
- [20] ATKINS SD, CLARK IM, SOSNOWSKA D, HIRSCH PR, KERRY BR. Detection and quantification of *Plectosphaerella cucumerina*, a potential biological control agent of potato cyst nematodes, by using conventional PCR, real-time PCR, selective media, and baiting[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(8): 4788-4793.
- [21] 苻清天, 夏天生, 肖洋洋, 叶英豪, 陈璠颖, 徐小雄. 橡胶红根病生防深海真菌的筛选、鉴定及拮抗效果评价[J]. 热带农业科学, 2024, 44(1): 1-8.
FU QT, XIA TS, XIAO YY, YE YH, CHEN FY, XU XX. Screening, Identification and Evaluation of Antagonistic Effects of Deep-sea Fungi for Biocontrol of Rubber Red Root Disease[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2024, 44(1): 1-8 (in Chinese).