

两种醉鱼草属植物根内真菌多样性和功能特征

张鑫¹, 吴刚²

(1. 云南林业职业技术学院, 云南 昆明 650224; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650201)

摘要: 为了解醉鱼草属 *Buddleja* 广布物种的根内真菌多样性异同和功能特征, 对密蒙花 *Buddleja officinalis* 和白背枫 *B. asiatica* 的根内真菌进行了高通量测序和相关生物信息学分析。结果表明, 从密蒙花和白背枫根内分别获得 429 和 267 个真菌扩增子序列变异 (amplicon sequence variants, ASVs) 特征序列, 但两者在 α -多样性指数上无显著性差异; 通过物种注释发现, 子囊菌门 Ascomycota 和担子菌门 Basidiomycota 物种均为两种植物根内真菌的主要成分, 但白背枫根系中担子菌门物种 (主要为伞菌纲 Agaricomycetes) 明显占优势, 可见它们在物种组成上有明显差别; 通过生态功能注释发现, 密蒙花和白背枫根内分别有 87 个真菌和 94 个真菌 ASVs 被注释到生态功能, 且共生 (Symbiotroph)、腐生 (Saprotroph) 和寄生 (Pathotroph) 真菌均能在两种植物的根内被探测到, 但类群存在异同; 共生菌方面, 在两种植物根内均检测到外生菌根真菌类的蜡壳耳科 Sebacinaceae 真菌, 而丛枝菌根真菌类的多孢囊霉目 Diversisporales 仅见于密蒙花根内, 丛枝菌根真菌类的球囊霉科 Glomeraceae 物种仅见于白背枫根内等。上述研究结果表明, 密蒙花和白背枫在根内真菌多样性上无显著差异, 但其根系对真菌的偏好性可能不同。
关键词: 密蒙花; 白背枫; 醉鱼草属; 高通量测序; 根内真菌

中图分类号: S154.3; Q949.32 文献标识码: A 文章编号: 1001-3776(2023)02-0008-09

Diversity and Functional Properties of Fungi in Roots of Two *Buddleja* Species

ZHANG Xin¹, WU Gang²

(1. Yunnan Forestry Technological College, Kunming 650224, China; 2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

Abstract: On July 11, 2021, lateral roots of *Buddleja officinalis* and *B. asiatica* were collected from a plot of 200 m × 200 m in Mile county, Yunnan province, and the ecological guilds of fungi in roots were analysed using high-throughput sequencing and bioinformatic analyses. The result demonstrated that 429 amplicon sequence variants (ASVs) were retrieved from *B. officinalis* and 267 ones from *B. asiatica*, but it had no significant difference of fungal α -diversity between *B. officinalis* and *B. asiatica*. By taxonomic annotation, Ascomycota and Basidiomycota were the main components of the annotated mycorrhizal fungi of both *B. officinalis* and *B. asiatica*, but Basidiomycota (mainly Agaricomycetes) had dominance in *B. asiatica*. Annotation of ecological guilds of fungi showed that 87 ASVs of fungi from *B. officinalis* and 94 ones from *B. asiatica*. Main guilds such as Symbiotroph, Saprotroph and Pathotroph were retrieved from roots of both plants. On symbiotroph, the ectomycorrhizal Sebacinaceae were detected in roots of both plants, while the arbuscular mycorrhizal Diversisporales only found in *B. officinalis*, and the arbuscular mycorrhizal Glomeraceae only in *B. asiatica*.

收稿日期: 2022-10-01; 修回日期: 2023-01-14

基金项目: 云南林业职业技术学院博士基金 (KY(BS)201801)

作者简介: 张鑫, 副教授, 博士, 从事植物保护生物学研究工作; E-mail: 362005738@qq.com. 通信作者: 吴刚, 副研究员, 博士, 从事真菌多样性与进化研究工作; E-mail: wugang@mail.kib.ac.cn.

Key words: *Buddleja officinalis*; *B. asiatica*; *Buddleja*; high-throughput sequencing; Fungi in Roots

醉鱼草属 *Buddleja* 植物隶属于玄参科 Scrophulariaceae, 多为灌木, 少有乔木和亚灌木, 全球约有 100 种, 分布于美洲、非洲和亚洲的热带、亚热带至温带地区^[1-3]。该属物种主要分布在地、山谷、河边或村庄的疏林或灌木丛中, 适应性较强。这种较强的适应性可能和根际或根内微生物的作用有关, 因为这些微生物有助于植物的营养吸收或提高植物的抗逆性^[4-5], 而菌根真菌可能在其中发挥了较重要的作用^[6-11]。曾经就有报道新西兰入侵物种大叶醉鱼草 *B. davidii* 可能通过形成丛枝菌根提高了对磷的吸收能力^[12]。但对醉鱼草属植物类似的相关研究还很少, 因此有必要更全面地揭示醉鱼草属植物的根内真菌多样性及其异同, 将有助于解析该属植物较强生境适应性的原因。密蒙花 *B. officinalis* 和白背枫 *B. asiatica* 均隶属于醉鱼草属醉鱼草亚属 Subgen. *Buddleja* 醉鱼草组 Sect. *Neemda* 直花系 Ser. *Rectiflorae*, 是该属在亚洲分布的代表性物种, 全国广布且存在同域分布^[3, 13], 因此是研究醉鱼草属广布植物的根内真菌多样性及其异同的较理想对象。

