研究报告

DOI: 10. 14188/j. ajsh. 20240325001

野生油茶根系内生真菌群落组成与分布

欧阳建萍 1,3 , 石帆顺 1,3 , 陈 双 1,3 , 王玲珏 4 , 何 刚 1,2,3 , 张红芳 1,3 , 孙启彪 1,2,3 , 李晓红 1,2,3 , 陈 晔 1,2,3 *

- (1. 九江学院 药学与生命科学学院,江西 九江 332005;
- 2. 九江学院 流域生态过程与信息江西省重点实验室,江西 九江 332005;
 - 3. 九江市真菌资源保育及应用重点实验室,江西 九江 332005;
 - 4. 江西生物科技职业学院,江西 南昌 330200)

摘要:以8省13个样地的野生油茶为研究对象,采用传统分离培养技术与形态学和分子生物学方法相结合,研究不同地区野生油茶根系内生真菌多样性组成和分布。结果显示:从2600个野生油茶根系组织样品中分离得到1430株内生真菌,除26株分类地位未明确外,共51属117个分类单元;从分离率和定殖率来看,不同地区野生油茶根系内生真菌定殖率和分离率分别介于3%~74%和3%~89%,均存在明显差异;多样性指数结果表明,连云港和吊罗山两地的野生油茶根系内生真菌多样性较丰富;相似性系数分析显示,婺源与丹江口之间野生油茶根系内生真菌相似性最高(CS=0.60);通过多重对应分析发现不同经纬度和海拔对野生油茶内生真菌菌群组成影响较大。研究结果有助于认识野生油茶内生真菌多样性组成和分布规律,为进一步探索开发利用野生油茶内生真菌资源提供理论依据。

关键词:油茶;内生真菌;物种多样性;群落结构;生态分布

中图分类号: Q-9

文献标志码:A

文章编号:2096-3491(2024)05-0428-09

Composition and distribution of endophytic fungal communities of wild Camellia oleifera roots

OUYANG Jianping^{1,3}, SHI Fanshun^{1,3}, CHEN Shuang^{1,3}, WANG Lingjue⁴, HE Gang^{1,2,3}, ZHANG Hongfang^{1,3}, SUN Qibiao^{1,2,3}, JI Xiaohong^{1,2,3}, CHEN Ye^{1,2,3*}

- (1. College of Pharmacy and Life Sciences, Jiujiang University, Jiujiang 332005, Jangxi, China;
- 2. Key Laboratory of Watershed Ecological Process and Information of Jiangxi Province, Jiujiang University, Jiujiang 332005, Jiangxi, China; 3. Jiujiang Key Lab of Fungal Resources Conservation and Utilization, Jiujiang 332005, Jiangxi, China;
 - 4. Jiangxi Biotech Vocational College, Nanchang 330200, Jiangxi, China)

Abstract: The traditional separation and cultivation methods were used in combination with morphological and molecular biological methods to study the composition and distribution of endophytic fungal diversity in the roots of wild *C. oleifera* from 13 sample sites in 8 provinces. The results showed that 1 430 strains of endophytic fungi were isolated from 2 600 samples of wild oil tea root tissues, with a total of 51 genera and 117 taxa, except for 26 strains whose taxonomic

收稿日期: 2023-03-25 修回日期: 2024-06-13 接受日期: 2024-10-14

作者简介: 欧阳建萍(1986 -),女,助教,研究方向为真菌多样性。E-mail: 86956564@qq.com

^{*} 通讯联系人: 陈晔(1966 -), 男, 教授, 研究方向为内生真菌资源多样性及应用。E-mail: chenyejjtc@126. com

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060010); 九江市高层次科技创新人才项目(S2022QNZZ059); 江西省大学生创新创业训练计划项目(S202311843003)

引用格式:欧阳建萍,石帆顺,陈双,等. 野生油茶根系内生真菌群落组成与分布[J]. 生物资源, 2024, 46(5): 428-436.

Ouyang J P, Shi F S, Chen S, et al. Composition and distribution of endophytic fungal communities of wild Camellia oleifera roots [J]. Biotic Resources, 2024, 46(5): 428-436.

生物资源 ・ 429 ・

status was not clear. The colonization and isolation rates of the endophytic fungi in different regions ranged from 3% to 74% and 3% to 89%, respectively, with significant differences. The endophytic fungal diversities of wild *C. oleifera* roots in Lianyungang and Diaoluo Mountain were abundant. The endophytic fungi of wild *C. oleifera* roots in Wuyuan and Danjiangkou had the highest similarity (CS=0.60). Through multiple correspondence analysis, it was found that different latitude, longitude and altitude had a great influence on the composition of endophytic fungal flora in wild *C. oleifera*. The results of this study are helpful to understand the composition and distribution of endophytic fungal diversity in wild *C. oleifera*, and provide theoretical basis for further exploration and utilization of endophytic fungal resources in wild *C. oleifera*.

