

怀牛膝可培养内生真菌的多样性研究

孙思胜¹, 张晓娟^{2*}, 马传贵³, 刘洋洋⁴, 陈林⁵, 张岗⁶ (1. 许昌学院食品与药学院/河南省食品安全生物标识快检技术重点实验室, 河南许昌 461000; 2. 军事科学院军需工程技术研究所, 北京 100010; 3. 北京京诚生物科技有限公司, 北京 102600; 4. 中国医学科学院药用植物研究所海南分所, 海南海口 570216; 5. 黄河科技学院, 郑州市天然产物合成生物学重点实验室, 河南省小分子新药研发国际联合实验室, 河南郑州 450063; 6. 陕西中医药大学药学院/陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 陕西咸阳 712046)


摘要 [目的]探讨道地药材怀牛膝(*Achyranthes bidentata* Blume)内生真菌的多样性组成及定殖情况。[方法]通过组织块分离法,选取二年生怀牛膝茎部和根部作为分离对象,进行内生真菌分离,并采用形态学和分子生物学2种方法对分离得到的真菌进行鉴定。[结果]从怀牛膝材料中共分离纯化获得136株内生真菌,其中根部分离得到86株,茎部分离得到50株,根据形态和分子生物学特征,它们属于8目11科11属;其中,怀牛膝根部内生真菌定殖率较高(65.0%),茎部内生真菌定殖率较低(37.5%)。茎部分离的内生真菌只有8种,根部分离得到11种。[结论]怀牛膝根部内生真菌表现出了较高的种属多样性。在怀牛膝根部分离的内生真菌中,优势菌属是镰孢属和 *Moesziomyces*。

关键词 怀牛膝;内生真菌;根部;茎部;多样性

中图分类号 S567.23*9 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)10-0149-03

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.10.033

开放科学(资源服务)标识码(OSID): 

Study on Diversity of Culturable Endophytic Fungi from *Achyranthes bidentata* Blume

SUN Si-sheng¹, ZHANG Xiao-juan², MA Chuan-gui³ et al (1. College of Food and Pharmacy, Xuchang University/Key Laboratory of Biomarker Based Rapid-detection Technology for Food Safety of Henan Province, Xuchang, Henan 461000; 2. Quartermaster Engineering Technology Institute, Academy of Military Science of the CPLA, Beijing 100010; 3. Beijing Jingcheng Biological Technology Co., Ltd., Beijing 102600)

Abstract [Objective] To explore the diversity composition and colonization of endophytic fungi in *Achyranthes bidentata* Blume. [Method] By the method of tissue block separation, the stems and roots of biennial *Achyranthes bidentata* were selected as the separation objects, and the endophytic fungi were isolated, and the isolated fungi were identified by morphological and molecular biology methods. [Result] A total of 136 endophytic fungi were isolated and purified from *Achyranthes bidentata* materials, of which 86 strains were isolated from roots and 50 strains from stems. According to morphological and molecular biological characteristics, they belonged to 8 orders, 11 families and 11 genera. Among them, the colonization rate of endophytic fungi in the root of *Achyranthes bidentata* was higher (65.0%), and the colonization rate of endophytic fungi in the stem was lower (37.5%). Only 8 species of endophytic fungi were isolated from the stem, and 11 species were isolated from the root. [Conclusion] The endophytic fungi in the root of *Achyranthes bidentata* shows high species diversity. Among the endophytic fungi isolated from the roots of *Achyranthes bidentata*, dominant genera were *Fusarium* and *Moesziomyces*.

Key words *Achyranthes bidentata* Blume; Endophytic fungi; Root; Stem; Diversity

怀牛膝(*Achyranthes bidentata* Blume)为苋科(*Achyranthes*)牛膝属(*Achyranthes*)多年生深根系草本植物,怀牛膝的使用历史悠久,且可作为保健食品原料,我国最早的药学著作《神农本草经》中将怀牛膝列为上品,久服可轻身延年。怀牛膝中含有甾酮、皂苷、多糖、黄酮和生物碱等成分,具有抗衰老、抗肿瘤、提高机体免疫力、促进蛋白质合成、抑制血糖升高、降胆固醇、使受损的骨样细胞再生、镇痛消炎等作用^[1-6]。由于怀牛膝具有延缓机体衰老、降糖、增强免疫力、抗肿瘤等多方面的功效,在保健品、食品和药品中具有广阔的开发潜力。

