

不同产地铁皮石斛茎中内生真菌群落结构与农艺性状差异相关性分析

刘朝波¹, 闻伟铿¹, 李肇高¹, 罗婷婷¹, 徐德林¹, 钱 刚^{1*}, 何芋岐², 李 林^{1*}

1. 遵义医科大学 基础医学院细胞生物学教研室, 贵州 遵义 563099

2. 遵义医科大学药学院, 贵州 遵义 563099

摘 要: **目的** 对不同产地铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 茎中的内生真菌群落与农艺性状进行分析, 为内生真菌与铁皮石斛差异农艺性状形成的相关性研究提供基础。**方法** 对采自安徽霍山 (AHHS)、贵州独山 (GZDS)、云南孟连 (YNML) 的 112 份铁皮石斛进行农艺性状测量, ITS 测序分析内生真菌群落结构, R 语言分析不同产地内生真菌丰度与宿主农艺性状的相关性。**结果** 差异性分析发现 3 个产地的铁皮石斛在株高、茎长、茎粗均具有显著性差异 ($P < 0.05$)。内生真菌 ITS 检测共获得 923 条特征序列, 可注释到 3 个门、138 个属, 产地间的铁皮石斛内生真菌在属水平上存在差异, 其中 AHHS 的真菌群落多样性与其他产地具有显著性差异。相关分析表明, 内生真菌 *Gibberella* 与宿主的株高、茎长、茎粗呈显著负相关 ($P < 0.05$)。**结论** 不同产地铁皮石斛茎的差异农艺性状形成与共有内生真菌的丰度的改变密切相关。

关键词: 铁皮石斛; 内生真菌; ITS 测序; 多样性分析; 农艺性状; 相关性分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)04-1236-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.024

Correlation analysis between endophytic fungal and agronomic traits in *Dendrobium officinale* from different habitats

LIU Chao-bo¹, WEN Wei-e¹, LI Zhao-gao¹, LUO Ting-ting¹, XU De-lin¹, QIAN Gang¹, HE Yu-qi², LI Lin¹

1. Department of Cell Biology, School of Preclinical Medicine, Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China.

2. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China

Abstract: Objective To analyze the endophytic fungal communities and agronomic characters of *Dendrobium officinale* stems collected from different habitats, in order to provide the basis for the correlation studies between endophytic fungi and formation of variations agronomic traits of *D. officinale*. **Methods** A total of 112 *D. officinale* samples were respectively collected from Anhui Huoshan (AHHS), Guizhou Dushan (GZDS) and Yunnan Menglian (YNML) and surveyed for their agronomic traits. The endophytic fungi community structure was analyzed by ITS sequencing, and the correlation between the abundance of endophytic fungi in different habitats and the host agronomic traits were analyzed by R language. **Results** The difference analysis showed that there were significant differences in plant height, stem length and stem diameter of *D. officinale* from the three habitats ($P < 0.05$). A total of 923 characteristic sequences of endophytic fungi were obtained by ITS assay, which could be annotated to three phylum, 138 genus. The distribution difference of endophytic fungi in *D. officinale* from different habitats were shown at genus level, and the diversities of AHHS fungal community were significantly different from that of other places. The relative correlation analysis showed there were negative correlation between endophytic fungus *Gibberella* and the plant height, stem length, stem diameter of the host ($P < 0.05$). **Conclusion** The different agronomic traits formation of stems in different habitats were closely related to the changes in abundance of endophytic fungi which were common in *D. officinale*.

Key words: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; endophytic fungi; ITS sequencing; diversity analysis; agronomic trait; correlation analysis

收稿日期: 2022-08-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960074); 贵州省科学技术基金项目 (黔科平台人才[2019]-027, 黔科合平台人才[2017]5733-050, 黔科合支撑[2019]2961 号); 遵义市科技局遵义医科大学科学技术联合资金招标专项 (遵义市合 HZ 字 (2020) 91 号)

