

## 红树林植物红海榄和秋茄的内生真菌多样性

吴尚英<sup>1</sup>, 张 洋<sup>1</sup>, 刘爱荣<sup>1,2</sup>, 徐 同<sup>2</sup>

(1. 河南科技大学 林学院, 河南 洛阳 471003; 2. 浙江大学 农业与生物技术学院, 浙江 杭州 310029)

**摘要:** 以红树林植物红海榄 *Rhizophora stylosa* 和秋茄 *Kandelia candel* 为对象, 研究了 2 种植物的内生真菌的多样性。结果表明: 红海榄和秋茄的枝、叶中分别分离到内生真菌 30 株和 27 株, 内生真菌的优势属分别是茎点霉属 *Phoma* 和拟盘多毛孢属 *Pestalotiopsis*; 同种植物的枝和叶中内生真菌的定殖率差异显著; 红海榄和秋茄内生真菌的 Shannon-Wiener 多样性指数分别为 1.789 0 和 1.747 3, Pielou 均匀度指数分别为 0.526 0 和 0.530 2。2 种红树林植物的内生真菌显示出丰富的多样性。表 4 参 22

**关键词:** 森林生物学; 红树林; 内生真菌; 定殖率; 多样性

中图分类号: S718.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-5692(2010)04-0489-05

## Diversity of endophytic fungi in *Rhizophora stylosa* and *Kandelia candel*

WU Shang-ying<sup>1</sup>, ZHANG Yang<sup>1</sup>, LIU Ai-rong<sup>1,2</sup>, XU Tong<sup>2</sup>

(1. College of Forestry, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, Henan, China;

2. College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, Zhejiang, China)

**Abstract:** Endophytic fungal diversity on the mangrove plants *Rhizophora stylosa* and *Kandelia candel* was studied using the Shannon-Wiener and Pielou indexes. Results produced isolation and identification of 30 strains of *R. stylosa* with a colonization frequency of 100% and 27 strains of *K. candel* with a colonization frequency of 95.9%. The dominate species in *R. stylosa* was *Phoma* spp. and in *K. candel* was *Pestalotiopsis* spp. There were also significant differences ( $P < 0.05$ ) in the colonization frequency of stems and leaves in *R. stylosa* and *K. candel*. For *R. stylosa* the Shannon-Wiener index ( $H'$ ) was 1.789 0 and the Pielou index ( $J$ ) was 0.526 0, whereas for *K. candel*  $H' = 1.747 3$  and  $J = 0.530 2$ . Thus, for both *R. stylosa* and *K. candel* endophytic fungi were plentiful. [Ch, 4 tab. 22 ref.]

**Key words:** forest biology; mangrove; endophytic fungi; colonization frequency; diversity

红树林是热带和亚热带潮间带的木本植物群落, 其生境具有强还原性、强酸性、高含盐量和营养丰富等特征<sup>[1]</sup>。因此, 红树林的微生物资源既丰富又不失特色。红树林作为一种特殊的植物群落, 具有丰富的内生真菌资源, 是红树林微生物资源的主要类群, 目前已分离鉴定的红树林真菌超过 280 种<sup>[2]</sup>, 成为海洋真菌的第二大类群。已报道的红树林内生真菌主要类群有链格孢霉 *Alternaria*, 曲霉 *Aspergillus*, 芽枝霉 *Cladosporium*, 炭疽菌 *Colletotrichum*, 镰孢霉 *Fusarium*, 拟青霉 *Paecilomyces*, 拟盘多毛孢 *Pestalotiopsis*, 青霉 *Penicillium*, 茎点霉 *Phoma*, 拟茎点霉 *Phomopsis*, 叶点霉 *Phyllosticta* 和木霉 *Trichoderma* 等。不同红树林植物的内生真菌区系及优势种群有很大差异<sup>[3-4]</sup>。Schmit 等<sup>[5]</sup>对地理位置和宿主植物的种类对红树林真菌的组成进行了统计分析, 表明大西洋(106 种)、太平洋(173 种)和

收稿日期: 2009-08-16; 修回日期: 2010-02-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30700002); 中国博士后科学基金资助项目(20070411191); 河南省自然科学基金资助项目(2009B2100004); 河南科技大学基金项目(2007QN008, 2007QN029)

作者简介: 吴尚英, 从事真菌分类与分子系统学研究。E-mail: yingzi841024@163.com。通信作者: 刘爱荣, 副教授, 从事真菌系统学研究。E-mail: evallyn@163.com

