

地黄块根内生真菌的多样性研究

朱 昀 昊, 杜 真 辉, 董 诚 明, 冷 慕 婵

(河南中医学院 药学院, 河南 郑州 450006)

摘 要:以产自河南温县的地黄块根为试材,采用平板分离法分离地黄内生真菌,通过形态学特征和核糖体转录间隔区(ITS)序列分析,对分离出的真菌进行分类鉴定;以内生真菌的分离率(IR)、定殖率(CR)、相对频率(RF)、多样性指数(H)及均匀度指数为指标研究地黄块根内生真菌的菌群组成及其多样性。结果表明:从地黄块茎中分离得到 81 株内生真菌纯化培养物,经鉴定 28 株为镰孢霉属 *Fusarium*;19 株为青霉属 *Penicillium*;15 株为茎点霉属 *Phoma*;12 株为链格孢属 *Alternaria*;其它 6 株分别为赤霉属 *Gibberella*、曲霉属 *Aspergillus*、土赤壳属 *Ilyonectria*、毛壳属 *Chaetomium*。镰孢霉属、青霉属、茎点霉属、链格孢属为地黄块根内生真菌优势菌群,地黄内生真菌菌群组成具有一定程度的多样性。

关键词:地黄;内生真菌;ITS

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)03-0145-05

地黄块根为玄参科植物地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch)的新鲜或干燥块根,始载于《神农本草经》,列为上品。主产于河南省温县、武陟、孟县、博爱等古怀庆府辖区,故又得名怀地黄。地黄味甘苦,性温寒,具有清热生津,凉血,润燥,滋阴补肾,调经补血的功能,用于阴虚发热,消渴,吐血,血崩,月经不调,胎动不安,阴伤便秘等症。怀地黄作为驰名中外的四大怀药之一^[1],临床应用极为广泛,对内分泌、心脑血管、免疫、血液、神经系统及抗菌、抗炎等方面均有显著作用。

植物内生真菌是指全部的生长发育过程或部分生命阶段在健康植物的茎干或叶片等组织中,但不引起明显病害症状的一类真菌^[2],包括了处于潜伏侵染期的病原真菌。由于内生真菌的生命周期在植物体内的特殊环境中完成,并与植物体共同进化,在长期共同进化中寄主与内生菌间形成了互惠的共生关系^[3]。一方面,内生真菌自身所需营养物质需要从宿主体内吸收;另一方面在宿主的生命周期的完成过程中内生真菌也起到重要的作用。植物次生代谢产物是中药材的药效物质基础,而植物体内重要有效成分的生源途径、积聚机制至今尚不明确。研究表明,内生真菌在与植物协同进化过

程中,不仅能够产生与寄主相似的次生代谢产物,还能通过诱导作用刺激宿主植物次生代谢产物的积聚。因此,内生菌与寄主植物次生代谢产物相似性机理的探索将对阐明中药有效成分的积聚机制以及道地药材的成因提供一种新的研究思路^[4]。

近年来,对地黄内生菌的研究主要集中在从地黄内生细菌中筛选梓醇等有效成分方面^[5,6],而对其内生真菌的分离、鉴定及多样性分析的研究较少。鉴于此,该试验对地黄内生真菌进行分离纯化,并基于形态学和 ITS 序列分析对其进行鉴定,一方面对丰富地黄内生真菌的多样性有重要意义,为开发地黄内生真菌资源提供依据;另一方面为揭示地黄与其内生真菌的互作关系及内生真菌对地黄的产量及品质的影响具有重要的理论意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

地黄采自河南省焦作市温县地黄种植基地,经河南中医学院董诚明教授鉴定为“北京三号”。

1.2 试验方法

1.2.1 分离培养基配方及制备方法 PDA 培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 7 g,蒸馏水 1 000 mL。制备方法:取 200 g 马铃薯,洗净去皮切成长条,加入蒸馏水 1 000 mL,加热煮沸约 0.5 h,用 4 层纱布过滤取滤液,再加入 7 g 琼脂粉,加热使其溶解,再倒入烧杯中,加 20 g 葡萄糖,蒸馏水补足至 1 000 mL,搅拌使其充分溶解,分装,在 121℃灭菌 20 min,备用。