作者简介: 刘朝波, 硕士研究生, 从事中药材遗传改良与基因工程研究。E-mail: 1947261933@qq.com

*通信作者: 钱 刚, 从事植物细胞与分子遗传学研究。E-mail: qiangang69@sina.cn

李 林, 从事中药材遗传改良与基因工程研究。E-mail: 191129104@qq.com

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 是重要的兰科石斛属药用植物, 具有养胃生津、滋阴清热的功效^[1]。现代药理学研究表明, 铁皮石斛具有抗氧化、抗癌、降血糖等多种药理作用, 受到市场广泛关注^[2]。由于自然环境下繁殖率较低, 加上民间过度采挖, 铁皮石斛野生资源已近枯竭, 利用人工种植方式生产成为当前解决铁皮石斛供需矛盾的重要方式^[3-4]。受种植方式、光照、微生物等因素的影响, 不同产地人工种植铁皮石斛在有效药用成分含量、农艺性状、生物量等方面差异较大^[5]。

已有研究表明, 内生真菌是影响植物生长发育、次生代谢产物积累的重要生物因子, 与植物的根系发育、植株形态建成等具有密切关系^[6-7]。Waqas 等^[8]从大田种植黄瓜根中分离得到 2 株能分泌赤霉素 (gibberellins) 和吲哚乙酸 (indoleacetic acid) 的内生真菌 (*Phoma glomerata* LWL2、*Penicillium* sp. LWL3), 与黄瓜植株共培养后发现内生真菌处理组的植株茎长显著高于未处理组。Qin 等^[9]将植物内生真菌与植物共培养, 发现在提供有机氮源的条件下, 多数内生真菌能将有机氮转化为无机氮, 从而促进植物生长, 提高植物株高。任颖^[10]发现内生真菌 *Paraboeremia putaminum* 定殖后可增加黄芪叶片数、株高、地下干质量, 有利于黄芪抗旱能力提高。因此, 内生真菌与植物的农艺性状改变具有密切的关系, 同时在以株高、茎长等农艺性状为产量指标的药用植物研究中具有重要的意义。

对玄参^[11]、杜仲^[12]等多种药用植物研究发现, 内生真菌广泛的存在于药用植物各组织器官中, 且同种植物不同产地的内生真菌的种群结构组成、相对丰度及优势类群均存在差异。内生真菌的种群结构组成与宿主对不同环境的适应等密切相关^[13], 其核心菌群、丰度变化也被证实与不同产地间药用植物次生代谢产物含量差异积累、道地性形成等密切相关^[14]。但這些真菌的群落结构、丰度变化与相关农艺性状的变化关系鲜有报道。

目前所研究的内生真菌主要为可培养内生真菌, 但是宿主中可分离培养的内生真菌数量极少, 导致多数内生真菌功能未被发掘。然而高通量测序技术具有准确、高效等优点, 不依赖于传统培养法, 成为植物内生真菌分析重要技术手段^[15-16]。本研究以安徽霍山 (AHHS)、贵州独山 (GZDS)、云南孟连 (YNML) 产地人工种植铁皮石斛为材料, 通过 ITS 测序对 3 个产地铁皮石斛茎中内生真菌生物多样性进行分析, 并

对不同产地铁皮石斛之间差异内生真菌与差异农艺性状进行相关性分析, 筛选影响铁皮石斛生物产量的内生真菌, 为铁皮石斛高效生产等提供理论基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

本研究从 AHHS、GZDS、YNML 3 个铁皮石斛产地共采集 112 丛人工种植的铁皮石斛进行农艺性状分析, 进一步从每个产地中分别选择 9 个有典型特征的样本的 2 年生新鲜茎条经表面消毒后用于铁皮石斛内生真菌的 ITS 测序, 所有材料均由遵义医科大学细胞生物学教研室钱刚教授鉴定为兰科石斛属植物铁皮石斛 *D. officinale* Kimura et Migo。

1.2 试剂与仪器

用 E.Z.N.A.® Soil DNA 试剂盒 (批号 D5625-02, 美国 Omega 公司) 进行石斛茎条内 DNA 的提取; 用 AxyPrep PCR Cleanup Kit 回收试剂盒 (批号 AP-PCR-4G, 英国 Axygen 公司) 来回收目的片段; ITS 的测序在 Illumina NovaSeq 高通量测序平台 (杭州联川生物技术股份有限公司) 进行。