传统的菌根真菌多样性研究手段主要是形态学鉴定和 Sanger 测序方法^[14-16]。Sanger 测序技术主要是基于 rRNA 基因的不同区域, 主要包括核糖体小亚基 (nuclear ribosomal small subunit, nrSSU)、内转录间隔区 (Internal transcribed spacers, ITS, 包括 ITS1、5.8S 和 ITS2)、核糖体大亚基 (nuclear ribosomal large subunit, nrLSU) 这三个区域, 而 ITS rRNA 区域由于能提供大量的菌根真菌变异序列而备受大家关注和使用^[15-18]。随着高通量测序技术的发展, 该技术也被引入根内和根际真菌多样性的研究^[19-24]。本研究就是尝试利用高通量测序技术对密蒙花和白背枫的根内真菌进行检测, 旨在认识这两种植物的根内真菌多样性及其异同, 并分析其根内真菌的生态功能类型, 这将有助于揭示它们较强的环境适应性的原因。

1 材料与方法

1.1 样品采集

采集地为云南省红河州弥勒市弥勒县西一镇阿基村附近 (24°26'14.75" N, 103°22'4.07" E)。采集区域属于亚热带季风气候区, 采集地是村庄附近的灌木丛, 海拔约为 1 650 m, 土壤为红壤类型。密蒙花和白背枫两种植物同域分布于采集区域, 但均呈离散分布。为更好地进行根系真菌多样性比较和减少土壤因素对结果的影响, 本研究选择了在一个大约 200 m × 200 m 面积范围内对这两种植物 (株高 1.5 ~ 3.0 m, 至少 1 年生以上) 进行根系样品采集。样品采集时间为 2021 年 7 月 11 日。采集样品为植株的侧根 (直径 ≤ 2 mm)。密蒙花根系样品共采集了 10 份 (每株根系样品计为 1 份), 从中选择了植株间距较大的 4 份根系样品 (MMH4_R、MMH8_R、MMH9_R、MMH10_R) 用于后续高通量测序; 白背枫根系样品共采集了 3 份 (QLX1_R、QLX2_R、QLX3_R), 来自 3 株植物 (在采集范围仅有 3 株), 全部用于后续高通量测序。采集的根系样品经低温 (4 ~ 8 °C) 保存送至实验室, 随即进行根系清洗。首先利用无菌水洗脱根系表面附着的土壤, 并利用超声波进行二次清洗; 再用 75% 酒精浸泡 1 min, 然后转入 2.5% 次氯酸钠溶液中浸泡 5 min, 接着用无菌水漂洗 2 ~ 3 次; 随后用无菌滤纸吸干根系表面的水分, 装入小自封袋, 每份 5 ~ 10 g, 放置于 -80 °C 冰箱冷冻保存; 最后用干冰将样品运输至上海派森诺生物科技有限公司进行后续扩增子测序。

1.2 根系总 DNA 提取、文库构建和 Illumina Miseq 测序

从每份样品中各取 5 g, 利用 DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN, Inc., Netherlands) 试剂盒, 根据说明书进行总 DNA 提取。所提取的 DNA 用 NanoDrop ND-1000 分光光度计进行浓度和质量把控, 并进行凝胶电泳检测, 以确保后续扩增子测序正常进行。测序文库按照 Illumina 宏基因组测序建库方法进行构建。首先将用于区别样品的 7 bp 标签拼接到扩增引物序列上, 然后利用真菌专一性引物 ITS5F (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) 和 ITS1R (GCTGCGTTCTCATCGATGC) 进行一次扩增。扩增体系为 25 μL, 包括 5 μL 的 buffer (5 ×)、0.25 μL 的 Fast pfu DNA Polymerase (5 U·μL⁻¹)、2 μL 的 dNTPs (2.5 mM)、1 μL 的正反向引物 (10 uM)、1 μL

的 DNA 模板,最后用 ddH₂O 补齐至 25 μ L。扩增程序为 98 $^{\circ}$ C 预加热 5 min;进入扩增循环(25 个循环):98 $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火温度 53 $^{\circ}$ C,保持 30 s,延伸温度 72 $^{\circ}$ C,保持 45 s;循环结束后延伸温度 72 $^{\circ}$ C,保持 5 min。PCR 产物利用 Vazyme VAHTSTM DNA Clean Beads 试剂盒纯化,并利用 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 试剂盒进行定量。完成定量步骤后,各扩增子产物按等量混合建库,利用 Illumina MiSeq 测序平台进行 PE250 测序。每个样品测序数据量保证不少于 6 万条 reads 数。

1.3 生物信息学分析和统计学分析

原始数据已提交至 NCBI SRA 数据库中,获取号为 PRJNA 784706。微生物生物信息学分析是利用 QIIME2-2019.4^[25]平台和 R 软件完成。步骤简述如下:首先,利用 Qiime demux 插件进行 Demultiplex;之后,调用 Qiime cutadapt trim-paired^[26]切除序列的引物片段,弃去未匹配引物的序列;然后,通过 Qiime dada 2 denoise-paired 调用 DADA2 进行质控、去噪、拼接、去嵌合体^[27]。以上步骤针对每个文库分别进行分析。完成对所有文库的去噪后,合并扩增子序列变异(amplicon sequence variants, ASVs)特征序列和 ASV 表格,并去除 singletons ASVs(即在全体样本中序列总数仅为 1 的 ASV)。利用 Qiime feature-table rarefy 功能对 ASVs 丰度进行抽平处理^[28],之后利用抽平 ASV 丰度表分析 α -多样性指数包括 Shannon 指数^[29]、Simpson 指数^[30]、Chao1 指数^[31]、测序深度指数(Goods coverage)^[32],同时为了探究样本 α -多样性随抽平深度的变化趋势而绘制了稀疏曲线(Rarefaction Curve)。

