

# 云木香内生菌群落结构多样性分析及可培养菌株的分离鉴定

易兴财, 古玉梅, 申 敏, 赵 爽\*

云南中医药大学中药学院, 云南 昆明

收稿日期: 2025年6月5日; 录用日期: 2025年7月15日; 发布日期: 2025年7月28日

## 摘 要

利用高通量测序技术对药用植物云木香(*Saussurea costus* (Falc.) Lipsch.)根、叶、种子3个样品中内生细菌和内生真菌的群落结构及多样性进行分析, 并采用传统组织分离法从云木香植株中初步分离出部分可培养的内生菌菌株。研究表明, 云木香内生细菌OTUs总数为6454个, 其中根 > 种子 > 叶, 3个样品中共有内生细菌OTUs 99个; 内生真菌OTUs总数为3632个, 其中叶 > 种子 > 根, 3个样品中共有内生真菌OTUs 29个。云木香3个不同样品中内生菌群落组成和多样性存在显著差异, 内生细菌在种子样品中的丰富度最高但多样性较低, 内生真菌在叶样品中丰富度和多样性均最高; 其中变形菌门(Proteobacteria)是云木香植株的优势细菌门, 埃希氏-志贺氏菌属(*Escherichia Shigella*)和泛菌属(*Pantoea*)为优势细菌属; 子囊菌门(Ascomycota)是优势真菌门, 镰刀菌属(*Fusarium*)和链格孢属(*Alternaria*)为优势真菌属。此外, 从云木香植株中初步分离鉴定出了20株内生细菌和16株内生真菌。本研究丰富了云木香内生菌资源信息, 有助于了解内生菌在云木香生长发育、次生代谢产物合成以及抗逆性等方面功能, 为将来开发利用云木香内生菌资源提供理论依据。

## 关键词

云木香, 高通量测序, 内生细菌, 内生真菌, 多样性

## Diversity Analysis of Endophytic Bacteria Community Structure and Isolation Culturable Strains in *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch.

Xingcai Yi, Yvmei Gu, Min Shen, Shuang Zhao\*

College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming Yunnan

\*通讯作者。

文章引用: 易兴财, 古玉梅, 申敏, 赵爽. 云木香内生菌群落结构多样性分析及可培养菌株的分离鉴定[J]. 植物学研究, 2025, 14(4): 271-285. DOI: 10.12677/br.2025.144031

## Abstract

The community structure and diversity of endophytic bacteria and endophytic fungi in the roots, leaves and seeds of medicinal plant *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch were analyzed by high-throughput sequencing technology, and some culturable endophytic strains were preliminarily isolated from the plants of *S. costus*. by traditional tissue isolation method. The results showed that the total number of OTUs of endophytic bacteria in *S. costus*. was 6454, among which root > seed > leaf. There were 99 OTUs of endophytic bacteria in the three samples. The total number of OTUs of endophytic fungi was 3632, of which leaf > seed > root. There were 29 OTUs of endophytic fungi in the three samples. There were significant differences in the community composition and diversity of endophytic bacteria and fungi in three different samples of *S. costus*. Endophytic bacteria had the highest richness but low diversity in seed samples, and endophytic fungi had the highest richness and diversity in leaf samples. Among them, Proteobacteria was the dominant bacterial phylum of *S. costus*. plants, and *Escherichia Shigella* and *Pantoea* were the dominant bacterial genera. Ascomycota was the dominant fungal phylum of *S. costus*., and *Fusarium* and *Alternaria* were the dominant fungal genera. In addition, 20 strains of endophytic bacteria and 16 strains of endophytic fungi were preliminarily isolated and identified from *S. costus*. plants. This study enriches the information of endophytic bacteria and fungi resources in *S. costus*., which is helpful to understand the functions of endophytic bacteria and fungi in the growth and development, secondary metabolite synthesis and stress resistance of *S. costus*., and provides a theoretical basis for the future development and utilization of endophytic bacteria and fungi resources in *S. costus*.

## Keywords

*Saussurea costus* (Falc.) Lipsch., High-Throughput Sequencing, Endophytic Fungi, Endophytic Bacteria, Diversity

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

云木香(*Saussurea costus* (Falc.) Lipsch.)又名木香、广木香、青木香,是菊科(*Asteraceae*)风毛菊属(*Saussurea* DC.)植物,入药部位为干燥的根,其性温,味辛、苦,归胃、脾、肝、大肠经,临床上多用于治疗健脾消食、行气止痛、止泻等症状[1]。现代药理研究表明,主要含挥发油、木香碱、菊糖及甾醇等化学成分,木香烯内酯和去氢木香内酯为主要有效成分,具有抗炎、抗氧化、抗癌、肝保护和免疫调节等作用[2]。云木香是云南省十大道地药材之一,主要产地为高海拔地区。云木香环境适应性强,植株高大,生长迅速,这些特点说明云木香内部可能蕴含着丰富多样的内生菌资源,因此有必要对云木香内生菌情况进行全面剖析。

植物内生菌是一种在植物体内生长旺盛的有益植物微生物,可以在正常和具有挑战性的条件下促进植物的生长,是植物微生态系统的重要组成部分[3]。传统微生物分离方法是最早用于了解微生物群落结构的方法,但是由于其工作量大,且无法分离相对丰度较低的大部分微生物,不能全面反映菌群结构,因而存在一定的局限性[4]。随着分子生物学技术的不断发展,高通量测序技术已经成为研究微生物的一

种重要手段,与传统分离方法相比,高通量测序技术能够更加精确地揭示内生菌群落的种类多样性,可以直观地呈现微生物群落结构信息[5]-[7]。目前,关于云木香微生物菌群多样性研究鲜见报道。本研究利用 Illumina Miseq 高通量测序技术对药用植物云木香根、叶、种子 3 个样品中内生细菌和内生真菌的群落结构及多样性进行分析,并采用传统组织分离法从云木香植株中初步分离出部分可培养的内生菌菌株,希望为进一步研究云木香内生菌资源奠定基础。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 样品采集

本实验所用云木香植株采集自云南丽江中药种植基地,采集样品为健康生长的植株。经云南中医药大学赵爽副教授鉴定为菊科植物云木香。

### 2.2. 样品处理

采集的云木香植株用流水洗净泥土后晾干,将根切成 0.5~1.0 cm 的小段,叶切成 1 cm<sup>2</sup> 的小块。把根、叶、种子分别浸泡在 75% 的乙醇 3 min、1 min、5 min,后用无菌水冲洗 4~5 次,无菌滤纸吸干置于无菌离心管中, -80℃ 保存备用。

### 2.3. DNA 提取和 PCR 扩增

利用 MN NucleoSpin 96 Soi 试剂盒对样本基因组 DNA 进行提取,之后利用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳对提取的 DNA 进行检测,作为细菌 16S rDNA 和真菌 ITS 的 PCR 扩增模板。利用引物 338F 5'-ACTCC-TACGGGAGGCAGCA-3' 和 806R 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' 对内生细菌 16S rRNA V3-V4 区进行 PCR 扩增。利用引物 ITS1F 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3' 和 ITS2 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3' 对内生真菌 ITS 区进行 PCR 扩增。PCR 扩增产物寄送至北京百迈客生物科技有限公司,使用 Illumina 公司的 Novaseq 6000 平台进行测序。

