

不同产地玄参内生真菌种群结构的比较分析

沈湛云^{1,2}, 朱波¹, 张泉龙¹, 张巧艳^{1*}, 秦路平^{1*}

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402

2. 浙江医药高等专科学校中药学院, 浙江 宁波 315100

摘要: **目的** 研究不同产地玄参内生真菌的种群结构差异。**方法** 通过形态和分子手段相结合的方式对来自浙江磐安、陕西安康、湖北武穴、湖南邵东、四川达州和安徽亳州共 6 个产地的玄参进行内生真菌的分离、鉴定及种群结构分析。**结果** 共分离得到 3 052 株内生真菌划分为 153 个形态型, 经分子系统学分析, 共划分为 84 个分类单元, 分属于 25 个属, 其中间座壳属、镰刀菌属、黑孢属、链格孢属、茎点霉属、棒孢属、附球菌属、枝孢属为 6 个产地内生真菌共有属, 各产地的优势属不同。相似性分析表明, 不同产地玄参内生真菌的组成结构上存在差异。Shannon-wiener 多样性指数及 Simpson 指数分析表明浙江磐安产地玄参内生真菌多样性较高, 四川达州产地的多样性稍低。**结论** 系统研究玄参内生真菌的多样性与群落结构, 阐明内生真菌在植物组织中的分布规律, 可为玄参内生真菌的开发利用提供基础资料和科学依据。

关键词: 玄参; 产地; 内生真菌; ITS; 多样性

中图分类号: R282.12

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)04-0957-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.04.025

Comparative study on distribution of endophytic fungi in *Scrophularia ningpoensis* from different habitats

SHEN Zhan-yun^{1,2}, ZHU Bo¹, ZHANG Quan-long¹, ZHANG Qiao-yan¹, QIN Lu-ping¹

1. School of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China

Abstract: **Objective** To analyze the distribution of endophytic fungi in *Scrophularia ningpoensis* from different habitats. **Methods** The endophytic fungi in *S. ningpoensis* from six localities (Pan'an of Zhejiang Province, Ankang of Shaanxi Province, Wuxue of Hubei Province, Shadong of Hunan Province, Dazhou of Sichuan Province, and Bozhou of Anhui Province) were isolated, identified, and analyzed according to the morphology and ITS sequences. **Results** A total of 3 052 strains of endophytic fungi were isolated from *S. ningpoensis* in six localities. A total of 84 fungal taxa were identified according to the morphology and ITS sequences, these strains were belong to 25 genera. Thereinto *Diaporthe*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Alternaria*, *Phoma*, *Corynespora*, *Epicoccum*, and *Cladosporium* were common genera to *S. ningpoensis* from six localities, but the dominant genus was different: *Fusarium* was the dominant genus from Anhui, Hubei, Hunan, and Shaanxi; *Alternaria* was the dominant genus from Sichuan; *Diaporthe* was the dominant genus from Zhejiang. According to the similarity coefficient, the composition of the endophytic fungi was distinctly different between six localities. The Shannon-wiener diversity index and Simpson index of endophytic fungi in *S. ningpoensis* from Zhejiang were found higher than others. The diversity of endophytic fungi in *S. ningpoensis* from Sichuan was lower than others. **Conclusion** Systematic studying the diversity and community structure of endophytic fungi in *S. ningpoensis* and clarifying their distribution regularity in plant tissues can offer basic data and scientific basis for their development and utilization.

Key words: *Scrophularia ningpoensis* Hemsl.; habitats; endophytic fungi; ITS; diversity

玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 是我国常用的大宗药材, 市场需求巨大, 主产于浙江、湖北、陕西、湖南、四川等地, 其中浙江磐安为道地

产区^[1]。玄参野生品少, 多为人工栽培, 在生产中易出现连作障碍^[2]、化肥投入量过大、病虫害严重^[3]等问题, 从而影响玄参药材的品质。

收稿日期: 2018-09-05

基金项目: 国家自然科学基金资助 (81673528); 浙江省教育厅访问工程师校企合作项目 (FG2017006); 浙江省教育厅一般科研项目 (Y201636676)

作者简介: 沈湛云 (1984—), 女, 在读博士研究生, 研究方向为药用植物与分子生药学。Tel: 13486656710 E-mail: 274418843@qq.com

*通信作者 秦路平, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: qinluping@126.com