2 方法

2.1 铁皮石斛株高、茎长和茎粗测量及差异性分析

利用直尺共测量 112 丛 (GZDS、AHHS、YNML 分别为 34、25、53 丛) 铁皮石斛的株高, 并从每丛铁皮石斛中随机选取 3 根茎测量茎长、茎粗。对茎长和茎粗平均值以及株高进行正态性检验, 符合正态性检验后利用 R 语言中 bartlett.test 函数进行方差齐检验, 不符合正态性检验应用 R 语言 coin 包中 kruskal.test 函数进行多样本秩和检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义, 方差齐后应用 R 语言中 aov 函数进行方差分析, 方差不齐时应用 R 语言中利用 oneway test 进行方差分析 ($P < 0.05$ 具有统计学差异)。

2.2 内生真菌 DNA 的提取

按照 E.Z.N.A.® Soil DNA 试剂盒说明书对次氯酸钠法消毒灭菌后的铁皮石斛茎提取内生真菌 DNA。提取得到的 DNA 通过琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量, 同时采用紫外分光光度计对 DNA 进行定量。

2.3 DNA 的测序

使用引物 ITS1 F12 (5'-GTGARTCATCGAATCTTTG-3') 和 ITS2 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 对真菌 (ITS2) 可变区进行 PCR 扩增。PCR 扩增产物通过 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 使用 AxyPrep PCR Cleanup Kit 回收试剂盒对目

标片段进行回收。纯化后的 PCR 产物采用 Quant-iT PicoGreen ds DNA Assay Kit 在 Qubit (美国 Invitrogen 公司) 荧光定量系统上对文库进行定量。根据测序所要求制备合格的文库, 使用 NovaSeq 测序仪进行 2×250 bp 的双端测序。

2.4 测序数据注释与分析

根据双端序列的重叠区, 采用 Pear 将 R1、R2 序列拼接成长的 tag 序列, 并使用 cutadapter 去除 barcode 以及引物序列, 然后 Fqtrim (v0.94) 过滤低质量序列, 采用 Vsearch (v2.3.4) 过滤嵌合体, 通过区分扩增子降噪算法 (divisive amplicon denoising algorithm 2, DADA2) 去重复后得到特征表和特征序列。物种注释采用 QIIME2 的插件 feature-classifier 进行序列比对, 比对数据库为 SILVA 和 unite 数据库, 以 SILVA 数据库注释结果为准。使用 QIIME2 流程进行 α 多样性分析, 用 R (v3.5.2) 对测得数据进行统计分析并作图。 α 多样性分析利用 Anova 法进行整体差异分析、利用 Wilcox Test 法对不同产地铁皮石斛茎的内生真菌群落物种多样性指数之间的差异性进行研究。

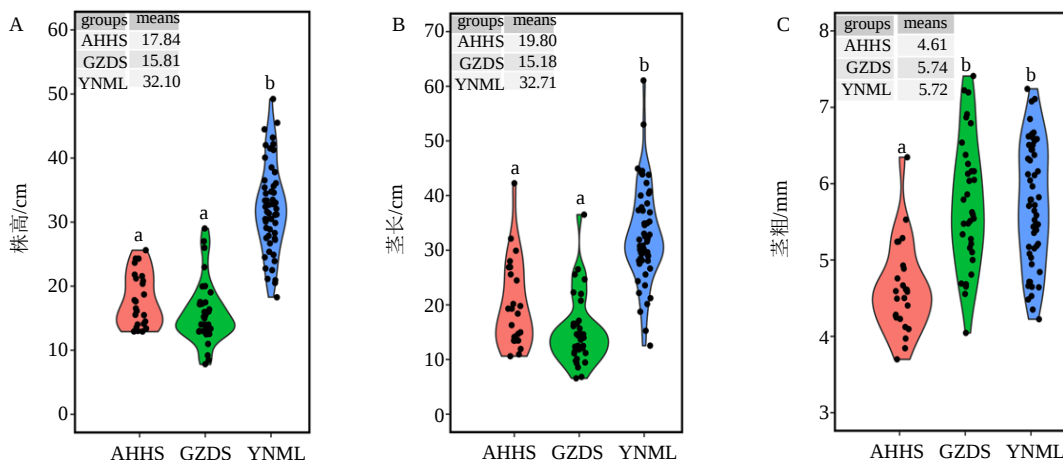
2.5 内生真菌与铁皮石斛形态特征相关性分析

对 27 个 ITS 测序的铁皮石斛的株高、茎长和茎粗数据进行统计学分析, 方法同“2.1”项。应用 R 语言 kruskal.test 函数对不同产地 ITS 测序数据注解到的共有内生真菌进行多重比较, FSA 包中的 dunnTest 函数对多重比较结果 P -value 进行矫正, 共有内生真菌为不同产地 2/3 以上样本能检测到的内生真菌。另外, 应用 R 语言 PerformanceAnalytics 包 (R version 3.6.1) 将具有统计学差异的农艺性状与不同产区共有差异内生真菌做相关性分析, 相关性计算采用 spearman 方法。

