

## 四川宜宾三种乔木内生真菌的多样性

王涛<sup>1\*</sup> 游玲<sup>1</sup> 崔晓龙<sup>2</sup> 黄乃耀<sup>1</sup> 李欣龙<sup>1</sup> 魏琴<sup>1</sup>

(1. 宜宾学院 发酵资源与应用四川省高校重点实验室 四川 宜宾 644000)

(2. 云南大学 云南省微生物研究所 云南 昆明 650091)

**摘要:** 对四川宜宾同一生境中的油樟 [*Cinnamomum longepaniculatum* (Gamble) N. Chao]、香樟 [*C. camphora* (Linn.) Presl] 和白栎 (*Quercus fabri* Hance) 三种 30 棵乔木根、茎、叶中的内生真菌多样性进行了研究。结果显示: 三种植物中的内生真菌在属一级分类单位上都存在一定程度的多样性和器官特异性, 组丝核菌属 (*Phacodium* Pers.) 为 3 种植物内生真菌共有的优势属; 同时, 通过对 3 种植物内生真菌的比较, 发现 3 种植物整体及对应部位中内生真菌的相似性均较低; 油樟和香樟间内生真菌的相似程度略高于二者与白栎内生真菌的相似程度, 但并不显著, 说明植物内生真菌的组成受环境和基因型的共同影响。

**关键词:** 油樟, 香樟, 白栎, 内生真菌, 多样性

## Diversity of Fungal Endophytes Obtained from Three Kinds of Arbores in Yibin, Sichuan

WANG Tao<sup>1\*</sup> YOU Ling<sup>1</sup> CUI Xiao-Long<sup>2</sup> HUANG Nai-Yao<sup>1</sup> LI Xin-Long<sup>1</sup> WEI Qin<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Fermentation Resources and Application at Universities of Sichuan Province, Yibin University, Yibin, Sichuan 644000, China)

(2. Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China)

**Abstract:** Endophytic fungal communities in 30 trees of three kinds of arbores *Cinnamomum longepaniculatum* (Gamble) N. Chao, *C. camphora* (Linn.) Presl and *Quercus fabri* Hance grown in the same condition at a plantation in Yibin, Sichuan province were studied. The results indicated that: there was considerable diversity of endophytic fungi in the three kinds of arbores, and the compositions of endophytic fungi were different in different organs of the same arbor; *Phacodium* Pers. was the dominant endophytic fungus in all three kinds of plants; the compositions of endophytic fungi exhibited low similarities between different tissues and different kinds of arbores. The endophytic fungi in *C. longepaniculatum* (Gamble) N. Chao had higher similarity to that of *C. camphora* (Linn.) Presl than to that of *Quercus fabri* Hance, but there was not significant difference between them. These indicated the compositions of endophytic fungi were affected by gene-type of host plant and climate factors.

**Keywords:** *Cinnamomum longepaniculatum* (Gamble) N. Chao, *Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl, *Quercus fabri* Hance, Fungal endophytes, Diversity

基金项目: 四川省科技厅应用基础研究项目(No. 07JY029 - 001); 四川省教育厅青年基金资助项目(No. 2006 B079); 国家自然科学基金资助项目(No. 30660004, No. 30460004)

\* 通讯作者: Tel: 86-831-3545069; E: asdfgwt@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-07-27; 接受日期: 2008-10-28

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

油樟 [*Cinnamomum longepaniculatum* (Gamble) N. Chao] 和香樟 [*C. camphora* (Linn.) Presl] 同是樟属植物, 前者是重要的天然芳香油生产树种, 宜宾县油樟数量占全国总数的 65% 左右, 后者是我国重要的绿化树种。白栎 (*Quercus fabri* Hance) 是我国淮河以南、长江流域和华南、西南各地用作水土保持和薪柴等用途的优良树种。目前, 除本实验室对油樟的内生真菌进行了报道以外<sup>[1]</sup>, 其余 2 种重要经济植物内生真菌多样性的研究未见报道。

