

# 内生真菌对雷公藤组培苗生长、生理及药用成分含量的影响

吴慧<sup>1a</sup>, 胡清霞<sup>1a</sup>, 宋萍<sup>1b,1c,①</sup>, 林照授<sup>2</sup>, 封磊<sup>1d</sup>, 吴承祯<sup>1c,3</sup>, 洪伟<sup>1a,1c</sup>

(1. 福建农林大学: a. 林学院, b. 菌草与生态学院, c. 森林生态系统过程与经营福建省高校重点实验室, d. 资源与环境学院, 福建 福州 350002; 2. 福建省大田桃源国有林场, 福建 三明 366031; 3. 武夷学院, 福建 武夷山 354300)

**摘要:** 分析了雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 11株内生真菌的促生潜力,并将11株内生真菌与雷公藤组培苗共生培养,研究了其对组培苗生长、叶片叶绿素含量和叶绿素荧光参数、主要营养元素含量以及雷公藤红素和雷公藤甲素含量的影响。结果表明:雷公藤11株内生真菌均具有分泌吡啶乙酸、产铁载体和溶磷能力,其中,菌株NS6、NS7、NS14和NS32的吡啶乙酸分泌量较大(大于 $17.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),菌株NS1、NS4、NS6、NS25和NS33的产铁载体能力很高[ $80\% < \text{铁载体相对产量}(\text{SP}) \leq 100\%$ ],菌株NS1、NS4、NS6、NS13和NS31溶磷量较大(大于 $0.70\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )。与对照相比,菌株NS1、NS6、NS31、NS32和NS33总体显著( $P < 0.05$ )增加雷公藤组培苗的单株鲜质量和干质量,其中,菌株NS6、NS32和NS33显著增加组培苗株高,菌株NS1和NS6显著促进组培苗最长根长,菌株NS6显著增加组培苗单株叶片数。与对照相比,除菌株NS13外,其余10株菌株均显著提高组培苗叶片叶绿素含量;菌株NS1、NS7、NS18、NS31和NS32显著提高组培苗叶片最大荧光,菌株NS14显著提高组培苗叶片PS II最大光化学效率。与对照相比,菌株NS1、NS7、NS14、NS31、NS32和NS33显著提高组培苗C、P和K含量,菌株NS1、NS4、NS32和NS33显著提高组培苗N含量。与对照相比,11株内生真菌均能显著提高组培苗根和茎中雷公藤红素含量,仅菌株NS33显著提高叶片中雷公藤红素含量;与11株内生真菌共生培养的组培苗茎和叶片中未检出雷公藤甲素,菌株NS6、NS7、NS13、NS25、NS32和NS33显著提高根中雷公藤甲素含量。综合研究认为,菌株NS1、NS6、NS31、NS32和NS33具有多种促生潜力且能改善雷公藤组培苗生长,促进根和茎中雷公藤红素积累;菌株NS6、NS32和NS33促进根中雷公藤甲素积累,具有较好的应用潜力。

**关键词:** 雷公藤; 内生真菌; 促生; 雷公藤红素; 雷公藤甲素

中图分类号: Q949.95; S182 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)01-0067-10  
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.01.07

**Effects of endophytic fungi on growth, physiology, and medicinal component content in tissue culture seedlings of *Tripterygium wilfordii*** WU Hui<sup>1a</sup>, HU Qingxia<sup>1a</sup>, SONG Ping<sup>1b,1c,①</sup>, LIN Zhaoshou<sup>2</sup>, FENG Lei<sup>1d</sup>, WU Chengzhen<sup>1c,3</sup>, HONG Wei<sup>1a,1c</sup> (1. Fujian Agriculture and Forestry University; a. Forestry College, b. College of Juncao Science and Ecology, c. Fujian Provincial Key Laboratory of Forest Ecosystem Processing and Management, d. College of Resources and Environment, Fuzhou 350002, China; 2. Datian Taoyuan State Forest Farm in Fujian Province, Sanming 366031, China; 3. Wuyi University, Wuyishan 354300, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, 33(1): 67-76

**Abstract:** The growth-promoting potentials of 11 endophytic fungi from *Tripterygium wilfordii* Hook. f. were analyzed, 11 endophytic fungi were co-cultured with tissue culture seedlings of *T. wilfordii*, and

收稿日期: 2023-01-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31000264; 31470577); 福建省自然科学基金项目(2022J01124); 福建省高校产学研合作科技重大项目(2019N5006)

作者简介: 吴慧(1997—),女,安徽蚌埠人,硕士研究生,主要从事微生物与植物相互作用方面的研究。

①通信作者 E-mail: songpinghj@163.com

引用格式: 吴慧, 胡清霞, 宋萍, 等. 内生真菌对雷公藤组培苗生长、生理及药用成分含量的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(1): 67-76.

their effects on tissue culture seedling growth, leaf chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters, contents of major nutrient elements, and contents of tripterine and triptolide were studied. The results show that 11 endophytic fungi of *T. wilfordii* all possess the abilities to secrete indole acetic acid, produce siderophore, and solubilize phosphate, among which, the indole acetic acid secretion amounts of strains NS6, NS7, NS14, and NS32 are relatively large (greater than  $17.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), the siderophore producing ability of strains NS1, NS4, NS6, NS25, and NS33 is very high [80% < siderophore production (SP)  $\leq 100\%$ ], and the phosphate solubilizations of strains NS1, NS4, NS6, NS13, and NS31 are relatively large (greater than  $0.70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Compared with the control, strains NS1, NS6, NS31, NS32, and NS33 significantly ( $P < 0.05$ ) increase the fresh mass and dry mass per plant of tissue culture seedlings of *T. wilfordii* in general, among which, strains NS6, NS32, and NS33 significantly increase the height of tissue culture seedlings, strains NS1 and NS6 significantly increase the longest root length of tissue culture seedlings, and strain NS6 significantly promotes the leaf number per plant of tissue culture seedlings. Compared with the control, except for strain NS13, the other 10 strains can all significantly promote the chlorophyll content in leaf of tissue culture seedlings; strains NS1, NS7, NS18, NS31, and NS32 significantly enhance the maximum fluorescence of leaf of tissue culture seedlings, and strain NS14 significantly enhances the maximum photochemical efficiency of PS II of leaf of tissue culture seedlings. Compared with the control, strains NS1, NS7, NS14, NS31, NS32, and NS33 can significantly increase the contents of C, P, and K in tissue culture seedlings, and strains NS1, NS4, NS32, and NS33 can significantly increase the N content in tissue culture seedlings. Compared with the control, 11 endophytic fungi can all significantly elevate the tripterine contents in root and stem of tissue culture seedlings, and only strain NS33 significantly increases the tripterine content in leaf; triptolide is not detected in stem and leaf of tissue culture seedlings co-cultured with 11 endophytic fungi, and strains NS6, NS7, NS13, NS25, NS32, and NS33 significantly increase the triptolide content in root. The comprehensive study suggests that strains NS1, NS6, NS31, NS32, and NS33 possess multiple growth-promoting potentials, can improve the growth of tissue culture seedlings of *T. wilfordii*, and promote the accumulation of tripterine in root and stem; strains NS6, NS32, and NS33 promote the accumulation of triptolide in root, which have a relatively good application potential.

