

樟属柠檬醛型树种内生真菌的群落结构分析

刘亚敏¹, 另青艳^{1,2}, 张北红^{1,2*}, 钟庆³, 刘新丽¹,
赵瑞琦¹, 黄莉娜¹, 王颜波^{1,2}, 金志农^{1,2}

(1. 江西水利电力大学 水土保持学院, 南昌 330099; 2. 江西省樟树繁育与开发利用工程研究中心, 南昌 330099; 3. 吉安市园林绿化中心, 江西 吉安 343000)

摘要: 为研究樟属 3 种柠檬醛型树种内生真菌群落多样性, 探究相同化学型不同树种及不同组织部位内生真菌的多样性、结构差异。该文通过高通量测序的方法分析了 36 个样本, 共获得序列 2 207 878 条。结果表明: (1) 樟属柠檬醛化学型不同树种的内生真菌群落在物种组成上差异显著且内生真菌物种组成在根、茎、叶中展现出器官偏好性和多样性。(2) Chao 和 Ace 指数的排序一致, 均为樟 (*Camphora officinarum*) (QCA) > 猴樟 (*C. bodinieri*) (QBO) > 黄樟 (*C. parthenoxylon*) (QPO)。这表明樟的内生真菌物种丰富度最高, 其 OTU 数量 690; 黄樟的物种丰富度最低, OTU 数量为 414。而 Shannon 多样性指数的排序为 QPO>QBO>QCA, Simpson 多样性指数则与之相反, 由此可知, 樟的内生真菌群落多样性最小。(3) 由 Bray-Curtis 距离的主坐标分析 (PCoA) 可知, 猴樟和黄樟的样本点聚集紧密, 表明二者的内生真菌群落结构相似度较高; 而这两种植物与樟的样本点分布相对分散, 因此它们与樟的内生真菌群落结构相似度较低。(4) 樟属 3 种柠檬醛型树种均表现为叶和茎内生真菌的群落结构相似, 以及根与叶的内生真菌的群落差异较大。该结果表明宿主树种与组织部位异质性的共同作用塑造内生真菌群落, 为筛选樟属柠檬醛型树种中的探索潜在功能内生真菌奠定了基础, 为内生真菌群落与宿主树种及化学型的协同进化关系提供了参考。

关键词: 宿主化学型, 内生真菌, 高通量测序, 物种多样性, 群落组成

中图分类号: Q948.12 文献标识码: A 文章编号:

Analysis of the endophytic fungal community in *Camphora* tree species with the citral chemotype

LIU Yamin¹, LING Qingyan^{1,2}, ZHANG Beihong^{1,2*}, ZHONG Qing³, LIU Xinli¹,
ZHAO Ruiqi¹, HUANG Lina¹, WANG Yanbo^{1,2}, JIN Zhinong^{1,2}

(1. School of Soil and Water Conservation, Jiangxi University of Water Resources and Electric Power, Nanchang 330099, China; 2. Jiangxi Provincial Engineering Research Center of Seed-breeding and Utilization of Camphor Trees, Nanchang 330099, China; 3. Ji'an Landscape and Gardening Center, Ji'an 343000, Jiangxi, China)

基金项目: 江西省自然科学基金面上项目(20232BAB205055); 江西省科技厅重大科技专项(20203ABC28W016); 南昌工程学院博士科研启动项目(2022kyqd012)。
第一作者: 刘亚敏(1999—), 硕士, 研究方向为森林资源培育, (E-mail)19577896089@163.com。
通信作者: 张北红, 博士, 讲师, 主要从事林木良种选育与栽培研究, (E-mail)362559339@qq.com。

Abstract : To investigate the community diversity of endophytic fungi in three citral chemotype tree species in the *Camphora*, and explore the diversity and structural differences of endophytic fungi in different tree species with the same chemotype and various tissue parts, this study utilized high throughput sequencing to analyze 36 samples, a total of 2 207 878 sequences were obtained. The results were as follow: (1) The endophytic fungal communities of different tree species with the citral chemotype in the *Camphora* exhibited significant differences in species composition, and the endophytic fungal species composition showed organ preference and diversity in roots, stems, and leaves. (2) The ranking of the Chao and Ace indices was consistent, all showing *Camphora officinarum* (QCA) > *Camphora bodinieri* (QBO) > *Camphora parthenoxylon* (QPO). This indicated that *Camphora officinarum* had the highest species richness of endophytic fungi, with 690 OTUs, while *Camphora parthenoxylon* had the lowest species richness, with 414 OTUs. In contrast, the Shannon diversity index showed the order QPO > QBO > QCA, and the Simpson diversity index exhibited the opposite trend. Thus, it could be concluded that the endophytic fungal community diversity of *Camphora officinarum* was the lowest. (3) Principal coordinate analysis(PCoA)based on Bray-Curtis distances revealed that the sample points of *Camphora bodinieri* and *Camphora parthenoxylon* were closely clustered, indicating a high similarity in their endophytic fungal community structures. In comparison, the sample points of these two species were relatively dispersed from those of *Camphora officinarum*, suggesting a lower similarity in endophytic fungal community structure between them and *Camphora officinarum*. (4) The three citral chenmotype tree species of the *Camphora* all exhibited similar community structures of endophytic fungi in leaves and stems, while showing significant differences in the fungal communities between roots and leaves. The results indicated that the combined influence of host tree species and tissue heterogeneity shape the endophytic fungal community, laid a foundation for exploring potential functional endophytic fungi in citral chemotype tree species of the *Camphora* and provided insights into the co-evolutionary relationship between endophytic fungal communities and host tree species and chemotypes.

Key words: chemotype of host species, endophytic fungi, high-throughput sequencing, species diversity, community composition

樟属 (*Camphora*) 植物是重要的经济林木, 其中部分树种因其富含特定萜类化合物而被划分为不同的化学型, 根据其所含特征性萜类化合物的差异, 可划分为多种化学型, 如樟脑型、芳樟醇型和柠檬醛型等 (郑永杰, 2022)。柠檬醛是一种含香叶醛和橙花醛两种同分异构体的单萜醛类化合物 (Ling et al., 2022), 是樟属的一种化学型, 也是合成维生素 A、E 和紫罗兰酮的关键原料, 广泛应用于医药、食品、香精香料等领域 (Thielmann, 2019; 向育君等, 2020)。

内生真菌 (endophytic fungi)是指在其生活史的一定或全部阶段生活于健康植物各种组织或细胞间隙的真菌，而不引起明显疾病症状的真菌，其与宿主植物通过长期的协同进化形成了独特的互惠共生关系 (Gakuubi et al., 2021)。它们经长期协同进化广泛分布于植物各器官，种类、数量和分布特征均因植物种类而异(郭顺星，2018)。尽管植物内生真菌群落结构及其与宿主关系的差异性研究已较为丰富，但在木本植物目前主要聚焦于不同树种 (Sun et al., 2012; Li et al., 2016; 钱海源，2018) 及相同树种不同季节 (Abubakr et al., 2019)、不同地区 (Fang et al., 2019; 杨娟等，2019; 周思旋等，2023) 或不同组织部位 (顾美英等，2022; Li et al., 2023)。近年来的研究还表明，内生真菌能够参与或调控植物萜类等次生代谢产物的合成 (Nancy, 2019; 毛欣颖，2025)。同一树种不同化学型的内生真菌群落结构也具有明显的差异性 (吕立新等，2014)。植物内生真菌群落结构的差异既存在于不同宿主间，也存在于同一宿主的不同组织间 (王涛等，2009)。即使宿主植物是相同的，由于不同组织中活性物质的组成和生态位的差异，内生真菌也会显示出组织特异性 (王营等，2017)。揭示相同化学型树种的内生真菌群落的组成与多样性，对于理解相同化学型下不同树种间菌群的共性与特异性、组织部位的分化规律及其与化学型代谢的潜在关联均具有重要的理论和应用价值。