内生真菌 (fungal endophytes) 是指那些生长于健康植物体内而不引起明显病害症状的真菌<sup>[2]</sup>。目前, 国内外对于内生真菌主要是从微生物资源角度进行研究, 而对内生真菌的起源及与宿主关系的研究开展相对较少。开展内生真菌的起源及其与宿主关系的研究对于阐明生物进化的机制、加深对生物体之间竞争与生存关系的了解和对植物内生真菌的应用具有重要的意义。

基于以上原因, 本研究对生境相同的油樟、香樟和白栎 3 种植物不同部位的内生真菌多样性进行了比较研究, 旨在较为系统研究 3 种重要经济植物内生真菌多样性的同时, 为研究内生真菌的起源及其与宿主之间的关系提供一些素材。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及来源

油樟、香樟、白栎均采自四川宜宾县最大的油樟母树繁育基地—隆兴乡油樟母树繁育基地, 采样时间为 2006 年 5 月下旬。在油樟母树林中 50 m<sup>2</sup> 范围内, 选取无明显植物病害而且树龄接近 (20 年至 30 年), 胸径 20 cm~30 cm 的油樟树 20 棵、香樟树 5 棵和白栎树 5 棵。每株植物分别采集根、茎、叶样品并按照植物类别、不同部位分别进行混合, 每种植物根、茎、叶各采集样品 1 份, 共采集样品 9 份。其中根的直径约 1 mm~5 mm, 茎为 1 至 2 年生的枝

条 (直径约 5 mm~10 mm)、叶为随机的采集健康完整叶片。采集后马上回实验室即时分离。

### 1.2 方法

**1.2.1 分离培养基:** PDA 固体培养基 1×10<sup>5</sup> Pa 灭菌 30 min 后冷却至 50°C~60°C, 按每 1000 mL 培养基中加入 100 mL 对应植物组织无菌水浸液和 4×10<sup>4</sup> U 的链霉素注射液。植物组织无菌水浸液的制备方法为: 每种植物采集到的根、茎、叶样品各随机取出部分分别打碎后等重量混合, 称取 80 g 加入 200 mL 水, 1×10<sup>5</sup> Pa 灭菌 20 min 后无菌纱布过滤。鉴别培养基: 同分离培养基 (不含链霉素)。保存培养基: 常规 PDA 培养基。

**1.2.2 内生真菌的分离:** 除表面消毒时间以外, 3 种植物的不同部位的 9 个样品分离程序基本一致。叶内生真菌的分离: 随机选出完整叶 20 片, 洗净风干, 75% 乙醇浸泡一定时间 (表 1), 无菌水冲洗 6 次, 无菌滤纸吸干, 0.1% 的升汞中浸泡一定时间 (表 1), 用无菌水冲洗 6 次, 加无菌石英砂研磨, 按 10 倍梯度稀释至 10<sup>-3</sup>, 各稀释梯度取 200 μL 涂布在分离平板上 (每个稀释梯度涂布 10 个平板, 每个样品共涂布 30 个平板)。茎、根内生真菌的分离: 表面消毒后, 剥去茎和根外皮层后, 研磨、稀释和涂布 (除乙醇和升汞处理时间以外, 消毒、稀释和涂布程序同叶)。

每个样品都以最后一次清洗所用的无菌水涂布作为对照平板, 以检测表面消毒是否彻底。每 12 h 观察分离平板, 挑取单菌落划线纯化于常规 PDA 斜面上。

**1.2.3 内生真菌鉴定:** 纯化培养 7 d 至 10 d 后, 制片观察菌丝形态、孢子梗形态、孢子形态以及孢子与营养菌丝之间的着生关系, 同时结合菌落特征, 对照有关资料确定真菌的分类学地位<sup>[3,4]</sup>。未产孢菌株以文献方法<sup>[5,6]</sup>为基础, 采用包括添加无菌宿主原汁的多种贫营养培养基; 黑光灯、散射光交替培养; 近紫外光照射; 人为切断菌丝; 长期培养等多种方