第一作者简介:朱昀昊(1986-),男,博士,讲师,现主要从事药用植物分子生物学等研究工作。E-mail:guxinhan123@163.com

责任作者:董诚明(1963-),男,本科,教授,现主要从事药用植物规范化种植等研究工作。E-mail:dcm371@sohu.com

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划资助项目(2011BAI06802)。

收稿日期:2015-10-21

1.2.2 植物组织表面消毒 将采集的地黄块根用流水冲洗掉表面的泥土、灰尘等杂质,按以下步骤进行表面消毒:在肥皂水中浸泡 30 min,自来水冲洗 1~2 h 至干净无泡沫,将块根切成 1 cm×1 cm 小块,在超净工作台中进行彻底的表面消毒,先用 75% 的酒精漂洗 3 min,无菌水冲洗 4~5 次,0.1% 升汞溶液漂洗 3 min,无菌水冲洗 5~6 次,用灭菌的滤纸吸干表面水分,备用。

1.2.3 表面消毒效果的检验 内生真菌分离过程中,同时设以下对照处理来确保所得菌株均为地黄内生真菌。首先,地黄组织经表面消毒后,任意选取 5 块组织块,置于 PDA 培养基中接触 10 min,28℃ 恒温培养 1~2 周,观察是否有真菌生长。其次,取无菌棉签蘸取适量最后一遍冲洗的无菌水涂布于 PDA 培养基中,28℃ 恒温培养 1~2 周,观察是否有真菌生长。以上 2 种方法中若空白平板上无菌落生长,则说明此批样品的表面杂菌被彻底除去,反之,则存在分离到表面菌的可能,弃去该试验组。

1.2.4 内生真菌的分离与纯化 采用组织块法进行内生真菌的分离,具体处理步骤如下:在超净工作台中,将处理过的块根切成长宽高约 1 cm³ 的小块,接种于 PDA 培养基平板中(3 块/板),共 60 盘。将接入组织块的平板置于霉菌培养箱中 28℃ 恒温培养,每天观察,若组织块边缘有新的菌丝长出,则立即挑取菌丝前端转接入新的 PDA 培养基中进行纯化培养,直至菌落单一,纯化后的菌株于 4℃ 冰箱中保存,备用。

1.2.5 地黄内生真菌的鉴定 采用 CTBA 法提取真菌基因组 DNA。采用真菌核糖体 DNA 的内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)通用引物 ITS1/ITS4 扩增目标区域。ITS 扩增使用的引物为 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'),由上海生工生物工程公司合成。20 μL PCR 反应体系为:10 μL 2×Taq mix,1 μL ITS1,1 μL ITS4,2 μL DNA 模板,用 ddH₂O 补足 20 μL。扩增程序:94℃ 4 min;94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 40 s,35 个循环;72℃ 3 min,4℃ 保存。扩增产物送往上海生工生物工程公司测序。测序结果通过 Chromas 软件校对,在 NCBI 的 GenBank 数据库中通过 Blastn 搜索,将相似度最高的序列作为参考序列,并用于系统发育分析和鉴定。采用 DNAMAN 对序列进行处理和分析,并用 MEGA 5 构建系统发育树,选择参比序列,以 Kimura-2 参数模型计算进化距离,用邻接法构建系统发育树。

1.2.6 内生真菌种群多样性分析 以内生真菌的分离率(isolation rate, IR)、定殖率(colonization rate, CR)、相对频率(relative frequency, RF)及多样性指数(biodiversity index, H)指标衡量试验结果^[7]。分离率指

所得的内生真菌菌株数与试验所取组织块总数的比值。定殖率指能分离出内生真菌的组织块数与供试组织块数的百分比。相对频率指样本中分离到某种内生真菌的菌株数占分离出总内生真菌菌株数的百分率,该指标能反映某种内生真菌在该植物体内的丰富度。利用 Shannon-Wiener 指数(H)、均匀度指数(E)计算多样性。