张巧艳, 博士, 硕士生导师。E-mail: zqy1965@163.com

目前,植物内生真菌作为一种新的生物资源引起了广泛的关注。植物内生真菌是指其全部或部分的生长发育过程在健康植物的茎干或叶片等组织中,而不引起明显病害症状的一类真菌^[4]。内生真菌除了可以产生与宿主相同或相似的物质^[5],促进药用植物生长发育之外^[6];还能够提高药用植物对生物和非生物胁迫的抵抗能力,主要表现在提高药用植物在致病微生物^[7]、啃食昆虫^[8]、干旱^[9]、高盐浓度^[10]等条件下的生存能力。因此,探索内生真菌对宿主次生代谢产物的影响将对阐明中药有效成分的积聚机制以及道地药材的成因提供一种新的研究思路。

目前有关玄参内生真菌的研究极少,伍晓丽等^[11]对武隆产区和重庆市栽培玄参进行内生真菌的分离,研究表明不同产地、不同组织部位所含的内生真菌群落结构和数量不同。内生真菌种类、数量及分布等菌群结构特征受到药用植物种类、地理环境、季节气候、生长时期和组织部位等方面的影响^[12-15]。因此,本实验系统研究不同主产地玄参内生真菌的多样性与群落结构,阐明内生真菌在植物组织中的分布规律,为玄参内生真菌的开发利用提供基础资料和科学依据;也为进一步研究不同产地玄参内生真菌群落结构特征与药材品质之间的相关性奠定基础。

1 材料与试剂

1.1 材料

2017 年 11~12 月分别于浙江磐安、陕西安康、湖北武穴市、湖南邵东市、四川达州市和安徽亳州市采集栽培玄参各 15 株(表 1),植株健康,根茎叶俱全。栽培玄参经浙江中医药大学药学院秦路平教授鉴定为玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl.。

1.2 试剂与仪器

无水乙醇(分析纯,国药集团),次氯酸钠(分

析纯,国药集团),青霉素(上海索宝来有限公司),PDA 培养基(马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL,pH 自然);Takara9770A 和 RR003A 试剂盒购自宝生物工程有限公司;SW-CJ-1D 超净工作台(苏州净化有限公司);YXQ-LS-75S II 立式压力蒸汽灭菌器(上海博讯有限公司);恒温培养箱、手术剪、手术刀、滤纸等。DYCP-31DN 琼脂糖水平电泳槽(北京六一有限公司);ABI (Proflex) 型 PCR 仪(赛默飞世尔科技中国有限公司);GelDocXR 凝胶成像仪(北京科誉兴业科技发展有限公司);Eppendorf 5427R 离心机(Eppendorf 中国有限公司)。

2 方法

2.1 内生真菌的分离与纯化

将采集的栽培玄参的根、主茎、侧枝和叶在自来水下冲洗 3~6 h 除去表面的泥土和其他杂质,用灭菌处理的滤纸吸干其表面水分,进行“75%乙醇-2.5%次氯酸钠-75%乙醇”的 3 步表面消毒处理(根:75%乙醇 1 min,2.5%次氯酸钠 5 min,75%乙醇 1 min;主茎、侧枝:75%乙醇 1 min,2.5%次氯酸钠 3 min,75%乙醇 1 min;叶:75%乙醇 30 s,2.5%次氯酸钠 1 min,75%乙醇 30 s)。消毒后,材料表面用灭菌处理的滤纸吸干,用消毒后的剪刀或手术刀分别将根、主茎、侧枝与叶剪切成小的组织块(0.5 cm×0.5 cm),分别从 4 个部位中各随机挑取 8 个组织块,每 4 个组织块为一组置于含有青霉素(50 mg/L) PDA 培养基的平板中。密封后 25 °C 培养,定期观察内生真菌菌丝的生长和菌落的形成情况。待菌丝从组织块周围长出后,挑取尖端菌丝转移到新的 PDA 培养皿上培养至菌丝形态单一,即得到纯化的菌株。根据菌株菌丝的形态和群落的培养特征将分离纯化的内生真菌划分为不同的形态型。分离纯化后的菌株接种至 PDA 试管斜面培养基上培养,待培养基长满菌丝后置于-20 °C 冰箱保存。

2.2 形态鉴定

按照真菌经典分类方法,平板培养之后观察菌落特征及菌种孢子的显微形态,依据真菌的形态分类学原理^[16]进行鉴定。

2.3 DNA 提取及 PCR 扩增

采用 Takara9770A 试剂盒对分离出的内生真菌进行基因组 DNA 提取。PCR 扩增采用引物 ITS4 (5'-GGAAGTAAAGTCGTAAGG-3') 和 ITS5 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 进行 PCR 扩