**Key words:** *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; endophytic fungi; growth promotion; tripterine; triptolide

雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)为多年生木质藤本植物,是中国传统药用植物。从雷公藤植株中提取的雷公藤红素和雷公藤甲素是当前研究较多的药用活性成分,具有较高的临床应用价值,其中,雷公藤红素可用于治疗肥胖、慢性炎症和免疫性疾病<sup>[1-3]</sup>;雷公藤甲素是一种高活性环氧化二萜内酯化合物,具有抗肿瘤、抗炎和免疫抑制等作用<sup>[4]</sup>。然而,这2种药用活性成分在雷公藤植株体内含量极低<sup>[5]</sup>,加上雷公藤野生资源蕴藏量少,人工培育期长,限制了雷公藤及其药用活性成分在医药上的应用和发展。因此,采取有效措施改善雷公藤生长及促进雷公藤药用活性成分积累具有重要意义。

植物内生真菌是指生活史的部分或全部阶段在宿主植物内部,并且不会引起宿主植物明显病症或造成明显伤害的一类真菌。内生真菌能够促进植物生长。例如:Obledo等<sup>[6]</sup>从笹之雪(*Agave victoriae-reginae* T. Moore)体内分离出的非致病真菌能够促进笹之雪叶片和根部生长,提高其叶绿素含量,增强其

光合能力;Mucciarelli等<sup>[7]</sup>认为,辣薄荷(*Mentha × piperita* Linn.)内生真菌能够促进宿主植物生长发育,使植株高度和叶片大小明显提高。内生真菌能利用自身的代谢产物促进植物生长,增加植物产量。例如:印度梨形孢(*Piriformospora indica*)可以分泌吲哚乙酸(IAA)等生长素改善植物生长<sup>[8]</sup>;内生真菌*Sebacina vermifera*能增强渐狭叶烟草(*Nicotiana attenuata* Torr. ex S. Watson)的生长活力,抑制渐狭叶烟草体内乙烯的产生<sup>[9]</sup>。内生真菌还能够增强植株对逆境的抗性。例如:印度梨形孢能提高作物的抗病性和耐盐性<sup>[10]</sup>; *Bouteloua eriopoda* (Torr.) Torr.和四翼滨藜[*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt.]的内生真菌通过向根表面分泌多糖类黏液物质并形成稳定的菌膜,与植物协同抗旱<sup>[11]</sup>; *Paraphaeosphaeria quadrisepata*能分泌一种抑制植物热激蛋白HSP90活性的活性物质,从而增强植物的耐热能力<sup>[12]</sup>;禾本科(Poaceae)植物与*Epichloë*属内生真菌的共生体具有更强的生态适应性及竞争力<sup>[13]</sup>;内生真菌能够改

变干旱条件下水稻 (*Oryza sativa* Linn.) 自身激素的积累, 减弱因为缺水导致的光合作用中色素的分解和损失, 从而加强水稻在干旱环境中的抵抗力<sup>[14]</sup>。内生真菌可以通过分泌抗生素、生态位竞争、重寄生作用及诱导植物抗性等提高植物的抗病能力<sup>[15]</sup>。如球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 分泌的白僵菌黄色素、白僵菌素、类白僵菌素和白僵内酯等代谢产物会对农林植物的病虫害产生毒害作用<sup>[16]</sup>。植物内生真菌与宿主植物协同进化, 其不仅能够产生与宿主植物相同或相似的生物活性物质, 还能够调节植物体内某些生物活性物质的合成和积累。例如: 内生真菌 E4 (*Fusarium* sp.) 和 E5 (*Fusarium* sp.) 不仅能提高大戟 (*Euphorbia pekinensis* Rupr.) 单株根的鲜质量和折干率, 而且能促进大戟中萜类活性物质异大戟素和大戟醇的积累<sup>[17]</sup>; Ye 等<sup>[18]</sup> 发现, 内生真菌 *Ilyonectria liriodendra* 可促进蕺菜 (*Houttuynia cordata* Thunb.) 根茎生长以及多数酚类物质和挥发物的积累, *Penicillium citrinum* 可增加植株鲜质量、总叶面积和高度, 促进根茎生长。由此可见, 内生真菌在植物生长发育、胁迫抗性、病原体防御以及次生代谢产物积累中发挥着重要作用。然而, 雷公藤内生真菌对宿主植物生长及药用成分积累的作用尚不明确。

针对雷公藤生长缓慢、药用活性成分含量低的问题, 本研究在分析雷公藤内生真菌促生潜力的基础上, 将内生真菌与雷公藤组培苗共培养, 研究内生真菌对宿主植物生长、光合作用及营养元素吸收的影响, 探究内生真菌对宿主植物积累雷公藤红素和雷公藤甲素的作用, 以期改善雷公藤生长及提高药用活性成分含量提供研究依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试材料为种植于福建农林大学森林生态系统过程与经营福建省高校重点实验室田间试验基地 (东经 119°14'08.65"、北纬 26°05'06.55") 的人工栽培的 3 年生雷公藤植株, 参照宋萍等<sup>[19]</sup> 的方法, 从雷公藤根、茎和叶片分离内生真菌。经与雷公藤组培苗共培养测试, 将其中可与组培苗共生的 11 株菌株作为供试菌株, 分别为菌株 NS1、NS4、NS6、NS7、NS13、NS14、NS18、NS25、NS31、NS32 和 NS33。各菌株保藏于作者所在实验室。

### 1.2 方法

1.2.1 菌株促生潜力测定 参考 Amprayn 等<sup>[20]</sup> 的方法测定菌株培养液中吲哚乙酸分泌量。每种菌株 3 次重复, 每重复测定 1 次。

采用 CAS 比色法<sup>[21]</sup> 测定菌株铁载体相对产量 (SP), 计算公式为  $SP = (1 - A/Ar) \times 100\%$ , 式中, A 为供试液波长 630 nm 处的吸光度, Ar 为参比值, 即空白检测液的吸光度。根据文献<sup>[22]</sup>, 当 SP 值分别在  $80\% < SP \leq 100\%$ 、 $60\% < SP \leq 80\%$ 、 $40\% < SP \leq 60\%$ 、 $20\% < SP \leq 40\%$  和  $0\% < SP \leq 20\%$  范围时, 代表产铁载体能力分别为很高、较高、中等、较低和很低。

将供试菌株接种于马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 平板培养基活化培养, 取活化的菌落接种于改进的 Pikovskaya 无机磷培养基 [含  $10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  葡萄糖、 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 、 $0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{KCl}$ 、 $0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  和  $20.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂, pH 7.0 至 pH 7.5] 中, 以添加相同大小的无菌 PDA 培养基作为空白对照。每个处理 3 次重复, 每重复测定 1 次。摇床震荡培养 7 d 后于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $8\ 000 \text{ g}$  离心 10 min, 采用钼锑抗比色法<sup>[23]</sup> 测定上清液中的磷含量, 上清液中的磷含量减去空白对照中的磷含量即为菌株的溶磷量。