Key words: Camellia oleifera; endophytic fungi; species diversity; community structure; ecological distribution

0 引言

内生真菌是指未被充分研究和利用的一大类人 侵健康植物组织但并不使寄主产生明显病症的真 菌^[1]。研究发现,内生真菌具有丰富的多样性和组 织特异性,其代谢产物与宿主有相同或者相似的生 理活性^[2],能促进植物生长、增强植物的抗逆性、提 高植物的成活率等^[3,4]。因此,植物内生真菌已成为 研究热点。

油茶(Camellia oleifera Abel.)是中国特有的纯 天然高级油料,主要分布在浙江、江西、湖南、广西等 南方亚热带地区的高山和丘陵地带[5]。茶油营养价 值丰富,茶粕还可用于医学、农学、生活用品行业[6]; 油茶壳可以用于食用菌的栽培,是一种很好的食用 菌培养基[7],也可加工成活性炭,具有很强的吸附能 力[8]。油茶花是优良的冬季蜜粉源植物,可以为采 粉动物提供花粉,促进植株授粉[9]。目前,对油茶的 研究主要集中于油茶林低产改造[10],油茶籽油的工 艺优化[11],油茶种植管理技术和病虫害的防控[12],油 茶良种的选育[13],油茶粕中茶皂素的工艺优化[14]等, 已取得了丰硕的成果。但关于油茶内生真菌多样性 研究虽有零星报道,如陈言柳等[15]以江西、湖南、福 建3个地点的油茶为材料,分离不同组织的内生真 菌,进行多样性分析和抑菌性分析,结果表明3个地 点的样品中,叶的内生真菌定殖率和分离率最高,而 树皮中的内生真菌多样性指数最高;邓丽峰等[16]以 海南省的60个油茶样品为实验材料,研究了油茶内 生真菌优势菌属及其抗氧化性;也有部分学者研究 油茶内生真菌的产酚、产黄酮等功能性菌株、促生菌 株、抗病菌株、拮抗菌株的筛选等[17-19]。可见对油茶 内生真菌的研究专注于一株或几株油茶栽培品种的 不同部位内生真菌的多样性,或者个别地区油茶内 生真菌多样性的研究,而对油茶内生真菌缺乏全面 系统的研究,尤其是对野生油茶的研究。

本文以野生油茶根系为研究对象,分析不同地 区野生油茶根系内生真菌的优势类群、多样性,探讨 其在不同地理位置的差异性和分布特征,为进一步 探究野生油茶根系内生真菌的开发利用提供理论 依据。

1 材料与方法

1.1 材料

根据野生油茶分布区并参考地理位置,设置了13个采样点(陕西镇安、陕西安康、浙江舟山、浙江遂昌、江苏连云港、安徽天堂寨、湖北丹江口、重庆丰都、江西庐山、江西婺源、江西全南、海南临高、海南吊罗山),采样地点分布见表1。每个样点设置5个20m×20m样方,样方之间的距离在100m以上,按照五点采样法采集油茶根样,除去枯枝落叶表层土后,运用索根法采集油茶根样,每株按东西南北4个方位,采集8~10段15~30cm长的细根,装入无菌自封袋中,放入低温采集箱内带回实验室。记录土壤类型、坡向、地理坐标、海拔以及样方内林下植物的种类等环境因素数据。

改良马铃薯葡萄糖琼脂(poto dextrose agar, PDA)培养基,(土豆250g,油茶叶100g,葡萄糖20

表 1 采样地点分布
Table 1 Distribution of sampling sites

| 采样地点 | 经纬度 | 海拔/m |
|-----------|--------------------------|--------|
| 海南省临高县 | 18°48′30″ N;109°50′25″ E | 32.47 |
| 海南省吊罗山 | 18°43′15″ N;109°52′15″ E | 905.28 |
| 江西省全南县 | 24°48′51″ N;114°31′32″ E | 321.93 |
| 江西省庐山保护区 | 29°28′39″ N;115°58′5″ E | 476.00 |
| 江西省婺源县 | 29°29′47″ N;117°41′25″ E | 266.00 |
| 重庆市丰都市 | 29°47′31″ N;107°38′18″ E | 546.60 |
| 浙江省遂昌县 | 28°28′10″ N;118°53′22″ E | 770.12 |
| 浙江省舟山市 | 29°57′17″ N;122°18′19″ E | 123.27 |
| 安徽省天堂寨 | 31°13′8″ N;115°42′37″ E | 737.90 |
| 湖北省丹江口市 | 32°36′37″ N;110°58′8″ E | 260.55 |
| 江苏省连云港市 | 34°39′25″ N;119°16′9″ E | 81.59 |
| 陕西省安康市汉滨区 | 32°41′56″ N;108°43′56″ E | 726.95 |
| 陕西省镇安县 | 33°15′22″ N;108°53′29″ E | 768.92 |

g,琼脂 20 g,水 1 000 mL,pH 自然)用于菌株分离、 纯化和保藏。

1.2 内生真菌的分离与纯化

除去油茶根表面的泥土和附属物,用超声清洗器对油茶根系进行清洗,依次按照无菌水(10 s),75% 乙醇(1 min),无菌水(1 min),0.1%次氯酸钠(2 min),无菌水(10 s),无菌水(10 s),无菌水(10 s)对油茶根系进行消毒处理。用最后一次冲洗的无菌水进行涂板培养,以检验根系表面是否消毒彻底。消毒后根系切成0.5 cm根段,接种到改良PDA培养基上,每个样地共接200个根系组织块,置28℃培养箱中培养,观察记录,发现组织块周围有菌丝长出立即将其转接到新的改良PDA培养基平板上,继续纯化直至获得菌落特征单一的菌株。纯化后的内生真菌菌株保存于九江市真菌资源保育及应用重点实验室。

1.3 内生真菌的鉴定

1.3.1 形态学鉴定

依据菌落颜色、纹饰、质地等特征,以及菌丝的形态、产孢形态结构和孢子形态等微观形态特征,并参考《真菌鉴定手册》[20]等相关文献进行鉴定。

1.3.2 分子生物学鉴定

采用氯化苄提取菌株 DNA^[21],利用真菌通用引物 ITS4 和 ITS5 对真菌的 ITS 序列进行扩增,扩增产物送上海生工进行测序。所得序列在美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)中进行同源性比对和分析,确定菌株分类地位,再选取代表菌株序列利用 MEGA 11.0 软件的最大似然法(maximum likelihood, ML)进行属级水平的分子系统发育分析。