表 1 6 个产地样品采集的地理位置

Table 1 Location of six collection sites

采集时间	采集地点	纬度	经度	样品株数
2017-11	浙江磐安大盘镇	29°0'N	120°33'E	15
2017-11	陕西安康旬阳县	32°50'N	109°21'E	15
2017-11	湖北武穴余川镇	30°05'N	115°43'E	15
2017-12	湖南邵东流泽镇	27°17'N	110°52'E	15
2017-12	四川达州宣汉县	31°21'N	107°43'E	15
2017-12	安徽亳州谯城区	33°52'N	115°46'E	15

增。PCR 反应体系 (50 μ L) 组成: 模板 DNA, 2 μ L; 引物 ITS4, 1 μ L; 引物 ITS5, 1 μ L; 2 $\times$ TapPCR MasterMix (含染液), 25 μ L; ddH₂O, 21 μ L。PCR 反应循环参数与步骤: 95 $^{\circ}$ C 初始变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s; 52 $^{\circ}$ C 退火 50 s; 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min; 变性-退火-延伸循环 35 次; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后送上海生工生物有限公司进行序列测定。

2.4 序列数据分析

登陆 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 利用 BLAST 将测序获得的各菌株 ITS 和 5.8 S 基因序列与 GenBank 中的已知序列进行比对, 查找相似性最高的菌种, 结合形态学特征, 确定分离菌株的分类地位。

2.5 内生真菌多样性及相似性分析

相对频率 (relative frequency, RF) 是指所有样品中分离到的某种内生真菌的菌株数占分离到总菌株数的百分数。

采用 Shannon-Wiener 多样性指数 (H') 和 Simpson 多样性指数 (D') 分析内生真菌的生物多样性。采用 Pielou 均匀度指数 (E') 分析同一地区不同物种分布的均匀程度; 采用 Sorenson 相似性系数 (C_s) 比较 2 个产地之间内生真菌种类组成的相似程度 [17-18]。

3 结果与分析

3.1 PCR 扩增及菌种鉴定

菌株 PCR 扩增后, 点样于 1% 琼脂糖凝胶, 120 V 条件下电泳 30 min 进行检测。从浙江磐安分离得到的部分菌株的 PCR 扩增图, 见图 1。

菌种鉴定基于 3 个准则: 形态特征、系统进化分析及与参考菌株间的序列相似性, 用与同属的参考菌株的碱基序列相似性进行形态型分类地位的

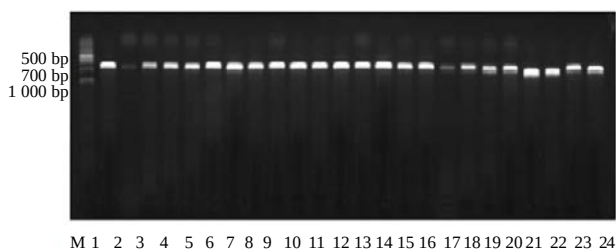


图1 浙江磐安分离得到的部分玄参内生真菌的 PCR 扩增
Fig. 1 PCR amplification of some endophytic fungi in *S. ningpoensis* from Zhejiang Panan by universal primer ITS and 5.8 S rDNA

确定。当一个特殊序列与参考序列间的相似性高于同属间时, 该序列则被认为与参考菌株是同种^[19]。与参考菌株的碱基序列相似性大于或等于 97% 的菌株被鉴定到种水平^[20], 如 2 个或 2 个以上菌株序列与同 1 个参考菌株序列在系统发育树中聚在一起形成分支且与参考序列相似性都大于或等于 97%, 与参考菌株序列相似性大的菌株就被鉴定到种水平, 其余的菌株则被鉴定到属水平。本研究的序列已经提交到 GenBank 数据库, 对应的序列号为 MH782551-MH782634。

3.2 不同产地玄参内生真菌的分布情况

从 6 个产地的玄参中共分离得到内生真菌 3 052 株。不同组织部位分离得到的内生真菌差异显著, 叶片中分离得到 1 572 株, 侧枝中分离得到 782 株, 主茎中分离得到 625 株, 块根中分离得到 73 株, 内生真菌数量: 叶片>侧枝>主茎>根。这表明玄参不同部位 (块根、主茎、侧枝和叶) 中内生真菌的侵染程度有显著的差异。根据菌株群落的培养特征将上述内生真菌划分为 153 个形态型, 对 153 个形态型菌株 ITS 和 5.8 S 基因与 GenBank 中的参考序列进行分子系统学分析, 共划分为 84 个分类单元。其中 38 个鉴定到种水平, 39 个到属水平, 4 个到科水平, 3 个到目水平以上, 45.24% 的分类单元鉴定到种, 而另外 54.76% 鉴定到属以上水平。84 个分类单元归属为真菌界 1 个门 3 个纲 10 个目 25 个属。