3 结果与分析

3.1 铁皮石斛农艺性状测量及差异性分析结果

对 3 个产地共 112 份材铁皮石斛的株高、茎长和茎粗进行测量, 分析不同产地间这些农艺性状指标的差异性, 结果如图 1 所示。3 个产地中, YNML 铁皮石斛的株高 (18.3~49.2 cm) 和茎长 (18.73~61.00 cm) 显著高于其他 2 个产地 ($P<0.05$), 其他 2 个产地之间株高、茎长差异没有统计学差异。此外, AHHS 铁皮石斛的茎粗 (4.04~7.40 mm) 显著低于其他 2 个产地, 具有统计学意义 ($P<0.05$), 而其他 2 个产地之间茎粗没有统计学意义。



图中不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著, 相同字母表示不显著
Different lowercase letters refer to significance at 0.05 level, same letters refer to no significance

图 1 不同产地铁皮石斛株高 (A)、茎长 (B) 和茎粗 (C) 比较

Fig. 1 Comparison of plant height (A), stem length (B) and stem diameter (C) of *D. officinale* in different habitats

3.2 铁皮石斛茎中内生真菌群落结构组成分析结果

对 27 个样品中测序获得的原始数据质控、过滤和拼接后共得到 2 235 602 条有效序列, 平均每个样品产生 82 800 条有效序列, 90.41% 的有效序列在 200~300 bp, 且序列的有效率均在 90% 以上。各样品的测序质量结果如表 1 所示, 说明该次测序结果

表 1 测序数据质量评估

Table 1 Quality assessment of sequencing data

样本编号	原始序列/条	有效序列/条	(原始序列/有效序列)/%
AHHS1~9	80 060~85 886 79	353~84 961	97.71~99.22
GZDS1~9	81 008~87 725 80	452~87 252	97.73~99.46
YNML1~9	80 818~87 035 79	671~86 143	92.03~99.11

具有较高的可信度。

按产地将测序数据注解的内生真菌进行组成分析发现, 3 个产地的铁皮石斛内生菌可注释为子囊菌门 (Ascomycota, 92.57%)、担子菌门 (Basidiomycota, 6.30%)、子囊菌类门 (Asmycota, 1.00%) 组成(图 2-A), 其中子囊菌类门(Asmycota)仅存在于 AHHS 产地样品中。

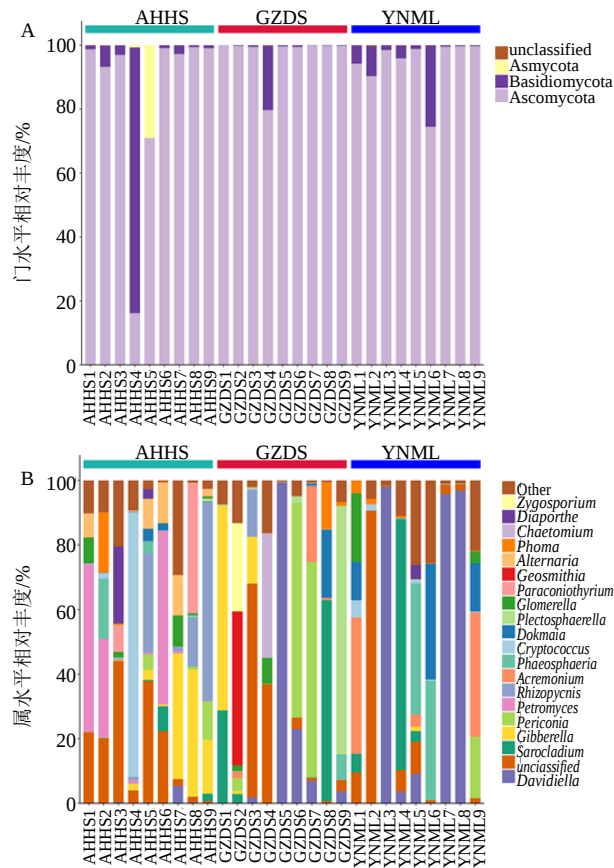


图 2 内生真菌在门 (A)、属 (B) 水平的组成

Fig. 2 Composition of endophytic fungi of *D. officinale* at phylum (A) and genus (B) level