印度洋(128种)的红树林真菌类群形成了3个不同的分支。红树林内生真菌能产生多种代谢产物,具有抗菌、抗肿瘤等药用价值<sup>[6-7]</sup>。系统深入地研究红树林植物(尤其是优势树种)内生真菌的多样性及其与寄主植物的相互关系,不仅可丰富中国的真菌资源宝藏,而且对生物多样性和环境保护,以及对内生真菌中具有工农业生产与医药价值的次生代谢产物的开发和利用有十分重要的意义。同时红树林内生真菌可对宿主植物产生遗传的、生理的和生态水平上的影响,这些影响对植物适应生境,以及参与物质循环和能量流动产生复杂的变化。王桂文等<sup>[8]</sup>对4种红树林根部的丛枝菌研究时发现,除有丛枝菌在红树林植物的根中定殖外,还有一种暗色有隔真菌在红树林根系有很高的定殖率。杨丽珊等<sup>[9]</sup>调查了福建龙海浮宫2种红树植物内生真菌的种群动态,结果显示,木榄 *Bruguiera gymnorhiza* 和秋茄 *Kandelia candel* 内生真菌数量高峰期分别为4月和10-12月,不同宿主对内生真菌的季节分布有重要的影响。本研究以红树林植物红海榄 *Rhizophora stylosa* 和秋茄为对象,对2种红树林植物内生真菌进行鉴定和形态多样性分析,以期对红树林内生真菌的进一步利用提供合理、可靠的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料采集

以海南省东寨港红树林自然保护区中红树林植物红海榄和秋茄为调查对象。随机在植株的各部位采集健康的植物枝条和叶片,尽可能采集多株同种植物的标本。

### 1.2 内生真菌的分离与鉴定

参考 Liu 等<sup>[10]</sup>的方法,用水洗净,晾干,用体积分数为75%的乙醇浸泡消毒60 s, 250 g·kg<sup>-1</sup>(13.0 g·kg<sup>-1</sup>有效氯)次氯酸钠浸泡消毒5 min,再用体积分数为75%的乙醇浸泡消毒30 s,后用无菌水洗3次,将消毒后的组织块剪切成边长约5 mm的小块,放置于PDA培养基上,置25℃培养。用稀释法作单孢纯化,对不易产孢菌株,通过改变培养的条件来诱导产孢。对应相应的鉴定参考文献<sup>[11-16]</sup>进行形态鉴定,对典型孢子和产孢结构,用生物显微镜 OLYMPUS CX41 进行拍照。

### 1.3 生态多样性分析方法

定殖率  $C_f(\%) = (\text{出现内生真菌的组织块数} / \text{总分离组织块数}) \times 100\%$ ; 相对多度( $\%$ ) = 某类真菌的总菌株数/分离所得的所有菌株总数,即某种真菌占有所有菌株的百分率;多样性分析采用 Shan-

non-Wiener 多样性指数:  $H' = \sum_{i=1}^k P_i \times \ln P_i$ , 其中  $P_i = n_i/N$  即第  $i$  种占总个体数  $N$  的比例;均匀度分析采用 Pielou 指数:  $J = H'/H_{\max}$ , 其中  $H_{\max} = \ln S$  ( $S$  为物种数)。物种丰富度采用物种数量测度<sup>[10]</sup>。数据用 DPS 7.05 统计分析。

## 2 结果与分析

从红海榄和秋茄中分别共分离内生真菌30株和27株,对分离到的内生真菌的鉴定主要根据真菌在PDA培养基上产生的孢子特征分类鉴定。结果表明,红海榄中的30株内生真菌分别属于10个属(表1)。秋茄中的27株内生真菌分别属于9个属(表2)。

### 2.1 红海榄不同部位内生真菌的物种组成

红海榄叶片中分离到内生真菌7个属,21株,其中茎点霉属的定殖率最高,为33.33%。枝条中分离到内生真菌4个属,9株,其中镰孢属的定殖率最高,为16.67%。叶片中内生真菌的定殖率(70.00%)明显高于枝条中内生真菌的定殖率(30.00%),方差分析结果表明,差异达极显著水平( $P < 0.01$ )。