本研究以樟属 3 种柠檬醛型树种内生真菌群落为研究对象，采用高通量测序技术，系统分析其内生真菌群落的组成、多样性和结构差异。拟探讨以下问题：(1) 相同化学型不同樟属树种的内生真菌群落差异；(2) 樟属 3 种柠檬醛化学型树种内生真菌群落的物种多样性特征及其优势类群的生态分布规律；(3) 这些特征是否暗示着内生真菌群落在宿主柠檬醛生物合成与维持中发挥着潜在的功能性作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料与取样方法

实验材料为栽培于江西省樟树繁育与开发利用工程研究中心樟树优良无性系采穗圃 (江西省南昌市，116°03'28" E、28°68'55" N) 的樟属 3 种柠檬醛化学型树种优良无性系 (樟、猴樟、黄樟的 8 年生扦插苗)。2024 年 10 月，在统一生境条件下，针对 3 种目标树种，每种随机选取 4 株长势均一的健康植株作为生物学重复，对每株植株，分别采集 5~8 片无损伤的成熟叶片、3~5 段当年生健壮新枝及 5~10 条健康细根，共 36 个样本，采样工具经 75%酒精消毒并灼烧灭菌，样本用无菌自封袋标记，样本编号及宿主信息如表 1 所示。采集样本后立即置于保温箱内(内含冰袋)运回实验室，用于内生真菌 DNA 提取。

表 1 3 种柠檬醛型樟属树种信息及样本名

Table 1 The sample information of three citral chemotype tree species in the *Camphora*

树种 Tree species	采集部位 Collection site	编号 Number
猴樟 <i>C. bodinieri</i>	根 Root	QBO_G
	茎 Stem	QBO_J
	叶 Leaf	QBO_Y
黄樟 <i>C. parthenoxylon</i>	根 Root	QPO_G
	茎 Stem	QPO_J
	叶 Leaf	QPO_Y
樟 <i>C. officinarum</i>	根 Root	QCA_G
	茎 Stem	QCA_J
	叶 Leaf	QCA_Y

1.2 样本 DNA 提取与 PCR 扩增

1.2.1 样本表面消毒和 DNA 提取

参照宋培勇等（2011）的方法，对樟属 3 种柠檬醛型树种的根、茎、叶进行表面消毒，步骤如下：无菌水漂洗 30 s→75%乙醇浸泡 1 min→2%NaClO 溶液浸泡 3 min→75%乙醇浸泡 1 min→无菌水漂洗 30 s。消毒完成后，采用植物基因组 DNA 提取试剂盒（林雪玲，2019）提取 DNA，操作按试剂盒说明书进行。

1.2.2 PCR 扩增及测序

PCR（王荣谈等，2009）采用 TransGen AP221-02：TransStart Fastpfu DNA Polymerase，引物为 ITS1F（CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA）和 ITS2R（GCTGCGTTCTTCATCGATGC），扩增片段为 ITS1F_ITS2R 区。每个样本设 4 个重复反应。PCR 产物经混合后，通过 2%琼脂糖凝胶电泳检测，目标条带使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒（AXYGEN 公司）进行目的片段切胶回收，以 Tris_HCl 缓冲液洗脱，并再次电泳验证。合格的 PCR 产物委托上海美吉生物医药科技有限公司（www.majorbio.com），利用 Illumina Hiseq 平台进行高通量测序。所得数据在 I-Sanger 生物信息分析云平台（http://www.i-sanger.com/）完成数据处理和生物多样性分析。

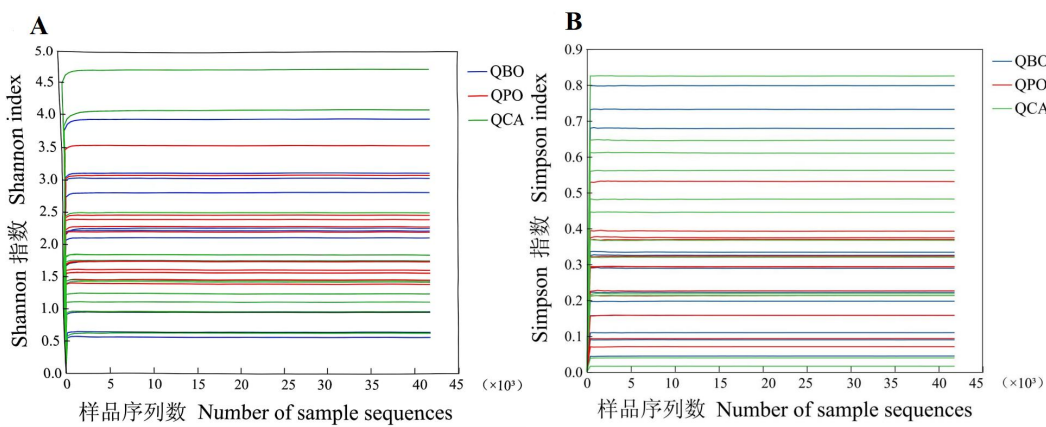
1.3 数据处理

原始测序数据经质控过滤后，使用 QIIME 软件按 97%相似度水平下进行操作分类单元（operational taxonomic unit, OTU）聚类。OTU 通过与 UNITE 等数据库进行比对完成物种注释。采用 Shannon、Simpson、Chao 和 Ace 指数分析样本内生真菌群落的α多样性。通过主坐标分析(PCoA)比较不同样本间内生真菌群落结构的差异。利用 Kruskal-Wallis 秩和检验分析不同树种及组织间物种相对丰度的显著差异，以筛选出具有组间差异的内生真菌类群。

2 结果与分析

2.1 序列的有效数据

在樟属 3 种柠檬醛型树种的根、茎和叶共 36 个样品中，通过测序获得 2 207 878 条序列；碱基数为 575 011 267，平均长度为 249.990 302 472，最短序列长度 142，最长序列长度为 538，序列平均长度为 340。由图 1 可知，Simpson 与 Shannon 指数的稀释曲线均趋于平坦，表明测序数据量合理可靠，能充分反映样本内生真菌多样性信息。



A. 样本的 Shannon 指数稀释曲线；B. 样本的 Simpson 指数稀释曲线。样本缩写见表 1，下同。

A. Shannon index dilution curve of the samples; B. Simpson index dilution curve of the samples. The abbreviations of the samples are shown in Table 1, the same below.