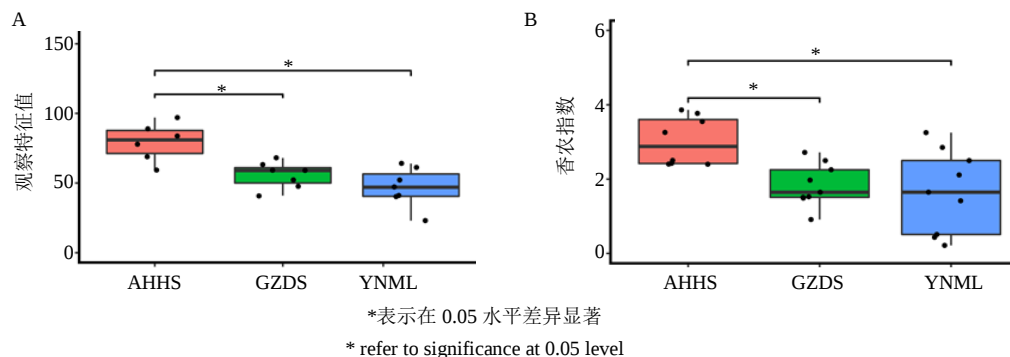


图 3 不同产地间内生真菌群落观察特征值 (A) 和香农指数 (B) 比较

Fig. 3 Comparison of observed feature index (A) and shannon index (B) of endophytic fungal community deriving from different habitats

进一步分析发现, 铁皮石斛内生真菌分布于 138 个属, 其中 AHHS 分布 94 属, GZDS 分布 65 属, YNML 分布 35 属。内生真菌属的丰度在不同产地间具有差异, 对相对百分数前 20 属进行分析(图 2-B), 结果显示 AHHS 产地丰度最高的为石座菌属 *Petromyces* Malloch & Cain (15.45%), GZDS 产地丰度最高的为小戴卫霉属 *Davidiella* Crous & U. Braun (14.99%), YNML 产地丰度最高的为小戴卫霉属 (33.76%)。对共有菌属进行分析发现, 根茎囊菌属 *Rhizopcyne* D.F. Farr (12.16%)、链格孢属 *Alternaria* Nees (4.9%)、石座菌属 (15.45%) 在 AHHS 产地中的丰度远高于其它 2 个产地; 不整小球壳属 *Plectosphaerella* Kleb. (8.86%)、黑团孢属 *Periconia* Tode (15.23%) 在 GZDS 产地中丰度明显高于其他 2 个产地; 枝顶孢属 *Acremonium* Link (9.40%) 在 YNML 产地中丰度明显高于其他 2 个产地。此外, 接柄孢属 *Zygosporium* Mont. (3.06%)、毛壳菌属 *Chaetomium* Kunze (4.30%) 为 GZDS 产地的特有属内生真菌。

3.3 内生真菌群落多样性分析结果

使用 QIIME2 流程对样品中内生真菌的 α 多样性指数进行分析, 用箱线图来展示不同产地铁皮石斛茎中内生真菌的观察特征值和香农指数。从观察特征值图中(图 3-A)可以看出, 3 个不同产地的内生真菌群落丰度存在差异, 观察特征值表明, 3 个产地 features 丰度从高到低依次为 AHHS、GZDS、YNML; 从香农指数箱式图(图 3-B)中可以看出, AHHS 的内生真菌多样性明显大于其他产地, 其次为 GZDS、YNML, 其中 AHHS 与 GZDS 2 个产地的内生真菌多样性具有显著性差异 ($P < 0.05$), AHHS 与 YNML 2 个样本组的内生真菌多样性具有显著性差异 ($P < 0.05$), GZDS 与 YNML 2 个产地的内生真菌多样性没有明显的差异。