### 2.4. 云木香中微生物的分离

所需培养基: PDA 固体培养基、RBC 琼脂培养基(孟加拉红培养基)、LB 固体培养基、CDA 培养基(察氏琼脂培养基)和 WA 培养基(水琼脂培养基)。

新鲜的云木香植株用清水冲洗表面,在流水下冲洗 1 h。将云木香植株和种子于超净工作台上用 75% 乙醇浸泡 30 s,无菌水清洗 3 次,用 4% 的次氯酸钠浸泡叶 1 min,根 5 min,种子 10 min,无菌水清洗 8 次后,取出,置于滤纸上吸干水分。保留最后一次清洗的无菌水,涂布于 LB 固体培养基上检测是否消毒彻底。

用无菌小刀将植株组织切割成 1 cm 的组织小块,将种子剥去外皮并切碎,无菌镊子挑取相应的组织分别接种于提前灭菌备好的各固体培养基上,在 28℃ 恒温培养箱观察培养,待组织周围长出单个菌落时,挑选形态不同的单个菌落接种于 PDA 固体培养基和 LB 固体培养基,进行纯化培养。

无菌条件下将活化后的菌液与无菌的 50% 甘油 1:1 等体积混合于离心管中,置于 -80℃ 冰箱长期保存。

### 2.5. 菌种鉴定

采用 16S rDNA 和 ITS 对云木香内生细菌进行分析生物学鉴定,用 DNA 提取试剂盒提取菌株的 DNA,利用引物对内生细菌和内生真菌进行 PCR 扩增。PCR 扩增产物寄送至北京擎科生物科技有限公司进行测

序，测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 比对。

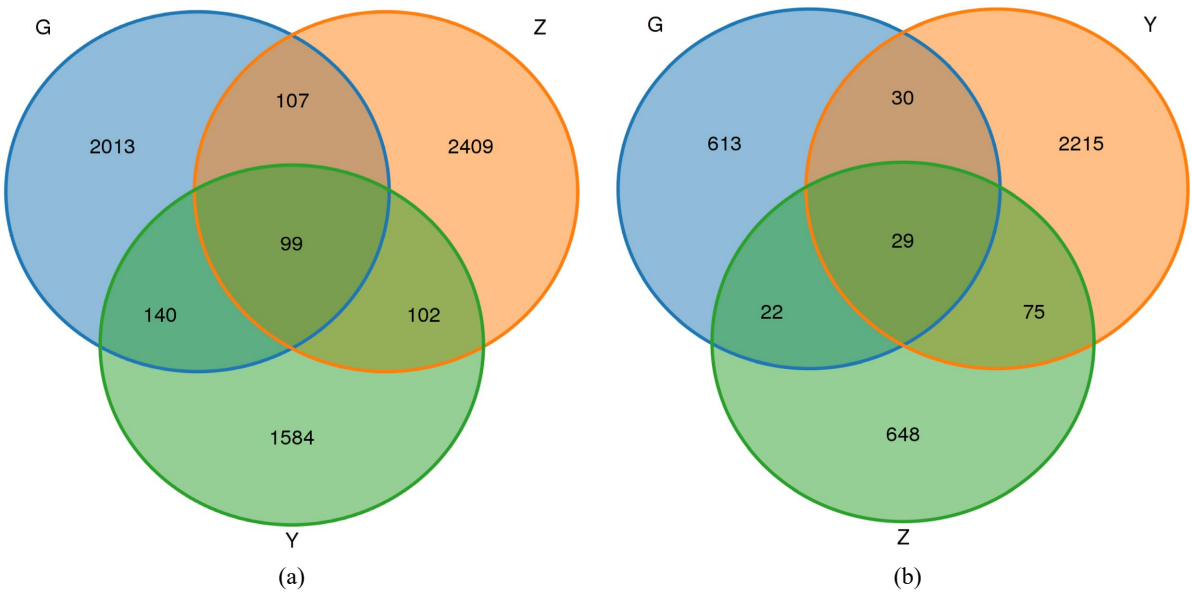
2.6. 数据处理

使用 FLASH 软件对原始数据进行拼接，Trimmomatic 将拼接得到的序列进行质量过滤，UCHIME 去除嵌合体，最后得到高质量的 Tags 序列。USEARCH 软件在相似性 97%的水平上对序列进行聚类，以测序所有序列数的 0.005%作为阈值过滤 OTU。利用软件进行物种注释以及丰度分析，可以揭示样品的物种构成；进一步进行  $\alpha$  多样性分析、 $\beta$  多样性分析、显著物种差异分析、相关性分析、功能预测分析等，可以挖掘样品之间的差异。

3. 结果与分析

3.1. 云木香内生菌 OTUs 分析

根据图 1 可知，云木香内生细菌 OTUs 总数为 6454 个，其中根、叶和种子分别含有 2359、1925、2717 个，3 个组织共有内生细菌 OTUs 99 个；种子特有 OTUs 数量最多，为 2409 个，根次之，叶特有 OTUs 数量最少。云木香内生真菌 OTUs 总数为 3632 个，其中根、叶和种子分别含有 694、2349、774 个，3 个组织共有内生真菌 OTUs 29 个；叶特有 OTUs 数量最多，为 2215 个，种子次之，根特有 OTUs 数量最少。