利用 UpSetR 软件包绘制样品 ASVs 的交集图^[33]。利用 Qiime2 中的默认参数基于 UNITE Release 8.0^[34]数据库对 ASVs 进行真菌物种分类学注释,并通过 Qiime taxa barplot 命令进行了门和纲级的分类学注释可视化。利用分类学注释结果,基于 FUNGuild 数据库对真菌进行生态功能注释^[35]。

2 结果与分析

2.1 密蒙花和白背枫根内真菌物种组成和多样性

从密蒙花 4 个根系样品共获得去除 singletons 的 343 569 reads,含 429 个真菌 ASVs,注释到 5 门 10 纲 24 目 41 科 53 属;从白背枫 3 个根系样品共获得去除 singletons 的 202 498 reads,含 267 个真菌 ASVs,注释到 4 门 11 纲 28 目 43 科 54 属(表 1、表 2)。测序深度指数(Goods coverage)显示覆盖度接近 1.0,表明测序深度已经基本覆盖到样品中所有的物种(图 1)。

通过对所有样品根内真菌物种组成的分析,发现在门(Phylum)水平上,密蒙花和白背枫所有根系样品的

表 1 基于 Illumina MiSeq 测序获得的密蒙花和白背枫根内真菌序列数信息

Tab. 1 The sequences reads of fungi from the roots of <i>B. officinalis</i> and <i>B. asiatica</i> based on Illumina MiSeq sequencing			
物种名	样品	总 reads 数目	过滤后的 reads 数目
密蒙花	MMH4_R	119 938	116 770
	MMH8_R	119 358	116 290
	MMH9_R	116 175	112 674
	MMH10_R	115 296	112 309
白背枫	QLX1_R	123 313	119 593
	QLX2_R	124 532	119 975
	QLX3_R	126 170	122 182

子囊菌门 Ascomycota 和担子菌门 Basidiomycota 物种均占主要成分,而密蒙花根系样品中子囊菌门物种占了绝对优势,但白背枫根系样品中担子菌门物种占比较大,且明显高于密蒙花根系样品的(图 2A)。在纲(Class)水平上,在密蒙花和白背枫所有根系样品中均检测到伞菌纲 Agaricomycetes、粪壳菌纲 Sordariomycetes、座囊菌纲 Dothideomycetes、散囊菌纲 Eurotiomycetes、锤舌菌纲 Leotiomycetes 物种(图 2B)。此外,白背枫的根系样品中伞菌纲物种较多,比密蒙花根系样品的要明显丰富(图 2B)。

α -多样性指数分析显示密蒙花根内真菌的 Shannon 指数为 1.04 ~ 4.81,Chao1 指数为 88.90 ~ 190.04, Simpson 指数为 0.21 ~ 0.91;白背枫根内真菌的 Shannon 指数为 2.71 ~ 4.25,Chao1 指数为 86.27 ~ 118.05, Simpson 指数为 0.73 ~ 0.90。两种植物的 α -多样性指数间无显著性差异(图 1)。从韦恩图分析看,密蒙花和白背枫不同根系样品各自独有的真菌 ASVs 比较多,占比在 19.1% ~ 40.3%;密蒙花根系共有的真菌 ASVs 占 1.2%,白背枫根系共有的真菌 ASVs 占 1.1%;两种植物根系间未探测到共有的真菌 ASVs(图 3)。

表 2 从密蒙花和白背枫根系中获得真菌扩增子序列变异特征序列 (ASVs) 数和注释的各分类单元数目统计
Tab. 2 Number of ASVs and annotated taxa of fungi in roots of *B. officinalis* and *B. asiatica*

物种名	样品号	分组	ASVs	注释到的各分类单元数目				
				Phylum/门	Class/纲	Order/目	Family/科	Genus/属
密蒙花	MMH4_R	MMH_R	117	4	8	17	20	21
	MMH8_R	MMH_R	191	3	7	11	12	11
	MMH9_R	MMH_R	100	3	6	13	22	30
	MMH10_R	MMH_R	90	2	5	9	16	17
白背枫	QLX1_R	QLX_R	104	3	10	21	32	37
	QLX2_R	QLX_R	87	4	8	17	24	27
	QLX3_R	QLX_R	119	2	7	12	14	13