1.4 数据统计分析

运用 Excel、Past4. 13. exe 对数据进行处理,运用 IBM SPSS statistics 26软件进行多重对应分析。

分离率(isolation rate, IR) = 内生真菌株数/组织块总数 $\times 100\%$

定殖率(colonization rate, CR) = 产菌组织块数/组织块总数 \times 100%

相对频率(relative frequency, RF) = 某种菌的 株数/菌株总数 \times 100%

Shannon - Wiener 指数: $H' = P_i =$ 某种菌的株数/菌株总数。

Simpson 多样性指数: $D=1-\sum(N_i/N)^2$

均匀度指数(evennesseindex): $E = H'/\ln(S)$

Margalef丰富度指数 $(d): d = \ln(S)/\ln(N)$ 式中,H'为 Shannon - Weiner指数;S为物种总个体 数量; N表示物种数量; d值越大物种丰富度越高。

Sorenson相似性指数:CS=2j/(a+b)式中,j为两个部位共有种数或属数;a是一个地点中内生真菌的种数或属数;b是另一地点中内生真菌的种数或属数。相似性指数反映两个不同部位中内生真菌种类组成的相似性程度。

2 结果与分析

2.1 野生油茶根系内生真菌分离结果

从13个地点的2600个油茶根系组织块中分离 出1430株内生真菌,不同地点分离获得的内生真菌 菌株数量存在明显差异,其中浙江遂昌分离到的最 多,共获得177株内生真菌,其次为陕西商洛获得 143株内生真菌,海南临高分离获得的内生真菌数 量最少,为5株:从定殖率和分离率来看,不同地点 野生油茶根系内生真菌定殖率和分离率存在一定的 差异性,其分离率由大到小的顺序为:浙江遂昌 (89%)>陕西镇安(72%)>江苏连云港(66%)>江 西庐山(64%)>重庆丰都(62%)>海南吊罗山 (61%)>安徽天堂寨(59%)>浙江舟山(56%)>陕 西安康(51%)>湖北丹江口(48%)、江西全南 (48%)>江西婺源(38%)>海南临高(3%):内牛真 菌定殖率大小顺序与分离率相似,不同点是安徽天 堂寨内生真菌定殖率(55%)>海南吊罗山(54%), 见表2。不同地点油茶根系的内生真菌菌株数量差 异性,可能与采样时间、气候环境不同以及内生真菌 分离随机性等因素相关。

表 2 野生油茶根系内生真菌的定殖率和分离率
Table 2 Colonization rate and isolation rate of endophytic fungi in root of wild Camellia oleifera

| | | | • | |
|------|------|-----|-------|-------|
| 采样地点 | 长菌块数 | 菌株数 | 分离率/% | 定殖率/% |
| 镇安 | 132 | 143 | 72 | 66 |
| 安康 | 100 | 102 | 51 | 50 |
| 全南 | 92 | 95 | 48 | 46 |
| 婺源 | 74 | 75 | 38 | 37 |
| 庐山 | 122 | 128 | 64 | 61 |
| 丰都 | 116 | 123 | 62 | 58 |
| 连云港 | 125 | 131 | 66 | 63 |
| 遂昌 | 148 | 177 | 89 | 74 |
| 舟山 | 107 | 111 | 56 | 54 |
| 天堂寨 | 110 | 117 | 59 | 55 |
| 丹江口 | 94 | 96 | 48 | 47 |
| 临高 | 5 | 5 | 3 | 3 |
| 吊罗山 | 108 | 121 | 61 | 54 |

生物资源 ・ 431 ・

2.2 野生油茶根系内生真菌种类组成

通过形态学和分子生物学相结合方法对分离获得的1430株内生真菌进行鉴定,共鉴定出1404株隶属于117个分类单元,26株未分类菌株,未分类菌株的ITS序列在GenBank数据库中比对,与其相似性较高的均为未知分类地位的菌株序列,而且这些

菌株均未产孢,难以通过形态学方法鉴定,因此将它们归为未分类菌株。由相对分离频率分析可知,油茶根系内生真菌的优势类群为青霉属(Pencillium)(29.53%)、芽枝霉属(Cladosporium)(5.38%)、柔膜菌目(Helotiales)(5.38%)、腐质霉属(Humicola)(3.71%),见表3。

表 3 油茶根系内生真菌的种类组成及相对频率

Table 3 Species composition and relative frequency of endophytic fungi in Camellia oleifera roots