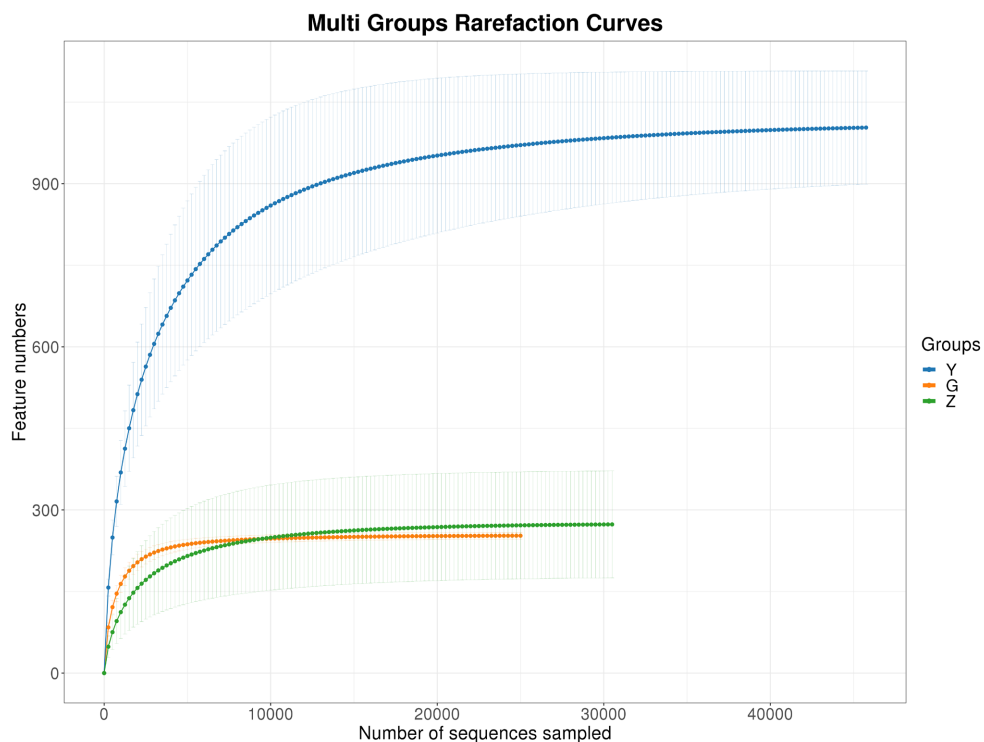
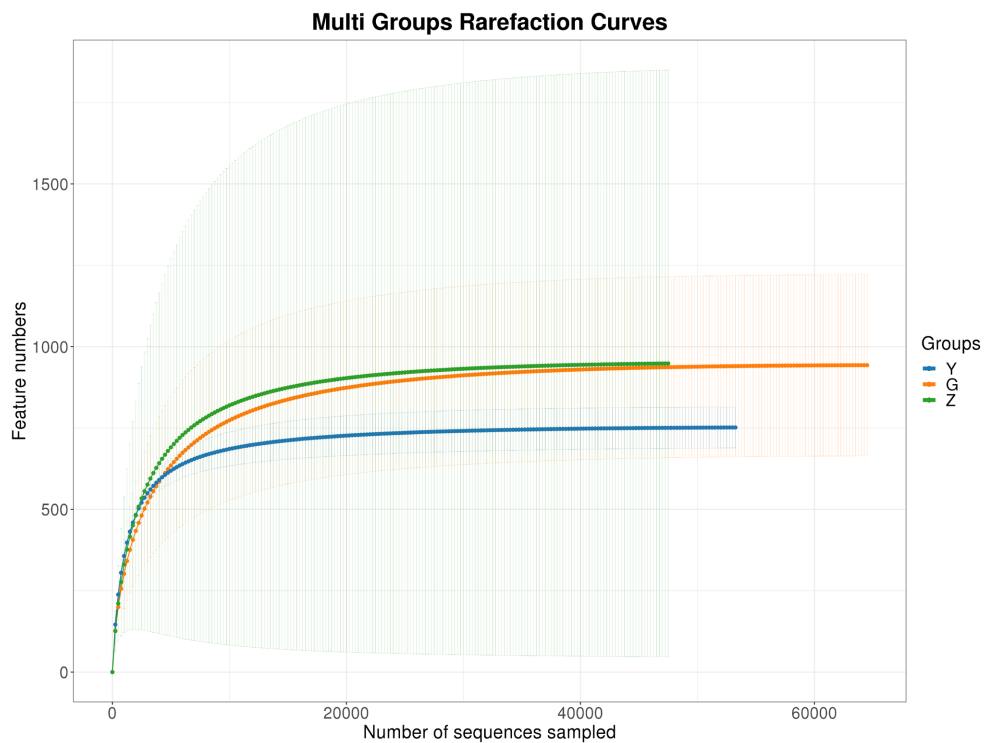
注：G：根，Y：叶，Z：种子。

Figure 1. OTUs distribution Venn diagram. (bacteria (a), fungi (b))

图 1. OTUs 分布韦恩图(细菌(a), 真菌(b))

3.2. 云木香内生菌群落 Alpha 多样性分析

在一定范围内，随着测序条数的加大，若曲线表现为急剧上升则表示群落中有大量物种被发现；当曲线趋于平缓，则表示此环境中的物种并不会随测序数量的增加而显著增多。稀释曲线可以作为对各样本测序量是否充分的判断，线急剧上升表明测序量不足，需要增加序列条数；反之，则表明样品序列充分，可以进行数据分析。图 2 显示，真菌和细菌的稀释曲线先上升后趋于平缓，表示本研究取样数据合理。



注：G：根，Y：叶，Z：种子。

**Figure 2.** Dilution curves of leaves, roots and seeds of *S. costus*. (bacteria (a), fungi (b))

**图 2.** 云木香叶、根和种子稀释曲线(细菌(a), 真菌(b))

Alpha 多样性反映的是单个样品物种丰富度及物种多样性，有多种衡量指标。Chao1 和 ACE 指数衡量物种丰富度即物种数量的多少[8]。Shannon 和 Simpson 指数用于衡量物种多样性，受样品群落中物种丰富度和物种均匀度的影响[9] [10]。Shannon 指数和 Simpson 指数值越大，说明样品物种多样性越高。另外还统计了覆盖率(Coverage)，其数值越高，则样本中物种被测出的概率越高，而没有被测出的概率越低，指数反映本次测序结果是否代表了样本中微生物的真实情况。

由表 1 可知，6 个样品的 Coverage 指数均高于 99.9%，表明测序深度能覆盖云木香样品中的大部分物种。云木香种子内生细菌的 Chao1 指数和 ACE 指数均高于根和叶，但是 Shannon 指数和 Simpson 指数却低于根和叶。而叶内生真菌的 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数、Simpson 指数均高于根和种子。表明云木香种子的内生细菌丰富度高于根和叶，多样性低于根和叶；叶的内生真菌丰富度和多样性均高于根和种子。

**Table 1.** Alpha diversity analysis of endophytic community in *S. costus*  
**表 1.** 云木香内生菌群落的 Alpha 多样性分析

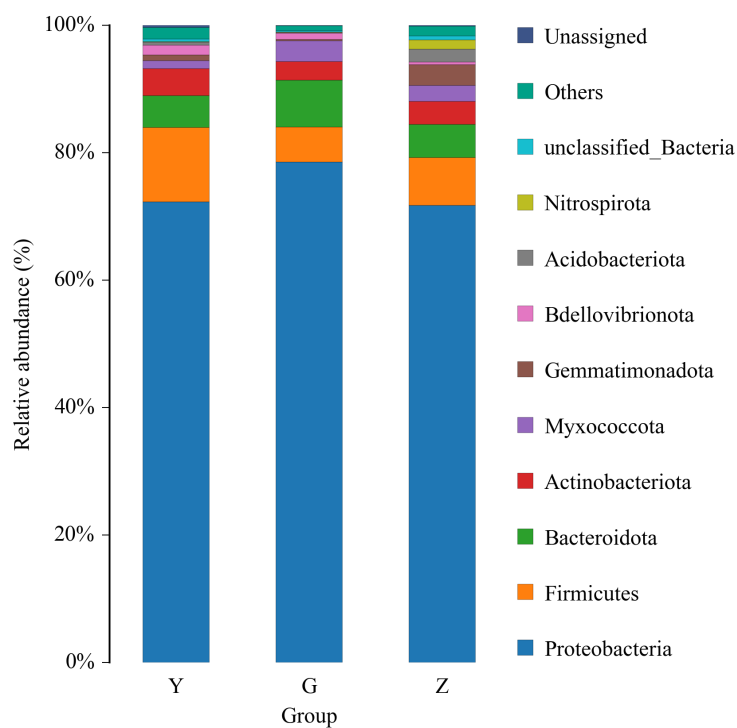
| 基因       | 组别 | Chao1 指数 | ACE 指数  | Shannon 指数 | Simpson 指数 | Coverage 指数 |
|----------|----|----------|---------|------------|------------|-------------|
| 16S rDNA | G  | 943.09   | 943.78  | 7.59       | 0.98       | 0.99        |
|          | Y  | 752.73   | 753.20  | 7.66       | 0.96       | 1.00        |
|          | Z  | 951.68   | 951.94  | 7.04       | 0.94       | 1.00        |
| ITS      | G  | 252.69   | 252.96  | 6.06       | 0.96       | 0.99        |
|          | Y  | 1008.59  | 1009.91 | 8.37       | 0.99       | 0.99        |
|          | Z  | 274.33   | 274.45  | 4.02       | 0.81       | 1.00        |