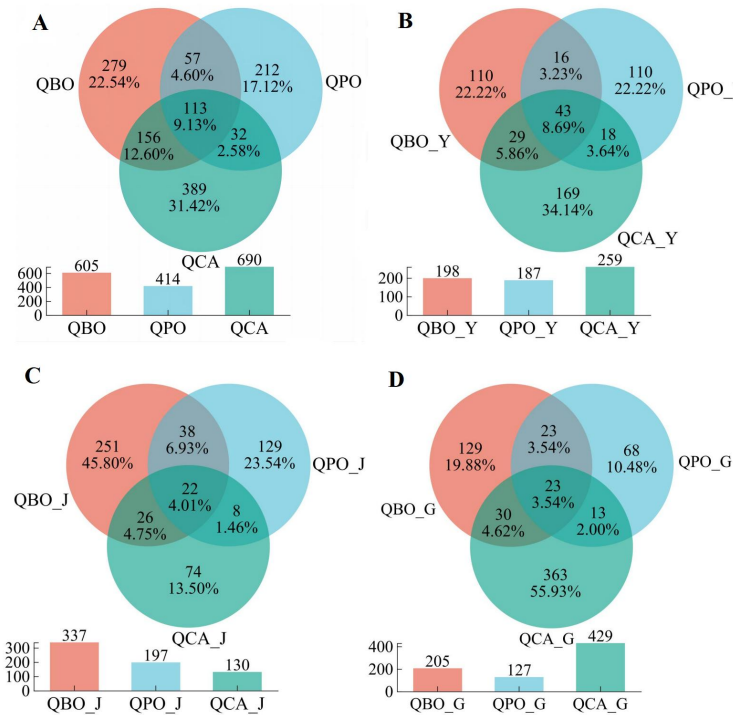
图 1 樟属 3 种柠檬醛型树种真菌稀释曲线

Fig. 1 Dilution curves of fungi from three citral chemotype tree species in *Camphora*

2.2 不同树种及不同组织部位 OTU 数量

由图 2 可知，从樟属 3 种柠檬醛型树种猴樟（QBO）、黄樟（QPO）和樟（QCA）的茎、叶和根的 36 个样本中共检测出 1 709 个 OTUs。由图 2: A 可知，猴樟的 OTU 数量为 605，樟的 OTU 数量为 690，黄樟的 OTU 数量为 414；猴樟和樟共有的 OTU 数量最多，为 156，而樟和黄樟的共有 OTU 数量仅为 32，猴樟和黄樟的共有 OTU 数量为 57；猴樟、黄樟和樟三者共有的 OTU 数量为 113，共有数量占全部检测真菌分类单元的 9.13%。由表 2 可知，基于 OTU 组成的共有属有酵母属（*Saccharomyces*）、枝孢属（*Cladosporium*）、孢子菌属（*Codinaea*）等 10 种及一些分类不明的属。猴樟中独有 OTU 的数量为 279，黄樟中独有 OTU 的数量为 212，樟中独有 OTU 的数量为 389；樟中独有 OTU 的数量最多，占比 31.42%。这表明不同柠檬醛型樟属树种的内生真菌群落丰富度和多样性间存在差异。

3 个树种的不同组织部位 OTU 数量也存在差异，由图 2: B 可知，从叶中检测到 OTU 数量最多的是樟，其次是猴樟，黄樟最少，共有 OTU 数量为 43，基于 OTU 组成的共有属有酵母属、枝孢属、镰孢属（*Fusarium*）等 8 种及一些分类不明的属。由图 2: C 可知，从茎中检测到 OTU 数量最多的是猴樟，其次是黄樟，樟最少，共有 OTU 数量为 22，基于 OTU 组成的共有属有嗜热丝孢菌属（*Thermomyces*）、枝孢属、链格孢属（*Alternaria*）等 3 种及一些分类不明的属。由图 2: D 可知，从根中检测到 OTU 数量最多的是樟，其次是猴樟，黄樟最少，共有 OTU 数量为 23，基于 OTU 组成的共有属有孢子菌属、篮状菌属（*Talaromyces*）、暗枝顶孢属（*Phaeoacremonium*）等 8 种及一些分类不明的属。这表明在樟属 3 种柠檬醛型树种中，叶和根的内生真菌 OTU 数量从多到少的顺序一致，但其菌群存在差异，说明叶和根两个组织部位微生物群落丰富度具有相似的物种选择模式，而茎组织可能存在独特的物种选择模式。



A. 樟属 3 种柠檬醛型树种的 OTUs 数目；B. 樟属 3 种柠檬醛型树种叶部的 OTUs 数目；C. 樟属 3 种柠檬醛型树种茎部的 OTUs 数目；D. 樟属 3 种柠檬醛型树种根部的 OTUs 数目。
A. Number of OTUs among three citral chemotype tree species in *Camphora*; B. Number of OTUs in the leaves of three citral chemotype tree species in *Camphora*; C. Number of OTUs in the stems of three citral chemotype tree species in *Camphora*; D. Number of OTUs in the roots of three citral chemotype tree species in *Camphora*.

图 2 樟属 3 种柠檬醛型树种及组织中的 OTUs 数目 Venn 图

Fig.2 Venn diagram of OTUs number in the tissues of three citral chemotype tree species in *Camphora*

表 2 樟属 3 种柠檬醛型树种及不同组织部位共有属

Table 2 Shared genera among three citral chemotype tree species in *Camphora* and their different tissues

分类 Classification	属 Genus	占比 Proportion (%)
不同树种共有属 Shared genera among different tree species	酵母属 <i>Saccharomyces</i>	9.76
	枝孢属 <i>Cladosporium</i>	4.34
	孢子菌属 <i>Codinaea</i>	4.25
	篮状菌属 <i>Talaromyces</i>	3.89
	锥毛壳属 <i>Coniochaeta</i>	2.95
	嗜热丝孢菌属 <i>Thermomyces</i>	2.70
	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	1.71
	镰孢属 <i>Fusarium</i>	1.56
	绿僵菌属 <i>Metarhizium</i>	1.53
	青霉属 <i>Penicillium</i>	1.03
	未分类 Unclassified	50.27
	其他 Others	16.03
	孢子菌属 <i>Codinaea</i>	19.82
	篮状菌属 <i>Talaromyces</i>	17.53
	暗枝顶孢属 <i>Phaeoacremonium</i>	2.11
根的共有属 Shared genera in roots	假散囊菌属 <i>Pseudeurotium</i>	2.09
	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	1.56
	丝核菌属 <i>Rhizoctonia</i>	1.41
	被孢霉属 <i>Mortierella</i>	1.35
	齿梗孢属 <i>Scolecobasidium</i>	1.10
茎的共有属 Shared genera in stems	未分类 Unclassified	48.53
	其他 Others	4.49
	嗜热丝孢菌属 <i>Thermomyces</i>	9.00
	枝孢属 <i>Cladosporium</i>	8.88
	链格孢属 <i>Alternaria</i>	1.76
叶的共有属 Shared genera in leaves	未分类 Unclassified	73.35
	其他 Others	7.01
	酵母属 <i>Saccharomyces</i>	29.72
	枝孢属 <i>Cladosporium</i>	5.87
	镰孢属 <i>Fusarium</i>	3.73
	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	3.63
	假丝酵母属 <i>Candida</i>	1.09
	嗜热丝孢菌属 <i>Thermomyces</i>	1.08
	被孢霉属 <i>Mortierella</i>	1.07
	黑孢属 <i>Nigrospora</i>	1.02
	未分类 Unclassified	42.57
	其他 Others	10.22