1.2.2 内生真菌与组培苗共生体系建立 将内生真菌接种于 PDA 平板培养基上活化培养。在活化的菌落边缘用打孔器取直径 5 mm 的菌块, 选取株高和叶片数等长势相近的雷公藤第 3 代无菌组培苗 [种植于添加质量浓度  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D)、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  萘乙酸 (NAA) 和  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  激动素 (KT) 的 MS 培养基, pH 5.8 至 pH 6.0], 将菌块置于距组培苗根部 2 cm 处对峙培养, 对照 (CK) 放置同样大小的 PDA 培养基。每个处理 10 瓶, 每瓶 1 株组培苗。置于温度  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 、光照时间  $10 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 、光照强度  $40 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的光照培养箱中培养 30 d, 待测。

1.2.3 生长指标测量 随机取待测组培苗 3 株, 测定组培苗植株的单株鲜质量、单株干质量、株高 (茎基部至株顶的距离)、最长根长、单株叶片数。其中, 株高和最长根长使用直尺 (精度 1 mm) 测量; 用超纯水洗掉组培苗根部粘附的培养基, 表面水分用滤纸吸干, 使用千分之一电子天秤称量单株鲜质量, 然后在  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  烘箱中烘至恒质量, 称量单株干质量。每个植株的各指标均测量 1 次。



1.2.4 叶绿素含量和叶绿素荧光参数测定 每株称取新鲜的雷公藤组培苗中部叶片 0.2 g, 每个处理重复 3 次, 分别加入丙酮-乙醇(体积比 1:1)混合浸提液, 定容至 25 mL。待叶片变白后, 以混合浸提液作为空白对照, 使用 UV-2000 紫外可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司)分别测定波长 663 和 645 nm 处的吸光度  $A_{663}$  和  $A_{645}$ <sup>[24]</sup>。叶绿素含量的计算公式为叶绿素含量 =  $(20.3A_{645} + 8.04A_{663}) V / (1000m)$ , 式中,  $V$  为浸提液体积,  $m$  为叶片鲜质量。

选择组培苗中部 3 枚充分伸展的叶片, 暗适应 30 min 后使用 OS-5P 便携式脉冲调制叶绿素荧光仪(美国 OPTI-Sciences 公司)测定初始荧光( $F_0$ )、最大荧光( $F_m$ )、可变荧光( $F_v$ )和 PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )。

1.2.5 C、N、P 和 K 含量的测定 将雷公藤组培苗整株在 60 °C 烘箱中烘至恒质量, 粉碎后过孔径 0.22 mm 筛。称取 0.400 0 g, 加入 30 mL 浓硝酸-浓高氯酸(体积比 5:1)混合液消煮。使用 EA3000 元素分析仪(意大利 Euro Vector 公司)测定 C 和 N 含量; 采用钼锑抗比色法<sup>[23]</sup>测定 P 含量; 使用 FP-640 型火焰光度计(上海精密科学仪器公司)测定 K 含量。重复测定 3 次。

1.2.6 雷公藤红素和雷公藤甲素含量的测定 参考文献[1], 使用 L-2000 高效液相色谱仪(日本日立公司)测定雷公藤组培苗根、茎和叶片中的雷公藤红素和雷公藤甲素含量。重复测定 3 次。

1.2.7 菌种的分子鉴定 通过 26S rDNA D1/D2 区序列分析对所选菌株进行分子鉴定。首先, 将少量活化菌体加入到 50  $\mu$ L TaKaRa Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR 细胞裂解液(Code No. 9164)(日本 TaKaRa 公司)中, 80 °C 变性 15 min, 于 4 °C、10 000 g 离心 10 min 分离出 DNA。取 1  $\mu$ L 上清液作为 PCR 反应模板, 使用真菌鉴定试剂盒 TaKaRa Fungi Identification PCR Kit (Code No. RR178)扩增目的片段。采用上述真菌鉴定试剂盒提供的测序引物, 正向引物序列为 5'-CGCCAGGGTTTTCCAGTCACGAC-3', 反向引物序列为 5'-GAGCGGATAACAATTTACACAGG-3'。PCR 扩增体系总体积 50.0  $\mu$ L, 包括 1.0  $\mu$ L DNA 模板、25.0  $\mu$ L PCR Premix、0.5  $\mu$ L 正向引物、0.5  $\mu$ L 反向引物和 23.0  $\mu$ L dH<sub>2</sub>O。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 0.5 min、55 °C 退火 0.5 min、72 °C 延伸 1 min, 共 30 个

循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。利用 TaKaRa MiniBEST Agarose Gel DNA Extraction Kit Ver. 4.0 试剂盒(Code No. 9762)(日本 TaKaRa 公司)对目的片段切胶回收, 交由宝生物工程(大连)有限公司测序。将测序结果提交至 NCBI 数据库, 获取 GenBank 登录号, 通过 BLASTn 进行同源序列比对, 采用邻接法构建系统发育树。

### 1.3 数据处理

利用 EXCEL 2010 软件统计数据; 利用 SPSS 18.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA), 采用 Duncan's test 进行多重比较。

## 2 结果和分析

### 2.1 雷公藤内生真菌的促生潜力

雷公藤不同内生真菌菌株促生指标的比较结果见表 1。由表 1 可以看出: 雷公藤 11 株内生真菌菌株中, 菌株 NS32 的吲哚乙酸分泌量最大, 吲哚乙酸分泌量为 33.10 mg · L<sup>-1</sup>, 显著( $P < 0.05$ )高于其他菌株; 菌株 NS6、NS7 和 NS14 的吲哚乙酸分泌量也较高, 分别为 17.24、30.76 和 21.78 mg · L<sup>-1</sup>, 显著高于剩余 7 株菌株(吲哚乙酸分泌量小于 6.00 mg · L<sup>-1</sup>)。产铁载体能力很高[80% < 铁载体相对产量(SP) ≤ 100%]的菌株为 NS1、NS4、NS6、NS25 和 NS33, 显著高于其他菌株; 产铁载体能力较高(60% < SP ≤ 80%)

表 1 雷公藤不同内生真菌菌株促生指标的比较( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>  
Table 1 Comparison on growth-promoting indexes of different strains of endophytic fungi from *Tripterygium wilfordii* Hook. f. ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

菌株 Strain	吲哚乙酸 分泌量/(mg · L <sup>-1</sup> ) Indole acetic acid secretion amount	铁载体 相对产量/% Siderophore production	溶磷 量/(mg · L <sup>-1</sup> ) Phosphate solubilization
NS1	3.07±0.14g	84.94±3.35a	0.81±0.04b
NS4	2.66±0.05gh	88.35±0.41a	0.79±0.04b
NS6	17.24±0.35d	83.08±0.71a	0.74±0.02bc
NS7	30.76±0.48b	33.79±9.21e	0.63±0.04cd
NS13	5.42±0.15e	42.49±0.98d	0.72±0.12bc
NS14	21.78±0.37c	38.35±1.47de	0.53±0.04d
NS18	2.35±0.06h	74.43±0.27b	0.27±0.16e
NS25	3.33±0.29g	88.73±0.94a	0.53±0.01d
NS31	3.20±0.20g	52.64±1.62c	1.00±0.05a
NS32	33.10±0.56a	37.59±0.66de	0.53±0.04d
NS33	4.12±0.06f	88.73±2.01a	0.30±0.07e

<sup>1)</sup> 同列中不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) differences.