表 1 九个样品的表面消毒  
Table 1 Surface sterilization of nine samples

	YY	YJ	YG	XY	XJ	XG	BY	BJ	BG
75% 乙醇 75% Alcohol	60 s	120 s	180 s	60 s	120 s	180 s	45 s	120 s	180 s
0.1% 升汞 0.1% Mercuricchloride	40 s	50 s	60 s	45 s	50 s	50 s	45 s	50 s	60 s

注: YG、YJ、YY: 油樟根、茎、叶; XG、XJ、XY: 香樟根、茎、叶; BG、BJ、BY: 白栎根、茎、叶; 下同。

Note: YG, YJ, YY: The roots, the stems and the leaves of *Cinnamomum longepaniculatum*; XG, XJ, XY: The roots, the stems and the leaves of *Cinnamomum camphora*; BG, BJ, BY: The roots, the stems and the leaves of *Quercus fabri*; The following table is the same.

法进行产孢诱导。最后未产孢菌株根据菌丝的结构、有无菌核、菌核的特征和菌落形态特征, 将其鉴定到属。

**1.2.4 数据处理:** 采用 Shannon 指数( $H$ )分析真菌的类群多样性, 用 Watson 相似性系数<sup>[7]</sup> [ $SW=(b+c)/(2a+b+c)$ ]分析 3 种植物中相同部位及整株植物间内生真菌属一级分类单位的相似性。

## 2 结果

### 2.1 三种植物内生真菌类群多样性分析

在分离的时候, 每个样品最后一次无菌水冲洗的洗脱液涂布的分离平板上都没有微生物生长, 表明分离得到的菌株基本上都是内生真菌。3 种植物不同部位分离得到的内生真菌及鉴定结果如表 2。

从油樟 3 个不同的器官中共分离出 100 株内生真菌, 分属 23 属。其中根样中分离出 54 株内生真菌(占油樟内生真菌总数的 54.0%), 分属于 11 个属(占油樟内生真菌分布属的 47.8%); 油樟茎样中分离出 18 株内生真菌(占油樟内生真菌总数的 18.0%), 分属于 7 个属(占油樟内生真菌分布属的 30.4%); 油樟叶样中分离出 28 株内生真菌(占油樟内生真菌总数的 28.0%), 分属于 13 个属(占油樟内生真菌分布属的 56.5%)。在 23 个属中, 在根茎叶都有分布仅有组丝核菌属和痂圆孢属 2 个属, 占油樟内生真菌分布属的 8.7%。属于该 2 属的内生真菌数量共有 46 株, 占油樟中分离出的内生真菌的 46.0%。而仅在根、茎、叶中有分布的内生真菌就有 17 属(根 6 属、茎 4 属、叶 7 属), 分别占油樟内生真菌分布属的 73.9%和对应部位内生真菌分布属的 54.5%(根)、57.1%(茎)和 53.9%(叶)。属于这 17 属的内生真菌共有 24 株(根 12 株、茎 4 株、叶 8 株), 占油樟内生真菌总数的 24.0%和对应部位内生真菌数量的 22.2%(根)、22.2%(茎)和 28.6%。而且通过油樟根茎叶内生真菌的相似性比较(表 3)可以看出, 其内生真菌的相似性都低于 0.5, 表明油樟叶、茎、根 3 个部位内生真菌在数量、类群分布方面有很大的差异。以上这些结果表明油樟中内生真菌在寄主内呈多样性分布, 且具有寄主器官特异性。

香樟中分离得到 67 株内生真菌, 分属于 25 属。根样中分离出 28 株内生真菌(占香樟内生真菌总数的 41.8%), 分属于 16 个属(占香樟内生真菌分布属的 64.0%); 茎中分离出 18 株内生真菌(占香樟内生