3.3. 云木香内生菌群落结构组成

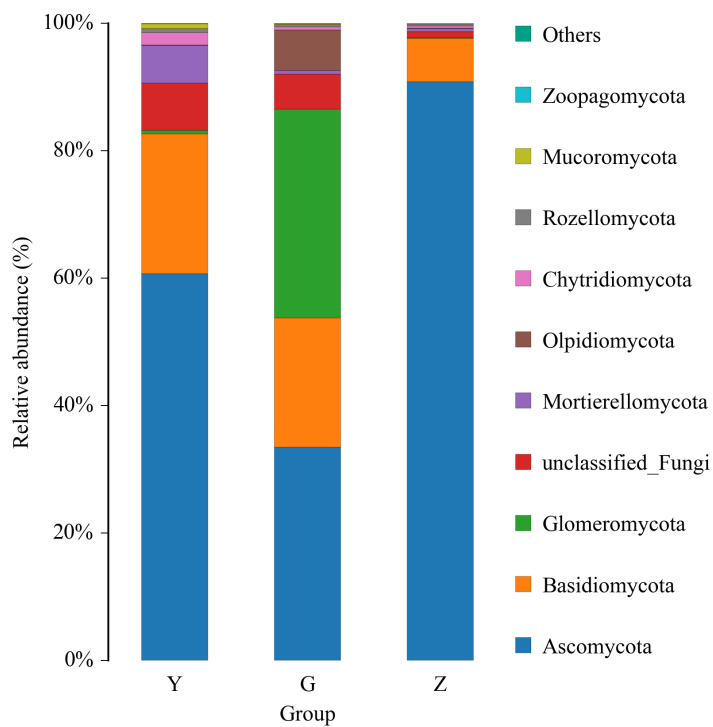
3.3.1. 云木香内生细菌群落结构组成

在门分类水平上，如图 3(a)所示，云木香内生细菌相对丰度前 10 的优势菌群分别为变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteriota)、粘球菌门(Myxococcota)、芽单胞菌门(Gemmatimonadota)、蛭弧菌门(Bdellovibrionota)、酸酐菌门(Acidobacteriota)、硝化螺旋菌门(Nitrospirota)、未分类的细菌(unclassified\_Bacteria)，其相对丰度分别为 74.81%、8.34%、5.81%、3.47%、2.19%、1.32%、0.93%、0.81%、0.43%、0.40%。云木香三个组织内生细菌相对丰度最高的都为变形菌门(Proteobacteria)，根部其次的优势菌门为拟杆菌门(Bacteroidota)，叶和种子为厚壁菌门(Firmicutes)，表明云木香三个组织的优势菌门都是变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Bacteroidota)、拟杆菌门(Firmicutes)。

在属水平上，如图 4(a)所示，云木香叶内生细菌中可被分类出来的相对丰度最高的为变形菌门中的埃希氏-志贺氏菌属(*Escherichia\_Shigella*)，相对丰度为 16.28%；其次为马赛菌属(*Massilia*)、布赫纳氏菌属(*Buchnera*)，相对丰度为 9.64%和 5.33%。根部内生细菌中可被分类出来的相对丰度最高的为根瘤菌属(*Rhizobium*)，相对丰度为 8.88%；其次为杜欐氏菌属(*Duganella*)、假单孢菌属(*Pseudomonas*)，相对丰度为 7.42%和 7.02%。种子内生细菌中可被分类出来的相对丰度最高的为泛菌属(*Pantoea*)，相对丰度为 23.47%；其次为寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、假单孢菌属(*Pseudomonas*)，相对丰度为 12.59%和 3.73%。其中，布赫纳氏菌属只在云木香叶中检测到。



(a)



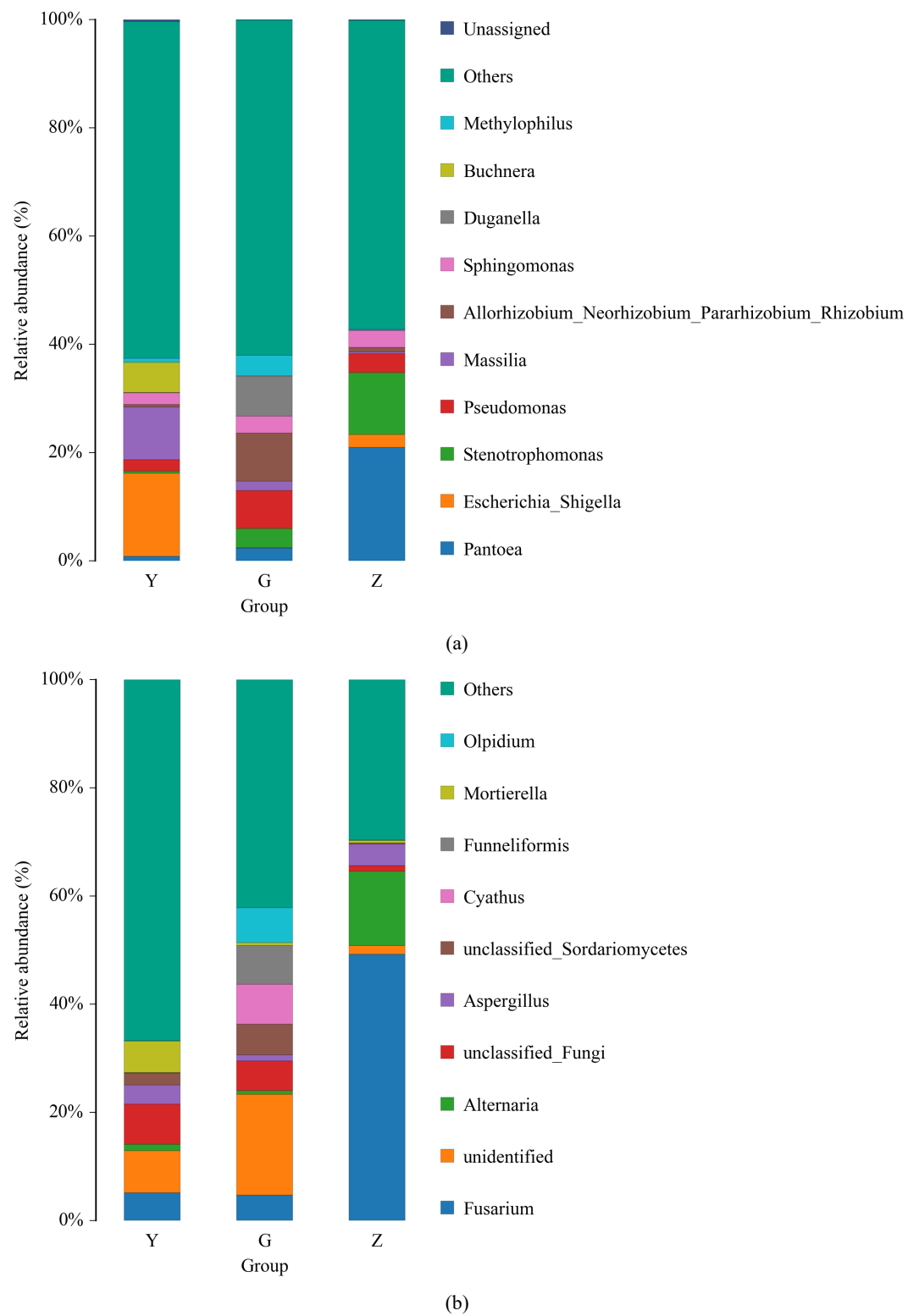
(b)

注: G: 根, Y: 叶, Z: 种子。

**Figure 3.** Species composition of endophytic bacteria and fungi at phylum level in *S. costus* (bacteria (a), fungi (b))