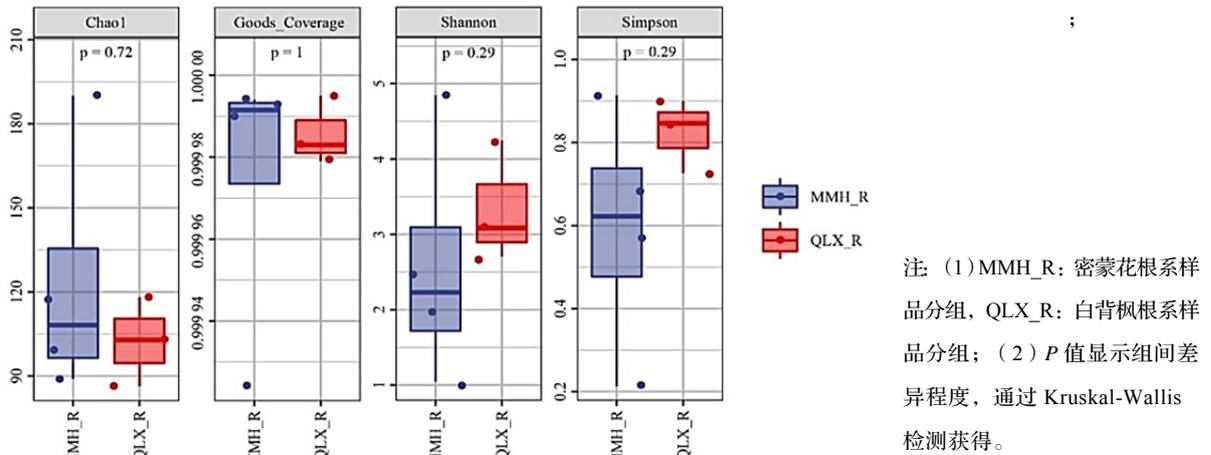
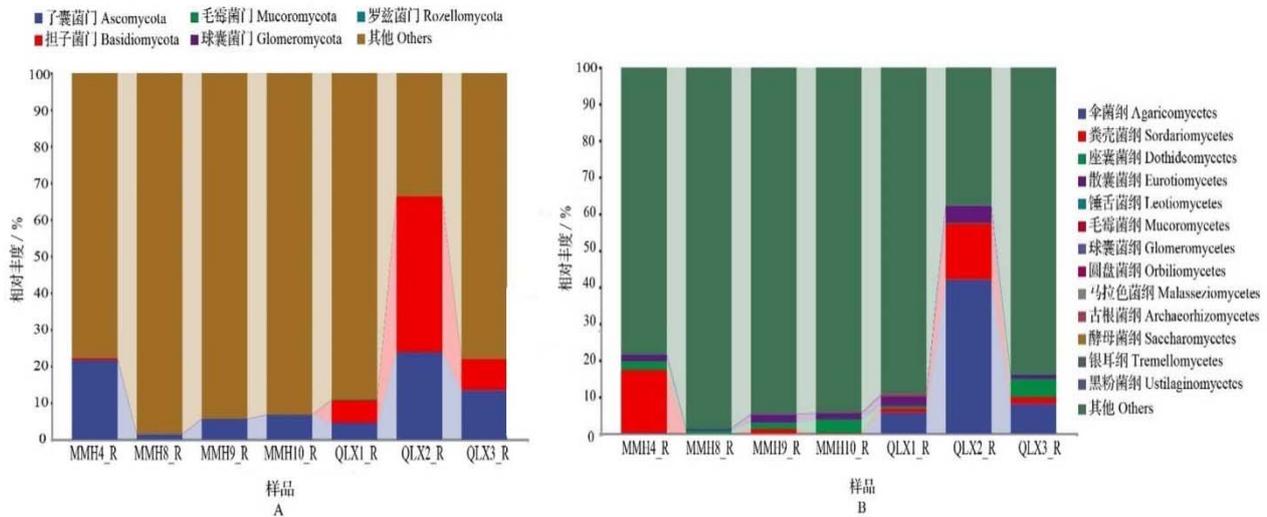


图 1 密蒙花和白背枫根内真菌 α -多样性差异比较 (显示 Chao1 指数、Good_coverage 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数)

Fig. 1 Differences in α -diversity of fungi in roots of *B. officinalis* and *B. asiatica* by Chao1 index, Goods coverage index, Shannon index and Simpson index



注: 仅显示的是相对丰度前 20 的各分类单元。

图 2 密蒙花和白背枫各根系样品中的真菌在门 (A) 和纲 (B) 级水平的各分类单元相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of phylum (A) and class (B) of fungi in roots of *B. officinalis* and *B. asiatica*