植物内生真菌是指那些其全部或部分生活史在健康植物的各种组织或细胞内部度过的真菌,它们的存在不引起宿主感染明显的症状,但是它们可以通过组织学方法或严格表面消毒的方法从植物组织中分离或从植物组织内部扩增出微生物DNA的方法来证明其内生性^[7-8]。在长期医疗实践过程中,部分特定地域、特定生产过程所出产的药材较其他

地区所产的同种药材表现出品质佳、疗效好的特点,逐渐形成了“道地药材”的概念^[9]。道地药材的品质与疗效经历临床和生产的长期检验,其形成机制具有丰富的科学内涵。普遍的观点认为,中药材的道地性是在遗传因素和外在因素的共同作用下形成的。其中,药材自身遗传因素及其所表现出的生物学特性是药材道地性形成的内因,也是道地性形成的本质和基础。外在因素即适宜的生态地理条件(温度、水分、土壤、海拔、人工管理等)属于外因,是影响药材道地性的主要因素^[10-11]。近年来的研究表明,环境微生物中与植物有紧密联系的内生菌对宿主植物的生长和次生代谢的影响不容忽视。因此该试验以道地产区温县的二年生怀牛膝为材料,研究怀牛膝内生真菌的多样性,为怀牛膝内生真菌多样性与怀牛膝内生真菌资源开发,以及进一步探究内生真菌多样性与怀牛膝药材道地性之间的关系奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 采自河南省焦作市温县农科所种植基地健康的二年生怀牛膝植株。马铃薯培养基(PDA)配方(1 L):去皮马铃薯200 g,葡萄糖20 g,琼脂12 g,去离子水定容至1 000 mL, pH自然;122℃,灭菌22 min。孟加拉红培养基配方(1 L):孟加拉红35 g,去离子水定容至1 000 mL, pH自然;122℃,灭菌22 min。

基金项目 河南省科技攻关项目(192102310441, 202102110055);陕西省高校青年杰出人才支持计划。

作者简介 孙思胜(1982—),男,河南范县人,讲师,博士,从事药食两用植物资源综合开发与利用研究。*通信作者,高级工程师,硕士,从事军用食品研究。

收稿日期 2021-08-07

1.2 试验方法

1.2.1 怀牛膝内生真菌的分离。采用组织块分离法^[12-13]。随机选取健康的怀牛膝根、茎,清水洗净,无菌滤纸吸干水分,切成 1 cm 左右小段。在无菌条件下,浸入 75%乙醇中漂洗 30~60 s,然后再放入 3%的次氯酸溶液中浸泡 8~12 min,无菌水冲洗 4 次,再用无菌滤纸吸干水分。然后在无菌条件下,将表面消毒后的样品切成 0.2 cm×0.2 cm 大小的组织块,从怀牛膝根部和茎部各随机选取 120 个组织块,共计 240 个组织块用于怀牛膝内生真菌的分离。菌株用 PDA 试管斜面保藏和 10%甘油管妥善保藏;其中 PDA 试管放 4 ℃冰箱保藏,10%甘油管放于-80 ℃超低温冰箱保存。

1.2.2 内生真菌的鉴定。对分离的真菌编号之后,采用形态学和分子生物学 2 种方法对它们进行鉴定;先根据形态和显微特征以及产孢结构对能够产孢的菌株进行鉴定;再对不能产孢的菌株初步归为不产孢类群,然后利用分子生物学技术对其进行鉴定。

1.2.2.1 形态学特征鉴定。将已经纯化好的真菌接种于 PDA 平板上,观察记录菌落形态、生长特性,结合显微结构中的孢子形态、大小和产孢结构等对其进行经典的形态鉴定^[14-17],同时,通过对相关文献的收集和查阅,最终能够鉴定出这些真菌在分类学地位上属于哪个属或哪个种。

1.2.2.2 分子生物学手段鉴定。除经典形态鉴定外,该研究另外采用对真菌菌丝的核糖体 rDNA 的 ITS 序列扩增进行鉴定的方法。一方面,对形态鉴定结果能够相互验证,确保鉴定的准确性;另一方面,对一些经过诱导也不产孢子的真菌进行分子生物学手段的鉴定是目前普遍应用的一种方法。具体方法是:将分离获得的真菌进行纯培养,提取核糖体 rDNA,对转录间隔区(ITS1-5.8S-ITS2)进行扩增,扩增后获得的 DNA 片段 500~750 bp 的序列,将其与 GeneBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov>)中的数据对比,确定其种属类别。序列比对后,如果目标序列和参考序列有 95%以上的同源性,就暂定到参考序列所在的属,如果有 99%以上(包括 99%)的相似性就暂定到种^[18]。