**图 3.** 云木香内生细菌和内生真菌门水平物种组成(细菌(a), 真菌(b))





**Figure 4.** Species composition of endophytic bacteria and fungi at genus level in *S. costus*. (bacteria (a), fungi (b))

**图 4.** 云木香内生细菌和生真菌属水平物种组成(细菌(a), 真菌(b))



### 3.3.2. 云木香内生真菌群落结构组成

在门分类水平上, 如图 3(b)所示, 云木香叶内生真菌中可分类的相对丰度最高的为子囊菌门(Ascomycota), 其相对丰度为 60.67%; 其次为担子菌门(Basidiomycota), 相对丰度为 21.96%; 被孢霉门(Mortierellomycota), 相对丰度为 5.93%。根部内生真菌中可分类的相对丰度最高的为子囊菌门(Ascomycota), 相对丰度为 33.47%; 其次为球囊菌门(Glomeromycota), 相对丰度为 32.76%; 担子菌门(Basidiomycota), 相对丰度为 20.29%。种子内生真菌中可分类的相对丰度最高的为子囊菌门(Ascomycota), 相对丰度为 90.85%; 其次为担子菌门(Basidiomycota), 相对丰度为 6.78%; 被孢霉门(Mortierellomycota), 相对丰度为 0.49%。表明云木香各组织中真菌群落中的优势菌门均含有子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)。

在属水平上, 根据图 4(b)所示, 云木香叶内生真菌中可被分类出来的相对丰度最高的为被孢霉属(*Mortierella*), 相对丰度为 5.89%, 其他优势菌属有镰刀菌属(*Fusarium*)和曲霉属(*Aspergillus*), 相对丰度为 5.16%和 3.51%。根部内生真菌中可被分类出来的相对丰度最高的为黑蛋巢菌属(*Cyathus*), 相对丰度为 7.31%, 其他优势菌属有斗管囊霉属(*Funneliformis*)和油壶属(*Olpidium*), 相对丰度为 7.20%和 6.45%。种子内生真菌中可被分类出来的相对丰度最高的为镰刀菌属(*Fusarium*), 相对丰度为 49.26%, 其他优势菌属有链格孢属(*Alternaria*)和曲霉属(*Aspergillus*), 相对丰度为 13.74%和 3.93%。其中, 黑蛋巢菌属只在云木香根中检测到。

### 3.4. 云木香内生菌功能预测

根据样品在数据库中的功能注释及丰度信息, 基于 KEGG pathway, 运用 PICRUST2 选取丰度排名前 30 的功能信息对云木香内生细菌群落进行功能预测, 结果如图 5(a), 可见代谢相关基因的丰度在三组样本中最高, 达到 76%; 其次是环境信息处理, 达到 8%。2 级 KEGG 通路分析如图 5(b)所示, 所有细菌种群都存在全局和概述图谱和碳水化合物代谢相关的基因, 且相对丰度 >8%。此外, 氨基酸代谢、膜转运、能量代谢以及辅因子和维生素代谢的功能丰度较其他功能最高。功能组成的多样性说明云木香内生细菌可能有多种信号通路, 其中代谢是其主要的生理活动。

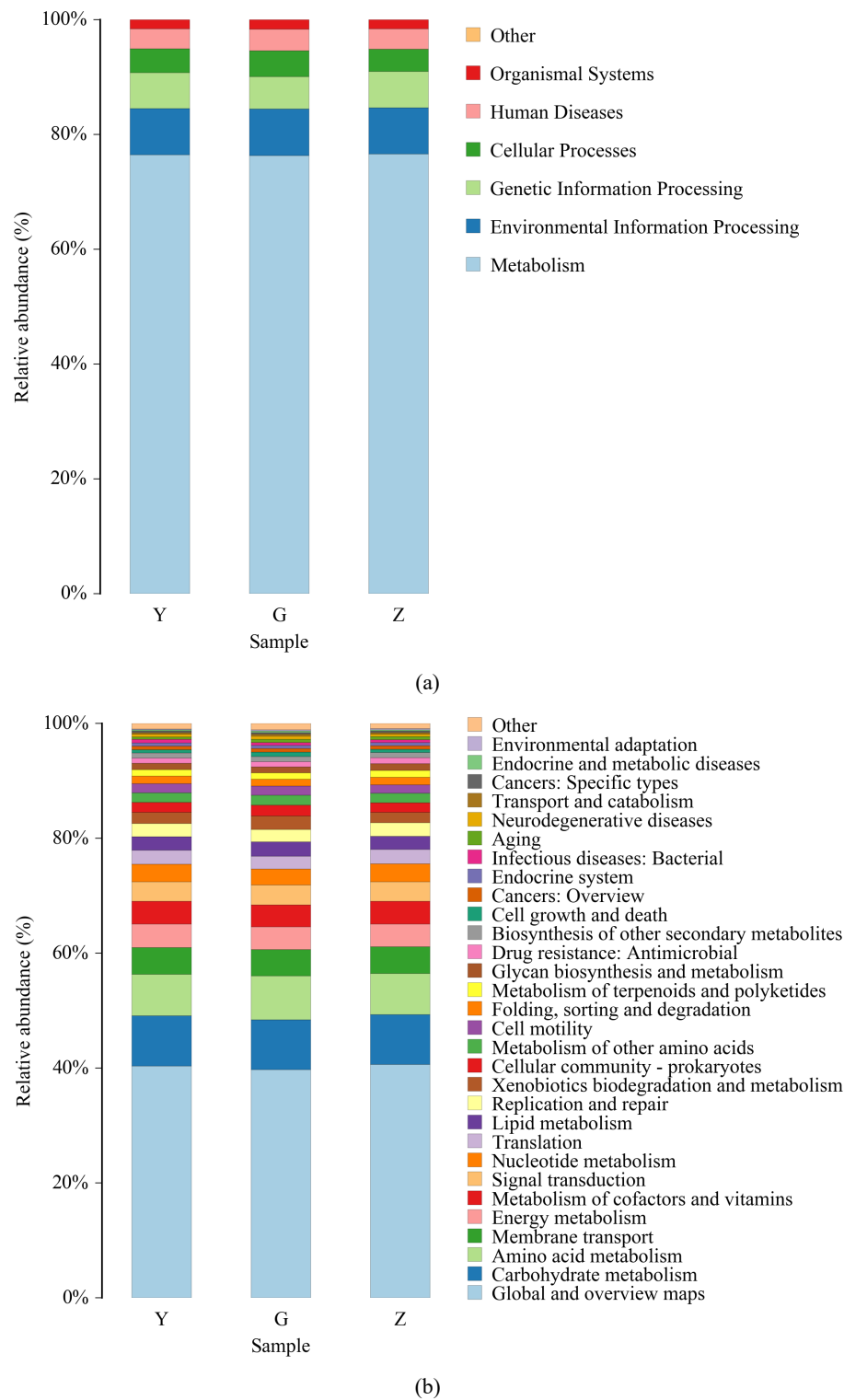
通过 FUNGuild 数据库内生真菌群落功能预测, 如图 5(c)和图 5(d)所示, 从营养类型看, 叶中腐生型占比最大, 为 54%, 其次病理寄生型, 为 36%; 根中共生型占比最大, 为 53%, 其次为腐生型, 为 28%; 种子中占比最大的依次为病理寄生型和腐生型, 分别为 55%和 30%。根据 Guild 分类, 除未定义腐生菌和其他菌外, 叶中的植物病原菌、动物病原菌、木腐菌, 分别为 23%、15%; 根中的丛枝菌根、植物病原菌、粪便腐生菌, 分别为 37%、12%、11%; 种子中的植物病原菌、附生真菌, 分别为 45%、12%, 以上功能菌群在各组织 Guild 分类中的占比最高, 且超过 10%。