的菌株为 NS18;产铁载体能力中等 ( $40\% < SP \leq 60\%$ ) 的菌株为 NS13 和 NS31;产铁载体能力较低 ( $20\% < SP \leq 40\%$ ) 的菌株为 NS7、NS14 和 NS32。菌株 NS31 的溶磷能力最强,溶磷量为  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,显著高于其他菌株;菌株 NS1、NS4、NS6 和 NS13 的溶磷能力也较强,溶磷量均高于  $0.70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,总体显著高于剩余 6 株菌株;菌株 NS18 和 NS33 的溶磷能力较低。

## 2.2 内生真菌对雷公藤组培苗生长和生理的影响

### 2.2.1 对生长指标的影响

不同内生真菌菌株对雷公藤组培苗生长指标的影响见表 2。由表 2 可以看出:菌株 NS33、NS32 和 NS1 处理的雷公藤组培苗的单株鲜质量和干质量均显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照 (CK),其中,菌株 NS33 的促进作用最大,组培苗的

单株鲜质量和干质量分别较对照增加了 71.9% 和 76.4%。菌株 NS6 处理的组培苗单株鲜质量和菌株 NS31 处理的组培苗单株干质量也显著高于对照。菌株 NS4、NS7、NS13 和 NS14 处理的组培苗单株鲜质量以及菌株 NS4、NS7、NS13 和 NS25 处理的组培苗单株干质量较对照显著降低。菌株 NS4、NS6、NS18、NS25、NS32 和 NS33 处理的组培苗株高显著高于对照,其他 5 株菌株处理与对照无显著差异。菌株 NS1、NS6、NS18 和 NS25 处理的组培苗最长根长显著高于对照,其他 7 株菌株处理与对照无显著差异。仅菌株 NS6 处理的组培苗单株叶片数显著高于对照,其他 10 株菌株处理与对照无显著差异。

表 2 不同内生真菌菌株对雷公藤组培苗生长指标的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 2 Effects of different strains of endophytic fungi on growth indexes of tissue culture seedlings of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

菌株 Strain	单株鲜质量/g Fresh mass per plant	单株干质量/g Dry mass per plant	株高/cm Height	最长根长/cm The longest root length	单株叶片数 Leaf number per plant
CK	3.867±0.066c	0.445±0.035de	4.50±0.30c	4.37±0.76b	7.0±2.0b
NS1	4.581±0.258b	0.535±0.090bc	4.97±0.64bc	7.73±1.07a	6.0±1.7b
NS4	2.547±0.170f	0.275±0.066h	10.10±3.55a	5.63±0.93ab	8.3±2.1b
NS6	4.914±0.062b	0.457±0.005d	9.63±4.46ab	7.53±2.81a	12.3±2.5a
NS7	2.905±0.559e	0.312±0.012fgh	4.60±0.53c	6.37±2.98ab	6.0±2.7b
NS13	3.294±0.031d	0.296±0.005gh	7.80±4.07abc	5.70±1.01ab	6.3±0.6b
NS14	3.014±0.036de	0.377±0.069ef	6.07±0.61abc	6.73±0.06ab	5.7±1.5b
NS18	3.950±0.088c	0.471±0.002cd	9.63±0.15ab	7.93±0.31a	8.7±2.1ab
NS25	3.895±0.088c	0.358±0.003fg	9.60±2.10ab	7.57±0.40a	8.3±1.2b
NS31	4.205±0.036c	0.586±0.052b	7.93±5.08abc	6.33±0.76ab	9.0±1.0ab
NS32	4.781±0.062b	0.575±0.016b	9.50±0.70ab	5.97±0.84ab	8.7±2.1ab
NS33	6.646±0.081a	0.785±0.017a	9.60±0.35ab	6.63±0.59ab	8.7±2.9ab

<sup>1)</sup> CK: 对照 The control. 同列中不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) differences.

### 2.2.2 对叶片叶绿素含量和叶绿素荧光参数的影响

不同内生真菌菌株对雷公藤组培苗叶片叶绿素含量和叶绿素荧光参数的影响见表 3。由表 3 可以看出:除菌株 NS13 处理的雷公藤组培苗叶片叶绿素含量显著低于对照外,其他 10 株菌株处理的组培苗叶片叶绿素含量均显著高于对照,其中,菌株 NS18 处理的组培苗叶片叶绿素含量最高 ( $2.738 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ),菌株 NS6 和 NS25 处理的组培苗叶片叶绿素含量也较高(分别为  $2.512$  和  $2.456 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )。菌株 NS7 和 NS13 处理的组培苗叶片初始荧光 ( $F_0$ ) 显著高于对照,其他 9 株菌株处理与对照无显著差异。菌株 NS1、NS7、NS18、NS31 和 NS32 处理的组培苗叶片最

大荧光 ( $F_m$ ) 显著高于对照,其他 6 株菌株处理与对照无显著差异。菌株 NS1、NS18、NS31、NS32 和 NS33 处理的组培苗叶片可变荧光 ( $F_v$ ) 显著高于对照,其他 6 株菌株处理与对照无显著差异。菌株 NS14 处理的组培苗叶片 PS II 最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 显著高于对照,而菌株 NS7 和 NS13 处理的组培苗叶片  $F_v/F_m$  值则显著低于对照,其他 8 株菌株处理与对照无显著差异。

### 2.2.3 对 C、N、P 和 K 含量的影响

不同内生真菌菌株对雷公藤组培苗中 C、N、P 和 K 含量的影响见表 4。由表 4 可以看出:除菌株 NS13、NS18 和 NS25 处理的雷公藤组培苗 C 含量显著低于对照外,其他 8 株

表 3 不同内生真菌菌株对雷公藤组培苗叶片叶绿素含量和叶绿素荧光参数的影响 ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>Table 3 Effects of different strains of endophytic fungi on chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters of leaves of tissue culture seedlings of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

菌株 Strain	叶绿素含量/(mg·g <sup>-1</sup> ) Chlorophyll content	初始荧光 Initial fluorescence	最大荧光 Maximum fluorescence	可变荧光 Variable fluorescence	PS II 最大光化学效率 Maximum photochemical efficiency of PS II
CK	1.124±0.013h	200.00±24.56b	747.00±33.05b	547.00±19.97c	0.733±0.025b
NS1	1.931±0.012e	236.00±20.00b	1 005.00±20.42a	769.00±25.24a	0.765±0.020ab
NS4	2.057±0.020d	211.67±35.80b	864.67±175.23ab	653.00±142.16abc	0.753±0.021ab
NS6	2.512±0.018b	186.67±23.46b	836.33±155.85ab	649.67±133.19abc	0.775±0.018ab
NS7	2.044±0.035d	320.67±12.66a	972.00±84.18a	651.33±77.51abc	0.669±0.025c
NS13	1.072±0.039i	295.00±93.62a	864.00±86.54ab	569.00±40.85bc	0.663±0.084c
NS14	1.663±0.060f	176.00±7.55b	860.67±56.89ab	684.67±50.90abc	0.795±0.008a
NS18	2.738±0.047a	217.00±9.54b	998.00±12.49a	781.00±21.93a	0.782±0.012ab
NS25	2.456±0.012c	226.33±18.01b	904.67±89.91ab	678.33±78.62abc	0.749±0.020ab
NS31	1.527±0.017g	224.00±17.78b	939.67±21.73a	715.67±4.04a	0.762±0.014ab
NS32	1.663±0.010f	193.67±18.01b	921.67±113.39a	728.00±98.06a	0.789±0.012ab
NS33	1.910±0.015e	200.33±5.13b	902.00±12.29ab	701.67±13.01ab	0.778±0.006ab

<sup>1)</sup> CK: 对照 The control. 同列中不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P<0.05$ ) differences.