1.3 菌株的保藏 把从怀牛膝根部和茎部中分离到的菌株进行编号、整理和鉴定后,将菌株的活体标本保藏于黄河科

技学院纳米功能材料研究所微生物真菌保藏中心。

1.4 数据统计分析

(1)分离率(isolation rate, IR)。样本组织块中分离得到的菌株数占全部样本组织块数的百分比,用来衡量植物组织中内生真菌的丰富程度和每个组织块受多重定殖的发生频率。

(2)定殖率(colonization rate, CR)。样本中受内生真菌定殖的组织块数占全部组织块数的百分率,能够反映出同一植物不同组织受内生真菌的定殖程度。

(3)分离频率(isolation frequency, IF)。分离得到的某种(类)内生真菌的菌株数占分离获得的总菌株数的百分率,用于反映不同种(类)的内生真菌在总菌群中的优势程度。IF>10%的内生真菌为优势属,1%≤IF≤10%的内生真菌为常见属,IF<1%的内生真菌为稀有属。

(4)香农-威纳多样性指数(Shannon-Wiener index, H')。 $H' = -\sum (P_i \ln P_i)$, P_i 是指该品种(部位)某种内生真菌菌株数量占该品种(部位)所有分离到内生真菌菌株总数的百分比,用来分析特定群落中内生真菌的类群多样性,群落中生物种类增多代表群落的复杂程度增高^[10,15]。

2 结果与分析

2.1 怀牛膝内生真菌鉴定 从怀牛膝根部分离得到 86 株内生真菌,根据其形态学特征和分子生物学鉴定结果(表 1),怀牛膝根部的 86 株内生真菌分别属于子囊菌门粪壳菌纲肉座菌目丛赤壳科镰孢属的尖镰孢菌、腐皮镰刀菌以及 1 个不明种,肉座菌目球腔菌科 *Sarocladium* 的枝顶孢霉及 1 个不明种,肉座菌目 Stachybotryaceae *Albifimbria* 的 *Myrothecium verrucaria*,小丛壳目 Plectosphaerellaceae *Verticillium* 的 *Verticillium dahliae*;座囊菌纲座囊菌目枝孢霉科枝孢霉属的 *Cladosporium cladosporioides*,格孢腔菌目 Phaeosphaeriaceae *Phaeosphaeria* 的 1 个不明种;担子菌门黑粉菌纲黑粉菌目黑粉菌科 *Moesziomyces* 的 *Pseudozyma aphidis*,微球黑粉菌纲锁掷酵母目锁掷酵母科红酵母属的 1 个不明种。共计 2 个门 4 个纲 6 个目 8 个科 8 个属和 7 个种以及 4 个不明种。此外,在怀牛膝根部分离的菌株中,优势属为镰孢属和 *Moesziomyces*,其中镰孢属的菌株数占总数的 44.19%,常有属占 30.23%。

表 1 怀牛膝根部内生真菌鉴定结果

Table 1 Identification result of endophytic fungi in the *Achyranthes bidentata* root

纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	分离频率 Separation frequency // %			
粪壳菌纲 Sordariomycetes	肉座菌目	丛赤壳科	镰孢属	尖镰孢菌	18.61			
				腐皮镰刀菌	13.95			
				<i>Fusarium</i> sp.	11.63			
		球腔菌科	<i>Sarocladium</i>	枝顶孢霉	8.14			
				<i>Acremonium</i> sp.	5.81			
				Stachybotryaceae	<i>Albifimbria</i>	<i>Myrothecium verrucaria</i>	8.14	
小丛壳目	Plectosphaerellaceae	枝孢霉科	枝孢霉属	<i>Verticillium dahliae</i>	4.65			
				座囊菌目	Phaeosphaeriaceae	<i>Phaeosphaeria</i>	<i>Phaeosphaeria</i> sp.	4.65
							格孢腔菌目	Phaeosphaeriaceae
黑粉菌纲 Ustilaginomycetes	黑粉菌目	黑粉菌科	<i>Moesziomyces</i>	<i>Pseudozyma aphidis</i>	11.63			
微球黑粉菌纲 Microbotryomycetes	锁掷酵母目	锁掷酵母科	红酵母属	<i>Rhodotorula</i> sp.	6.98			