6 个产地中最优势纲 2 个 (RF>1/3, 即 RF>33.33%): 粪壳菌纲 (Sordariomycetes, RF=50.19%) 和座囊菌纲 (Dothideomycetes, RF=49.66%); 最优势目 3 个 (RF>1/10, 即 RF>10%): 间座壳菌目 (Diaporthales, RF=12.71%)、肉座菌目 (Hypocreales, RF=21.69%)、格孢菌目 Pleosporales (RF=40.23%); 最优势属 9 个 (RF>1/25, 即 RF>4.00%): 间座壳属 *Diaporthe* (RF=12.71%)、镰刀菌属 *Fusarium* (RF=20.31%)、黑孢属 *Nigrospora* (RF=7.40%)、链格孢属 *Alternaria* (RF=10.94%)、茎点霉属 *Phoma* (RF=6.59%)、棒孢属 *Corynespora* (RF=8.81%)、附球菌属 *Epicoccum* (RF=7.80%)、刺盘孢属 *Colletotrichum* (RF=5.34%)、枝孢属 *Cladosporium* (RF=4.52%); 最优势种 33 个 (RF>1/84, 即 RF>1.13%)。

6 个产地的玄参内生真菌在属水平上的优势类群有差异。如表 2 所示, 6 个产地共有属有 8 个,

表 2 不同产地玄参内生真菌共有属
Table 2 Dominant genus related to localities

产地	占比/%							
	间座壳属	黑孢属	链格孢属	茎点霉属	棒孢属	附球菌属	镰刀菌属	枝孢属
安徽亳州	2.32	1.38	1.05	0.85	1.38	0.59	3.57	0.49
陕西安康	2.06	0.65	1.70	1.44	1.51	0.52	3.41	0.52
湖南邵东	1.90	1.61	1.87	0.79	1.28	0.69	3.37	0.20
湖北武穴	1.70	2.00	2.23	1.18	1.02	1.05	3.21	0.79
四川达州	1.24	0.65	3.51	1.61	1.90	2.72	2.65	1.61
浙江磐安	3.21	1.05	1.54	0.69	1.74	1.44	3.01	0.85

分别为间座壳属、镰刀菌属、黑孢属、链格孢属、茎点霉属、棒孢属、附球菌属、枝孢属。6 个产地中，安徽亳州、陕西安康、湖南邵东和湖北武穴产地的优势属均为镰刀菌属四川达州产地的优势属为链格孢属，浙江磐安的优势属为间座壳属。

3.3 内生真菌的多样性及丰度分析

对不同产地分离出的玄参内生真菌进行多样性分析，计算不同产地玄参内生真菌的多样性指数及丰度，见表 3。

表 3 不同产地玄参内生真菌多样性指数
Table 3 Diversity index of endophytic fungi in *S. ningpoensis* from different regions

产地	H'	I	E
安徽亳州	3.892 0	0.974 6	0.929 0
陕西安康	3.697 6	0.965 1	0.885 8
湖南邵东	3.673 0	0.964 3	0.900 8
湖北武穴	3.654 0	0.970 1	0.946 7
四川达州	3.515 5	0.962 7	0.903 3
浙江磐安	3.992 7	0.975 4	0.936 7

H' 在 3.515 5~3.992 7，以浙江磐安产的玄参内生真菌种群多样性较高，四川达州产地的多样性较低。 I 范围在 0.962 7~0.975 4，浙江磐安产地的较高，四川达州产地的较低。 E 在 0.885 8~0.946 7，湖北武穴产地的均匀度较高，陕西安康产地的较低。这表明同一种植物在不同生活环境下，内生真菌菌群的分布及组成会有所不同。

3.4 不同地区相似性比较

C_s 用于比较 2 个产地之间内生真菌种类组成的相似程度。6 个产地的 C_s 在 0.521 7~0.823 5。浙江磐安与安徽亳州的相似性最高，浙江磐安与四川达州的相似性最低。见图 4。