真菌总数的 26.9%), 分属于 13 个属(占油樟内生真菌分布属的 52.0%); 叶中分离出 21 株内生真菌(占香樟内生真菌总数的 31.3%), 分属于 8 个属(占油樟内生真菌分布属的 32.0%)。虽然本研究从香樟中分离出的内生真菌分属于 25 个属, 但香樟根茎叶都有分布的仅有组丝核菌属、痂圆孢属、齿梗孢霉属和筒梗孢霉属等 4 个属, 占香樟内生真菌分布属的 16.0%。属于该 4 属的内生真菌共有 37 株, 占香樟内生真菌总数的 55.2%。而香樟根茎叶内生真菌独有的属共有 17 属(根 8 属、茎 6 属、叶 3 属), 分别占香樟内生真菌分布属的 68.0%和对应部位内生真菌分布属的 50.0%(根)、46.2%(茎)和 37.5%(叶)。属于这 17 属的内生真菌共有 20 株(根 11 株、茎 6 株、叶 3 株), 占香樟内生真菌总数的 29.9%和对应部位内生真菌数量的 39.3%(根)、33.3%(茎)和 14.3%(叶)。同时, 通过表 3 可以看出香樟的根、茎、叶 3 个部位内生真菌的相似性都较低(最高为 0.4167), 表明香樟根、茎、叶 3 个部位内生真菌在数量、类群分布方面有很大的差异。以上结果表明香樟内生真菌的多样性程度较高且分布也有器官特异性。

白栎中分离出 81 株内生真菌, 分属于 21 属。根中分离出 26 株内生真菌(占白栎内生真菌总数的 32.1%), 分属于 11 个属(占白栎内生真菌分布属的 47.8%); 茎中分离出 25 株内生真菌(占白栎内生真菌总数的 30.9%), 分属于 11 个属(占白栎内生真菌分布属的 47.8%); 叶中分离出 30 株内生真菌(占白栎内生真菌总数的 37.0%), 分属于 12 个属(占白栎内生真菌分布属的 57.1%)。虽然白栎内生真菌分属于 21 个属, 3 个部位都有分布的只有组丝核菌属、筒梗孢霉属和痂圆孢属等 3 个属, 占白栎内生真菌分布属的 14.3%。属于该 3 属的内生真菌共有 33 株, 占白栎内生真菌总数的 40.7%。白栎根茎叶内生真菌独有的属共有 12 属(根 5 属、茎 3 属、叶 4 属), 分别占白栎内生真菌分布属的 57.1%和对应部位内生真菌分布属的 45.5%(根)、27.3%(茎)和 33.3%(叶)。属于这 12 属的内生真菌共有 20 株(根 6 株、茎 7 株、叶 7 株), 分别占白栎内生真菌总数的 24.7%和对应部位内生真菌数量的 23.1%(根)、28.0%(茎)和 23.3%(叶)。同时, 通过表 3 可以看出, 白栎 3 个部位的相似性指数均在 0.5 左右, 其中白栎茎和白栎叶之间的相似性最高达到 0.5217, 根与茎、根与叶之间的相似性都低于 0.5。从白栎各部分内生真菌的

表 2 属一级分类水平上三种植物内生真菌类群多样性分析  
Table 2 Genus diversity of endophytic fungi isolated from three kinds of arborees