### 2.2 秋茄不同部位内生真菌的物种组成

秋茄叶片中分离到内生真菌8个属,18株,其中茎点霉属和拟盘多毛孢属的定殖率最高,为16.67%。枝中分离到内生真菌3个属,9株,优势属为拟盘多毛孢属,定殖率为20.00%(表2)。方差分析结果表明,秋茄枝条和叶片中内生真菌的定殖率差异达显著水平( $P < 0.05$ )。

### 2.3 2种植物内生真菌的多样性比较

由表3可知,2种红树林植物内生真菌都很丰富,但其组成存在差异,其中:黑腐菌属、曲梗霉

表 1 红海榄不同部位内生真菌的物种组成

Table 1 Species composition of endophytic fungi in different tissues of *Rhizophora stylosa*

部位	属名	菌株数	定殖率/%
叶	茎点霉属 <i>Phoma</i>	10	33.30
	棒孢属 <i>Corynespora</i>	4	13.33
	镰孢属 <i>Fusarium</i>	2	6.67
	小丛壳属 <i>Glomerella</i>	2	6.67
	黑腐菌属 <i>Guignaedia</i>	1	3.33
	痂圆孢属 <i>Sphaeloma</i>	1	3.33
	椭圆黑盘菌属 <i>Melanconium</i>	1	3.33
	合计	21	70.00
枝	镰孢属 <i>Fusarium</i>	5	16.67
	拟盘多毛孢属 <i>Pestalotiopsis</i>	2	6.67
	曲梗霉属 <i>Geniculosporium</i>	1	3.33
	毛壳菌属 <i>Chaetomium</i>	1	3.33
	合计	9	30.00

表 2 秋茄不同部位内生真菌的物种组成

Table 2 Species composition of endophytic fungi in different tissues of *Kandelia candel*

部位	属名	菌株数	定殖率/%
叶	茎点霉属 <i>Phoma</i>	5	16.67
	拟盘多毛孢属 <i>Pestalotiopsis</i>	5	16.67
	叶点霉属 <i>Phyllosticta</i>	3	10.00
	壳孢属 <i>Macrophomisis</i>	1	3.33
	球壳孢属 <i>Sphaeropsis</i>	1	3.33
	刺盘孢属 <i>Colletotrichum</i>	1	3.33
枝	星盾负属 <i>Asterine</i>	1	3.33
	拟茎点霉属 <i>Phomopsis</i>	1	3.33
	合计	18	60.00
	茎点霉属 <i>Phoma</i>	1	3.33
枝	枝孢属 <i>Cladosporium</i>	2	3.33
	拟盘多毛孢属 <i>Pestalotiopsis</i>	6	20.00
	合计	9	30.00

表 3 红海榄和秋茄内生真菌的物种组成

Table 3 Species composition of endophytic fungi in leaves and stems of *Rhizophora stylosa* and *Kandelia candel*

真菌	菌株数		相对多度/%	真菌	菌株数		相对多度/%
	红海榄	秋茄			红海榄	秋茄	
拟茎点霉属	0	1	1.75	茎点霉属	10	6	28.07
叶点霉属	0	3	5.26	小丛壳属	2	0	3.51
拟盘多毛孢属	2	11	22.81	壳孢属	0	1	1.75
枝孢属	0	2	3.51	毛壳菌属	1	0	1.75
黑腐菌属	1	0	1.75	星盾负属	0	1	1.75
镰孢属	7	0	12.28	椭圆黑盘属	1	0	1.75
棒孢属	4	0	7.02	球壳孢属	0	1	1.75
炭疽菌属	0	1	1.75	痂圆孢属	1	0	1.75
曲梗霉属	1	0	1.75	合计	30	27	100

属和小丛壳属只在红海榄中分离到，而拟茎点霉属、叶点霉属、枝孢属、炭疽菌属、壳孢属、星盾负属和球壳孢属却只在秋茄中分离到。2种植物的优势属也不相同，红海榄内生真菌的优势属是茎点霉属，而秋茄内生真菌的优势属是拟盘多毛孢属。

通过分析，2种红树林植物内生真菌的多样性参数发现，物种多样性指数和均匀度指数不成正相关，红海榄内生真菌的物种多样性指数(1.789 0)高于秋茄(1.747 3)，但均匀度指数却低于秋茄。

### 3 结论与讨论

内生真菌在宿主上的分布常受树龄、季节、海拔高度、取样多少等因素的影响<sup>[17-18]</sup>。

表 4 2种红树林植物内生真菌的多样性参数

Table 4 Diversity parameter of endophytic fungi in *Rhizophora stylosa* and *Kandelia candel*