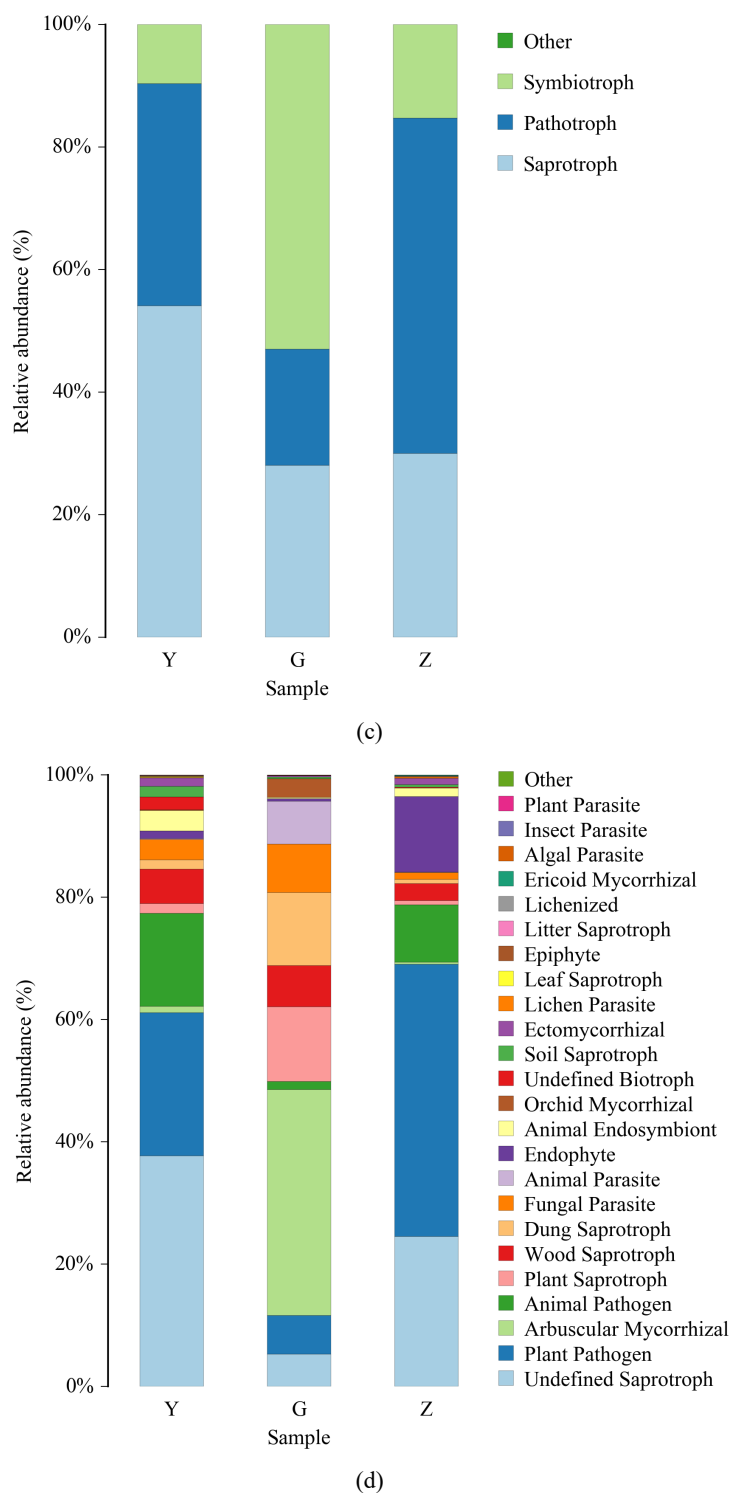
### 3.5. 云木香中微生物的分离鉴定

利用 PDA 固体培养基、RBC 琼脂培养基、LB 固体培养基、CDA 培养基和 WA 培养基对云木香不同部位的微生物进行分离, 初步获得 52 株细菌, 33 株真菌, 经分子鉴定得到 20 株细菌(表 2), 16 株真菌(表 3)。其中从种子中分离得到 10 株细菌, 11 株真菌; 从根中分离得到 9 株细菌, 3 株真菌; 从叶中分离得到 1 株细菌, 2 株真菌。根据不同培养基分离得到的微生物数量来看, LB 培养基和 PDA 培养基是最适合云木香微生物分离的固体培养基。

根据表 2 数据显示, 从云木香中分离得到的 20 株细菌, 在分类学上分别属于 11 个属 3 个门, 其中芽孢杆菌属和假单胞菌属最多, 其次为肠杆菌属、寡养单胞菌属、农杆菌属等其他属; 变形菌门和厚壁菌门最多, 其次是拟杆菌门。该结果与上述内生细菌多样性组成结果大致相同。

根据表 3 数据显示, 从云木香中分离得到的 16 株真菌, 在分类学上分别属于 8 个属 2 个门, 其中链格孢属和镰刀菌属最多, 其次为曲霉属等其他属; 子囊菌门最多, 其次为担子菌门。该结果与上述内生真菌多样性组成结果基本相同。





注：G：根，Y：叶，Z：种子。

**Figure 5.** Functional prediction of endophytic bacteria and fungi in *S. costus* ((a): Bacterial function prediction-level 1, (b): bacterial function prediction-level 2, (c): fungal function prediction-Trophic, (d): Fungal function prediction-Guild)

**图 5.** 云木香内生菌功能预测((a): 细菌功能预测 - 第一级, (b): 细菌功能预测 - 第二级, (c): 真菌功能预测-Trophic, (d): 真菌功能预测-Guild)

**Table 2.** Isolation and identification results of endophytic bacteria in *S. costus*  
**表 2.** 云木香内生细菌分离鉴定结果

| 菌株 Strain | 培养基 Medium | 门 Phyla             | 属 Genus                        | 种 Species                           |
|-----------|------------|---------------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| Z-1       | LB         | 变形菌门 Proteobacteria | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>       | <i>Enterobacter kobei</i>           |
| Z-7       | CDA        |                     |                                | <i>Enterobacter ludwigii</i>        |
| Z-4       | CDA        |                     | 寡养单胞菌属 <i>Stenotrophomonas</i> | <i>Stenotrophomonas rhizophila</i>  |
| G-8       | LB         |                     |                                | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> |
| Z-20      | LB         |                     | 假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>       | <i>Pseudomonas koreensis</i>        |
| Y-4       | CDA        |                     |                                | <i>Pseudomonas putida</i>           |
| G-1-1     | WA         |                     |                                | <i>Pseudomonas gessardii</i>        |
| G-6       | WA         |                     | 农杆菌属 <i>Agrobacterium</i>      | <i>Agrobacterium sp.</i>            |
| G-16      | WA         |                     |                                | <i>Agrobacterium tumefaciens</i>    |
| G-12      | LB         |                     | 无色杆菌属 <i>Achromobacter</i>     | <i>Achromobacter xylosoxidans</i>   |
| G-13      | LB         |                     | 根瘤菌属 <i>Rhizobium</i>          | <i>Rhizobium sp.</i>                |
| G-2       | CDA        |                     | 泛菌属 <i>Pantoea</i>             | <i>Pantoea agglomerans</i>          |
| Z-21      | CDA        | 厚壁菌门 Firmicutes     | 芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>          | <i>Bacillus pumilus</i>             |
| Z-9       | WA         |                     |                                | <i>Bacillus sp.</i>                 |
| G-4       | WA         |                     |                                | <i>Bacillus safensis</i>            |
| Z-6       | LB         |                     |                                | <i>Bacillus subtilis</i>            |
| Z-3       | LB         |                     |                                | <i>Bacillus altitudinis</i>         |
| Z-11      | LB         |                     | 类芽孢杆菌属 <i>Paenibacillus</i>    | <i>Paenibacillus sp.</i>            |
| Z-12      | CDA        |                     | 普里斯特氏菌属 <i>Priestia</i>        | <i>Priestia sp. strain</i>          |
| G-1       | LB         | 拟杆菌门 Bacteroidetes  | 鞘氨醇杆菌属 <i>Sphingobacterium</i> | <i>Sphingobacterium canadense</i>   |