$H = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$, $E = \frac{H}{\ln S}$ 。式中,S 为分类单元, P_i 是第 i 种的多度比例($P_i = n_i/N$, n_i 是第 i 个分类单元的菌株数, $N = \sum n_i$, N 是所有菌株数总和)。H 来源于信息理论,其计算公式表明,群落中生物种类增多代表了群落的复杂程度增高,即 H 值愈大,群落所含的信息量愈大。

2 结果与分析

2.1 地黄内生真菌的分离

对地黄组织块样品进行严格的表面消毒,通过组织分离法,从地黄块茎中共分离得到 81 株内生真菌,阴性对照平板上没有菌落产生,进一步说明分离方法的准确性。经计算得出,地黄内生真菌分离率为 49.00%,内生真菌的定殖率为 46.67%。

2.2 内生真菌的 ITS 序列分析

经 PCR 扩增和测序,81 株地黄内生真菌的 ITS 序列与 GenBank 中的 14 种真菌的参考序列相似性在 95% 以上,分属于 8 属 14 种。由表 1 可知,镰刀菌属(*Fusarium*)共分离得到 28 个菌株,占分离总数的 34.57%;其次是青霉属(*Penicillium*),共分离得到 19 个菌株,占分离总数的 23.46%;茎点霉属(*Phoma*)共分离得到 15 个菌株,占分离总数的 18.52%;链格孢属(*Alternaria*)共分离得到 12 个菌株,占分离总数的 14.81%;以上 4 属为地黄内生真菌的优势菌群。赤霉菌属(*Gibberella*),曲霉属(*Aspergillus*)均分离得到 2 个菌株;另外土赤壳属(*Ilyonectria*)、毛壳属(*Chaetomium*)、*Setophoma* 属真菌均只有 1 株。

该试验共获得 9 个属的真菌,其中镰刀菌属、青霉属、茎点霉属、链格孢属为优势菌群。Shannon 多样性指数为 2.031 9,均匀度为 0.792 1;说明地黄内生真菌种群在组成上具有较高的多样性,群落所含的信息量丰富。

2.3 不同菌株 ITS 序列变异位点分析

对同一菌株进行双向测序,Seqman 软件拼接。利用 DNAMAN 软件对同属同种不同菌株拼接所得 ITS 序列进行多序列比对,发现其存在丰富的碱基变异(表 2),G+C 含量也有一定的差异。分离所得 17 株尖孢镰菌(*Fusarium oxysporum*)间有 2 个变异位点,分别位于序列的第 11 位与第 197 位,第 11 位为 A 的插入或缺失,第 197 位为 T-G 颠换;6 株厚垣镰孢霉(*Fusarium chlamydosporum*)间在序列的第 54 位存在 1 个 C-A 转换;

表 1 地黄内生真菌分离及分子鉴定结果

Table 1 The isolation and molecular identification of endophytic fungi from *R. glutinosa*

鉴定结果 Identification result			分离株数	分离频率
属名	种	基因登录号	Isolated strains	Isolation frequency
Genetic name	Species name	GenBank ID	number/个	/ %
<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	KP186120-23	DH2、DH9、DH16、DH20、DH26、DH28、DH33、DH34、DH38、DH40、DH42、DH43、DH44、DH46、DH48、DH51、DH53	17 20.99
	<i>Fusarium chlamydosporum</i>	KP186124-25	DH31、DH45、DH50、DH55、DH56、DH58	6 7.41
	<i>Fusarium solani</i>	KP186135	DH49、DH54、DH17	3 3.70
	<i>Fusarium</i> sp.	KP186136	DH73	1 1.23
	<i>Fusarium redolens</i>	KP186137	DH8	1 1.23
<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium oxalicum</i>	KP789321	DH3、DH5、DH12、DH13、DH15、DH18、DH24、DH47、DH61、DH65、DH68、DH69、DH70、DH72、DH74、DH76、DH79、DH80、DH82	19 23.46
			DH6、DH7、DH19、DH22、DH27、DH30、DH32、DH35、DH37、DH59、DH64、DH67、DH84、DH85、DH86	15 18.52
<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i>	KP186126-29	DH4、DH10、DH23、DH25、DH29、DH36、DH60、DH63、DH66、DH77、DH78、DH81	12 14.81
<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella intemedi</i>	KP789316	DH52、DH57	2 2.47
<i>Ilyonectria</i>	<i>Ilyonectria torresensis</i>	KP789317	DH21	1 1.23
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	KP789318	DH62、DH71	2 2.47
<i>Setophoma</i>	<i>Setophoma terrestris</i>	KP789315	DH39	1 1.23
<i>Chaetomium</i>	<i>Chaetomium</i> sp.	KP789320	DH41	1 1.23