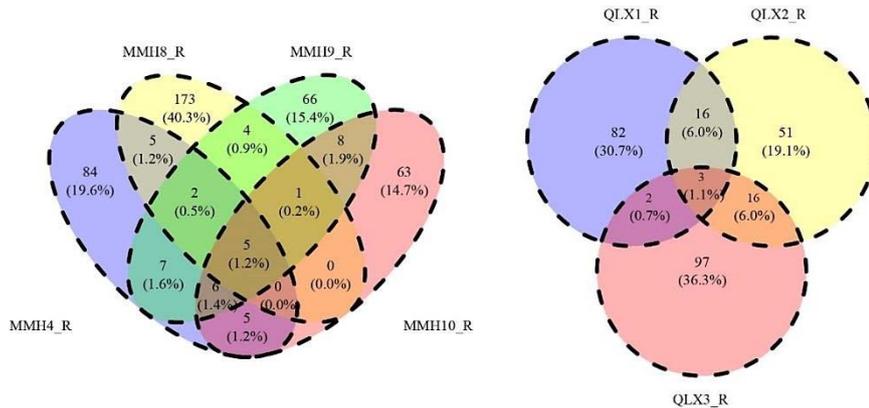


图 3 密蒙花和白背枫各根系样品内真菌的韦恩图分析

Fig. 3 The Venn plots o of fungi in roots of *B. officinalis* and *B. asiatica*

2.2 密蒙花与白背枫根内真菌的生态功能注释

根据 FUNGuild 数据库, 密蒙花根内有 87 个真菌 ASVs 注释到生态功能, 白背枫根内有 94 个真菌 ASVs 注释到生态功能。两种植物根内真菌的生态功能均可分为三种类型, 包括共生 (Symbiotroph)、腐生 (Saprotroph) 和寄生 (Pathotroph)。这三种类型可以进一步细分为 35 大类 (guild), 其中 Undefined saprotroph (密蒙花有 20 个 ASVs, 约占 23.0%; 白背枫有 21 个 ASVs, 约占 24.2%)、Animal pathogen-Fungal parasite-Undefined saprotroph (密蒙花有 12 个 ASVs, 约占 13.8%、白背枫有 14 个 ASVs, 约占 8.9%) 和 Wood saprotroph (密蒙花有 9 个 ASVs, 约占 10.3%、白背枫有 6 个 ASVs, 约占 3.8%) 三大类的分类单元居多。

2.3 密蒙花与白背枫根内菌根真菌多样性

根据功能注释结果, 进一步发现醉鱼草属植物根内可能存在菌根真菌, 但占比不高。密蒙花和白背枫共有 11 个 ASVs 注释到根内菌根真菌 (表 3), 其中密蒙花 6 个, 约占 6.8%; 白背枫有 7 个, 约占 7.4%。这些菌根真菌主要可能为外生菌根真菌 (Ectomycorrhizal) 和丛枝菌根真菌 (Arbuscular mycorrhizal) 两类。外生菌根真菌主要是蜡壳耳科 *Sebacinaceae* 物种, 普遍在密蒙花和白背枫的根内检测到, 偶见红菇属 (*Russula*, 见于密蒙花和白背枫根内) 和胶膜菌科 (*Tulasnellaceae*, 见于密蒙花根内) 物种。丛枝菌根真菌主要是多孢囊霉目 (Diversisporales, 仅见于密蒙花根内) 和球囊霉科 (Glomeraceae, 仅见于白背枫根内)。另外还存在有可能为内生菌根真菌的角担菌科 *Ceratobasidiaceae* 或角担菌属 *Ceratobasidium* 物种 (见于密蒙花和白背枫根内), 以及可能为外生菌根真菌的粉褶菌属 (*Entoloma*, 见于密蒙花根内) 和蘑菇目 (*Agaricales*, 见于密蒙花根内) 物种。

表 3 密蒙花和白背枫各根系样品的菌根真菌分类单元及 ASVs 丰富度统计
Tab. 3 Taxa and their ASVs richness of mycorrhizal fungi of *B. officinalis* and *B. asiatica*

ASVs ID	密蒙花				白背枫			分类单元	类别	置信等级
	MMH4_R	MMH8_R	MMH9_R	MMH10_R	QLX1_R	QLX2_R	QLX3_R			
ASV_2625	0	0	77	0	0	0	0	d_Fungi 真菌界; p_Glomeromycota 球囊菌门; c_Glomeromycetes 球囊菌纲; o_Diversisporales 多孢囊霉目; f_unidentified 未鉴定出; g_unidentified 未鉴定出; s_unidentified 未鉴定出	丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal	极有可能
ASV_3350	0	0	0	0	0	30	0	d_Fungi 真菌界; p_Glomeromycota 球囊菌门; c_Glomeromycetes 球囊菌纲; o_Glomerales 球囊菌目; f_Glomeraceae 球囊菌科; g_unidentified 未鉴定出; s_unidentified 未鉴定出	丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal	极有可能

表 3 (续)