注：Z 表示种子中内生菌，G 表示根中内生菌，Y 表示叶内生菌。

**Table 3.** Isolation and identification results of endophytic fungi from *S. costus*  
**表 3.** 云木香内生真菌分离鉴定结果

| 菌株 Strain | 培养基 Medium | 门 Phyla            | 属 Genus                      | 种 Species                          |
|-----------|------------|--------------------|------------------------------|------------------------------------|
| Z-6       | RBC        | 子囊菌门 Ascomycota    | 链格孢属 <i>Alternaria</i>       | <i>Alternaria sp</i>               |
| Z-7       | RBC        |                    |                              | <i>Alternaria tenuissima</i>       |
| Z-4       | RBC        |                    |                              | <i>Alternaria alstroemeriae</i>    |
| Z-12      | PDA        |                    |                              | <i>Alternaria sp.</i>              |
| Z-13      | PDA        |                    |                              | <i>Alternaria alternata</i>        |
| Z-10      | PDA        |                    | 镰刀菌属 <i>Fusarium</i>         | <i>Fusarium citricola</i>          |
| Z-3       | PDA        |                    |                              | <i>Fusarium sp.</i>                |
| G-1       | WA         |                    |                              | <i>Fusarium redolens</i>           |
| Z-4-1     | PDA        |                    |                              | <i>Fusarium tricinctum</i>         |
| Z-4-2     | PDA        |                    | 曲霉属 <i>Aspergillus</i>       | <i>Aspergillus fumigatus</i>       |
| Z-1       | PDA        |                    |                              | <i>Aspergillus sp.</i>             |
| G-3       | RBC        |                    | 格孢菌属 <i>Pleosporales</i>     | <i>Pleosporales sp.</i>            |
| Y-1       | RBC        | 担子菌门 Basidiomycota | 毛壳菌属 <i>Chaetomium</i>       | <i>Chaetomium globosum</i>         |
| Z-11      | RBC        |                    | 普氏壳属 <i>Plectosphaerella</i> | <i>Plectosphaerella cucumerina</i> |
| Y-2       | PDA        |                    | 青霉属 <i>Penicillium</i>       | <i>Penicillium chermesinum</i>     |
| G-3-1     | RBC        |                    | 丝核菌属 <i>Rhizoctonia</i>      | <i>Rhizoctonia sp.</i>             |

注：Z 表示种子中内生菌，G 表示根中内生菌，Y 表示叶内生菌。

## 4. 讨论与结论

植物内生菌作为微生物中的重要组成部分,在宿主和生态系统中发挥着重要的作用,群落结构的组成是其功能发挥的基石,因此,研究植物内生菌的群落结构有助于挖掘和分析其生态功能[11]。云木香是云南省十大道地药材之一,其独特的生长特点说明云木香内部可能蕴含着丰富多样的内生菌资源,因此对云木香内生菌资源进行全面分析非常必要。

利用高通量测序技术对云木香叶、根和种子内生细菌群落结构进行研究,结果发现,云木香种子内生细菌的丰富度高于根和叶,说明云木香种子里可能有大量促进种子萌发的内生细菌,但是随着植株的生长发育,内生菌通过代谢或传递而减少,可能是因为部分内生菌可以通过水平传播和垂直传播从种子进入植株,种子内生菌相较于其他部位内生菌,具有高度适应植物组织生活的定殖优势[12][13]。根中内生细菌群落丰富度和多样性均高于叶,与党参(*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.) [14]、大麻(*Cannabis sativa* L.) [15]、南阳艾(*Artemisia argyi* Lévl. et Vant.) [16]中内生细菌群落多样性分析结果一致,推测可能是由于土壤中含有大量的微生物,随着植物的生长,根部可以通过释放分泌物招募特定菌群来促进植物生长。变形菌门为云木香植株的优势细菌门,埃希氏-志贺氏菌属和泛菌属是云木香植株的优势细菌属。已有研究证明变形菌门的微生物具有较强的固氮能力,并且可以适应高紫外线和抗干旱的能力,因此推测变形菌门是使云木香得以在高海拔和寒冷地区生长的重要因素[17][18];泛菌属在植物中广泛存在,可以作为生防菌、产生植物激素促进植物生长等作用,同时具有一定的致病性[19]。通过功能预测分析了云木香不同组织内生微生物群落的功能特征,结果显示,代谢和环境信息相关功能是最主要一级功能分类,这些功能承担了生命体所需的绝大多数基础生物学功能和生理活动[20]。全局和概述图谱和碳水化合物代谢是最主要二级功能分类。

对云木香叶、根和种子内生真菌群落结构进行研究发现,叶内生真菌的丰富度和多样性高于根和种子,与明日叶(*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz.) [21]、蛇足石杉(*Huperzia serrata*.) [22]、肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl) [23]中内生真菌群落多样性分析结果一致。这可能是因为叶除了从茎部获得真菌外,外界空气、雨水和其他因素也会携带真菌到叶上,进入植物体内[20],而云木香植株格外高大,叶片庞大,所以导致云木香叶内生真菌的丰富度远远大于根和种子。而根的丰富度要大于种子,多样性却小于种子,可能是因为根内生真菌不容易受外界环境的影响而产生多样性变化。子囊菌门为云木香植株的优势真菌门,镰刀菌属和链格孢属是云木香植株的优势真菌属。子囊菌门微生物可以分解土壤中的有机质和无机物,对于陆地植物生态系统的养分循环具有重要作用[24],所以推测子囊菌门可以在一定程度上通过促进根部吸收而促进植物生长。链格孢属会引起真菌毒素积累,从而影响植物次生代谢[25];功能预测结果发现云木香植株中包含腐生型、病理寄生型、共生型等三大真菌类群,且以腐生型为主要响应功能群。一般来说,腐生营养型真菌大多归属为子囊菌门,在分解土壤有机质和营养物质循环方面起重要的作用[26]。

从云木香植株中分离得到的可培养内生细菌中,根的优势菌属是农杆菌属,种子的优势菌属是芽孢杆菌属,叶的优势菌属是假单胞菌属。其中农杆菌属、假单胞菌属和芽孢杆菌属都是常见的植物促生菌株[27][28]。从云木香植株中分离得到的可培养内生真菌中,根的优势菌属是镰刀菌属、格孢菌属和丝核菌属,种子的优势菌属是链格孢属,叶的优势菌属是青霉属。其中镰刀菌属、链格孢属、丝核菌属、青霉属都是常见的致病菌[29][30]。