内生真菌 Endophytic fungi	YZ(YG, YJ, YY)	XZ(XG, XJ, XY)	BL(BG, BJ, BY)
组丝核菌属( <i>Phacodium</i> Pers.)	30(18, 5, 7)	17(6, 3, 8)	17(6, 3, 8)
花核菌属( <i>Anthina</i> Fr.)	0(0, 0, 0)	1(1, 0, 0)	2(0, 0, 2)
皮核菌属( <i>Acinula</i> Fr.)	1(0, 0, 1)	0(0, 0, 0)	4(0, 3, 1)
茎叶核菌属( <i>Ectostroma</i> Fr.)	1(0, 0, 1)	1(0, 0, 1)	0(0, 0, 0)
团丝核菌属( <i>Papulaspora</i> Preuss)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)	6(0, 4, 2)
丝核菌属( <i>Rhizoctonia</i> DC.ex Fr.)	1(0, 0, 1)	1(1, 0, 0)	2(0, 2, 0)
束丝菌属( <i>Ozonium</i> Lk. ex Fr.)	2(2, 0, 0)	1(0, 0, 1)	0(0, 0, 0)
头孢霉属( <i>Cephalosporium</i> Cda.)	1(1, 0, 0)	2(1, 1, 0)	0(0, 0, 0)
曲霉属( <i>Aspergillus</i> Mich. ex Fr.)	1(1, 0, 0)	1(0, 0, 1)	0(0, 0, 0)
齿梗孢霉属( <i>Xenopus</i> Penz. et Sacc.)	8(7, 0, 1)	6(3, 2, 1)	8(4, 0, 4)
稀丝头孢霉属( <i>Haplotrichum</i> Lk. ex Fr.)	5(5, 0, 0)	0(0, 0, 0)	2(0, 0, 2)
歧梗孢霉属( <i>Haplaria</i> Lk.)	3(1, 0, 2)	1(0, 1, 0)	4(0, 4, 0)
球孢霉属( <i>Coccospora</i> Wallr.)	0(0, 0, 0)	2(1, 1, 0)	0(0, 0, 0)
峡串孢霉属( <i>Paepalosis</i> Kühn)	0(0, 0, 0)	1(1, 0, 0)	0(0, 0, 0)
束梗孢霉属( <i>Meria</i> Vuill. ex Fr.)	0(0, 0, 0)	1(0, 1, 0)	2(2, 0, 0)
白僵霉属( <i>Beauveria</i> Vuill.)	0(0, 0, 0)	1(0, 1, 0)	0(0, 0, 0)
厚垫霉属( <i>Pachybasium</i> Sacc.)	0(0, 0, 0)	1(0, 1, 0)	0(0, 0, 0)
木霉属( <i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr.)	0(0, 0, 0)	1(0, 1, 0)	0(0, 0, 0)
锉梗孢霉属( <i>Rhinotrichum</i> Cda.)	7(0, 4, 3)	2(1, 0, 1)	3(0, 1, 2)
地霉属( <i>Geotrichum</i> Lk.)	1(1, 0, 0)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)
短链孢霉属( <i>Selenotila</i> Lagerh.)	1(0, 1, 0)	4(3, 1, 0)	0(0, 0, 0)
梭孢霉属( <i>Fusidium</i> Lk. ex Fr.)	1(0, 0, 1)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)
卵形孢霉属( <i>Oospora</i> Wallr.)	1(0, 0, 1)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)
筒梗孢霉属( <i>Chromosporium</i> Crodal)	12(8, 0, 4)	6(1, 1, 4)	9(4, 2, 3)
假黑粉霉属( <i>Coniosporium</i> Lk. ex Fr.)	2(2, 0, 0)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)
黑孢霉属( <i>Nigrospora</i> Zim.)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)	1(0, 1, 0)
暗梗穗孢霉属( <i>Stachylidium</i> Lk.)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)	2(0, 0, 2)
毛孢瘤座霉属( <i>Chaetospermum</i> Sacc.)	1(0, 0, 1)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)
皱束梗霉属( <i>Stilbella</i> Lind.)	1(0, 1, 0)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)
小帚束霉属( <i>Atractiella</i> Sacc.)	0(0, 0, 0)	1(1, 0, 0)	0(0, 0, 0)
束梗霉属( <i>Coremium</i> Lk.)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)	3(2, 1, 0)
巨束梗霉属( <i>Macrostilbum</i> Pat.)	0(0, 0, 0)	1(1, 0, 0)	0(0, 0, 0)
痂圆孢属( <i>Sphaceloma</i> de Bary)	16(8, 5, 3)	8(1, 3, 4)	7(3, 2, 2)
刺盘孢属( <i>Colletotrichum</i> Corda)	0(0, 0, 0)	4(4, 0, 0)	0(0, 0, 0)
埋船形盘孢属( <i>Hypodermium</i> Lk. ex Fr.)	1(0, 1, 0)	1(1, 0, 0)	1(1, 0, 0)
阿氏酵母属( <i>Ashbya</i> Gullier)	1(0, 1, 0)	0(0, 0, 0)	1(1, 0, 0)
酱霉属( <i>Ascoidea</i> Bref.)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)	4(1, 2, 1)
拟内孢霉属( <i>Endomycopsis</i> Dekker)	2(0, 0, 2)	1(0, 1, 0)	0(0, 0, 0)
拟指突孢曲霉属( <i>Emericellopsis</i> Van Beyma)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)	1(1, 0, 0)
拟青霉属( <i>Penicillioopsis</i> Solms-Laubach)	0(0, 0, 0)	0(0, 0, 0)	1(1, 0, 0)
二孢外担子菌属( <i>Kordyana</i> Pat.)	0(0, 0, 0)	1(1, 0, 0)	1(0, 0, 1)
菌株总数 No. of strains	100(54, 18, 28)	67(28, 18, 21)	81(26, 25, 30)
总属数 No. of genera	23(11, 7, 13)	25(16, 13, 8)	21(11, 11, 12)
Shannon 指数 Shannon index ( <i>H</i> )	2.8230	3.6281	3.1518