2.3 内生真菌群落结构

由图 3（相对丰度占比柱形图）可知，有效鉴定的前 10 的门依次是子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢霉门（Mortierellomycota）、壶菌门(Chytridiomycota)、球囊菌门（Glomeromycota）、油壶菌门（Olpidiomycota）、罗兹菌门（Rozellomycota）、Entorrhizomycota、

捕虫霉门（Zoopagomycota）、芽枝霉门（Blastocladiomycota）。其中，子囊菌门为绝大多数样本的核心优势菌群，相对丰度超过 60%，说明樟属不同树种的内生真菌在门水平上具有显著的共性。这可能与樟属植物亲缘关系较近、共享相似的生理代谢特征有关，这些共同特征为子囊菌门真菌提供了适宜的生存环境，使其成为优势类群。而有 5 个样本与其他样本组成存在差异性，猴樟中的 G3 样本的优势菌群是担子菌门，与多数样本不同，可能与该样本的生长环境或个体差异有关；猴樟 J3 和 Y1 样本中未分类的菌门占比较高，暗示猴樟部分个体可能存在独特的内生真菌类群。樟的 J1、J2 和 J3 样本中也是未分类的菌门占比较高，而黄樟的优势菌群均为子囊菌门，与猴樟的部分样本类似，但与黄樟和多数样本差异显著，说明樟的内生真菌群落可能包含更多未被鉴定的类群，其宿主茎部更易富集这些未知菌门。图 4 显示了樟属 3 种柠檬醛型树种在属水平的内生真菌相对丰度占比前 15 的属，发现除嗜热丝孢菌属（*Thermomyces*）和被孢霉属（*Mortierella*）之外其他 13 个属均属于子囊菌门。樟属 3 种柠檬醛型树种均出现子囊菌富集现象，揭示了子囊菌可能具有普遍的适应性和生态优势。

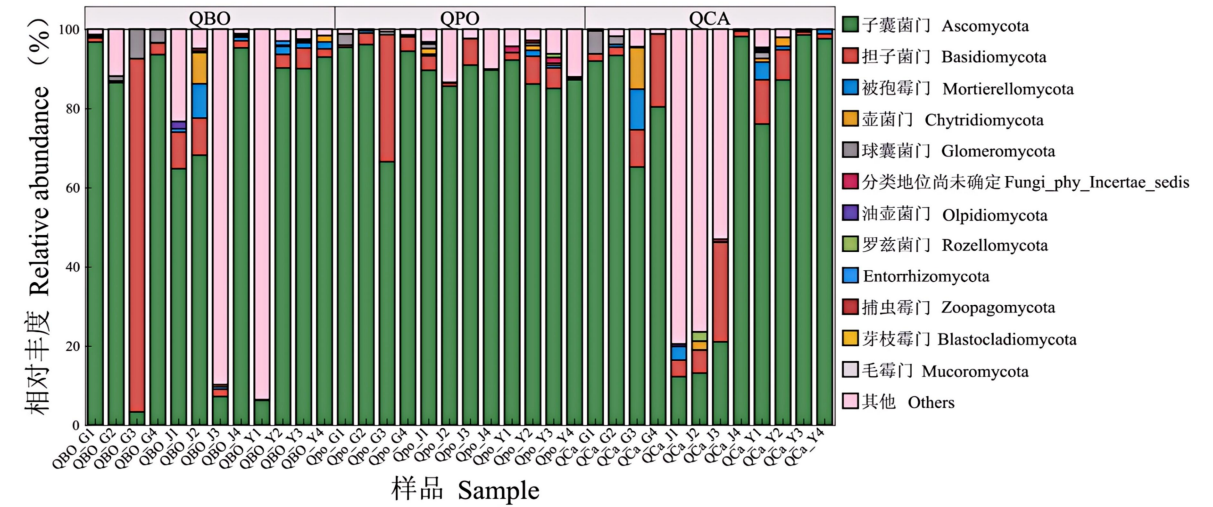


图 3 门水平上真菌的丰度占比柱形图

Fig.3 Bar chart of fungal abundance proportion at phylum level

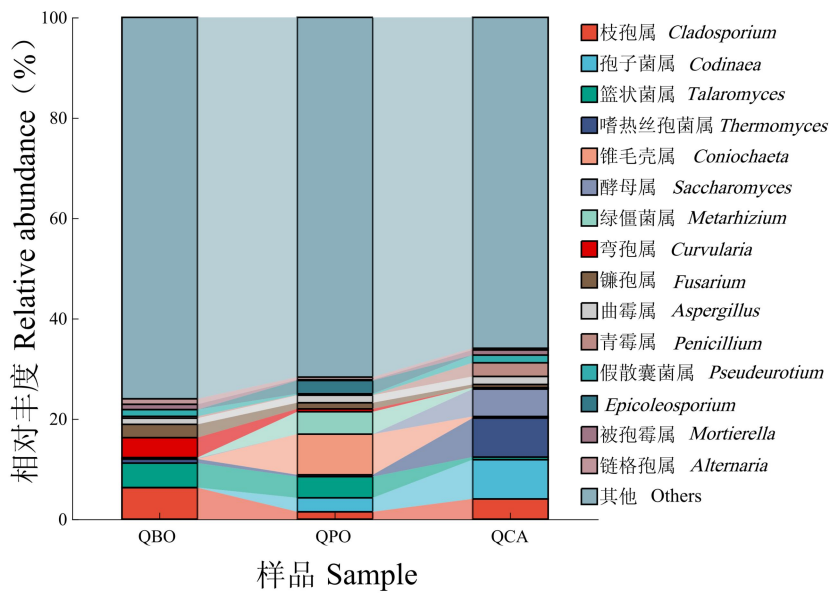


图 4 属水平上真菌的丰度占比柱形图

Fig.4 Bar chart of fungal abundance proportion at genus level

2.4 α 多样性指数分析

采用 Shannon、Simpson、Chao 和 Ace 指数对樟属 3 种柠檬醛型树种的根、茎和叶内生真菌的 α 多样性进行评价，图中的缩写分别代表一组样本。由图 5 可知，3 组样本丰富度表现为樟（QCA）> 猴樟（QBO）>黄樟（QPO）。Shannon 指数和 Simpson 指数均用于表示群落多样性。Shannon 指数值越高，表明样品内生真菌群落多样性越丰富；而 Simpson 指数值越大，则反映其多样性越低。Shannon 多样性指数从高到低的顺序为黄樟>猴樟>樟；Simpson 多样性指数从高到低的顺序为樟>猴樟>黄樟，表明黄樟的内生真菌群落多样性最丰富，樟最小。通过 Chao 和 Ace 指数来量化内生真菌物种丰富度，指数从高到低的顺序均为樟>猴樟>黄樟，表明了樟的内生真菌物种丰富度最高，黄樟的内生真菌物种丰富度最低。樟的物种丰富度最高，但群落多样性较小，说明该群落中少数物种占据绝对优势，造成内生真菌群落多样性的减少。