3.4 内生真菌与铁皮石斛农艺性状相关性分析

为了进一步探索铁皮石斛形态差异形成与差异内生真菌的关系,首先应用 R 语言将 ITS 测序样本铁皮石斛形态特征(株高、茎长、茎粗)进行差异性分析,发现不同产地的 27 丛材料的农艺性状差异显著性与总体样本的结果一致(表 2)。

对不同产地铁皮石斛共有内生真菌组成进行分析

表 2 铁皮石斛农艺性状差异分析 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Table 2 Analysis on differences of agronomic traits of *D. officinale* ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

产地	株高/cm	茎长/cm	茎粗/mm
安徽霍山	17.43 ± 3.09 ^a	18.25 ± 6.47 ^a	4.89 ± 0.60 ^a
贵州独山	14.41 ± 1.19 ^a	12.78 ± 3.22 ^a	6.00 ± 1.00 ^b
云南孟连	35.88 ± 10.22 ^b	33.57 ± 13.18 ^b	6.22 ± 0.83 ^b

同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著,相同字母表示不显著

Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at the 0.05 level, while the same letters indicate no significant difference

表 3 共有内生真菌的差异性分析

Table 3 Difference analysis of common endophytic fungi

比较组	小戴维氏壳属		帚枝霉菌属		赤霉菌属		黑团孢属		小丛壳属	
	P. unadj	P. adj	P. unadj	P. adj	P. unadj	P. adj	P. unadj	P. adj	P. unadj	P. adj
AHHS vs GZDS	0.54	1.00	0.89	1.00	0.120	0.36	0.67	1.00	0.10	0.29
AHHS vs YNML	0.07	0.21	0.77	1.00	0.004*	0.01*	0.54	1.00	0.23	0.69
GZDS vs YNML	0.23	0.68	0.67	1.00	0.200	0.54	0.30	0.90	0.68	1.00

P. unadj 为未矫正 P 值; P. adj 为矫正后 P-value; 表中*表示在 0.05 水平差异显著

P. unadj is uncorrected P-value; P. adj is the corrected P-value; *in the table indicates significant difference at the 0.05 level

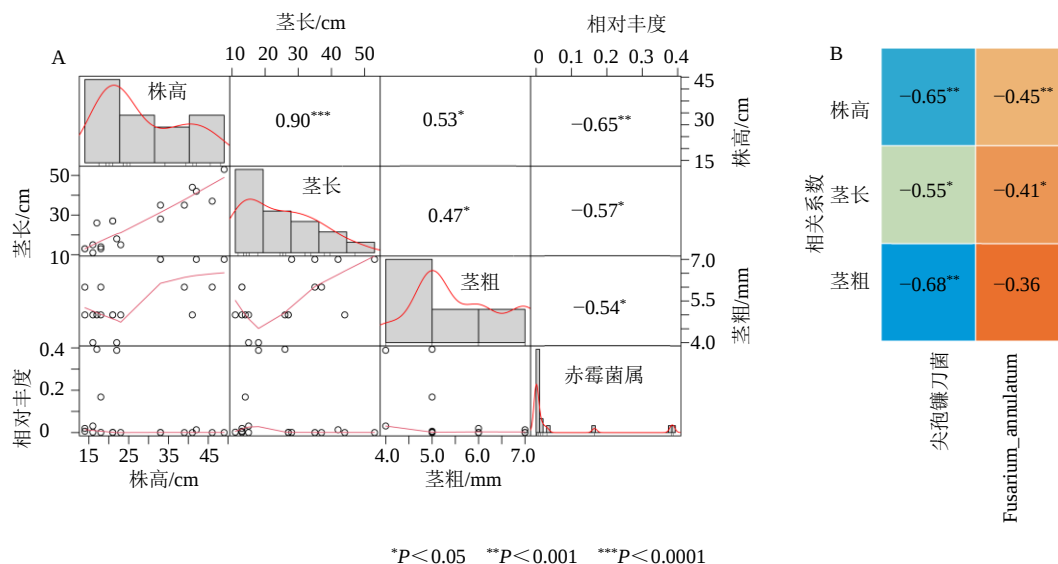


图 4 农艺性状与属水平 (A) 和种水平 (B) 内生真菌的相关性分析

Fig. 4 Result of correlation analysis between agronomic trait and endophytic fungi at genus (A) and species (B) level