ASVs ID	密蒙花			白背枫			分类单元	类别	置信等级	
	MMH4_R	MMH8_R	MMH9_R	MMH10_R	QLX1_R	QLX2_R				QLX3_R
ASV_3418	0	0	0	0	0	10	0	d_Fungi 真菌界; p_Glomeromycota 球囊菌门; c_Glomeromycetes 球囊菌纲; o_Glomerales 球囊菌目; f_Glomeraceae 球囊菌科; g_unidentified 未鉴定出; s_unidentified 未鉴定出	丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal	极有可能
ASV_3742	2	0	0	0	0	0	0	d_Fungi 真菌界; p_Basidiomycota 担子菌门; c_Agaricomycetes 伞菌纲; o_Russulales 红菇目; f_Russulaceae 红菇科; g_Russula 红菇属; s_Russula_violeipes 紫柄红菇	外生菌根真菌 Ectomycorrhizal	极有可能
ASV_556	0	0	0	0	0	2	0	d_Fungi 真菌界; p_Basidiomycota 担子菌门; c_Agaricomycetes 伞菌纲; o_Russulales 红菇目; f_Russulaceae 红菇科; g_Russula 红菇属; s_Russula_violeipes 紫柄红菇	外生菌根真菌 Ectomycorrhizal	极有可能
ASV_987	75	0	0	0	0	0	0	d_Fungi 真菌界; p_Glomeromycota 球囊菌门; c_Glomeromycetes 球囊菌纲; o_Diversisporales 多孢囊霉目; f_unidentified 未鉴定出; g_unidentified 未鉴定出; s_unidentified 未鉴定出	丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal	极有可能
ASV_1241	0	0	4	0	15	0	0	d_Fungi 真菌界; p_Basidiomycota 担子菌门; c_Agaricomycetes 伞菌纲; o_Sebacinales 蜡壳耳目; f_Sebacinaceae 蜡壳耳科; g_Sebacina 蜡壳耳属; s_unidentified 未鉴定出	外生菌根真菌 Ectomycorrhizal	很可能
ASV_1429	2	0	0	0	0	0	0	d_Fungi 真菌界; p_Basidiomycota 担子菌门; c_Agaricomycetes 伞菌纲; o_Cantharellales 鸡油菌目; f_Tulasnellaceae 胶膜菌科; g_unidentified 未鉴定出; s_unidentified 未鉴定出	外生菌根真菌-未界定的腐生真菌 Ectomycorrhizal- Undefined saprotroph	很可能
ASV_3058	0	0	0	0	14	0	0	d_Fungi 真菌界; p_Basidiomycota 担子菌门; c_Agaricomycetes 伞菌纲; o_Sebacinales 蜡壳耳目; f_Sebacinaceae 蜡壳耳科; g_Sebacina 蜡壳耳属; s_unidentified 未鉴定出	外生菌根真菌 Ectomycorrhizal	很可能
ASV_567	0	0	0	5	0	78	11	d_Fungi 真菌界; p_Basidiomycota 担子菌门; c_Agaricomycetes 伞菌纲; o_Sebacinales 蜡壳耳目; f_Sebacinaceae 蜡壳耳科; g_unidentified 未鉴定出; s_unidentified 未鉴定出	外生菌根真菌 Ectomycorrhizal	很可能
ASV_585	0	0	0	0	4	0	0	d_Fungi 真菌界; p_Basidiomycota 担子菌门; c_Agaricomycetes 伞菌纲; o_Sebacinales 蜡壳耳目; f_Sebacinaceae 蜡壳耳科; g_Sebacina 蜡壳耳属; s_unidentified 未鉴定出	外生菌根真菌 Ectomycorrhizal	很可能

3 讨论

据《中国植物志》记载,醉鱼草属植物密蒙花和白背枫广泛分布于我国西南、西北、华中和华南地区,生长在海拔 200~3 000 m 的向阳山坡灌木丛和疏林缘,适应性较强;两种植物均可入药,并具有一定的观赏价值。研究密蒙花和白背枫的根内真菌多样性,并探讨根内真菌的生态功能,有助于了解它们较强的生境适应性的原因。

3.1 密蒙花和白背枫根内真菌组成和多样性

植物根系真菌能促进植物生长、营养吸收,抵抗疾病和增强抗逆性,因此其组成和多样性一直备受大家关注^[1,36-38]。本研究在对密蒙花和白背枫根内真菌组成和多样性分析中发现,密蒙花和白背枫植物根内真菌的 Shannon 多样性指数分别为 1.04~4.81 和 2.71~4.25,二者之间无显著性差异,且与其他植物的相关研究结果相似^[21-22,39-40]。然而,尽管两种植物的根系内真菌多样性无显著性差异,但各具特点,比如密蒙花根系内子囊菌类物种占绝对优势,而白背枫根系内担子菌类物种,特别是伞菌纲物种明显较为丰富。因此可推测醉鱼草属植物根系对互作真菌可能有着不同的偏好性。

3.2 密蒙花和白背枫根内真菌生态学功能探讨

通过生态学功能注释,本研究发现密蒙花和白背枫的根内可能存在少数的菌根真菌,主要是外生菌根真菌类的蜡壳耳科真菌和丛枝菌根真菌类的多孢囊霉目、球囊霉科真菌,以及可能为内生菌根真菌的角担菌科物种等,因此可以推测醉鱼草属植物能与部分真菌形成菌根互惠关系。这些菌根真菌分布广泛,且可以帮助植物吸收营养,促进植物生长,也能提高植物逆境胁迫忍耐力^[7,16,41-46]。比如 Zhang 等研究发现角担菌属物种能促进中药植物金线兰 *Anoectochilus roxburghii* 的生长发育并提高药性化合物黄酮类次生代谢产物的产量^[45]。蜡壳耳科的印度梨形孢 *Piriformospora indica* 能提高烟草 *Nicotiana tabacum*、大麦 *Hordeum vulgare*、拟南芥 *Arabidopsis thaliana*、蒺藜苜蓿 *Medicago truncatula* 等植物的抗旱和耐盐性^[43,46],也能促进豆类 (Legumes) 等植物的生长^[47]。球囊霉科球囊霉属 *Glomus* 物种能增强柑橘类 (Citrus) 植物的抗干旱能力^[48],也能促进辣椒 *Capsicum annuum* 的生长并提高其生物量和结实率^[49-50]。由此可见,上述菌根真菌类群与密蒙花和白背枫的根系形成菌根共生关系,是有可能提高这两种植物对不同生境的适应性。不过要证实此推论还需将来更多实验数据支持。

通过分析也发现了本研究存在的一定不足,在未来的研究中可同时结合根际真菌多样性进行比较,再关联土壤的理化性质,并进行周期性监测采样,如此能更全面反映醉鱼草属相关植物根系(根际和根内)真菌多样性的全貌和动态变化,从而能更可信地探讨该属植物的不同适应性。