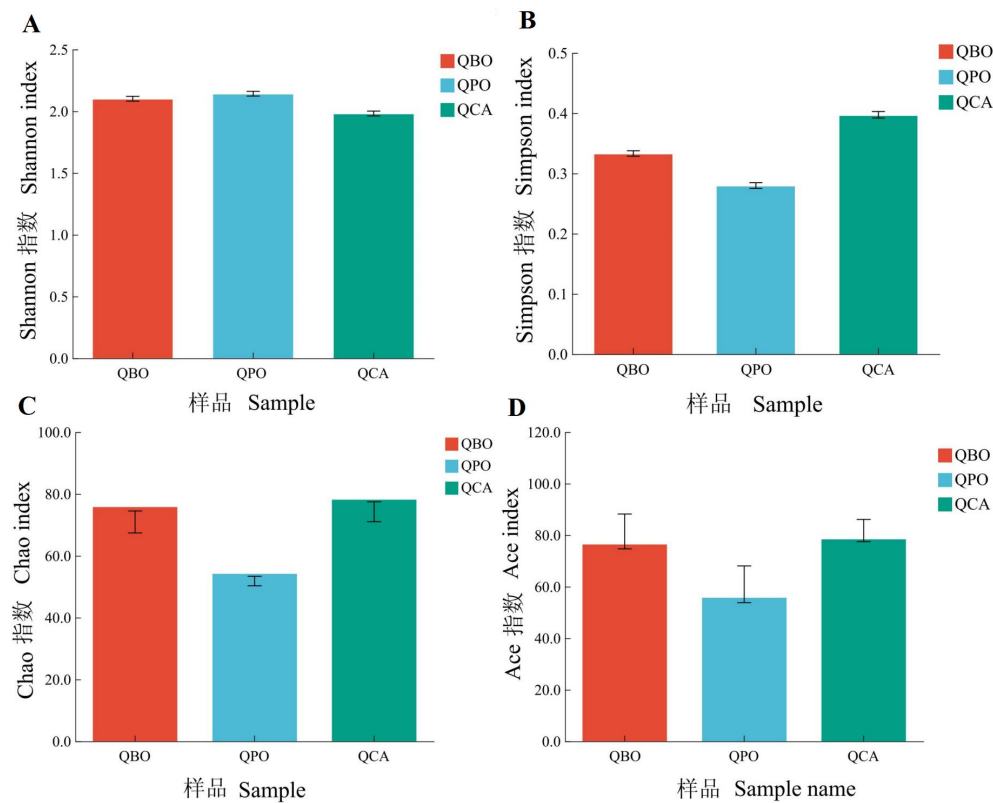


图 5 α 多样性指数样品组间分布条形图

Fig.5 Bar chart of α diversity index distribution among sample groups

2.5 β 多样性分析

在 OTU 水平上，基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析（PCoA）对樟属 3 种柠檬醛型树种的 36 个样本进行分析，比较不同树种及组织部位内生真菌群落结构的差异（图 6）。在树种层面（图 6：A），PC1 和 PC2 轴贡献率分别为 13.38%和 11.05%（累积 24.43%）。猴樟（QBO）与黄樟（QPO）样本点聚集紧密，而二者与樟（QCA）样本点相对分散，表明猴樟和黄樟的群落结构相似度较高，而二者与樟的相似度较低。在植物组织部位层面（图 6：B），叶和茎的样本点聚集紧密，根则与叶相距较远，表明叶与茎的群落结构相似度较高，而根与叶的相似度较低。茎和根有部分样本点密集，说明两者具有相似性，可能因为相近组织部位之间存在一定的相似性。

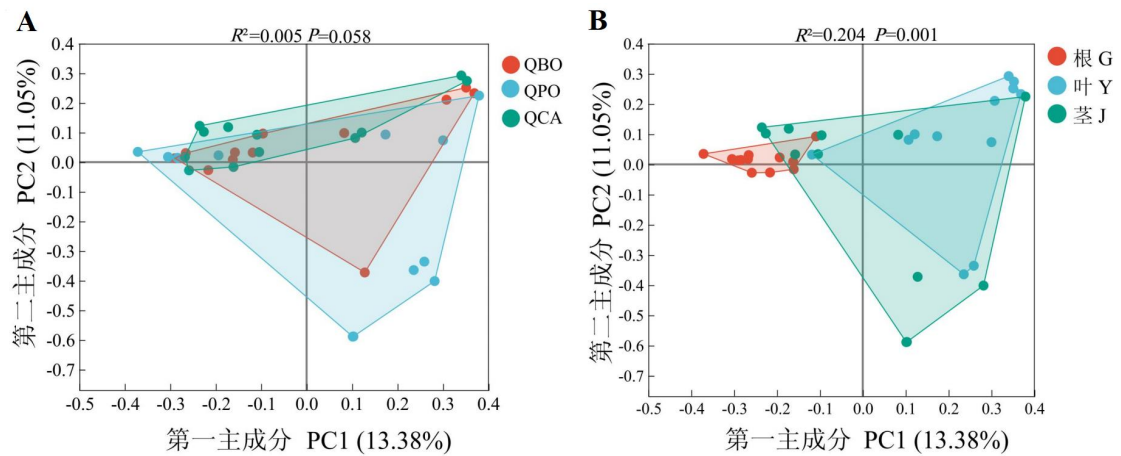


图 6 不同树种 (A) 和不同组织部位 (B) 的 β 多样性分析 PCoA 散点图

Fig.6 PCoA scatter plot of β diversity analysis for different tree species(A) and tissue parts(B)

2.6 物种差异分析

通过 Kruskal-Wallis 秩和检验对樟属 3 种柠檬醛型树种样品和不同组织部位之间进行统计分析。由图 7 可知, *Epicleosporium* 是 3 种树种中差异极显著的菌群 ($P < 0.001$) ; 弯孢属 (*Curvularia*) 是 3 种树种中差异较显著的菌群 ($P < 0.01$) ; *Pseudoveronaea*、指赤壳属 (*Dactylonectria*)、毛壳菌属 (*Trichomerium*)、梭孢菌属 (*Fusicolla*)、*Pallidocercospora*、肉座菌目分类地位未定类群 (*Hypocreales_gen_Incertae_sedis*) 和分支 06 属地位未定类群 (*Branch06_gen_Incertae_sedis*) 是 3 种树种中差异显著的菌群 ($P < 0.05$)。枝孢属、孢子菌属 (*Codinaea*) 和篮状菌属是不同组织部位中差异极显著的菌群 ($P < 0.001$) ; 曲霉属 (*Aspergillus*) 和假丝酵母属 (*Candida*) 是不同组织部位中差异较显著的菌群 ($P < 0.01$) ; 黑孢属 (*Nigrospora*)、球囊菌门未定属 (*Glomeromycota_gen_Incertae_sedis*)、暗枝顶孢属 (*Phaeoacremonium*)、鳞斑霉属 (*Malassezia*) 和丝核菌属 (*Rhizoctonia*) 是不同组织部位中差异显著的菌群 ($P < 0.05$)。以上结果表明, 同一化学型的不同树种之间和不同组织部位之间都存在明显的差异菌群。