表 4 不同地区玄参内生真菌菌群
Table 4 Similarity coefficients of endophytic fungi from *S. ningpoensis* from different localities

产地	C_s					
	安徽亳州	陕西安康	湖南邵东	湖北武穴	四川达州	浙江磐安
安徽亳州	1.000 0					
陕西安康	0.624 4	1.000 0				
湖南邵东	0.592 0	0.677 4	1.000 0			
湖北武穴	0.694 9	0.719 3	0.685 2	1.000 0		
四川达州	0.601 8	0.696 4	0.660 4	0.791 7	1.000 0	
浙江磐安	0.823 5	0.615 4	0.769 2	0.776 5	0.521 7	1.000 0

4 讨论

不同产地玄参内生真菌的菌株种类组成和菌株数量存在差异，其中安徽亳州 522 株、陕西安康 466 株、湖南邵东 456 株、湖北武穴 504 株、浙江磐安 588 株和四川达州 516 株。6 个产地的内生真菌根据序列比对共划分为 84 个分类单元（安徽亳州 65 个、陕西安康 66 个、湖南邵东 59 个、湖北武穴 49 个、浙江磐安 70 个和四川达州 47 个）。

在 6 个产地中，浙江磐安与安徽亳州的相似度最高，浙江磐安与四川达州的相似度最低。这表明在不同的微生境内生真菌侵染潜力存在差异^[21]，内生真菌的种类组成受地理因素的影响显著^[22]。此外，内生真菌种群结构还受其他一些环境因素的影响，如采集地的湿度^[23]、温度^[24]、海拔高度^[25]、周围其他植物类群^[26]等。

安徽亳州、陕西安康、湖南邵东和湖北武穴产地的优势属均为镰刀菌属。镰刀菌属广泛分布于自然界中，是人类发现的最重要的植物病原菌之一。它可侵染多种植物（粮食作物、油料作物、经济作物、药用植物及观赏植物），造成植物萎蔫、根腐、穗腐等各种类型的腐烂病，导致严重的减产，从而

造成重大的经济损失;但有些菌株也可寄生在昆虫或其他真菌上,作为生防菌而被利用^[27-28]。四川达州产地的优势属为附球菌属、链格孢属,为世界上普遍存在的真菌类群,广泛存在于土壤及植物组织中,在杜仲^[29]、铁皮石斛^[17]、南方红豆杉^[30]等多种植物中都有发现。

根据 H' 、 I 和 E 表明浙江磐安产地的玄参内生真菌种类最丰富,均匀度高,优势属为间座壳属。间座壳属内生真菌常作为优势种群出现在部分植物中,不仅具有高度的生物多样性,还拥有丰富的代谢产物以及蛋白酶资源,除此之外,该属真菌还能辅助寄主植物抵御昆虫等的捕食^[31-33]。浙江为玄参药材的道地产区,其药用品质最佳,这可能与其内生真菌的菌群结构有关。