注：YZ、XZ、BL：油樟、香樟和白栎；括号外的数字：一种植物中分离出的内生真菌在对应属的菌株数量；括号中数字：该植物根、茎、叶中分离出的内生真菌对应属中的数量。

Note: YZ, XZ, BL: The *Cinnamomum longepaniculatum*, the *C. camphora*, the *Quercus fabri*; The numbers outside and inside of a bracket: The numbers of endophytic fungi isolated from an arbor and the different organs of the arbor, respectively.

表 3 同种植物根、茎、叶内生真菌相似性比较  
Table 3 Similarity of fungal endophyte compositions in roots, stems and leaves of each arbor

	YG&YJ	YG&YY	YJ&YY	XG&XJ	XG&XY	XJ&XY	BG&BJ	BG&BY	BJ&BY
相似性系数 Similarity coefficient	0.2105	0.4167	0.3000	0.4138	0.4167	0.3810	0.4545	0.4348	0.5217

相似性系数和共有属、独有属的数量和比例来看,白栎内生真菌也具有较为丰富的多样性和器官特异性。

2.2 三种植物内生真菌分布相似性比较

油樟和香樟、油樟与白栎、香樟与白栎内生真菌的相似性系数分别为 0.5417、0.5000 和 0.4783。虽然同属于樟属的油樟和香樟内生真菌的相似性系数在 3 者之间是最高的,但从绝对数值上来说并不具备显著优势,而且油樟、香樟、白栎三者内生真菌的相似性系数都在 0.5 左右,说明 3 种植物中任意 2 种植物内生真菌之间在属一级分类水平上只有 50.0%左右的相似度。

3 种植物都有的内生真菌有 8 属(表 4),各占油樟、香樟、白栎内生真菌分布属的 34.8%、32.0%和 38.1%。结合表 2 和表 4 可以发现,油樟、香樟、白栎属于这 8 属的菌株分别有 78 株、42 株、51 株,分别占各自分离菌株数量的 78.0%、62.7%、63.0%。而油樟、香樟、白栎特有的内生真菌仅分别有 7 株(6 属)、12 株(8 属)、18 株(7 属),分别占分离菌株数量的 7.0%、17.9%、22.2%和分布属的 26.1%、32.0%、33.3%。表明从分类单位上来看,3 种植物内生真菌共有属和特有属的数量大致一致,但共有属的菌株数量远高于特有属的菌株数量。

表 4 三种植物内生真菌共有属和特有属  
Table 4 Common and characteristic genera of fungal isolates obtained from all the three kinds of plants