表 4 不同内生真菌菌株对雷公藤组培苗中 C、N、P 和 K 含量的影响 ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>Table 4 Effects of different strains of endophytic fungi on C, N, P, and K contents in tissue culture seedlings of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

菌株 Strain	各元素含量/(mg·g <sup>-1</sup> ) Content of each element			
	C	N	P	K
CK	47.17±0.56f	1.83±0.07e	1.27±0.05d	3.77±0.13d
NS1	54.68±0.59b	3.82±0.05b	1.57±0.09abc	4.43±0.15a
NS4	51.78±0.30c	2.36±0.09d	1.47±0.04cd	3.81±0.08d
NS6	49.65±0.14d	1.79±0.04ef	1.55±0.10abc	3.79±0.08d
NS7	54.50±0.41b	1.88±0.06e	1.70±0.13ab	4.38±0.09a
NS13	42.93±1.43h	1.63±0.10g	1.74±0.09a	3.48±0.03e
NS14	57.29±0.52a	1.80±0.07ef	1.49±0.07bc	4.32±0.09ab
NS18	42.89±0.16h	1.83±0.03e	1.48±0.12bed	4.00±0.05c
NS25	45.97±0.21g	1.69±0.03fg	1.62±0.17abc	3.68±0.06d
NS31	54.95±0.18b	1.65±0.05g	1.66±0.06abc	4.14±0.06c
NS32	51.39±0.40c	2.71±0.06c	1.75±0.24a	4.17±0.06bc
NS33	48.57±0.19e	4.34±0.09a	1.62±0.13abc	4.16±0.15bc

<sup>1)</sup> CK: 对照 The control. 同列中不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P<0.05$ ) differences.

菌株处理的组培苗 C 含量显著高于对照,其中,菌株 NS14 处理的组培苗 C 含量最高,菌株 NS1、NS7 和 NS31 处理的组培苗 C 含量也较高,较对照升高了 15.5%~21.5%。菌株 NS1、NS4、NS32 和 NS33 处理的组培苗 N 含量显著高于对照,较对照升高了 29.0%~137.2%,其中,菌株 NS33 处理对组培苗 N 含量的促进作用最大,其次为菌株 NS1 处理;其他 7 株菌株处理的组培苗 N 含量接近或显著低于对照。与

对照相比,11 株菌株处理的组培苗 P 含量均有所升高,其中,NS1、NS6、NS7、NS13、NS14、NS25、NS31、NS32 和 NS33 菌株处理的组培苗 P 含量显著高于对照。菌株 NS1、NS7、NS14、NS18、NS31、NS32 和 NS33 处理的组培苗 K 含量显著高于对照,其他 4 株菌株处理的组培苗 K 含量则接近或显著低于对照。

### 2.3 内生真菌对雷公藤组培苗中雷公藤红素和雷公藤甲素含量的影响

不同内生真菌菌株对雷公藤组培苗中雷公藤红素和雷公藤甲素含量的影响见表 5。由表 5 可以看出:11 株菌株处理的雷公藤组培苗根中雷公藤红素含量显著 ( $P<0.05$ ) 高于对照,较对照升高了 3.3~10.3 倍,其中,NS6、NS14 和 NS33 处理的组培苗根中雷公藤红素含量显著高于其他菌株处理;菌株 NS4、NS7 和 NS31 处理的组培苗根中雷公藤红素含量也较高,显著高于剩余 5 株菌株处理。11 株菌株处理的雷公藤组培苗茎中雷公藤红素含量显著高于对照,较对照升高了 48.7%~104.2%,其中,菌株 NS7、NS18 和 NS32 处理的组培苗茎中雷公藤红素含量显著高于其他菌株处理,菌株 NS1 和 NS13 处理的组培苗茎中雷公藤红素含量也较高。内生真菌对组培苗叶片中雷公藤红素含量的影响总体较小,仅菌株 NS33 处理的组培苗叶片中雷公藤红素含量显著高于对照,其他 10 株菌株处理与对照无显著差异。

雷公藤组培苗茎和叶片中均未检出雷公藤甲素。菌株 NS6、NS7、NS13、NS25、NS32 和 NS33 处理的组



表 5 不同内生真菌菌株对雷公藤组培苗中雷公藤红素和雷公藤甲素含量的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 5 Effects of different strains of endophytic fungi on tripterine and triptolide contents in tissue culture seedlings of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

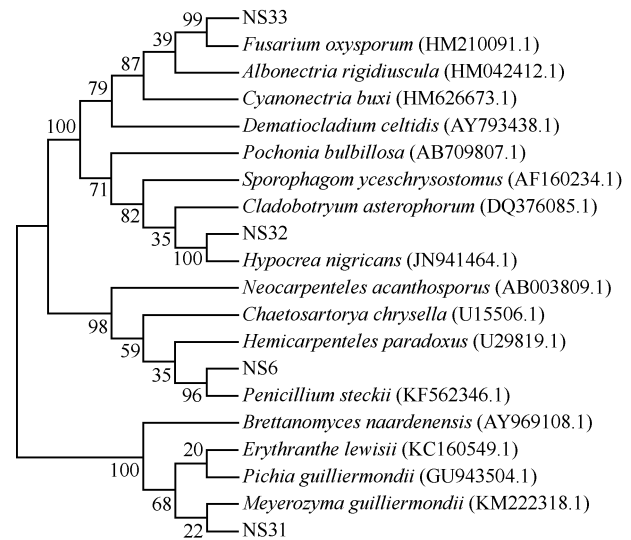
菌株 Strain	不同部位中雷公藤红素含量/(mg · g <sup>-1</sup> ) Tripterine content in different parts			根中雷公藤甲素 含量/(μg · g <sup>-1</sup> ) Triptolide content in root
	根 Root	茎 Stem	叶片 Leaf	
CK	0.275±0.006e	0.431±0.035e	0.408±0.044bcd	26.500±3.119d
NS1	1.727±0.061c	0.757±0.015bc	0.415±0.058bcd	2.200±0.458e
NS4	2.552±0.034b	0.645±0.020d	0.413±0.008bcd	28.233±5.052d
NS6	3.070±0.047a	0.668±0.074d	0.401±0.005cd	56.633±3.180c
NS7	2.544±0.041b	0.877±0.022a	0.382±0.071cd	83.133±12.195a
NS13	1.557±0.005c	0.795±0.008b	0.415±0.011bed	58.433±5.201c
NS14	2.946±0.045a	0.641±0.028d	0.429±0.013abc	5.167±0.635e
NS18	1.567±0.338c	0.880±0.032a	0.356±0.025d	9.300±1.114e
NS25	1.181±0.034d	0.697±0.046cd	0.473±0.050ab	57.167±2.892c
NS31	2.680±0.275b	0.656±0.054d	0.409±0.011bed	4.833±1.234e
NS32	1.674±0.115c	0.870±0.006a	0.370±0.024cd	72.533±13.039b
NS33	3.095±0.080a	0.661±0.097d	0.488±0.034a	68.567±4.306b

<sup>1)</sup> CK; 对照 The control. 同列中不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) differences.