2.2 怀牛膝茎部内生真菌鉴定 从怀牛膝茎部分离得到 50 株内生真菌,根据其形态学特征和分子生物学鉴定结果(表 2),怀牛膝茎部的 50 株内生真菌分别属于子囊菌门座囊菌纲格孢菌目格孢菌科链格孢属链格孢菌,座囊菌目枝孢霉科枝孢霉属的 *Cladosporium cladosporioides*; 粪壳菌纲肉座菌目丛赤壳科镰孢属的 *Fusarium avenacum* 以及 1 个不明种,小丛壳目 *Plectosphaerellaceae* *Verticillium* 的 *Verticillium dahliae*,

Dothideomycetidae 目球腔菌科 *Mycosphaerella* 的 1 个不明种;散囊菌纲散子囊菌目曲霉科青霉属草酸青霉菌;担子菌门黑粉菌纲黑粉菌目黑粉菌科 *Moesziomyces* 的 *Pseudozyma aphidis*。共计 2 个门 4 个纲 7 个目 7 个科 7 个属和 6 个种以及 2 个不明种。此外,在怀牛膝茎部分离的菌株中,优势属为镰孢属、链格孢属和枝孢霉属,其分别占总数的 30%、22% 和 18%,常有属占 30%。

表 2 怀牛膝茎部内生真菌鉴定结果

Table 2 Identification result of endophytic fungi in the *Achyranthes bidentata* stems

纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	分离频率 Separation frequency // %
座囊菌纲 Dothideomycetes	格孢菌目	格孢菌科	链格孢属	链格孢菌	22
	座囊菌目	枝孢霉科	枝孢霉属	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	18
粪壳菌纲 Sordariomycetes	肉座菌目	丛赤壳科	镰孢属	<i>Fusarium avenacum</i>	20
				<i>Fusarium</i> sp.	10
	小丛壳目	<i>Plectosphaerellaceae</i>	<i>Verticillium</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	10
			<i>Dothideomycetidae</i>	球腔菌科	<i>Mycosphaerella</i>
散囊菌纲 Eurotiomycetes	散子囊菌目	曲霉科	青霉属	草酸青霉菌	10
黑粉菌纲 Ustilaginomycetes	黑粉菌目	黑粉菌科	<i>Moesziomyces</i>	<i>Pseudozyma aphidis</i>	4

2.3 怀牛膝不同部位内生真菌的分布情况及多样性 从表 3 可以看出,怀牛膝不同部位内生真菌的数量具有一定差异,怀牛膝共分离出 136 株内生真菌,其中根部内生真菌的分离率和定殖率分别为 71.67%、65.0%,分离出 86 株真菌;

茎部内生真菌的分离率和定殖率分别为 41.67%、37.5%。怀牛膝内生真菌不同部位内生真菌多样性以根部为最高,其次为茎部;怀牛膝不同部位的内生真菌数量存在差异,根部内生真菌数量高于茎部,且多样性也高于茎部。

表 3 怀牛膝茎部和根部内生真菌的分离率、定殖率及多样性指数

Table 3 Isolation rate and colonization rate and diversity of endophytic fungi in stem and root of *Achyranthes bidentata*

部位 Part	组织块数 Number of tissue blocks // 块	长菌块数 Number of long bacteria // 块	菌株数 Number of strains // 株	分离率 Isolation rate // %	定殖率 Colonization rate // %	多样性指数 Diversity index
根部 Root	120	78	86	71.67	65.0	1.06
茎部 Stem	120	45	50	41.67	37.5	0.78

3 结论与讨论

该研究采用组织块分离法从怀牛膝植株中分离到内生真菌 136 株,利用形态学特征和 ITS-rDNA 序列分子鉴定法将其鉴定为 11 个分类单元,分布在 5 纲 8 目 11 科 11 属,可见怀牛膝植物内生真菌具有丰富的多样性。在怀牛膝根部分离的菌株中,优势属为镰孢属和 *Moesziomyces*;茎部分离的菌株中,优势属为镰孢属、链格孢属和枝孢霉属;且怀牛膝根部内生真菌分离率和多样性均比茎部高。怀牛膝为多年生草本植物,野生条件下生长缓慢,大田栽培怀牛膝的生长周期一般为从春到秋一个生长季,此次试验采集的是二年生人工栽培的怀牛膝。因此内生真菌数量在怀牛膝不同部位的分布差异可能与怀牛膝的生长时间有关,其多样性受宿主生长周期、生境等因素影响较大。将该研究结果与 Sun 等^[19]的研究结果对比,发现共有属一致;但是不同部位内生真菌分离率和多样性有差异,其结果为茎部比根部内生真菌分离率和多样性高,该研究则为根部比茎部内生真菌分离率和多样性高;差异产生的可能原因是该研究采用的材料为二年生人工栽培的怀牛膝,而 Sun 等^[19]采用的为一年生人工栽培的怀