分离菌株所属的属 Genera of fungal isolates	
3 种植物共有 Common genera of three kinds of plants	组丝核菌属( <i>Phacodium</i> Pers.), 丝核菌属( <i>Rhizoctonia</i> DC. ex Fr.), 齿梗孢霉属( <i>Xenopus</i> Penz. et Sacc.), 歧梗孢霉属( <i>Haplaria</i> Lk.), 铤梗孢霉属( <i>Rhinotrichum</i> Cda.), 筒梗孢霉属( <i>Chromosporium</i> Croda), 茄圆孢属( <i>Sphaceloma</i> de Bary) 埋船形盘孢属( <i>Hypodermium</i> Lk. ex Fr.)
油樟特有 Characteristic genera of <i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	地霉属( <i>Geotrichum</i> Lk.), 梭孢霉属( <i>Fusidium</i> Lk. ex Fr.), 卵形孢霉属( <i>Oospora</i> Wallr.), 假黑粉霉属( <i>Coniosporium</i> Lk. ex Fr.), 毛孢瘤座霉属( <i>Chaetospermum</i> Sacc.), 皱束梗霉属( <i>Stilbella</i> Lind.)
香樟特有 Characteristic genera of <i>C. camphora</i>	球孢霉属( <i>Coccosproa</i> Wallr.), 峡串孢霉属( <i>Paepalosis</i> Kühn), 白僵霉属( <i>Beauveria</i> Vuill.), 厚垫霉属( <i>Pachybasium</i> Sacc.), 木霉属( <i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr.), 小帚束霉属( <i>Atractiella</i> Sacc.), 巨束梗霉属( <i>Macrostilbum</i> Pat.), 刺盘孢属( <i>Colletotrichum</i> Corda)
白栎特有 Characteristic genera of <i>Quercus fabric</i>	团丝核菌属( <i>Papulaspora</i> Preuss), 黑孢霉属( <i>Nigrospora</i> Zim.), 暗梗穗孢霉属( <i>Stachylidium</i> Lk.), 束梗霉属( <i>Coremium</i> Lk.), 酱霉属( <i>Ascoidea</i> Bref.), 拟指突孢曲霉属( <i>Emericellopsis</i> Van Beyma), 拟青霉属( <i>Penicillioopsis</i> Solms-Laubach)

表 5 三种植物根、茎、叶内生真菌分布相似性分析  
Table 5 Similarity between fungal compositions in roots, stems and leaves of three kinds of arborees

	YG&XG	YG&BG	XG&BG	YJ&XJ	YJ&BJ	XJ&BJ	YY&XY	YY&BY	XY&BY
相似性系数 Similarity coefficient	0.3704	0.3636	0.3704	0.3000	0.3333	0.3333	0.5714	0.4800	0.5000

3 种植物根内生真菌的相似性系数都低于 0.5,且很接近(油樟根与香樟根 0.3704、油樟根与白栎根 0.3636、香樟根与白栎根 0.3704); 3 种植物茎内生真菌的相似性系数也较低,且比较接近(油樟茎与香樟茎 0.3000、油樟茎与白栎茎 0.3333、香樟茎与白栎茎 0.3333); 3 种植物叶内生真菌的相似性在 3 个部位

中是最高的(油樟叶与香樟叶: 0.5714、油樟叶与白栎叶: 0.4800、香樟叶与白栎叶 0.5000)。

3 讨论

3.1 三种植物内生真菌的多样性

采样时,对一个区域内的每种植物都采集了多

株植株的样品进行混合,在一定程度上避免了植物个体差异带来的结果偏差。同时,表面消毒过程与条件进行了优化,也在一定程度上避免了表面消毒条件过于剧烈或过于温和对多样性研究的影响<sup>[8]</sup>。而且本研究采用在分离平板中添加了分离样品水浸液,尽量模拟了内生真菌在宿主中的生活环境<sup>[9]</sup>,保证了内生真菌被最大限度地分离。

从3种植物的各个部位分离到的菌株数量、这些菌株的属一级分类地位和每一种植物不同部位内生真菌的相似性系数来看,3种植物内生真菌均体现出多样性和器官特异性的特点。组丝核菌属和痂圆孢属在3种植物根、茎、叶都有分布。而且从数量来看,前者在3种植物内生真菌中均属于数量最多的类群,后者在油樟和香樟内生真菌中的数量仅次于组丝核菌属的真菌。而白栎中痂圆孢属的内生真菌数量仅少于组丝核菌属和筒梗孢霉属的真菌数量。

### 3.2 三种植物内生真菌的比较

一般情况下,随着树龄的增加,植物内生真菌种类和丰度也随之增加;同时,在不同气候带植物内生真菌分布也有明显区别<sup>[10]</sup>。此次选择的3种植物拥有相同的生活环境和类似的树龄,3种植物之间(相同部位及植物整体)内生真菌的相似性都较低,显示了3种不同宿主在相同的环境条件下形成差异较大的内生真菌类群组成。这些表明这些植物的内生真菌是有一定的宿主特异性的。