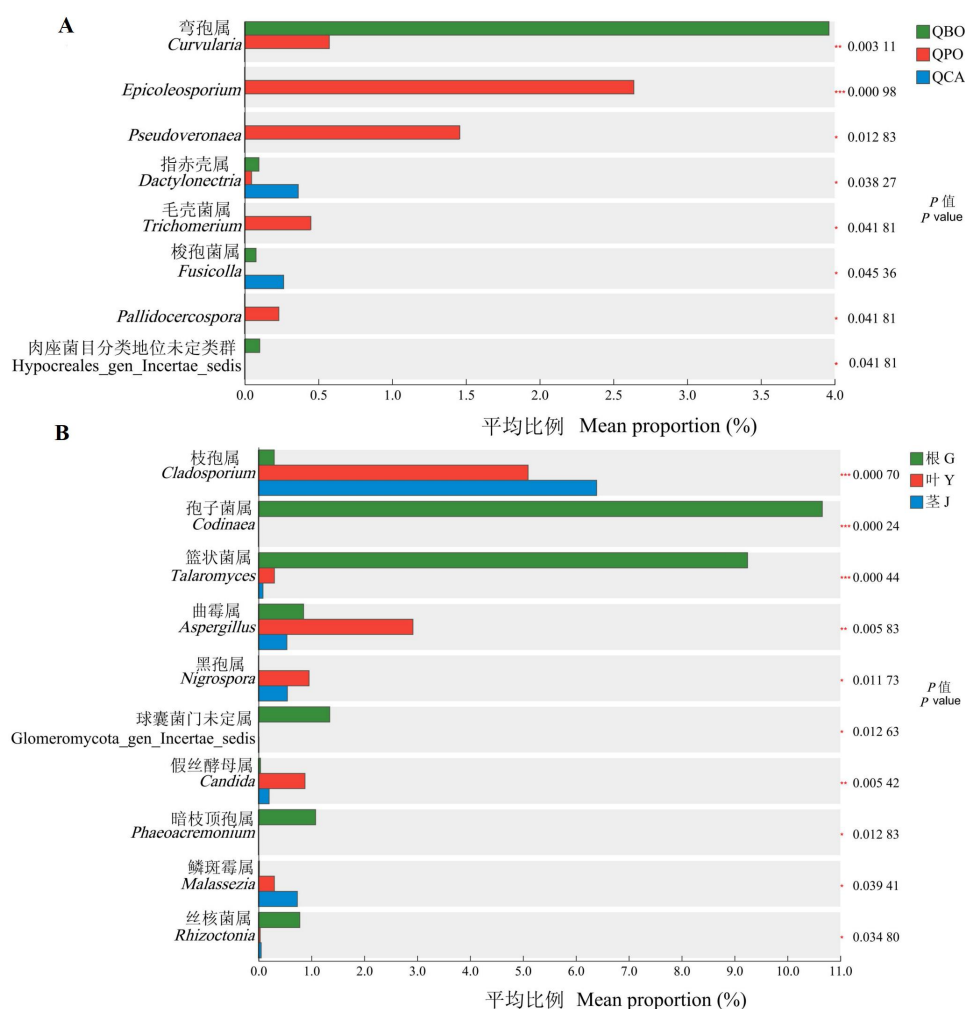


图 7 物种比较条形图

Fig.7 Species comparison bar chart

A. 不同组间同一物种比较条形图; **B.** 不同组织部位间同一物种比较条形图。Y 轴表示某一分类学水平下的物种名, X 轴表示物种不同分组中平均相对丰度, 不同颜色的柱子表示不同分组。*表示 $0.01 < P \leq 0.05$, **表示 $0.001 < P \leq 0.01$, ***表示 $P \leq 0.001$ 。

A. Bar chart for comparing the same species across different groups; **B.** Bar chart for comparing the same species across different tissue parts. The Y-axis represents species names at a certain taxonomic level, and the X-axis represents the average relative abundance of species in different groups, with columns of different colors indicating different groups. * indicates $0.01 < P \leq 0.05$, ** indicates $0.001 < P \leq 0.01$, and *** indicates $P \leq 0.001$.

3 讨论与结论

3.1 相同化学型不同樟属树种的内生真菌群落差异

本研究通过对樟属三种柠檬醛化学型树种根、茎、叶内生真菌群落分析,发现尽管宿主植物同一化学型,但其内生真菌群落结构在门水平和属水平均存在显著差异。子囊菌门在绝大多数样本中占据绝对优势(相对丰度 $>60\%$),印证了其作为樟属植物核心内生真菌群落的地位。然而,猴樟(G3 样本)中担子菌门成为最优势类群,以及猴樟(J3, Y1)和樟(J1-J3)样本中未分类真菌门的高占比,表明在相同的化学型背景下,宿主树种身份仍是驱动内生真菌群落分化的关键因素。刘雯雯(2024)研究的结果表明油樟叶片的优势内生真菌是子囊菌门,与其研究结果一致。樟属树种同属一科,亲缘关系近,因此共享子囊菌门和担子菌门这一核心优势类群,体现了宿主系统发育关系对内生真菌群落的基础影响。部分样本优势菌群不一样,可能出现树种特异性分化,黄樟的单

一优势类群、樟和猴樟中未分类菌门的高占比，反映了不同树种在长期演化中形成了独特的内生真菌互作机制，可能与各自的生态适应性有关。猴樟和樟的不同样本间存在差异，说明即使同一树种，内生真菌群落也可能因个体生长环境而分化，环境筛选作用叠加在宿主特异性之上。

Kruskal-Wallis 秩和检验可以解决样本间是否存在显著差异 (Johnson et al., 2022)。Kruskal-Wallis 秩和检验鉴定出多个在树种间差异极显著的菌属，如 *Epicoleosporium* ($P<0.001$) 和弯孢属 ($P<0.01$)。这些结果与潘虹等 (2023) 的研究结论相一致，即树种差异极显著地影响真菌群落的 Beta 多样性，且不同树种对真菌类群的富集作用存在差异。魏安琪等 (2019) 研究也发现不同植被类型土壤微生物群落结构存在差异。本研究进一步证实，即使在同一化学型下，不同樟属树种仍保有显著特异的内生真菌群落结构。此外，本研究还发现不同组织部位间也存在显著差异菌群，如枝孢属、孢子菌属和篮状菌属在不同部位中差异极显著 ($P<0.001$)，进一步支持了微生境对真菌定殖的选择性压力。同一化学型不同树种存在特异性的菌群组成，不同器官也具有独特的菌群结构，强烈表明内生真菌群落是与宿主化学型及组织微环境之间存在深层次的互作关系。这种互作可能涉及宿主代谢产物的特异性诱导、生态位适应及功能协同等多种机制，值得进一步研究。