因此,在下一步的工作中将重点研究玄参内生真菌对药用植物生长发育的作用,对药用部位活性物质形成、含量变化和临床药效的影响,以及与药材道地性的关系。

参考文献

- [1] 王家葵,王佳黎. 中药材品种沿革及道地性 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2007.
- [2] 宋旭红, 谭均, 潘媛, 等. 连作对玄参产量和根际土壤肥力及酶活性的影响 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1243-1248.
- [3] 吴中宝, 杨成前, 邓才富, 等. 重庆玄参叶部病害的发生危害及药剂防治效果 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(11): 1585-1598.
- [4] Rodriguez R J, Jfw J R, Arnold A E, et al. Fungal endophytes: Diversity and function roles [J]. *New Phytol*, 2009, 182(2): 314-330.
- [5] Gu X J, Ren K, Yao N, et al. Chemical constituents from endophytic fungus *Plectosphaerella cucumerina* YCTA2Z1 of *Cynanchum auriculatum* [J]. *Chin Herb Med*, 2018, 10(1): 95-98.
- [6] 勇应辉, 戴传超, 高伏康, 等. 大戟内生真菌对其生长和两种萜类物质质量的影响 [J]. 中草药, 2009, 30(7): 1136-1139.
- [7] 江曙, 陈代杰, 戈梅, 等. 药用植物内生真菌抗菌活性的筛选 [J]. 药物生物技术, 2006, 13(5): 351-354.
- [8] 朱虹, 单淑芳, 李增智, 等. 苦楝内生真菌及其代谢产物的杀虫活性 [J]. 中国生物防治, 2010, 26(1): 47-52.
- [9] 宋文玲, 刘晓珍, 蔡信之, 等. 2株内生真菌对菊花抗旱特性的影响 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(3): 302-306.
- [10] 刘晓珍, 宋文玲, 蔡信之, 等. 两株内生真菌对菊花抗盐特性的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 158-163.
- [11] 伍晓丽, 宋旭红, 杨宏国, 等. 玄参内生真菌分离、鉴定及系统发育分析 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(5): 902-911.
- [12] Chen J, Zhang L C, Xing Y M, et al. Diversity and taxonomy of endophytic xylariaceous fungi from medicinal plants of *Dendrobium* (Orchidaceae) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58268.
- [13] Collado J, Platas G, GonzÁlez I, et al. Geographical and seasonal influences on the distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex* [J]. *New Phytol*, 1999, 144(3): 525-532.
- [14] 江曙, 段金彪, 陶金华, 等. 明党参内生真菌种群的生态分布及其诱导子活性研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 121-125.
- [15] Mishra A, Gond S K, Kumar A, et al. Season and tissue type affect fungal endophyte communities of the Indian medicinal plant *Tinospora cordifolia* more strongly than geographic location [J]. *Microb Ecol*, 2012, 64(2): 388-398.
- [16] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [17] 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.
- [18] 蓝江林, 刘波, 朱育菁, 等. 茄子植物内生细菌群落结构与多样性 [J]. 生态环境学报, 2009, 18(4): 1433.
- [19] Rivera-Orduña F N, Suarez-Sanchez R A, Flores-Bustamante Z R, et al. Diversity of endophytic fungi of *Taxus globosa* (Mexican yew) fungal [J]. *Divers*, 2011, 47(1): 65-74.
- [20] Higgins K L, Arnold A E, Miadlikowska J, et al. Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2007, 42(2): 543-555.
- [21] Khidir H, Eudy D, Porras-Alfaro A, et al. Sinsabaugh. A general suite of fungal endophytes dominate the roots of two dominant grasses in a semiarid grassland [J]. *J Arid Envir*, 2010, 74(1): 35-42.
- [22] Hoffman M T, Arnold A E. Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees [J]. *Mycol Res*, 2008, 112(Pt 3): 331-344.
- [23] Osono T. Endophytic and epiphytic phyllosphere fungi of *Camellia japonica*: Seasonal and leafage-dependent variations [J]. *Mycologia*, 2008, 100(3): 387-391.
- [24] Wu Y, Lu C, Qian X, et al. Diversities with in genotypes,

- bioactivity and biosynthetic genes of endophytic actinomycetes isolated from three pharmaceutical plants [J]. *Curr Microbiol*, 2009, 59(4): 475-482.
- [25] Murali T S, Suryanarayanan T S, Venkatesan G. Fungal endophyte communities in two tropical forests of southern India: Diversity and host affiliation [J]. *Mycol Prog*, 2007, 6(3): 191-199.
- [26] Petrini O, Stone J, Carroll F E. Endophytic fungi in evergreen shrubs in western oregon: A preliminary study [J]. *Can J Bot*, 1982, 60(6): 789-796.
- [27] Summerell B A, Leslie J F, Backhouse D, *et al.* *Fusarium Paul E. Nelson Memorial Symposium* [M]. Minnesota: The American Phytopathological Society Press, 2001.
- [28] Moss M O, Smith J E. *The Applied Mycology of Fusarium* [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1984.
- [29] 马养民, 田从丽, 张弘弛, 等. 杜仲内生真菌的分离鉴定及抗菌活性筛选 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 552-557.
- [30] 张庆波, 陈玉婵, 李浩华, 等. 南方红豆杉内生真菌的分离鉴定及其细胞毒活性研究 [J]. 生物技术通报, 2013, (1): 172-177.
- [31] Botella L, Diez J J. Phylogenic diversity of fungal endophytes in Spanish stands of *Pinus halepensis* [J]. *Fung Div*, 2011, 47(1): 9-18.
- [32] Jsaka M, Jaturapat A, Rukseree K, *et al.* Phomaoxanthones A and B, novel xanthone dimers from the endophytic fungus *Phomopsis* species [J]. *J Nat Prod*, 2011, 64(8): 1015-1018.
- [33] Vesterlund S R, Helander M, Faech S H, *et al.* Environmental conditions and host plant origin override endophyte effects on invertebrate communities [J]. *Fung Div*, 2011, 47: 109-118.