本研究应用高通量测序技术对药用植物云木香根、叶和种子中的内生细菌和内生真菌进行了多样性分析,发现云木香中蕴含着丰富的内生菌资源。并采用组织分离法从云木香植株中初步分离出部分可培养的内生菌菌株,后续会不断优化培养基和分离条件,对不同时期、不同产地的云木香植株进行内生菌的分离培养,同时对已经分离纯化的内生菌菌株进行功能验证。本研究较为全面地分析了云木香不同组

织内生细菌和内生真菌的群落结构和功能差异,丰富了云木香内生菌资源信息,为将来开发利用云木香内生菌资源提供理论依据。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 3 部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [2] 魏华, 彭勇, 马国需, 等. 木香有效成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(3): 613-620.
- [3] Afzal, I., Shinwari, Z.K., Sikandar, S. and Shahzad, S. (2019) Plant Beneficial Endophytic Bacteria: Mechanisms, Diversity, Host Range and Genetic Determinants. *Microbiological Research*, **221**, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- [4] 陈一钊, 吴余宁, 徐春燕, 等. 基于高通量测序技术分析黄酒微生物多样性的研究进展[J]. 现代食品, 2020, 5(23): 38-43.
- [5] 王红阳, 康传志, 王升, 等. 基于高通量测序和传统培养分离方法的药用植物内生菌资源研究策略[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(8): 1910-1919.
- [6] 刘永杰, 王渊, 付强, 等. 高通量测序技术在病原生物学方面的研究进展[J]. 口岸卫生控制, 2019, 24(1): 6-9.
- [7] 阿苏瑞, 刘芳芳, 李睿亚, 等. 高通量测序在遗传性皮肤病中的应用及前景[J]. 内蒙古医学杂志, 2019, 51(10): 1183-1185.
- [8] Chao, A. (1984) Nonparametric Estimation of the Number of Classes in a Population. *Scandinavian Journal of Statistics*, **11**, 265-270.
- [9] Shannon, C.E. (1948) A Mathematical Theory of Communication. *Bell Systems Technical Journal*, **27**, 623-656. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb00917.x>
- [10] Belcher, P.R. (1997) Measurement of Myocardial Contractility. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, **11**, 812. [https://doi.org/10.1016/s1053-0770\(97\)90199-3](https://doi.org/10.1016/s1053-0770(97)90199-3)
- [11] 金利容, 许冬, 王玲, 等. 云木香内生细菌的分离鉴定及其对大丽轮枝菌的抑制作用[J]. 植物保护, 2024, 50(3): 46-54.
- [12] 李善家, 袁亚玲, 武乐乐, 等. 种子内生菌促生抗逆机制研究进展[J/OL]. 草原与草坪, 1-14. <https://link.cnki.net/doi/10.13817/j.cnki.cyyep.2025.02.001>, 2024-09-18.
- [13] Cope-Selby, N., Cookson, A., Squance, M., Donnison, I., Flavell, R. and Farrar, K. (2016) Endophytic Bacteria in *Miscanthus* Seed: Implications for Germination, Vertical Inheritance of Endophytes, Plant Evolution and Breeding. *GCB Bioenergy*, **9**, 57-77. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12364>
- [14] Liang, Y., Wei, G., Ning, K., Zhang, G., Liu, Y., Dong, L., *et al.* (2021) Contents of Lobetyolin, Syringin, and Atractylolide III in *Codonopsis pilosula* Are Related to Dynamic Changes of Endophytes under Drought Stress. *Chinese Medicine*, **16**, Article No. 122. <https://doi.org/10.1186/s13020-021-00533-z>
- [15] Wei, G., Ning, K., Zhang, G., Yu, H., Yang, S., Dai, F., *et al.* (2021) Compartment Niche Shapes the Assembly and Network of *Cannabis sativa*-Associated Microbiome. *Frontiers in Microbiology*, **12**, Article 714993. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.714993>
- [16] 李孟芝, 李超, 崔占虎, 等. 南阳艾内生菌与关键次生代谢产物相关性探究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2024, 26(5): 1202-1212.
- [17] Prasanna, R., Jaiswal, P., Nayak, S., Sood, A. and Kaushik, B.D. (2009) Cyanobacterial Diversity in the Rhizosphere of Rice and Its Ecological Significance. *Indian Journal of Microbiology*, **49**, 89-97. <https://doi.org/10.1007/s12088-009-0009-x>
- [18] Ghorbani, S. and Harighi, B. (2017) Characterization of Endophytic Bacteria with Plant Growth Promotion and Biological Control Potential Isolated from Walnut Trees. *Forest Pathology*, **48**, e12403. <https://doi.org/10.1111/efp.12403>
- [19] 沈德龙, 冯永君, 宋未. 成团肠杆菌的生物功能多样性及其分类最新进展[J]. 微生物学杂志, 2002, 22(1): 40-42+50.
- [20] Li, R., Duan, W., Ran, Z., Chen, X., Yu, H., Fang, L., *et al.* (2023) Diversity and Correlation Analysis of Endophytes and Metabolites of *Panax quinquefolius* L. in Various Tissues. *BMC Plant Biology*, **23**, Article No. 275. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04282-z>
- [21] 刘雯雯, 张旭, 黄奇, 等. 基于高通量测序的明日叶不同组织内生菌群落结构分析[J]. 南方农业学报, 2023, 54(6): 1622-1632.



- [22] 庞礴. 不同地区蛇足石杉内生真菌多样性及分离纯化和生物活性研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江理工大学, 2023.
- [23] 吕佳. 肉桂内生真菌多样性及其抗肉桂枝枯病菌活性研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 广东药科大学, 2022.
- [24] Vacher, C., Hampe, A., Porté, A.J., Sauer, U., Compant, S. and Morris, C.E. (2016) The Phyllosphere: Microbial Jungle at the Plant-Climate Interface. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **47**, 1-24.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-121415-032238>
- [25] 潘斐, 李孟芝, 高丽, 等. 南阳艾不同生长阶段内生菌与其关键代谢产物的相关分析[J/OL]. 分子植物育种, 1-21.  
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240904.1555.004.html>, 2024-09-19.
- [26] 项小燕, 阮思睿, 张颖, 等. 大别山五针松根际微生物和内生菌群落特征及功能多样性[J/OL]. 广西植物, 1-14.  
<https://link.cnki.net/urlid/45.1134.Q.20240220.1617.004>, 2024-09-21.
- [27] Rahimi, R., Paknejad, F., Sadeghishoae, M., Ilkace, M.N. and Rezaei, M. (2024) Correction to: Combined Effects of Paclobutrazol Application and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPRs) Inoculation on Physiological Parameters of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Drought Stress. *Cereal Research Communications*, **52**, 1031-1031.  
<https://doi.org/10.1007/s42976-024-00524-4>
- [28] Lin, Y., Watts, D.B., Kloepper, J.W., Feng, Y. and Torbert, H.A. (2019) Influence of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Corn Growth under Drought Stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **51**, 250-264.  
<https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1705329>
- [29] 赵梦娟, 周婷婷, 韩盛, 等. 新疆喀什地区甜瓜根腐病原菌及其致病性[J/OL]. 中国瓜菜, 1-14.  
<https://doi.org/10.16861/j.cnki.zggc.2025.0075>, 2025-06-19.
- [30] 高微微, 张薇薇, 张西梅, 等. 中药材根腐病发生特点与新形势下的防控策略[J/OL]. 中国中药杂志, 1-10.  
<https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20250508.101>, 2025-06-19.