3.2 物种多样性特征及其优势类群的生态分布规律

植物内生真菌群落多样性受到组织部位、温度、季节及生长年份等因素影响 (Gopi et al., 2017)。本研究 β 多样性分析表明，叶与茎的内生真菌群落结构相似度较高，而根与叶的相似度较低，茎与根呈现一定的相似性。这与董晓慧等 (2025) 在玉米中的发现一致，即茎、叶和籽粒间真菌群落组成较为接近，与根存在明显区别。却与 Araujo 等 (2020) 的研究结果不一致：其根和茎的内生真菌群落相似且两者与叶片不同。这种不一致性反映了内生真菌群落构建的高度可塑性，其最终结构很可能是由宿主物种特性、组织微环境、传播途径及生态互作等多重因素共同决定的。这种差异可能归因于：根组织直接接触土壤复杂菌群，但面临更强的宿主免疫筛选和根际竞争压力；而茎、叶组织相对隔绝，其内生真菌可能更多依赖于空气传播定殖，并受到组织内特定理化环境，如光照、水分、营养、特别是组织特异性次生代谢物浓度梯度的塑造。本研究结果与 Zhou 等 (2021) 对具有柠檬醛代谢产物的油樟植株内生真菌多样性分析具有相似性，进一步支持同一化学型宿主中内生真菌群落存在明显的组织特异性。

在 α 多样性方面，本研究采用 Shannon、Simpson、Chao 和 Ace 指数对 3 种樟属树种的根、茎和叶进行评估。值得注意的是，Chao 和 Ace 指数表明樟的内生真菌物种丰富度最高，而 Shannon 指数所呈现的多样性趋势与其他四项指数相反，这与 Kong 等 (2023) 在半夏和掌叶半夏中报道的 Simpson 指数与多样性水平呈负相关，其余指数呈正相关的结论并不完全一致。该现象可能与樟群落中存在显著优势物种有关：少数真菌类群在群落中占据绝对主导地位，导致多样性水平下降，并在不同指数中表现出不一致的变化趋势。

3.3 内生真菌群落在宿主柠檬醛生物合成与维持中发挥着潜在的功能性作用

本研究中，丰度占比前 15 的属有 13 个属于子囊菌门，说明樟属 3 种柠檬醛型树种均出现子囊菌富集现象，其中枝孢属、篮状菌属、酵母属、绿僵菌属、弯孢属、镰孢属、曲霉属、青霉属均富含萜烯类物质 (常俊男等, 2020; 安婷等, 2024; 罗利利等, 2025)。揭示了在樟属植物，尤其是富含萜烯类物质的类型中，子囊菌可能具有普遍的适应性和生态优势，可能通过直接或间接的机制参与并维持宿主柠檬醛的合成。特定的化学环境如柠檬醛的存在，也可能为某些耐受或利用这些物质的真菌类群提供了生存优势，或抑制了其他敏感类群的定殖。

本研究对于了解樟属柠檬醛型树种及其不同组织中内生真菌群落的组成和特征具有重要价值，可为后续研究樟属柠檬醛型树种内生真菌资源的开发和利用提供重要的理论依据，也为后续对同一化学型不同树种不同组织部位内生真菌群落组成差异性的研究提供参考依据。

参考文献:

- ABUBAKR AHE, MUHAMMED MI, ZHANG GF, 2019. Seasonal diversity of endophytic bacteria associated with *Cinnamomum camphora* (L.) Presl. [J]. Diversity, 11(7): 112.
- AN T, TAN H, GUO R, et al., 2024. Research progress on the structure and activity of secondary

- metabolites of *Talaromyces* sp.[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 49(9): 961-985. [安婷, 谭慧, 郭蓉, 等, 2024. 篮状菌属次级代谢产物结构及活性的研究进展 [J]. 中国抗生素杂志, 49(9): 961-985.]
- ARAUJO KS, BRITO VN, VELOSO TGR, et al., 2020. Diversity and distribution of endophytic fungi in different tissues of *Hevea brasiliensis* native to the Brazilian Amazon forest [J]. Mycological Progress, 19(10): 1057-1068.
- CHANG JN, TIAN X Q, FAN C Q, et al., 2020. Secondary metabolites from the antarctic fungi *Cladosporium* sp. NJF4 and NJF6 [J]. Polar Research, 32(1): 60-67. [常俊男, 田晓清, 樊成奇, 等, 2020. 两株南极枝孢霉属真菌 *Cladosporium* sp.NJF4 和 NJF6 的次级代谢产物研究[J]. 极地研究, 32(1): 60-67.]
- CHENG H, ZHANG DH, ZHANG JZ, et al., 2022. Endophytic bacterial communities in different tissues of apple rootstock T337 and their functional predictions [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 50(14): 144-154. [程欢, 张东华, 张俊忠, 等, 2022. 苹果砧木 T337 不同组织内生菌群落及其功能预测 [J]. 江苏农业科学, 50(14): 144-154.]
- DONG XH, SHI SL, YIN GL, et al., 2025. Diversity of endophytic bacterial and fungal communities in different maize organs [J]. Acta Prataculturae Sinica, 34(5): 130-145. [董晓慧, 师尚礼, 尹国丽, 等, 2025. 玉米器官组织内生细菌和真菌群落多样性 [J]. 草业学, 34(5): 130-145.]
- FANG K, MIAO YF, CHEN L, et al., 2019. Tissue-specific and geographical variation in endophytic fungi of *Ageratina adenophora* and fungal associations with the environment [J]. Frontiers in Microbiology, 10: 2919.
- GAKUUBI MM, MUNUSAMY M, LIANG ZX, et al., 2021. Fungal endophytes: A promising frontier for discovery of novel bioactive compounds [J]. Journal of Fungi, 7(10): 786.
- GOPI K, JAYAPRAKASHVEL M, 2017. Distribution of endophytic fungi in different environments and their importance [J]. Research Journal of Pharmacy and Technology, 10(11): 4102-4104.
- GU MY, ZHANG ZD, TANG GM, et al., 2022. Community composition and ecological function of endophytic fungi in different tissues of *Lycium ruthenicum* [J]. Acta Mycologica Sinica, 41(8): 1254-1267. [顾美英, 张志东, 唐光木, 等, 2022. 黑果枸杞不同组织内生真菌群落组成及生态功能分析 [J]. 菌物学报, 41(8): 1254-1267.]
- GUO SX, 2018. The recent progress and prospects of research on endophytic fungi in medicinal plants [J]. Journal of Fungal Research, 37(1): 1-13. [郭顺星, 2018. 药用植物内生真菌研究现状和发展趋势 [J]. 菌物学报, 37(1): 1-13.]
- JOHNSON, RW, 2022. Alternate forms of the one-way ANOVA F and Kruskal-Wallis test statistics [J]. Journal of Statistics and Data Science Education, 30(1): 82-85.
- KELLER NANCY P, 2019. Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. [J]. Nature Reviews. Microbiology, 17(3): 167-180.
- KONG K, HANG ZD, SHI SP, et al., 2023. Diversity, antibacterial and phytotoxic activities of culturable endophytic fungi from *Pinellia pedatisecta* and *Pinellia ternata* [J]. BMC Microbiology, 23(1): 30-30.
- LI JL, SUN X, CHEN L, et al., 2016. Community structure of endophytic fungi of four mangrove species in Southern China [J]. Mycology, 7(4): 180-190.