| 分类单元 | 菌株数 相对频率/% | | 分类单元 | 菌株数 | 相对频 率/% |
|---|------------|------|---|-----|------------|
| Acremonium polychromum | 8 | 0.56 | 扩展青霉(Penicillium expansum) | 24 | 1.68 |
| Amauroascus purpureus | 4 | 0.28 | 光滑青霉(Penicillium glabrum) | 6 | 0.42 |
| Amorocoelophoma sp. | 1 | 0.07 | 梅花状青霉(Penicillium herquei) | 7 | 0.49 |
| 棘孢曲霉(Aspergillus aculeatus) | 3 | 0.21 | Penicillium italicum | 11 | 0.77 |
| 烟曲霉(Aspergillus fumigates) | 12 | 0.84 | 詹森青霉(Penicillium jensenii) | 39 | 2.73 |
| 米曲霉(Aspergillus oryzae) | 9 | 0.63 | Penicillium lenticrescens | 4 | 0.28 |
| 曲霉属(Aspergillus sp.) | 25 | 1.75 | 铅色青霉(Penicillium lividum) | 7 | 0.49 |
| Aspergillus steynii | 2 | 0.14 | 赭绿青霉(Penicillium ochrochloron) | 39 | 2.66 |
| 球孢白僵菌(Beauveria bassiana) | 1 | 0.07 | Penicillium ortum | 15 | 1.05 |
| Camposporium lycopodiellae | 2 | 0.14 | 简青霉(Penicillium simplicissimum) | 14 | 0.98 |
| Chaetomium amesii | 8 | 0.56 | 青霉属(Penicillium sp.) | 121 | 8.46 |
| 短毛毛壳菌(Chaetomium brevipilium) | 13 | 0.91 | Penicillium sumatraense | 3 | 0.21 |
| 毛霉属(Chaetomium sp.) | 5 | 0.35 | Penicillium swiecickii | 39 | 2.73 |
| 亚螺毛壳(Chaetomium subspirale) | 7 | 0.49 | Penicillium thomi | 9 | 0.63 |
| Chaetomium trigonosporum | 6 | 0.42 | 荨麻青霉(Penicillium urticae) | 10 | 0.70 |
| 枝状枝孢菌 (Cladosporium cladosporioides) | 14 | 0.98 | Penicillium virgatum | 2 | 0.14 |
| 耐盐枝孢菌(Cladosporium halotolerans) | 24 | 1.68 | Penicillium xanthomelinii | 2 | 0.14 |
| 枝孢菌属(Cladosporium sp.) | 39 | 2.73 | 肉色隔孢伏革菌(Peniophora incarnata) | 9 | 0.63 |
| 虫草属(Cordyceps sp.) | 21 | 1.47 | 卡弗拟盘多毛孢(Pestalotiopsis carveri) | 11 | 0.77 |
| Cryptosporiopsis ericae | 2 | 0.14 | 巨孢拟盘多毛孢(Pestalotiopsis caudata) | 5 | 0.35 |
| 拟隐孢壳属(Cryptosporiopsis sp.) | 10 | 0.70 | Pestalotiopsis trachicarpicola | 6 | 0.42 |
| 柱孢霉属(Cylindrocarpon sp.) | 6 | 0.42 | 欧石楠无柄盘菌(Pezicula ericae) | 40 | 2.80 |
| 间座壳属(Diaporthe sp.) | 6 | 0.42 | Pezicula sp. | 9 | 0.63 |
| 座囊菌属(Dothideomycetes sp.) | 5 | 0.35 | Phaeosphaeriopsis sp. | 1 | 0.07 |
| Eucalyptostroma sp. | 1 | 0.07 | Phialocephala sp. | 1 | 0.07 |
| Fungal sp. | 11 | 0.77 | 拟茎点霉属(Phomopsis sp.) | 24 | 1.68 |
| Furcasterigmium furcatum | 2 | 0.14 | Pleosporales sp. | 23 | 1.61 |
| 金黄尖镰孢菌(Fusarium oxysporum) | 7 | 0.49 | 短梗蠕孢菌(Pleotrichocladium opacum) | 15 | 1.05 |
| 层出镰刀菌(Fusarium proliferatum) | 3 | 0.21 | 玫红假裸囊菌(Pseudogymnoascus roseus) | 9 | 0.63 |
| 腐皮镰刀菌(Fusarium solani) | 11 | 0.77 | 茶拟盘多毛孢 (Pseudopestalotiopsis camelliae - sinensis) | 2 | 0.14 |
| 镰刀菌属(Fusarium sp.) | 1 | 0.07 | Pseudopestalotiopsis theae | 6 | 0.42 |
| 日规壳属(Gnomonia sp.) | 4 | | 淡紫拟青霉(Purpureocillium lilacinum) | 6 | 0.42 |
| 蜡钉菌科(Helotiaceae) | 4 | 0.28 | · 小孢拟棘壳孢(Pyrenochaetopsis americana) | 11 | 0.77 |
| 柔膜菌目(Helotiales) | 73 | 5.10 | Rhexocercosporidium sp. | 30 | 2.10 |
| Humicola homopilata | 22 | 1.54 | Sesquicillium microsporum | 7 | 0.49 |