树种	多样性指数(H')	均匀度指数(J)	丰富度指数(S)	菌株总数
红海榄	1.789 0	0.526 0	10	30
秋茄	1.747 3	0.530 2	9	27

在已有对红树林植物、类红树林植物及海草内生真菌的研究结果表明, 海滩植物的内生真菌中半知菌常常为优势类群<sup>[19-20]</sup>, 并且腐烂的红树林组织中子囊菌较半知菌更为常见<sup>[20]</sup>。本研究表明, 2种红树林植物中内生真菌多样性丰富。从红海榄和秋茄中所分离的内生真菌中, 13个属为半知菌门, 4个属为子囊菌门。半知菌类在2种红树林植物内生真菌中占绝对优势, 其相对多度为91.25%。

内生真菌种群组成与植物组织有关。Anita等<sup>[21]</sup>对红树林植物刺田菁 *Sesbonia bispinosa* 的内生真菌进行调查发现, 内生真菌的种类和组成在根中最丰富。本研究中红海榄和秋茄同种植物不同组织内生真菌的数量和种类也不相同, 2种植物叶片与枝条内生真菌定殖率差异分别达极显著水平和显著水平。

中国有丰富的红树林资源, 已报道统计的红树林植物有20科25属37种, 红树林的分布北起浙江瓯江口, 南至海南岛, 无论是种类和分布范围, 在太平洋西岸都具有代表性<sup>[4]</sup>。热带红树林地区是真菌物种多样性丰富程度最高但物种多样性研究相对薄弱的地区<sup>[4,22]</sup>。本研究只选取了2种红树林植物进行内生真菌多样性的调查, 具有一定的局限性, 对红树林地区热带内生真菌的物种组成、地理分布型、海拔高度和生境等的系统调查还有待于更深入的开展。

#### 参考文献:

- [1] 黄晓林, 彭欣, 仇建标, 等. 浙南红树林现状分析及开发前景[J]. 浙江林学院学报, 2009, **26** (3): 427 - 433.  
HUNG Xiaolin, PENG Xin, QIU Jianbiao, *et al.* Mangrove status and development prospects in southern Zhejiang Province [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2009, **26** (3): 427 - 433.
- [2] CHENG Zhongshan, PAN Jiahui, TANG Wencheng, *et al.* Biodiversity and biotechnological potential of mangrove-associated fungi [J]. *J For Res*, 2009, **20** (1): 63 - 72.
- [3] ANANDA K, SRIDHAR K R. Diversity of endophytic fungi in the roots of mangrove species on the west of India [J]. *Can J Microbiol*, 2002, **48** (10): 871 - 878.
- [4] 刘爱荣, 吴晓鹏, 徐同. 红树林内生真菌研究进展[J]. 应用生态学报, 2007, **18** (4): 912 - 918.  
LIU Airong, WU Xiaopeng, XU Tong. Research advances in endophytic fungi of mangrove [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2007, **18** (4): 912 - 918.
- [5] SCHMIT J P, SHEARER C A. A checklist of mangrove-associated fungi, their geographical distribution and known host plant [J]. *Mycotaxon*, 2003, **85**: 423 - 477.
- [6] LIN Xiang, LU Chunhua, HUANG Yaojian, *et al.* Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, *Camptotheca acuminata*: isolation, identification and bioactivity [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2007, **23** (7): 1037 - 1040.
- [7] 郑忠辉, 缪莉, 黄耀坚, 等. 红树林内生真菌的抗肿瘤活性[J]. 厦门大学学报, 2003, **42** (4): 513 - 516.  
ZHENG Zhonghui, MIAO Li, HUANG Yaojian, *et al.* Antitumor activity of mangrove endophytic fungi [J]. *J Xiamen Univ Nat Sci*, 2003, **42** (4): 513 - 516.
- [8] 王桂文, 李海鹰. 钦州湾红树林丛枝菌根初步研究[J]. 广西林业科学, 2003, **32** (3): 121 - 124.  
WANG Guiwen, LI Haiying. Arbuscular mycorrhizal fungi of mangrove in Qinzhou Bay [J]. *Guangxi For Sci*, 2003, **32** (3): 121 - 124.
- [9] 杨丽珊, 黄耀坚, 郑忠辉, 等. 红树植物内生真菌的种群动态及生物活性[J]. 厦门大学学报, 2006, **45** (增刊1): 95 - 99.  
YANG Lishan, HUANG Yaojian, ZHENG Zhonghui, *et al.* The population fluctuation and bioactivity of endophytic fungi from mangrove plants in different seasons [J]. *J Xiamen Univ Nat Sci*, 2006, **45** (supp 1): 95 - 99.
- [10] LIU Airong, XU Tong, GUO Liangdong. Molecular and morphological description of *Pestalotiopsis hainanensis* sp. nov., a new endophyte from a tropical region of China [J]. *Fung Divers*, 2007, **24**: 23 - 36.
- [11] GUBA E F. *Monograph of Monochaetia and Pestalotia* [M]. Massachusetts: Harvard University Press, 1961: 342.
- [12] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 1 - 780.
- [13] MAGURRAN A E. *Ecological Diversity and its Measurement* [M]. New Jersey: Princeton University Press, 1988.
- [14] NAGRAJ T R. *Coelomycetous Anamorphs with Appendage-bearing Conidia* [M]. Ontario: Mycologue Publications, 1993: 1101.
- [15] JONES E B G, ALIAS S A. Biodiversity of mangrove fungi [M]// HYDE K D. *Biodiversity of Tropical Marine Fungi*. Hong Kong: Hong Kong University Press, 1996: 72 - 92.