培苗根中雷公藤甲素含量显著高于对照,其中,菌株 NS7 处理的组培苗根中雷公藤甲素含量最高,显著高于其他菌株处理;菌株 NS32 和 NS33 处理的组培苗根中雷公藤甲素含量也较高;菌株 NS1、NS14、NS18 和 NS31 处理的组培苗根中雷公藤甲素含量显著低于对照。

#### 2.4 菌株的鉴定

综合上述研究结果,菌株 NS1、NS6、NS31、NS32 和 NS33 具有促生潜力且能够明显促进雷公藤组培苗生长、营养元素积累,提高雷公藤红素和雷公藤甲素含量,对这 5 株内生真菌进行分子鉴定。菌株 NS1 为 *Fusarium nisikadoi*<sup>[25]</sup>,将其余 4 株菌株的 26S rDNA D1/D2 区基因序列在 NCBI 中进行 BLASTn 比对,并构建系统发育树,结果见图 1。由图 1 可以看出:菌株 NS6、NS31、NS32 和 NS33 分别与歧皱青霉 (*Penicillium steckii*)、季也蒙迈耶氏酵母 (*Meyerozyma guilliermondii*)、黑肉座菌 (*Hypocrea nigricans*) 和尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 聚在同一分支上, BLASTn 比对序列相似性均达 99%。推测菌株 NS6、NS31、NS32 和 NS33 分别属于青霉菌属 (*Penicillium*)、迈耶氏酵母属 (*Meyerozyma*)、肉座菌属 (*Hypocrea*) 和镰刀菌属 (*Fusarium*)。将菌株 NS6、NS31、NS32 和 NS33 的序列提交 GenBank,登录号分别为 KP715295、KP715296、KP715297 和 KP715298。



分支上的数值代表各分支的频率参数 The values on the branches indicate the frequency parameters of each branch. 括号中编号为 GenBank 登录号 Nos. in brackets are GenBank accession numbers.

图 1 雷公藤 4 株促生内生真菌的 26S rDNA 系统发育树  
Fig. 1 Phylogenetic tree of 26S rDNA of four growth-promoting endophytic fungi from *Tripterygium wilfordii* Hook. f.

### 3 讨论和结论

内生真菌对宿主植物的生长发育具有重要的促进作用。植物促生真菌被广泛应用于农林生产中,在提高产量、防治病害和增强胁迫耐性方面有重要作用<sup>[26]</sup>。植物内生真菌对植物促生效应存在表型差异,例如:内生真菌 *Gilmaniella* sp. AL12 能够将苍术 [*Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.] 苗的茎和根质量提高 1.13 倍以上<sup>[27]</sup>;内生真菌 *Alternaria* A7 显著增加了烟草 (*Nicotiana tabacum* Linn.) 的叶面积和干质量<sup>[28]</sup>;而深色有隔内生真菌链格孢菌 *Alternaria* sp. CGMCC 17463 既增加了紫花苜蓿 (*Medicago sativa* Linn.) 的株高和地上部干质量,也提高了其根部干质量和根冠比<sup>[29]</sup>。与雷公藤组培苗共生培养后,菌株 NS1、NS6、NS31、NS32 和 NS33 总体上显著 ( $P < 0.05$ ) 促进了组培苗的单株鲜质量和干质量,菌株 NS6、NS32 和 NS33 对株高有显著促进作用,菌株 NS1 和 NS6 对最长根长有显著促进作用,菌株 NS6 能显著增加单株叶片数,说明雷公藤植株内存在能促进其生长的真菌,但这些促生内生真菌对其最长根长和株高等表型的影响存在差异。内生真菌促生效应的植物表型差异可能源于不同内生真菌促生机制的差异。

内生真菌具有生物固氮、磷溶解、产生植物激素

和拮抗病原菌等特性,对宿主植物的生长发育有促进作用<sup>[30]</sup>。如球状茎点霉菌(*Phoma glomerata*)和青霉菌(*Penicillium* sp.)能够分泌赤霉素和吲哚乙酸,从而显著促进水稻生长<sup>[31]</sup>;具有溶磷能力的内生百岁兰曲霉(*Aspergillus welwitschiae*)能够增加大豆〔*Glycine max* (Linn.) Merr.〕的根芽长、鲜质量和干质量<sup>[32]</sup>。雷公藤促生内生真菌中,菌株 NS1 具有较好的产铁载体和溶磷能力,菌株 NS6 的产铁载体、溶磷和吲哚乙酸分泌能力均较强,菌株 NS31、NS32 和 NS33 分别具有较高的溶磷、吲哚乙酸分泌和产铁载体能力。铁载体的生产有利于微生物和植物捕获环境中的铁离子。本研究中,推测属于镰刀菌属的菌株 NS1 和 NS33 均具有很高的产铁载体能力,其他研究也报道了能产铁载体的镰刀菌,如纹瓣兰〔*Cymbidium aloifolium* (Linn.) Sw〕的内生尖孢镰刀菌 CAF1<sup>[33-34]</sup>,且非致病镰刀菌比致病镰刀菌能生产更多的铁载体<sup>[35]</sup>。磷酸盐溶解微生物有助于提高植物根系对磷的吸收。具有溶磷能力的季也蒙迈耶氏酵母 CC1 能提高玉米(*Zea mays* Linn.)产量,降低化学肥料的使用量<sup>[36]</sup>。吲哚乙酸是根和茎生长的重要植物激素<sup>[37]</sup>。相关研究结果显示:许多青霉菌能够分泌吲哚乙酸,如内生青霉菌 LWL3 能够促进水稻茎长、茎鲜质量、茎干质量和叶绿素含量,具有较高的吲哚乙酸分泌能力<sup>[31]</sup>;定植于丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)根部细胞间隙的歧皱青霉 DF33 能产吲哚乙酸<sup>[38]</sup>。因此,不同雷公藤促生内生真菌具有不同的促生潜力,对宿主组培苗生长的促进效应存在差异。

植物叶绿素含量越高,光合反应速率越快。叶绿素荧光参数是反映叶绿体状态和表征植物光合能量转换效率的重要参数。本研究中,除菌株 NS13 外,其他 10 株内生真菌均能显著提高雷公藤组培苗叶片叶绿素含量;菌株 NS1、NS18、NS31 和 NS32 能显著提高组培苗叶片的最大荧光和可变荧光,菌株 NS14 能显著提高组培苗叶片 PS II 最大光化学效率,这些雷公藤内生真菌对宿主植物的 PS II 电子传递有积极作用,能提高雷公藤光合能力。木麻黄(*Casuarina equisetifolia* Linn.)内生真菌可以提高其水培苗叶绿素相对含量及主要荧光参数<sup>[39]</sup>;与深色有隔内生真菌相关的植物的叶绿素含量和 PS II 光化学效率较高<sup>[40]</sup>。睡茄〔*Withania somnifera* (Linn.) Dunal〕根和叶片中部分内生真菌可以提高睡茄的光合效率以及茎和根的干质量<sup>[41]</sup>。上述研究结果说明内生真菌能