4 结论

通过对密蒙花和白背枫两种植物根系内真菌进行分析,发现密蒙花植株根系含 429 个真菌 ASVs,注释到 5 门 10 纲 24 目 41 科 53 属;白背枫根系含 267 个真菌 ASVs,注释到 4 门 11 纲 28 目 43 科 54 属,两者真菌多样性无显著性差异,但在物种组成上有明显差别,推测这两种植物根系对互作真菌的偏好性有所不同;根据 FUNGuild 数据库,密蒙花根内有 87 个真菌 ASVs 注释到生态功能,白背枫根内有 94 个真菌 ASVs 注释到生态功能,两种植物根内真菌的生态功能均可分为三种类型,包括共生、腐生和寄生。根据功能注释结果,发现醉鱼草属植物根内可能存在菌根真菌,密蒙花和白背枫共有 11 个 ASVs 注释到根内菌根真菌,这些菌根真菌主要包括外生菌根真菌类的蜡壳耳科真菌和丛枝菌根真菌类的多孢囊霉目、球囊霉科真菌,以及可能为内生菌根真菌的角担菌科物种等。

本研究对密蒙花和白背枫根内真菌多样性进行了初步探究,为未来研究从更大空间尺度或选择不同分布类型的醉鱼草属植物进行根内真菌多样性的比较研究积累了前期数据和奠定了基础。

参考文献:

- [1] OXELMAN B, KORNHALL P, OLMSTEAD R, et al. Further disintegration of Scrophulariaceae [J]. *Taxon*, 2005, 54 (2): 411–425.
- [2] CHAU J H, O'LEARY N, SUN W-B, et al. Phylogenetic relationships in tribe *Buddlejeae* (Scrophulariaceae) based on multiple nuclear and plastid markers [J]. *Botanical journal of the Linnean Society*, 2017, 184 (2): 137–166.
- [3] 张美珍, 缪柏茂, 陆瑞林, 等. 中国植物志: 第 61 卷 木犀科 马钱科[M]. 北京: 科学技术出版社, 1992: 309.
- [4] TRIVEDI P, LEACH J E, TRINGE S G, et al. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2020, 18 (11): 607–621.
- [5] GARRIDO-OTER R, NAKANO R T, DOMBROWSKI N, et al. Modular traits of the Rhizobiales root microbiota and their evolutionary relationship with symbiotic Rhizobia[J]. *Cell Host Microb*, 2018, 24 (1): 155–167.
- [6] JIANG Y, WANG W, XIE Q, et al. Plants transfer lipids to sustain colonization by mutualistic mycorrhizal and parasitic fungi[J]. *Science*, 2017, 356 (6343): 1172–1175.
- [7] 刘润进, 唐明, 陈应龙. 菌根真菌与植物抗逆性研究进展 [J]. *菌物研究*, 2017, 15 (1): 70–88.
- [8] 欧静, 何跃军, 刘仁阳, 等. 杜鹃花类菌根真菌对桃叶杜鹃幼苗光合性能及叶绿素荧光参数的影响[J]. *微生物学通报*, 2013, 40 (8): 1423–1436.
- [9] 黄艺, 姜学艳, 梁振春, 等. 外生菌根真菌接种和施磷对油松苗抗盐性的影响[J]. *生态环境*, 2004, 13 (4): 622–625, 640.
- [10] 梁宇, 郭良栋, 马克平. 菌根真菌在生态系统中的作用[J]. *植物生态学报*, 2002, 26 (6): 739–745.
- [11] BEGUM N, QIN C, AHANGER M A, et al. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: Implications in abiotic stress tolerance[J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1068.
- [12] DICKIE I A, THOMAS M M, BELLINGHAM P J. On the perils of mycorrhizal status lists: the case of *Buddleja davidii*[J]. *Mycorrhiza*, 2007, 17 (8): 687–688.
- [13] LEEUWENBERG A J M. The Loganiaceae of Africa XVIII. *Buddleja* L. II. Revision of the African and Asiatic species[J]. *Mededel Landbouwhogeschool Wageningen*, 1979, 79: 1–163.
- [14] 李建平, 李涛, 赵之伟. 金沙江干热河谷(元谋段)丛枝菌根真菌多样性研究[J]. *菌物学报*, 2003, 22 (004): 604–612.
- [15] 许美玲, 孙军德, 朱教君, 等. 树木外生菌根真菌多样性研究方法进展[J]. *土壤通报*, 2005, 36 (6): 969–974.
- [16] 刘敏, 峥嵘, 白淑兰, 等. 丛枝菌根真菌物种多样性研究进展[J]. *微生物学通报*, 2016, 43 (8): 1836–1843.
- [17] 耿荣, 耿增超, 黄建, 等. 秦岭辛家山林区锐齿栎外生菌根真菌多样性[J]. *菌物学报*, 2016, 35 (7): 833–847.
- [18] BJORBÆKMO M F M, CARLSEN T, BRYSTING A, et al. High diversity of root associated fungi in both alpine and arctic *Dryas octopetala*[J]. *BMC Plant Biol*, 2010, 10 (1): 244.
- [19] 熊丹, 欧静, 李林盼, 等. 黔中地区马尾松林下杜鹃根部内生真菌群落组成及其生态功能分析[J]. *生态学报*, 2020, 40 (4): 1228–1239.
- [20] 杨岳, 闫伟, 魏杰. 内蒙古地区白桦根围土壤外生菌根真菌群落结构[J]. *菌物学报*, 2018, 37 (3): 294–304.
- [21] HIGO M, TATEWAKI Y, IIDA K, et al. Amplicon sequencing analysis of arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing maize roots in different cover cropping and tillage systems[J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 6039.
- [22] AL-SADI A M, KAZEROONI E A. Illumina-MiSeq analysis of fungi in acid lime roots reveals dominance of *Fusarium* and variation in fungal taxa[J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 17388.
- [23] 宁祎, 李艳玲, 周国英, 等. 青海上北山林场野生桃儿七根部内生真菌群落组成及多样性研究[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41 (7): 1227–1234.
- [24] 朱琳, 黄建, 陈天阳, 等. 文冠果人工林根际土壤真菌和根系内生真菌群落多样性[J]. *东北林业大学学报*, 2015, 43 (5): 105–111.
- [25] BOLYEN E, RIDEOUT J R, DILLON M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 [J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37 (8): 852–857.
- [26] MARTIN M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads[J]. *EMBnet J*, 2011, 17 (1): 10–12.
- [27] CALLAHAN B J, MCMURDIE P J, ROSEN M J, et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. *Nat Meth*, 2016, 13 (7): 581–583.
- [28] KEMP P F, ALLER J Y. Bacterial diversity in aquatic and other environments: what 16S rDNA libraries can tell us[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2004, 47 (2): 161–177.
- [29] SHANNON C E. A mathematical theory of communication[J]. *Bell Syst Tech J*, 1948, 27 (3): 379–423.
- [30] SIMPSON E H. Measurement of diversity[J]. *Nature*, 1949, 163: 688.
- [31] CHAO A. Non-parametric estimation of the classes in a population[J]. *Scandinav J Statist*, 1984, 11 (4): 265–270.