- [16] KORF R P. Tropical and subtropical discomycetes [M]// HYDE K.D. *Biodiversity of Tropical Microfungi*. Hong Kong: Hong Kong University Press, 1997: 229 - 240.
- [17] SCHMIT J P, SHEARER C A. Geographic and host distribution of lignicolous mangrove microfungi [J]. *Botanica Marina*, 2004, **47** (6): 496 - 500.
- [18] 曾会才, 郑服丛, 贺春萍. 海南红树林生境中海疫霉种的分离与鉴定[J]. 菌物系统, 2001, **20** (3): 310 - 315.  
ZENG Huicai, ZHENG Fucong, HE Chunping. Isolation and identification of halophytophthora species from mangrove habitats in Hainan Island [J]. *Mycosystema*, 2001, **20** (3): 310 - 315.
- [19] MARIA G L, SRIDHAR K R. Endophytic fungal assemblage of two halophytes from west coast mangrove habitats, India [J]. *Czech Mycol*, 2003, **55**: 241 - 251.
- [20] ANITA D D, SRIDHAR K R, BHAT R. Diversity of fungi associated with mangrove legume *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight (Fabaceae)[J]. *Livestock Res Rural Devel*, 2009, **21** (5): 1 - 15.
- [21] STROBEL G, YANG X S, SEARS J, et al. Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallichiana* [J]. *Microbiology*, 1996, **142**: 435 - 440.
- [22] GREGORY S, GILBERT, WAYNE P S. Host specialization among wood-decay polypore fungi in a caribbean mangrove forest [J]. *Biotropica*, 2002, **34** (3): 396 - 404.



## 周国模校长作气候变化大会及其启示报告

2010年3月26日,全球首位毛竹碳汇林主持者、国内外知名的低碳研究专家、浙江农林大学校长周国模教授,作了题为“哥本哈根全球气候变化大会及其启示”的报告。

周国模的报告主要围绕大会的基本概况,大会的核心内容、主要观点,《哥本哈根协议》解读以及启示等进行深入浅出的阐述。周国模介绍,会议达成的《哥本哈根协议》主要内容共有12条,涉及双轨制战略、全球变暖目标、减排责任、REDD+机制、碳交易市场、资金、技术、监督等8个方面,虽然与公众期望还有一定的差距,但是具有一定的积极作用,尤其是在减缓行动的测量、报告和核查方面,维护了发展中国家的权益,突显了林业在应对气候变化中的地位。

周国模认为,本次会议至少可以带给我们3个方面的启示,一是全球气候变暖已成世界热点和主流观点,而人类活动很可能是气候变暖的主要原因;二是低碳发展是未来社会的必由之路,解决气候变化问题的根本措施就是减少温室气体的人为排放;三是林业将迎来更大的发展机会,因为林业在应对气候变化中的重要作用已得到国际社会的广泛认同,并将在未来应对气候变化中占有重要地位。

因为在森林碳汇、低碳经济等领域的研究成就,周国模校长收到了联合国哥本哈根气候大会秘书处的邀请,以国际竹藤组织代表团成员的身份出席了哥本哈根全球气候变化大会。

天衣