- LI R, DUAN WY, RAN ZF, et al., 2023. Diversity and correlation analysis of endophytes and metabolites of *Panax quinquefolius* L. in various tissues [J]. BMC Plant Biology, 23(1): 275.
- LIN XL, ZHENG R, HE TY, et al., 2019. Extraction of total DNA and PCR verification for *Cinnamomum kanehirae* [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 25(2/3): 7-9. [林雪玲, 郑蓉, 何天友, 等, 2019. 台湾牛樟总 DNA 提取方法研究及其 PCR 验证 [J]. 安徽农学通报, 25(2/3): 7-9.]
- LING QY, ZHANG BH, WANG YB, et al., 2022. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oils of citral-rich chemotype *Cinnamomum camphora* and *Cinnamomum bodinieri* [J]. Molecules, 27(21): 7356.
- LIU WW, HU LQ, CHEN L, et al., 2024. A study on diversity and volatile components of endophytic fungi in *Cinnamomum longepaniculatum* leaves [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 38(3): 455-464. [刘雯雯, 胡连清, 陈露, 等, 2024. 特色香料作物油樟叶内生真菌多样性及其挥发性成分分析 [J]. 核农学报, 38(3): 455-464.]
- LÜ LX, WANG HW, LIANG XF, et al., 2014. Effects of different chemotypes and seasonal dynamic variation on the species diversity of endophytic fungal communities harbored in *Atractylodes lancea* [J]. Acta Ecologica Sinica, 34(24): 7300-7310. [吕立新, 王宏伟, 梁雪飞, 等, 2014. 不同化学型和季节变化对茅苍术内生真菌群落多样性的影响 [J]. 生态学报, 34 (24): 7300-7310.]
- LUO LL, LI WL, DU XH, et al., 2025. Research progress on secondary metabolites from *Curvularia* species and their bioactivities [J]. Natural Product Research and Development, 37(2): 375-391. [罗利利, 黎琬琳, 杜旭泓, 等, 2025. 弯孢属真菌次级代谢产物及其生物活性研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 37(2): 375-391.]
- MAO XY, DING Y, WANG Y, et al., 2025. Endophytic fungal diversity and its correlation with metabolism in *Panax quinquefolius* seedlings [J]. Microbiology China, 52(7): 3124-3144. [毛欣颖, 丁宇, 王悦, 等, 2025. 西洋参幼苗内生真菌多样性及其与代谢之间的关联性分析 [J]. 微生物学通报, 52(7): 3124-3144.]
- PAN H, CUI FX, YANG LB, et al., 2023. Diversity and functional differences of fungal communities of the decomposing fallen logs of dominant species in cold temperate coniferous forest [J]. Acta Ecologica Sinica, 43(23): 9856-9866. [潘虹, 崔福星, 杨立宾, 等, 2023. 寒温带针叶林优势树种倒木分解真菌群落多样性及功能差异 [J]. 生态学报, 43(23): 9856-9866.]
- QIAN HY, ZHANG TT, CHEN SW, et al., 2018. Community structures and biodiversities of broad-leaved forest and two types of plantations in Gutianshan National Nature Reserve, Zhejiang Province [J]. Guihaia, 38(10): 1371-1381. [钱海源, 张田田, 陈声文, 等, 2018. 古田山自然保护区阔叶林与两种人工林的群落结构和生物多样性 [J]. 广西植物, 38(10): 1371-1381.]
- SONG PY, LI FH, MA LL, 2011. Isolation and phylogenetic analysis of endophytic bacteria in *Davidia involucre* [J]. Microbiology China, 38(1): 8-13. [宋培勇, 李凤华, 马莉莉, 2011. 珙桐内生细菌的分离鉴定及系统发育分析 [J]. 微生物学通报, 38(1): 8-13.]
- SUN X, DING Q, HYDE KD, et al., 2012. Community structure and preference of endophytic fungi of three woody plants in a mixed forest [J]. Fungal Ecology, 5(5): 624-632.

- THIELMANN, MURANYI, 2019. Review on the chemical composition of *Litsea cubeba* essential oils and the bioactivity of its major constituents citral and limonene [J]. Journal of Essential Oil Research, 31(5): 361-378.
- WANG RT, LIU DE, LI JM, et al., 2009. Quantitative real-time fluorescence PCR technology and its application in genetically modified organisms detection [J]. Plant Physiology Communications, 45(6): 591-597. [王荣谈, 刘冬儿, 厉建萌, 等, 2009. 实时荧光定量 PCR 技术及其在植物转基因产品检测中的应用 [J]. 植物生理学通讯, 45(6): 591-597.]
- WANG T, YOU L, CUI XL, et al., 2009. Diversity of fungal endophytes obtained from three kinds of arboreal in Yibin, Sichuan [J]. Microbiology China, 36(3): 339-344. [王涛, 游玲, 崔晓龙, 等, 2009. 四川宜宾三种乔木内生真菌的多样性 [J]. 微生物学通报, 36(3): 339-344.]
- WANG Y, LI HH, TAN GH, et al., 2017. Study on communities of endophytic fungi from *Pogostemon cablin* and their antimicrobial activities [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 42(4): 657-662. [王营, 李浩华, 谭国慧, 等, 2017. 广藿香内生真菌类群分析及其抗菌活性研究 [J]. 中国中药杂志, 42(4): 657-662.]
- WEI AQ, WEI TX, LIU HY, et al., 2019. PLFA analysis of soil microorganism under *Robinia pseudoacacia* and *Pinus tabulaeformis* plantation in loess area [J]. Journal of Beijing Forestry University, 41(4): 88-98. [魏安琪, 魏天兴, 刘海燕, 等, 2019. 黄土区刺槐和油松人工林土壤微生物 PLFA 分析 [J]. 北京林业大学学报, 41(4): 88-98.]
- XIANG YJ, WANG HH, SUN YD, 2020. Review on application of *Litsea cubeba* essential oils [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 35(8): 186-195. [向育君, 王海华, 孙远东, 2020. 山苍子油应用研究进展 [J]. 中国粮油学报, 35(8): 186-195.]
- YANG J, DONG CB, CHEN WH, et al., 2019. Community composition and ecological functional structural analysis of endophytic fungi in bark of *Eucommia ulmoides* in different areas [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 44(6): 1126-1134. [杨娟, 董醇波, 陈万浩, 等, 2019. 不同地区杜仲树皮内生真菌群落组成及生态功能结构的差异分析 [J]. 中国中药杂志, 44(6): 1126-1134.]
- ZHENG YJ, 2022. *Cinnamomum* phylogeny and molecular basis investigation of the terpene chemotypes diversity [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry. [郑永杰, 2022. 樟属植物系统发育及其萜类化学型多样性分子基础研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院.]
- ZHOU SX, ZHANG T, LIU C, et al., 2023. Diversity and antibacterial activity of endophytic fungi from Miao medicine *Berchemia polyphylla* var. *leioclada* [J]. Guihaia, 43(7): 1236-1243. [周思旋, 张涛, 刘畅, 等, 2023. 光枝勾儿茶内生真菌多样性及抑菌活性研究 [J]. 广西植物, 43(7): 1236-1243.]
- ZHOU WH, WEI Q, FENG RZ, et al., 2021. Diversity and spatial distribution of endophytic fungi in *Cinnamomum longepaniculatum* of Yibin, China [J]. Archives of Microbiology, 203(6): 3361-3372.