续表

| 分类单元 | 菌株数 | 相对频 率/% | 分类单元 | 菌株数 | 相对频 率/% |
|--------------------------------------|-----|---------|--|-------|---------|
| 腐质霉属(Humicola sp.) | 31 | 2.17 | 瓜拟多隔孢菌(Stagonosporopsis cucurbitacearum) | 6 | 0.42 |
| Hyaloscypha vraolstadiae | 6 | 0.42 | 束梗孢属(Stilbella sp.) | 20 | 1.40 |
| 晶杯菌科(Hyaloscyphaceae) | 35 | 2.45 | 岛篮状菌(Talaromyces islandicus) | 1 | 0.07 |
| 脆形炭团菌(Hypoxylon fragiforme) | 9 | 0.63 | 肯德里克篮状菌(Talaromyces kendrickii) | 6 | 0.42 |
| 炭团菌(Hypoxylon sp.) | 9 | 0.63 | 褐红篮状菌(Talaromyces pinophilus) | 5 | 0.35 |
| 土赤壳属(Ilyonectria sp.) | 15 | 1.05 | 篮状菌属(Talaromyces sp.) | 17 | 1.16 |
| Leptodontidium sp. | 4 | 0.28 | 疣篮状菌(Talaromyces verruculosus) | 8 | 0.56 |
| 菜豆壳球孢菌(Macrophomina phaseoli- na) | 8 | 0.56 | 立枯丝核菌(Thanatephorus cucumeris) | 30 | 2.10 |
| Metarhizium aciculare | 2 | 0.14 | 弯颈霉属(Tolypocladium sp.) | 10 | 0.70 |
| 鳞腮绿僵菌(Metarhizium lepidiotae) | 6 | 0.42 | 高山弯颈霉(Tolypocladium tropicale) | 8 | 0.56 |
| 被孢霉属(Mortierella sp.) | 20 | 1.40 | Torula mackenziei | 35 | 2.45 |
| Mycoleptodiscus endophyticus | 5 | 0.35 | 深绿木霉(Trichoderma atroviride) | 5 | 0.35 |
| 炭垫菌属(Nemania sp.) | 17 | 1.19 | 康宁木霉(Trichoderma koningii) | 8 | 0.56 |
| Nigrograna sp. | 1 | 0.07 | 木霉属(Trichoderma sp.) | 5 | 0.35 |
| Nigrospora pyriformis | 2 | 0.14 | 螺旋木霉(Trichoderma spirale) | 23 | 1.61 |
| 拟青霉属(Paecilomyces sp.) | 5 | 0.35 | 绿色木霉(Trichoderma virens) | 1 | 0.07 |
| Penicillifer diparietisporus | 5 | 0.35 | 二型伞霉(Umbelopsis dimorpha) | 4 | 0.27 |
| 金灰青霉(Penicillium aurantiogriseum) | 16 | 1.12 | 矮小伞霉(Umbelopsis nana) | 1 | 0.07 |
| 巴西青霉(Penicillium brasilianum) | 17 | 1.19 | 伞形霉属(Umbelopsis sp.) | 2 | 0.14 |
| 桔青霉(Penicillium citrinum) | 12 | 0.84 | 微扁沃利雅炭皮菌(Whalleya microplaca) | 5 | 0.35 |
| Penicillium cosmopolitanum | 5 | 0.35 | 急尖炭角菌(Xylaria acuta) | 5 | 0.35 |
| 齿孢青霉(Penicillium daleae) | 8 | 0.56 | 树状炭角菌(Xylaria arbuscula) | 9 | 0.63 |
| 指状青霉(Penicillium digitatum) | 8 | 0.56 | 未分类菌株 | 26 | 1.82 |
| 棘刺青霉(Penicillium echinulatum) | 5 | 0.35 | 总株数 | 1 430 | |

2.3 不同地点野生油茶根系内生真菌多样性

Shannon-Wiener指数(H')越大,内生真菌菌群多样性越大,江苏连云港(0.95)和海南吊罗山(0.94)的内生真菌菌群多样性高于其他地区,海南临高的内生真菌菌群多样性最低。Simpson指数(D)越大,内生真菌群落多样性程度越高,江苏连云港(2.94)和海南吊罗山(2.91)的内生真菌群落多样

分析

性高于其他地区,陕西镇安的内生真菌群落多样性最低(1.08)。江苏连云港和海南吊罗山野生油茶根系内生真菌的 Margalef 丰富度指数分别为 3.90 和 3.96,表明该两地的油茶内生真菌更丰富,见表 4。

2.4 不同地区野生油茶根系内生真菌菌群相似 性分析

由表 5 可知,不同地区野生油茶根系内生真菌菌群相似性较低,相似性系数在 0.13~0.60,处于中等相似性以下,其中婺源与丹江口的菌群相似系数最大(0.60),说明这 2 个样地油茶根系内生真

表 4 不同地区野生油茶根系内生真菌多样性分析
Table 4 Analysis of diversity of endophytic fungi from wild *C. oleifera* roots in different areas

| 采样地点 | Shannon | Simpson | Evennesse | Margalef |
|--------------|---------|---------|-----------|----------|
| 71411 203.11 | (H') | (D) | (E) | (d) |
| 镇安 | 0.55 | 1.08 | 0.59 | 0.80 |
| 安康 | 0.89 | 2.44 | 0.77 | 3.03 |
| 全南 | 0.93 | 2.58 | 1.02 | 2.64 |
| 婺源 | 0.91 | 2.49 | 0.92 | 2.68 |
| 庐山 | 0.74 | 1.76 | 0.64 | 1.64 |
| 丰都 | 0.91 | 2.44 | 0.89 | 2.46 |
| 连云港 | 0.95 | 2.94 | 0.95 | 3.90 |
| 遂昌 | 0.79 | 2.20 | 0.53 | 3.07 |
| 舟山 | 0.91 | 2.56 | 0.86 | 2.97 |
| 天堂寨 | 0.85 | 2.25 | 0.68 | 2.73 |
| 丹江口 | 0.74 | 1.81 | 0.68 | 1.75 |
| 临高 | 0.60 | 0.77 | 1.08 | 0.62 |
| 吊罗山 | 0.94 | 2.91 | 0.92 | 3.96 |

生物资源 ・ 433 ・

菌种类组成最为相似;其次是安康与连云港(0.59)、婺源与丰都(0.58)、丰都与天堂寨(0.44)。临高与其他地点的相似性系数介于0.13~0.31,说明临高与其他地点内生真菌的菌群组成差异较大,其中与丰都的菌群相似系数最小(0.13),说明这2个样地油茶根系内生真菌种类组成差异较大。

2.5 野生油茶根系内生真菌与地理位置间的相 关性分析

2.5.1 对应分析的适用性检验

回归分析用于研究两个或更多变量之间的相关性统计,当存在多个自变量时,可采用多元线性回归方法分析自变量对因变量影响的显著性,将相关性不大的因素剔除,以优化效果,从而更稳定地进行多重对应分析[21]。