牛膝。

在药用植物与内生真菌形成的微生态系统中,内生真菌不仅可以改变药用植物的生物学特性、促进其生长、提高宿主植物抵御不良环境胁迫的能力,而且可以促进宿主植物有效成分的合成和积累^[20-21]。种种迹象表明内生真菌对地道药材主要活性成分的积累具有重要作用。怀牛膝内生真菌具有丰富的多样性,这些真菌是否能够产生与怀牛膝类似的有效成分,是否是怀牛膝道地性形成的影响因素,今后将从内生真菌的次生代谢产物、生物转化等方面深入研究,以期从微生态角度了解怀牛膝道地性的形成机制,为中药材道地性的评价提供理论依据。

参考文献

- [1] 高阳,姜晓莉.西洋参保健食品研发[J].东北农业科学,2020,45(3):108-110.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2015:72-73.
- [3] HE G, GUO W, LOU Z Y, et al. *Achyranthes bidentata* saponins promote osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells through the ERK MAPK signaling pathway [J]. Cell biochemistry and biophysics, 2014, 70: 467-473.

更加均匀,是导致砂烫品萜烯类成分的种类较清炒品显著增加的原因,推测在路路通的炮制中,砂烫法因受热均匀,又因火力强,温度高,质地变为酥脆,以便于粉碎和有效成分的溶出^[10]。

生品及炮制品中相对质量分数大于1%的主要萜烯类成分有 α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯,且其在炮制品中的含量高于生品。 α -蒎烯具有镇咳、抗炎、祛痰的作用^[11-12], β -蒎烯具有抑菌、抗炎、抗癌的作用^[13],柠檬烯具有抗菌、消炎和抗肿瘤等生物功能^[14],炮制后新增成分中香桉烯具有消炎、镇痛、抑菌、驱虫等功效^[15];3-萜烯对铜绿假单胞菌有抑制作用^[16]。这些结果说明炮制品比生品具有更强的抑菌、抗炎作用,陈婧^[17]研究发现挥发性成分的抗炎活性随给药剂量的增加而增强,该试验为路路通及炮制品的抗炎活性研究提供研究思路。

该研究采用HS-SPME和GC-MS对路路通不同炮制品的挥发性成分进行分析,路路通生品、清炒品、砂烫品中分别鉴定出65、71和80种成分,分别占挥发性成分的74.08%、71.45%和74.14%。清炒法、砂烫法炮制后,路路通挥发油中萜烯类成分的种类及相对质量分数显著升高,酮类成分相对质量分数显著降低,砂烫品中新增萜烯类成分较清炒品多。研究结果为不同炮制方法的炮制工艺研究提供试验依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:人民卫生出版社,

2020;382.