4 讨论

本研究分析了不同产地人工种植铁皮石斛株高、茎长和茎粗的生长状况,比较了不同产地间人

析,筛选出相对丰度排名前 20 且 3 个产地均有 2/3 以上样本都能检测出的内生真菌属进行多重比较,结果发现获得的 5 个共有属中仅赤霉菌属 (*Gibberella* Sacc.) 在 AHHS 和 YNML 产地间具有显著差异(表 3)。而 AHHS 和 YNML 产地的铁皮石斛在株高、茎长、茎粗农艺性状上均具有显著性水平差异(表 2)。将赤霉菌属与铁皮石斛株高、茎长、茎粗进行相关性分析,发现赤霉菌属的丰度与宿主的株高、茎长和茎粗具有显著相关性 ($P < 0.05$),呈负相关(图 4-A)。尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 和 *Fusarium annulatum* 为赤霉菌属中的 2 个种,进一步将尖孢镰刀菌和 *Fusarium annulatum* 与宿主农艺性状作相关性分析,发现尖孢镰刀菌与宿主的株高、茎长和茎粗具有显著相关性 ($P < 0.05$),呈负相关;而 *Fusarium annulatum* 菌仅与宿主的株高和茎长具有显著相关性 ($P < 0.05$),呈负相关(图 4-B)。

工种植铁皮石斛 3 种农艺性状的差异,并对内生真菌与农艺性状进行相关性分析,明确了不同产地之间铁皮石斛主要农艺性状的差异以及茎中内生真菌

的结构组成,初步探索了内生真菌与宿主农艺性状差异产生的相关性。本研究表明,不同产地间人工种植铁皮石斛株高、茎长和茎粗表现出显著差异,且与产地间共有内生真菌赤霉菌属丰度呈负相关。

通过比较不同产地药用植物内生真菌结构,发现不同产地间内生真菌的种属组成不同、优势属不同。从门的水平上来看,不同地区的铁皮石斛内生真菌被注释到子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、子囊菌类门(Asmycota)。所有的样本中超过 99%的内生真菌在门水平获得注释,说明本次注释具有很高的覆盖率。其中 Ascomycota 为相对丰度最高的门,依次为担子菌门和子囊菌门,这与毛益婷等^[17]的研究结果相似,但在他们的研究中并未发现子囊类菌门。从属的水平上来说,在不同样本组中均存在明显的优势属,石座菌属为 AHHS 产地的优势属内生真菌,小戴维斯壳属为 GZDS 产地中内生真菌优势属,小戴维斯壳属为 YNML 样本组中内生真菌优势属。3 个产地的研究结果均与陈泽斌等^[18]认为构巢裸壳孢菌 *Emericella nidulans* 为铁皮石斛叶中内生真菌的优势真菌群的研究结果不同,这可能因为样本为不同组织或者不同生存环境有关。

对人参^[19]、黄芪^[20]等植物内生真菌群落结构及多样性分析表明赤霉菌属真菌的宿主较为广泛,其在植物中能引起宿主发病,如小麦赤霉病^[21]、玉米穗腐病^[22]和水稻恶苗病^[23]等。本研究中,在 3 个产地铁皮石斛茎中属水平平均检测到赤霉菌属真菌,在种水平被注释为尖孢镰刀菌和 *Fusarium annulatum*。其中尖孢镰刀菌菌株被证实对苜蓿幼苗根部病害的严重程度和生长有显著影响,尤其对苜蓿株高以及根系的影响较显著($P < 0.05$)^[24];而 *Fusarium annulatum* 未有相关报道。在本课题组的研究中发现 AHHS 与 YNML 铁皮石斛株高、茎长和茎粗具有差异,其中这些茎的农艺性状与共有内生菌赤霉菌属具有显著负相关性,进一步对注释为赤霉菌属的尖孢镰刀菌和 *Fusarium annulatum* 的 2 个种与宿主的农艺性状做相关性分析表明不同产地铁皮石斛农艺性状差异受尖孢镰刀菌和 *Fusarium annulatum* 丰度的影响,从而引起 AHHS 与 YNML 产地铁皮石斛农艺性状差异。