将经纬度和海拔高度列表进行多元线性回归分析,海拔和经纬度对属的数量具有显著影响(P<0.05),海拔和经纬度对属的数量的影响占30.8%,其中纬度对属的数量的影响是负相关,经度和海拔对属的数量的影响是正相关,见表6和表7。

2.5.2 多重对应分析

根据采样地点的地理分布,将纬度分为(1=18~25°N、2=25~32°N、3=32~39°N、4=39~46°N)4个范围,将经度分为(1=107~113°E、2=113~119°E、3=119~125°E、4=125~131°E),海拔高度分为34~256 m、257~479 m、480~702 m、703~925 m。根据经纬度和海拔高度将数据输入 SPSS 进行多重对应分析内生真菌菌属与经度、纬度和海拔高度之间的联系[22]。

由图1可以看出,油茶根系内生真菌的属与经度、纬度、海拔高度之间均呈锐角,说明它们之间都有联系,其中与海拔的关联最大,其次是纬度。由图2可以看出,在东经119~124°,北纬32~38°的位置、东经125~130°,北纬39~45°的位置和东经113~118°、北纬25~31°、海拔480~702 m的位置分离不同属的真菌的概率大,说明油茶根系内生真菌在这些地理位置菌群复杂程度高。

3 结 论

有研究通过形态特征观察和ITS序列分析相结合的方法,鉴定分离获得1464株野生油茶根系内生真菌,结果表明油茶根系内生真菌具有丰富的物种多样性[15,17-19]。大多数学者对油茶植株内生真菌种群的研究结果表明,油茶内生真菌常见类群主要有青霉属、链格孢属、刺盘孢属、拟茎点属、刺盘孢属、镰孢霉属以及无孢菌类真菌[15,17-19];野生油茶内生真菌优势类群为青霉属、芽枝霉属、柔膜菌目、腐质霉属等,这一结果与前人的研究基本相似[15,17-19],其中青霉属在自然界广泛分布,能在多种生境、多种类型的植物组织中定殖,常常在植物内生真菌群落中占据优势,这可能与其产孢量大,适应性强相关。

本研究还探讨了油茶内生真菌在不同地区间分布的差异。研究发现,野生油茶根系内生真菌菌群除了共有的优势菌群外,各地区具有各自的优势菌群,此结果与前人的研究结果相符^[15-18],说明同种植物在不同的地理区域具有不同的内生真菌类群。通过多重对应分析发现在东经119~124°,北纬32~38°的位置、东经125~130°,北纬39~45°的位置和东

表 5 不同地区野生油茶根系内生真菌相似性系数

Table 5 Similarity coefficient of endophytic fungi in wild C. oleifera roots from different areas

| 地点 | 镇安 | 安康 | 全南 | 婺源 | 庐山 | 丰都 | 连云港 | 遂昌 | 舟山 | 天堂寨 | 丹江口 | 临高 | 吊罗山 |
|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 镇安 | 0.00 | 0.40 | 0.44 | 0.25 | 0.43 | 0.44 | 0.25 | 0.19 | 0.22 | 0.42 | 0.43 | 0.29 | 0.25 |
| 安康 | | 0.00 | 0.50 | 0.46 | 0.42 | 0.43 | 0.59 | 0.39 | 0.36 | 0.55 | 0.50 | 0.24 | 0.47 |
| 全南 | | | 0.00 | 0.50 | 0.27 | 0.46 | 0.44 | 0.41 | 0.46 | 0.52 | 0.55 | 0.27 | 0.44 |
| 婺源 | | | | 0.00 | 0.50 | 0.58 | 0.40 | 0.44 | 0.50 | 0.56 | 0.60 | 0.31 | 0.33 |
| 庐山 | | | | | 0.00 | 0.45 | 0.29 | 0.40 | 0.36 | 0.35 | 0.22 | 0.18 | 0.21 |
| 丰都 | | | | | | 0.00 | 0.25 | 0.34 | 0.46 | 0.44 | 0.27 | 0.13 | 0.38 |
| 连云港 | | | | | | | 0.00 | 0.34 | 0.38 | 0.42 | 0.43 | 0.19 | 0.26 |
| 遂昌 | | | | | | | | 0.00 | 0.34 | 0.40 | 0.24 | 0.22 | 0.23 |
| 舟山 | | | | | | | | | 0.00 | 0.30 | 0.27 | 0.13 | 0.25 |
| 天堂寨 | | | | | | | | | | 0.00 | 0.43 | 0.25 | 0.36 |
| 丹江口 | | | | | | | | | | | 0.00 | 0.18 | 0.36 |
| 临高 | | | | | | | | | | | | 0.00 | 0.19 |
| 吊罗山 | | | | | | | | | | | | | 0.00 |

表6 对应分析的适用性检验模型

Table 6 Applicability testing model for correspondence analysis

| | 模型摘要b | | | | | | | |
|----|---|-------|-------|-------|-------|--|--|--|
| 模型 | R R ² 调整后 R ² 标准估算的错误 德宾-沃森 | | | | | | | |
| 1 | 0.555a | 0.308 | 0.295 | 3.221 | 0.274 | | | |

a. 预测变量:(常量),海拔,经度,纬度;b. 因变量:属/个

经 113~118°、北纬 25~31°、海拔 480~702 m 的位置

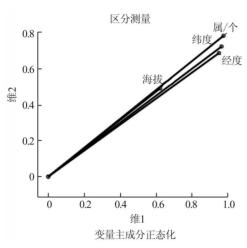


图 1 基于 SPSS 多重对应分析的油茶根系内生真菌的变量主成分分析

Fig. 1 Variable principal component analysis of endophytic fungi in *C. oleifera* roots based on SPSS multiple correspondence analysis

相对容易分离不同属的菌,表明植物内生真菌的分布与海拔和经纬度有一定相关性[23-26]。本研究结果为进一步探究野生油茶在不同地区生态适应与其根系内生真菌群落的关系以及科学合理利用野生油茶内生真菌资源奠定基础。

参考文献

[1] 梁宇, 高玉葆. 内生真菌对植物生长发育及抗逆性的 影响[J]. 植物学通报, 2000, 17(1): 52-59.