本研究选用的3种植物中,油樟和香樟亲缘关系较近,在3种植物内生真菌区系或类群组成相似程度的两两对比中,二者内生真菌类群组成的相似程度最高,但并不显著。这也许是由于油樟和香樟虽然亲缘关系较近,但二者之间的遗传差异使得各自形成独具特色的内生真菌类群组成。油樟和香樟内生真菌群落类群组成的相似程度略高于其与白栎内生真菌群落类群组成的相似程度,在一定程度上体现了3种生活在相同环境中植物的内生真菌群落类群组成,具有趋于一致的倾向。另外,从分布部位来看,每种植物不同部位内生真菌类群组成的相似性较低,这与Dong等关于不同种类的内生菌具有一定组织专一性的结论也是比较吻合的<sup>[11]</sup>。

总的来看,组丝核菌属和痂圆孢属真菌,在同一生境中的3种植物的根茎叶中均有分布且占有很高的比例,而且每种植物分离的菌株属于共有属的数量远高于属于特有属的菌株数量。这些说明环境是影响植物内生真菌区系或群落类群组成的重要因

素之一。3种植物内生真菌的类群组成及其分布相似性都较低和属一级分类单位上3种植物内生真菌共有属和特有属的数量接近,则表明寄主植物固有的遗传差异是影响到内生真菌定殖的另外一个重要因素。这与Ahlholm<sup>[12]</sup>等提出环境条件和宿主基因型决定内生菌的多样性的假设是一致的。

本研究通过对生活在同一生境中3种植物内生真菌的多样性开展较为系统的研究,得到了大量的微生物资源,为日后通过对这些微生物各种生理代谢特性检测,进而开发成植物生防菌剂及其他产品奠定了基础。同时,通过对同一生境中亲缘关系较近的香樟、油樟及与二者亲缘关系较远的白栎内生真菌多样性的比较研究表明:3种植物内生真菌都显示出内生真菌的多样性和器官特异性的特点;3种植物内生真菌的组成受环境和基因型的共同影响。

### 参 考 文 献

- [1] 王 涛,魏淑芳,魏 琴,等.油樟叶内生真菌多样性研究.云南大学学报(自然科学版),2007,29(3):300-302.
- [2] 郭良栋.内生真菌研究进展.菌物系统,2001,20(1):148-152.
- [3] Ainsworth GC, Sparrow FK, Sussman AS. The fungi, an advanced treatise, Academic Press, New York and London, 1973.
- [4] 魏景超.真菌鉴定手册.上海:科学技术出版社,1979.
- [5] 柯海丽,宋希强,谭志琼,等.野生五唇兰根部内生真菌多样性研究.生物多样性,2007,15(5):456-462.
- [6] 王 静,任安芝,谢凤行,等.几种诱导黑麦草 *Lolium perenne* L. 内生真菌产孢的方法.菌物学报,2005,24(4):590-596.
- [7] 马文辉,何 平,袁小凤,等.RAPD标记在植物系统进化研究中的应用.西南师范大学学报(自然科学版),1999,24(4):482-491.
- [8] Arnold AE, Maynard Z, Gilbert GS, et al. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecological Letters*, 2000, 3(4): 267-274.
- [9] Amann RI, W Ludwig, KH Schleifer. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*, 1995, 59: 143-169.
- [10] 何美仙,梅 忠.植物内生真菌研究概况及其在农业上的应用前景.生物学通报,2005,40(12):10-12.
- [11] Yuemei Dong, A Leonardo Iniguez, Brian MM Ahmer, et al. Kinetics and strain specificity of rhizosphere and endophytic colonization by enteric bacteria on seedlings of *Medicago sativa* and *Medicago truncatula*. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(3): 1783-1790.
- [12] Ahlholm JU, Helander M, Henriksson J, et al. Environmental conditions and host genotype direct genetic diversity of *Venturia ditricha*, a fungal endophyte of birch trees. *Evolution Int J Org Evolution*, 2002, 56(8): 1566-1573.