综合以上分析看出,赤霉菌属内生真菌与植物农艺性状形成有密切关系,丰度越高影响越显著。

此结果为当前人工种植铁皮石斛赤霉菌属病原菌生物防治具有重要指导意义,为提高人工种植铁皮石斛品质做出贡献。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 295.
- [2] Tang H X, Zhao T W, Sheng Y J, et al. *Dendrobium officinale* kimura et migo: A review on its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, and industrialization [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 7436259.
- [3] 陶丽莉. 珍稀濒危植物野生铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)种质资源的保护与利用研究 [J]. *花卉*, 2019(2): 20-21.
- [4] 毛文龙, 沃林峰, 刘涛, 等. 浙江地区铁皮石斛设施栽培管理技术要点 [J]. *南方农业*, 2019, 13(23): 10-11.
- [5] 方建华, 范传颖, 陈华进, 等. 铁皮石斛不同产地的品质比较 [J]. *浙江农业科学*, 2017, 58(10): 1755-1756.
- [6] Yan L, Zhu J, Zhao X X, et al. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(8): 3327-3340.
- [7] Chen J H, Li L L, Tian P W, et al. Fungal endophytes from medicinal plant *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. F. promote the host plant growth and phenolic accumulation [J]. *S Afr N J Bot*, 2021, 143: 25-32.
- [8] Waqas M, Khan A L, Kamran M, et al. Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress [J]. *Molecules*, 2012, 17(9): 10754-10773.
- [9] Qin Y, Pan X Y, Kubicek C, et al. Diverse plant-associated pleosporalean fungi from saline areas: Ecological tolerance and nitrogen-status dependent effects on plant growth [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 158.
- [10] 任颖. 深色有隔内生真菌和绿色木霉对黄芪促生抗旱研究 [D]. 保定: 河北大学, 2019.
- [11] 沈湛云, 朱波, 张泉龙, 等. 不同产地玄参内生真菌种群结构的比较分析 [J]. *中草药*, 2019, 50(4): 957-962.
- [12] 张青青, 董醇波, 梁宗琦, 等. 不同产地杜仲树皮可培养内生真菌群落组成和多样性 [J]. *菌物学报*, 2021, 40(10): 2685-2699.
- [13] Jia M, Chen L, Xin H L, et al. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: A systematic review [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 906.
- [14] Dong C B, Shao Q Y, Zhang Q Q, et al. Preferences for core microbiome composition and function by different definition methods: Evidence for the core microbiome of

- Eucommia ulmoides* bark [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 790: 148091.
- [15] Wu Q F, He L M, Gao X Q, *et al.* Diversity of endophytic fungal community in leaves of *Artemisia argyi* based on high-throughput amplicon sequencing [J]. *Pol J Microbiol*, 2021, 70(2): 273-281.
- [16] Jahromi M S, Azizi A, Soltani J. Diversity and spatiotemporal distribution of fungal endophytes associated with *Salvia multicaulis* [J]. *Curr Microbiol*, 2021, 78(4): 1432-1447.
- [17] 毛益婷, 代晓宇, 马荣. 不同生境下野生铁皮石斛内生真菌多样性的初步研究 [J]. 新疆农业大学学报, 2011, 34(3): 234-238.
- [18] 陈泽斌, 李冰, 王定康, 等. 铁皮石斛叶片内生真菌多样性的研究 [J]. 福建农业学报, 2015, 30(10): 978-983.
- [19] 孙海明, 王晶, 王金龙. 3 种转化人参皂苷 CK 菌群的结构与多样性 [J]. 北华大学学报: 自然科学版, 2021, 22(4): 467-471.
- [20] 刘蓬蓬, 陈江宁, 贾天柱. 基于 Illumina MiSeq 高通量测序分析黄芩内生真菌的多样性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(12): 34-38.
- [21] 张晓军, 肖进, 王海燕, 等. 小偃麦衍生品系的赤霉病抗性评价 [J]. 作物学报, 2020, 46(1): 62-73.
- [22] 纪武鹏, 王平. 黑龙江农垦玉米穗腐病发生情况调查 [J]. 农业科技通讯, 2021(7): 49-51.
- [23] 张洪瑞, 杨军, 袁守江, 等. 山东省水稻恶苗病病原菌的研究 [J]. 山东农业科学, 2019, 51(7): 80-82.
- [24] 蔡文涌, 王肖肖, 方香玲. 不同尖孢镰刀菌菌株对紫花苜蓿幼苗生长的影响 [J]. 草地学报, 2020, 28(5): 1233-1239.

[责任编辑 时圣明]