Liang Y, Gao Y B. Effects of endophyte infection on

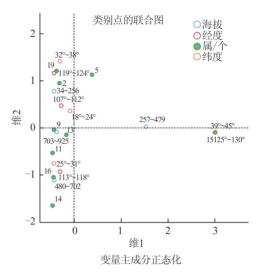


图 2 基于 SPSS 多重对应分析的油茶根系内生真菌的经 纬度、海拔分布

Fig. 2 Longitude, latitude and altitude distribution of endophytic fungi in *C. oleifera* roots based on SPSS multiple correspondence analysis

growth, development and stress resistance of plants [J]. Chin Bull Bot, 2000, 35(1): 52-59.

[2] 毕江涛,马萍,杨志伟,等.药用植物柽柳内生真菌分离及其抑菌活性初步研究[J].草业学报,2013,22(3):132-138.

Bi J T, Ma P, Yang Z W, et al. Isolation of endophytic fungi from the medicinal plant *Tamarix chinensis* and their microbial inhibition activity [J]. Acta Prataculturae Sin, 2013, 22(3): 132-138.

[3] 赵心阳,曹艳阳,潘雨晴,等. 杭锦旗野生甘草内生真菌的分离鉴定及其抗氧化和抑菌活性分析[J/OL]. 分子植物育种, https://link. cnki. net/urlid/46. 1068. S. 20240308. 1656. 012.

Zhao X Y, Cao Y Y, Pan Y Q, *et al.* Isolation and identification of endophytic fungi of wild licorice in Hangjin Banner and their antioxidant and antibacterial activities [J/OL]. Molecular Plant Breeding, https://link.cnki.net/urlid/46.1068. S. 20240308. 1656.012.

[4] 张清华,连鑫坤,刘雨菁,等.桉树叶片内生真菌多样

表 7 对应分析的适用性检验结果

Table 7 Applicability test results of correspondence analysis

| | | | 系 | 数。 | | | |
|-------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|
| # III | 未标准 | 未标准化系数 | | 系数 | | 共线性统计 | |
| 模型 | В | 标准错误 | Beta | Т | 显著性 | 容差 | VIF |
| 常量 | 7.294 | 1.213 | | 6.011 | 0.000 | | |
| 经度 | 2.465 | 0.366 | 0.604 | 6.736 | 0.000 | 0.558 | 1.791 |
| 纬度 | -0.941 | 0.393 | -0.216 | -2.392 | 0.018 | 0.551 | 1.814 |
| 海拔 | 1.567 | 0.255 | 0.476 | 6.155 | 0.000 | 0.752 | 1.330 |

a. 因变量:属/个

生物资源 ・ 435 ・

性及抗桉树焦枯病菌筛选[J]. 森林与环境学报, 2018, 38(1): 104-110.

- Zhang Q H, Lian X K, Liu Y J, et al. Diversity of endophytic fungi of *Eucalyptus* spp. and their antifungal activity against *Calonectria pseudoreteaudii* [J]. Journal of Forest and Environment, 2018, 38(1): 104-110.
- [5] 夏剑萍,徐红梅,查玉平,等.油茶家养蜂授粉研究与应用现状[J]. 湖北林业科技,2023,52(1):59-62.

 Xia J P, Xu H M, Zha Y P, et al. Research and application beekeeping pollination in Camellia oleifera [J]. Hubei Forestry Science and Technology, 2023, 52(1):59-62.
- [6] 田仟仟,黄建建,温强,等.油茶分子育种现状与趋势 [J]. 南方林业科学, 2021, 49(5): 53-58,73. Tian Q Q, Huang J J, Wen Q, et al. The current situation and trend of molecular breeding in oil-tea camellia [J]. South China Forestry Science, 2021, 49(5): 53-59,73.
- [7] 张琰,张淼. 信阳市油茶产业发展问题研究[J]. 河南林业科技, 2016, 36(1): 31-35.

 Zhang Y, Zhang M. On the problems in the development of *Comellia oleifera* industry in Xinyang city [J].

 Journal of Henan Forestry Science and Technology, 2016, 36(1): 31-35.
- [8] 夏美玲,王允圃,张淑梅,等.油茶壳综合利用研究进展[J]. 生物质化学工程, 2011, 55(6): 26-38.

 Xia M L, Wang Y P, Zhang S M, et al. Research progresson comprehensive utilization of Camellia oleifera abel shell [J]. Biomass Chemical Engineering, 2011, 55 (6):26-38.
- [9] 刘晓敏, 邓先伦, 郭昊, 等.油茶壳活性炭的制备及其吸附性能研究[J].安徽农业科学, 2012, 40(13): 7901-7904.
 - Liu X M, Deng X L, Guo H, *et al*. Study on preparation of activated carbon from oil camellia shell and its adsorption performance [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(13): 7901-7904.
- [10] 肖新意, 邹英武, 江迎春, 等. 油茶低产林高接技术试验研究[J]. 湖北林业科技, 2023, 52(4): 22-25.