- [2] 封若雨,朱新宇,邢峰丽,等.路路通的药理作用研究概述[J].中国中医基础医学杂志,2019,25(8):1175-1178.
- [3] 王志伟,张兰年,程务本,等.中药路路通挥发油化学成分的鉴定[J].上海第一医学院学报,1984,11(2):147-150.
- [4] 杨艳芹,周国俊,储国海,等.HS-SPME/GC-MS结合化学计量学分析不同产地路路通中的挥发性成分[J].分析测试学报,2016,35(4):406-413.
- [5] 贵州省卫生计生.贵州省中药饮片炮制规范[M].贵阳:贵州人民出版社,1986:151.
- [6] 贵阳市卫生局,中国药学会贵阳分会.常用中药饮片炮制手册[M].贵阳:贵阳市卫生局,1983:103.
- [7] 韩蔓,江汉美.HS-SPME-GC-MS结合化学计量法分析陈皮生品及其炮制品挥发性成分[J].中华中医药杂志,2021,36(5):2915-2922.
- [8] 唐文文,李国琴,晋小军,等.不同干燥方法对当归挥发油成分的影响[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(3):9-12.
- [9] 杨磊,黄立辉,张曼华,等.清炒法与砂烫法炮制川楝子的比较研究[J].中国药业,2016,25(18):29-31.
- [10] 金珍钱,姚玉嫦,姚明全.略谈部分种子及果实类药物清炒改砂烫必要性[J].时珍国医国药,2000,11(10):890.
- [11] 李冬妹,伍成厚.美花红千层挥发油的化学成分分析[J].顺德职业技术学院学报,2013,11(3):16-18.
- [12] 隋利强,曹冬英,黄婷婷,等.SPME-GC-MS法分析薏苡仁砂烫前后挥发性成分变化[J].中国民族民间医药,2021,30(10):26-32.
- [13] 卢化,张义生,梅珍珍,等.顶空固相微萃取结合气质联用分析升麻蜜炙前挥发油成分[J].中国医院药学杂志,2018,38(12):1281-1284.
- [14] 刘洋,吉燕华,雒珂昕,等.柠檬烯应用的研究现状[J].中药药理与临床,2021,37(5):244-248.
- [15] 杨素华,安家成,谭桂菲,等.樟树挥发油成分分析[J].广西林业科学,2018,47(3):350-353.
- [16] 刘雪,何英兰,胡月英,等.3-萜烯对铜绿假单胞菌的抑菌活性及机理初探[J].热带作物学报,2019,40(3):601-608.
- [17] 陈婧.基于鱼腥草抗炎活性的质量评价及其作用机制研究[D].武汉:华中科技大学,2014.

(上接第151页)

- [4] 沈舒,王琼,李友宾.牛膝的化学成分和药理作用研究进展[J].海峡药学,2011,23(11):1-6.
- [5] TAN F, DENG J. Analysis of the constituents and antisenile function of *Achyranthes bidentata* polysaccharides [J]. Acta botanica sinica, 2002, 44(7): 795-798.
- [6] LI Q J, ZHENG Z J, PENG Y, et al. Opposite effects on tumor growth depending on dose of *Achyranthes bidentata* polysaccharides in C57BL/6 mice [J]. International immunopharmacology, 2007, 7(5): 568-577.
- [7] 张万芹,邱国俊,房保柱,等.黔西南薏苡内生真菌多样性及其抗菌活性研究[J].生物资源,2020,42(4):428-436.
- [8] 王红霞,余亚茹,黄宝康.构树可培养内生真菌的多样性初探[J].菌物学报,2020,39(12):2399-2408.
- [9] 胡世林.中国道地药材[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1989.
- [10] 韩邦兴,彭华胜,黄璐琦.中国道地药材研究进展[J].自然杂志,2011,33(5):281-285.
- [11] 马昭,唐承晨,张纯,等.内生菌与宿主植物关系对中药材道地性研究的启示[J].上海中医药大学学报,2015,29(6):4-11.
- [12] 刘增亮,周双云,梁桂东,等.量天尺根部内生真菌的多样性[J].菌物学报,2020,39(4):723-730.

- [13] SUN S S, ZENG X, ZHANG D W, et al. Diverse fungi associated with partial irregular heartwood of *Dalbergia odorifera* [J]. Scientific reports, 2015, 5:1-7.
- [14] SUTTON B C. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata [M]. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980.
- [15] HANLIN R T. Illustrated genera of ascomycetes: Vol I and II [M]. St. Paul: The American Phytopathology Society, 1998.
- [16] KIFFER E, MORELET M. The Deuteromycetes-mitosporic fungi: Classification and generic keys [M]. Enfield: Science Publishers Inc, 1999.
- [17] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982: 487-645.
- [18] SUÁREZ J P, WEIß M, ABELE A, et al. Members of Sebaciales subgroup B form mycorrhizae with epiphytic orchids in a neotropical mountain rain forest [J]. Mycological progress, 2008, 7(2): 75-85.
- [19] SUN B D, CHEN A J, GAO W W, et al. Endophytic fungi associated with the medicinal plant, *Achyranthes bidentata* Blume (Amaranthaceae) [J]. African journal of microbiology research, 2013, 7(15): 1357-1365.
- [20] MAHDIEH S H M, JALAL S. Psychrophilic endophytic fungi with biological activity inhabit Cupressaceae plant family [J]. Symbiosis, 2014, 63(2): 79-86.
- [21] 王景仪,李梦秋,李艳茹,等.药用植物内生真菌的多样性及生物功能研究进展[J].生物资源,2020,42(2):164-172.