- [32] GNERRE S, MACCALLUM I, PRZYBYLSKI D, et al. High-quality draft assemblies of mammalian genomes from massively parallel sequence data[J]. Proc Nat Acad Sci, 2011, 108 (4): 1513.
- [33] LEX A, GEHLENBORG N, STROBELT H, et al. UpSet: Visualization of intersecting sets[J]. IEEE Transact Vis Comput Graph, 2014, 20 (12): 1983–1992.
- [34] KÖLJALG U, NILSSON R H, ABARENKOV K, et al. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi[J]. Molec Ecol, 2013, 22 (21): 5271–5277.
- [35] NGUYEN N H, SONG Z, BATES S T, et al. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild [J]. Fung Ecol, 2016, 20: 241–248.
- [36] QIN Y, PAN X, 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.
- [37] MARTIN F, KOHLER A, MURAT C, et al. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses[J]. Nat Rev Microbiol, 2016, 14 (12): 760–773.
- [38] SURYANARAYANAN T S, SHAANKER R U. Can fungal endophytes fast-track plant adaptations to climate change? [J]. Fungal Ecology, 2021, 50: 101039.
- [39] 王珊, 魏杰, 杨岳, 等. 不同衰退等级蒙古沙冬青根内真菌多样性与群落结构[J]. 菌物学报, 2018, 37 (4): 411–421.
- [40] 周婕, 苗一方, 方楷, 等. 紫茎泽兰内生真菌及其根际土壤真菌的多样性研究[J]. 生态科学, 2019, 38 (5): 1–7.
- [41] KALDORF M, KOCH B, REXER K-H, et al. Patterns of interaction between *Populus* Esch5 and *Piriformospora indica*: A transition from mutualism to antagonism[J]. Plant Biol, 2005, 7 (2): 210–218.
- [42] SHERAMETI I, SHAHOLLARI B, VENUS Y, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and *Arabidopsis* roots through a homeodomain transcription factor that binds to a conserved motif in their promoters[J]. J Biol Chem, 2005, 280 (28): 26241–26247.
- [43] 毛琳琳, 朱志炎, 何勇, 等. 印度梨形孢 (*Piriformospora indica*) 与植物互作研究综述[J]. 安徽农学通报, 2016, 22 (11): 47–50, 99.
- [44] 朱教君, 徐慧, 许美玲, 等. 外生菌根菌与森林树木的相互关系 [J]. 生态学杂志, 2003, 22 (6): 70–76.
- [45] ZHANG Y, LI Y, GUO S. Effects of the mycorrhizal fungus *Ceratobasidium* sp. AR2 on growth and flavonoid accumulation in *Anoectochilus roxburghii*[J]. Peer J, 2020, 8 (2): e8346.
- [46] 李亮, 武洪庆, 马朝阳, 等. 印度梨形孢促进蒺藜苜蓿生长及其提高耐盐性研究[J]. 微生物学通报, 2015, 42 (8): 1492–1500.
- [47] VARMA A, SHERAMETI I, TRIPATHI S, et al. The symbiotic fungus *Piriformospora indica*: Review[M]//Hock B. Fungal Associations. Berlin, Heidelberg; Springer Berlin Heidelberg, 2012: 231–254.
- [48] WU Q S, XIA R X. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions[J]. J Plant Physiol, 2006, 163 (4): 417–425.
- [49] PUTTARADDER J, LAKSHMAN H C. Effect of different AM Fungi inoculation on growth, biomass, yield enhancement and nutrient uptake in cultivar Sankeshwar of *Capsicum annuum* L.[J]. Int J Eng App Sci, 2016, 3 (12): 74–79.
- [50] 王敏强, 吴沛鸿, 沈益康, 等. 盐胁迫下接种丛枝菌根真菌对甜菊生长和氮磷吸收的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2018, 24 (5): 960–966.