 Xiao X Y, Zou Y W, Jiang Y C, et al. Top grafting technique in low-yield stands of Camellia oleifera [J].

 Hubei Forestry Science and Technology, 2023, 52(4): 22-25.
- [11] 柳奕扬, 赵圣圣, 袁传勋, 等. 超声波辅助提取油茶籽油 的工艺优化研究[J]. 农产品加工, 2022, (23): 39-42.
 Liu Y Y, Zhao S S, Yuan C X, et al. Optimization of ul-
 - Liu Y Y, Zhao S S, Yuan C X, et al. Optimization of ultrasonic assisted extraction of *Camellia oleifera* seed oil [J]. Farm Products Processing, 2022, (23): 39-42.

[12] 江旭敏,朱志军,陈佳涛,等.油茶低产林改造技术及 其病虫害防治策略探析[J].农业灾害研究,2023,13 (8):96-98.

- Jiang X M, Zhu Z J, Chen J T, et al. Analysis on the transformation technology of low yield *Camellia oleifera* forest and its pest and disease control strategies [J]. Journal of Agricultural Catastrophology, 2023, 13(8): 96-98.
- [13] 谭新建, 晏巢, 钟秋平, 等. 我国油茶良种选育及推广应用[J]. 世界林业研究, 2023, 36(2): 108-113.

 Tan X J, Yan C, Zhong Q P, et al. Breeding, promotion and application of improved oil-tea cultivar in China [J]. World Forestry Research, 2023, 36(2): 108-113.
- [14] 向婷婷. 野生油茶种质资源调查评价及群体遗传结构研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2022.

 Xiang T T. Study on the germplasm investigation, evaluation and population genetics of wild oil-tea camellia [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2022.
- [15] 陈言柳, 裴男才, 吴斐, 等. 不同地区油茶内生真菌多样性及其抑菌活性[J]. 生物灾害科学, 2018, 41(4): 261-267.
 - Chen Y L, Pei N C, Wu F, *et al.* Diversity and antibacterial activity of endophytic fungi from *Camellia oleifera* in different regions [J]. Biological Disaster Science, 2018, 41(4): 261-267.
- [16] 邓丽峰, 张军锋, 吴友根, 等. 海南油茶内生真菌抗氧 化活性测定及化学成分分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(3): 995-1005.
 - Deng L F, Zhang J F, Wu Y G, et al. Analysis of endophytic fungi and fermentation products of *Camellia* from Hainan [J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(3): 995-1005.
- [17] 张婷,左雪枝,徐艳.油茶内生真菌多样性与抑菌性研究[J].河南农业科学,2017,46(4):68-74.

 Zhang T, Zuo X Z, Xu Y. Diversity, antimicrobial activity of endophytic fungi from *Camellia oleifera* [J].

 Journal of Henan Agricultural Sciences, 2017, 46(4):68-74.
- [18] 周希, 张婷, 张苗, 等.油茶内生真菌的分离[J]. 安徽 农业科学, 2012, 40(16): 8958 8959.

 Zhou X, Zhang T, Zhang M, et al. Isolation of endophytic fungi from Camellia oleifera [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(16): 8958-8959
- [19] 胡江昕.油茶叶部内生真菌物种多样性及抑炭疽菌活性研究[D]. 合肥:安徽农业大学, 2023.
 Hu J X. Study on species diversity of endophytic fungi in leaf of *Camellia oleifera* and its antifungal activity against *Colletotrichum fructicola* [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2023.

- [20] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
 - Wei J C. Fungal identification handbook [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979.
- [21] 张莉莉, 张苓花, 史剑斐, 等. 利用氯化苄提取真菌基 因组 DNA 及其分子生物学分析[J]. 大连轻工业学院 学报, 2000, (1): 36-39.
 - Zhang L L, Zang L H, Shi J F, *et al*. Isolation and molecular biologica lanalyses of genomic DNAs from fungiusing benzyl chloride [J]. Journal of Dalian Polytechnic University, 2000, (1): 36-39.
- [22] 李晓涵. 基于多元线性回归分析模型的中国海洋经济 发展与交通关系浅析[J]. 交通节能与环保, 2023, 19 (2): 35-38.
 - Li X H. Analysis of the relationship between China's marine economic development and transportation based on multiple linear regression analysis model [J]. Transport Energy Conservation & Environmental Protection, 2023, 19(2): 35-38.
- [23] Choupani Chaydarreh K, Lin X Y, Guan L T, *et al.* Interaction between particle size and mixing ratio on porosity

- and properties of tea oil camellia (*Camellia oleifera* Abel.) shells-based particleboard [J]. Journal of Wood Science, 2022, 68(1): 43.
- [24] Kondratev N, Middleditch M J, Denton-Giles M, *et al.* The secreted proteome of necrotrophic *Ciborinia camelliae* causes nonhost-specific virulence [J]. Plant Pathology, 2022, 71(2): 437-445.
- [25] Mehmood T, Khan A U, Raj Dandamudi K P, et al. Oil tea shell synthesized biochar adsorptive utilization for the nitrate removal from aqueous media [J]. Chemosphere, 2022, 307(Pt 3): 136045.
- [26] 毛黎娟, 冯佳威, 章初龙. 四绺孢球腔菌科真菌地理 分布及其生态学功能[J]. 菌物学报, 2021, 40(10): 2854-2862.

Mao L J, Feng J W, Zhang C L. Geographic distribution and ecological functions of Tetraplosphaeriaceae [J]. Mycosystema, 2021, 40(10): 2854-2862.

(编辑:杨晓翠)