够提高植物的叶绿素含量和叶绿素荧光参数值,提高植物的光合能力,光合作用同化物和糖类的产量也随之增加,植物的生长和生物量得到改善。因而,雷公藤内生真菌对组培苗叶绿素含量和叶绿素荧光参数值的提高作用可能是其促进组培苗生长的原因之一。

内生真菌可能增加植物养分吸收,进而促进植物生长<sup>[42]</sup>。在缺氮和正常供氮条件下接种内生真菌 *Suillus granulatus*、*Pisolithus tinctorius*、*Pleotrichocladium opacum* 或 *Pseudopyrenochaeta* sp. 能显著提高油松(*Pinus tabulaeformis* Carriere)苗的生长性能,增加地上部和根部养分含量<sup>[42]</sup>。来自冬青(*Ilex chinensis* Sims)的深色有隔内生真菌 *Acrocalymma vagum* 和 *Scytalidium lignicola* 可以明显提高锯胸迫下紫花苜蓿和沙冬青〔*Ammopiptanthus mongolicus* (Maxim. ex Kom.) S. H. Cheng〕的干质量,而二者分别对沙冬青的总氮含量和紫花苜蓿的有机碳含量有显著促进作用<sup>[43]</sup>。此外,深色有隔内生真菌还可以提高植物根和茎的质量、总质量以及 N 和 P 含量<sup>[44]</sup>。本研究进一步证实了促生内生真菌在植物养分获取中的积极作用,雷公藤促生内生真菌菌株 NS1、NS32 和 NS33 能显著提高组培苗中 C、N、P 和 K 含量,菌株 NS6 能显著提高组培苗中 C 和 P 含量,菌株 NS31 能显著提高组培苗中 C、P 和 K 含量。

内生真菌可以调节宿主植物基因表达和生理反应,诱导宿主植物的次生代谢。雷公藤红素和雷公藤甲素是雷公藤植株中的重要药用活性成分,11 株雷公藤内生真菌对组培苗根和茎中雷公藤红素含量均有显著促进作用,分别较对照升高了 3.3~10.3 倍和 48.7%~104.2%;对根中雷公藤甲素含量的影响则存在差异,其中,菌株 NS6、NS7、NS13、NS25、NS32 和 NS33 有显著促进作用。内生真菌与宿主植物相互作用的类型决定了宿主植物中次生代谢产物的变化。镰刀菌因其具有许多独特的基因簇参与次级代谢产物产生而被广泛关注<sup>[45]</sup>。勇应辉等<sup>[17]</sup>认为内生镰刀菌在促进大戟生长和萜类化合物含量中有重要作用。雷公藤内生真菌中,推测属于镰刀菌属的菌株 NS1 提高了根和茎中雷公藤红素含量,菌株 NS33 提高了根、茎和叶片中雷公藤红素含量以及根中雷公藤甲素含量。青霉菌属真菌因其具有高度通用的细胞毒性次生代谢产物合成潜力而得到广泛开发<sup>[46]</sup>。从丹参中分离的歧皱青霉 DF33 通过上调关键基因显著促进丹参根部丹参酮 II A 和隐丹参酮的合成<sup>[38]</sup>。



肉座菌属包含多种能够生产工业酶、次生代谢产物或生物防治剂的菌株<sup>[47]</sup>。来自野生丹参的黑肉座菌菌株 S79 显著促进丹参酮合成<sup>[48]</sup>。雷公藤内生真菌中,推测属于青霉菌属的菌株 NS6 和属于肉座菌属的菌株 NS32 均能显著提高雷公藤组培苗根和茎中雷公藤红素含量以及根中雷公藤甲素含量,进一步表明内生青霉菌和肉座菌对宿主植物次生代谢产物积累有促进作用,是促进植物中生物活性成分积累的重要功能真菌。内生真菌可能通过产生与宿主植物相同或相似的次生代谢产物而提高其在植物体内的积累,而某些内生真菌可以产生多种类型的酶或代谢前体物,这些酶或代谢前体物可以转化或诱导植物合成某些生物活性物质<sup>[49]</sup>。雷公藤内生真菌菌株 NS1 具有产雷公藤甲素的能力<sup>[25]</sup>,然而与对照相比,与菌株 NS1 共培养的组培苗根中雷公藤甲素含量却显著降低,可能是内生真菌产物、共培养条件或植物的生长阶段等影响了植物的次生代谢<sup>[50]</sup>。

综上所述,雷公藤内生真菌能够分泌吡啶乙酸、产铁载体和溶解无机磷,总体能够促进雷公藤组培苗生长,增加叶绿素含量,改善养分吸收。部分内生真菌还参与雷公藤次生代谢产物的调控,促进植株体内雷公藤红素和雷公藤甲素的积累。本研究结果可为使用雷公藤内生真菌改善宿主植物生长和调控次生代谢提供科学依据。

#### 参考文献:

- [1] 宋 欢,刘 洁,宋 萍,等.内生真菌和内生细菌接种对雷公藤生长和次生代谢产物积累的影响[J].热带亚热带植物学报,2020,28(4):347-355.
- [2] ASTRY B, VENKATESHA S H, LAURENCE A, et al. Celastrol, a Chinese herbal compound, controls autoimmune inflammation by altering the balance of pathogenic and regulatory T cells in the target organ[J]. *Clinical Immunology*, 2015, 157: 228-238.
- [3] ZHU Y Y, WAN N, SHAN X N, et al. Celastrol targets adenylyl cyclase-associated protein 1 to reduce macrophages-mediated inflammation and ameliorates high fat diet-induced metabolic syndrome in mice[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2021, 11: 1200-1212.
- [4] CHEN B J. Triptolide, a novel immunosuppressive and anti-inflammatory agent purified from a Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook f. [J]. *Leukemia and Lymphoma*, 2001, 42: 253-265.
- [5] 周晓琼,饶凯瑞,陈宣钦.雷公藤茎中的二萜类成分及生物活性研究[J].天然产物研究与开发,2021,33(7):1137-1146.
- [6] OBLEDO E N, BARRAGÁN-BARRAGÁN L B, GUTIÉRREZ-GONZÁLEZ P, et al. Increased photosynthetic efficiency generated by fungal symbiosis in *Agave victoria-reginae*[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2003, 74: 237-241.
- [7] MUCCIARELLI M, SCANNERINI S, BERTEA C, et al. *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization [J]. *New Phytologist*, 2003, 158: 579-591.
- [8] SIRRENERG A, GÖBEL C, GROND S, et al. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production [J]. *Physiologia Plantarum*, 2007, 131: 581-589.
- [9] BARAZANI O, VON DAHL C C, BALDWIN I T. *Sebacina vermifera* promotes the growth and fitness of *Nicotiana attenuata* by inhibiting ethylene signaling [J]. *Plant Physiology*, 2007, 144: 1223-1232.
- [10] WALLER F, ACHATZ B, BALTRUSCHAT H, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102: 13386-13391.
- [11] 袁志林,章初龙,林福呈.植物与内生真菌互作的生理与分子机制研究进展[J].生态学报,2008,28(9):4430-4439.
- [12] MCLELLAN C A, TURBYVILLE T J, WIJERATNE E M K, et al. A rhizosphere fungus enhances *Arabidopsis* thermotolerance through production of an HSP90 inhibitor [J]. *Plant Physiology*, 2007, 145: 174-182.
- [13] 王 添,陈泰祥,李春杰.内生真菌与宿主禾草共生机制的研究进展[J].中国草地学报,2021,43(12):78-88.
- [14] 陈 苏,谢建坤,黄文新,等.根际促生细菌对于旱胁迫下水稻生理特性的影响[J].中国水稻科学,2018,32(5):485-492.
- [15] GIMÉNEZ C, CABRERA R, REINA M, et al. Fungal endophytes and their role in plant protection [J]. *Current Organic Chemistry*, 2007, 11: 707-720.
- [16] VEGA F E, POSADA F, AIME M C, et al. Entomopathogenic fungal endophytes [J]. *Biological Control*, 2008, 46: 72-82.
- [17] 勇应辉,戴传超,高伏康,等.大戟内生真菌对其生长和两种萜类物质的影响[J].中草药,2009,40(7):1136-1139.
- [18] YE H T, LUO S Q, YANG Z N, et al. Endophytic fungi stimulate the concentration of medicinal secondary metabolites in *Houttuynia cordata* Thunb. [J]. *Plant Signaling and Behavior*, 2021, 16: e1929731.
- [19] 宋 萍,洪 伟,吴承祯,等.雷公藤内生真菌的抑菌活性研究[J].中国农学通报,2010,26(5):262-266.
- [20] AMPRAYN K O, ROSE M T, KECSKÉS M, et al. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth [J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61: 295-299.
- [21] SCHWYN B, NEILANDS J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 160: 47-56.

- [22] CHEN L, LUO S L, XIAO X, et al. Application of plant growth-promoting endophytes (PGPE) isolated from *Solanum nigrum* L. for phytoextraction of Cd-polluted soils[J]. Applied Soil Ecology, 2010, 46: 383-389.
- [23] 张祥胜. 钼锱抗比色法测定磷细菌发酵液中有效磷含量测定值的影响因素分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(12): 4822-4823.
- [24] 牟建梅, 张国芹, 刘凤军, 等. 白菜叶绿素含量的测定方法筛选[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(9): 289-290.
- [25] 李国庆, 宋萍, 洪伟, 等. 雷公藤内生真菌对 *Fusarium nisikadoi* NS-1 雷公藤甲素合成的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2022, 51(1): 104-111.
- [26] GURURANI M A, UPADHYAYA C P, BASKAR V, et al. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *Solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2013, 32: 245-258.
- [27] YUAN J, ZHOU J Y, LI X, et al. The primary mechanism of endophytic fungus *Gilmaniella* sp. AL12 promotion of plant growth and sesquiterpenoid accumulation in *Atractylodes lancea*[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2016, 125: 571-584.
- [28] ZHOU Z P, ZHANG C F, ZHOU W N, et al. Diversity and plant growth-promoting ability of endophytic fungi from the five flower plant species collected from Yunnan, Southwest China[J]. Journal of Plant Interactions, 2014, 9: 585-591.
- [29] 王淑惠, 毕银丽, 李梦琪. 不同培养期深色有隔内生真菌链格孢菌对紫花苜蓿生长的影响[J]. 菌物学报, 2021, 40(10): 2863-2873.
- [30] SINGH D, THAPA S, MAHAWAR H, et al. Prospecting potential of endophytes for modulation of biosynthesis of therapeutic bioactive secondary metabolites and plant growth promotion of medicinal and aromatic plants[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2022, 115: 699-730.
- [31] 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: 10754-10773.
- [32] HUSSAIN A, SHAH M, HAMAYUN M, et al. Heavy metal tolerant endophytic fungi *Aspergillus welwitschiae* improves growth, ceasing metal uptake and strengthening antioxidant system in *Glycine max* L[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2022, 29: 15501-15515.
- [33] CHOWDAPPA S, JAGANNATH S, KONAPPA N, et al. Detection and characterization of antibacterial siderophores secreted by endophytic fungi from *Cymbidium aloifolium*[J]. Biomolecules, 2020, 10: 1412.
- [34] RENSHAW J C, ROBSON G D, TRINCI A P J, et al. Fungal siderophores: structures, functions and applications[J]. Mycological Research, 2002, 106: 1123-1142.
- [35] LEMANCEAU P, ALABOUVETTE C, MEYER J M, et al. Production of fusarinine and iron assimilation by pathogenic and non-pathogenic *Fusarium*[J]. Iron, Siderophores, and Plant Diseases, 1986, 117: 251-259.
- [36] NAKAYAN P, HAMEED A, SINGH S, et al. Phosphate-solubilizing soil yeast *Meyerozyma guilliermondii* CC1 improves maize (*Zea mays* L.) productivity and minimizes requisite chemical fertilization[J]. Plant and Soil, 2013, 373: 301-315.
- [37] CHOWDHARY K, SHARMA S. Plant growth promotion and biocontrol potential of fungal endophytes in the inflorescence of *Aloe vera* L.[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 2020, 90: 1045-1055.
- [38] 陈海敏. 丹参伴生微生物组及其优势种调控丹参酮合成的机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020: 92-96.
- [39] 林燕青, 谢安强, 林晗, 等. 木麻黄内生真菌对其幼苗叶绿素相对含量及荧光参数的影响[J]. 四川农业大学学报, 2019, 37(5): 644-652, 662.
- [40] ZHANG H H, TANG M, CHEN H, et al. Effects of a dark-septate endophytic isolate LBF-2 on the medicinal plant *Lycium barbarum* L.[J]. The Journal of Microbiology, 2012, 50: 91-96.
- [41] PANDEY S S, SINGH S, PANDEY H, et al. Endophytes of *Withania somnifera* modulate *in planta* content and the site of withanolide biosynthesis[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 5450.
- [42] XU L J, NIU X Y, LI X, et al. Effects of nitrogen addition and root fungal inoculation on the seedling growth and rhizosphere soil microbial community of *Pinus tabulaeformis*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1013023.
- [43] HOU L F, YU J, ZHAO L L, et al. Dark septate endophytes improve the growth and the tolerance of *Medicago sativa* and *Ammopiptanthus mongolicus* under cadmium stress[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 10: 3061.
- [44] NEWSHAM K K. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes[J]. New Phytologist, 2011, 190: 783-793.
- [45] LI M Z, YU R L, BAI X L, et al. *Fusarium*: a treasure trove of bioactive secondary metabolites[J]. Natural Product Reports, 2020, 37: 1568-1588.
- [46] KOUL M, SINGH S. *Penicillium* spp.: prolific producer for harnessing cytotoxic secondary metabolites[J]. Anti-Cancer Drugs, 2017, 28: 11-30.
- [47] KUBICEK C P, KOMON-ZELAZOWSKA M, DRUZHININA I S. Fungal genus *Hypocrea/Trichoderma*: from barcodes to biodiversity[J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2008, 9: 753-763.
- [48] 尤红. 野生丹参微生物资源及其对毛状根的诱导效应[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2017: 43-44.
- [49] STROBEL G, DAISY B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2003, 67: 491-502.
- [50] 刘颖, 魏希颖. 内生菌对植物次生代谢产物的转化[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(2): 300-303, 267.

(责任编辑: 张明霞)