表 2 地黄内生真菌不同菌株 ITS 序列变异位点

Table 2 SNP sites in ITS sequence of different endophytic fungi strains from *R. glutinosa*

种名	变异位点		(G+C)%或	基因登陆号	代表菌株	分离数量
Species name	Variable sites		(G+C)%	GenBank ID	Representative strain	Isolated strains number
Fusarium oxysporum	缺(11)	T(197)	48.86	KP186120	DH1	7
	A(11)	T(197)	48.76	KP186121	DH9	7
	A(11)	G(197)	48.97	KP186122	DH44	1
	缺(11)	G(197)	49.07	KP186123	DH43	2
Fusarium chlamydosporum		A(54)	49.90	KP186124	DH31	5
		C(54)	50.31	KP186125	DH50	1
	缺(9)	C(449)	46.50	KP186126	DH4	1
Alternaria alternata	A(9)	缺(463)	46.21	KP186127	DH10	1
	缺(9)	T(449)	46.30	KP186128	DH23	6
	缺(9)	T(449)	46.21	KP186129	DH25	3
	T(9)	T(449)	46.21	KP186130	DH60	1
Phoma novae	T(6)	C(13)	48.57	KP186131	DH6	9
	T(6)	C(13)	48.78	KP186132	DH59	3
	T(6)	缺(13)	48.47	KP186133	DH86	1
	C(6)	C(13)	48.78	KP186134	DH67	2

12 株互隔交链孢霉(*Alternaria alternata*)间有 3 个变异位点,分别位于序列的第 9 位,第 449 位与第 463 位,其中第 9 位包括碱基的插入或缺失和 T-A 颠换,第 449 位为 C-T 转换,第 463 位为 T 的插入或缺失;15 株茎点霉属(*Phoma novae*)间存在 3 个变异位点,分别位于序列的第 6 位,第 13 位与第 197 位,其中第 6 位为 C-T 转换,第 13 位为 C 的插入或缺失,第 197 位为 T-G 颠换;其它菌株未发现碱基变异。

2.4 地黄内生真菌的系统发育分析

对 26 株具代表性的内生真菌的 ITS-rDNA 序列,从 GenBank 上下载相关参考序列,利用 MEGA 5.0 使用 N-J 法构建出系统发育树。如图 2 所示,每株分离得到的内生真菌都可以找到同源性比较高的同源序列,根据转录间隔区 ITS 的保守性原则,分析可得以 DH1、DH9、

DH44、DH43 为代表的 4 个株系,虽然在 ITS 序列出现个别 SNP 位点变异,但仍均属于镰刀菌属尖孢镰刀菌;同理,DH31、DH50 等为镰刀菌属厚垣孢菌;DH4、DH10、DH23、DH25 等为互隔交链孢霉;DH6、DH59、DH86、DH67 为茎点霉属。

从系统发育树可知,DH52、*Gibberella intemedi* 与镰刀菌属聚在一类,由于赤霉属具有镰刀菌的无性型,因此其 ITS-rDNA 序列与镰刀菌也具有较高的相似度。同属同种不同菌株之间 ITS-rDNA 序列虽然存在丰富的碱基变异,但其在系统发育树上仍均能与标准菌株聚为一类。这说明 ITS-rDNA 序列能较好的区分地黄内生真菌种内及种间的差异。

3 讨论

内生真菌在许多药用植物的生长发育过程中起重

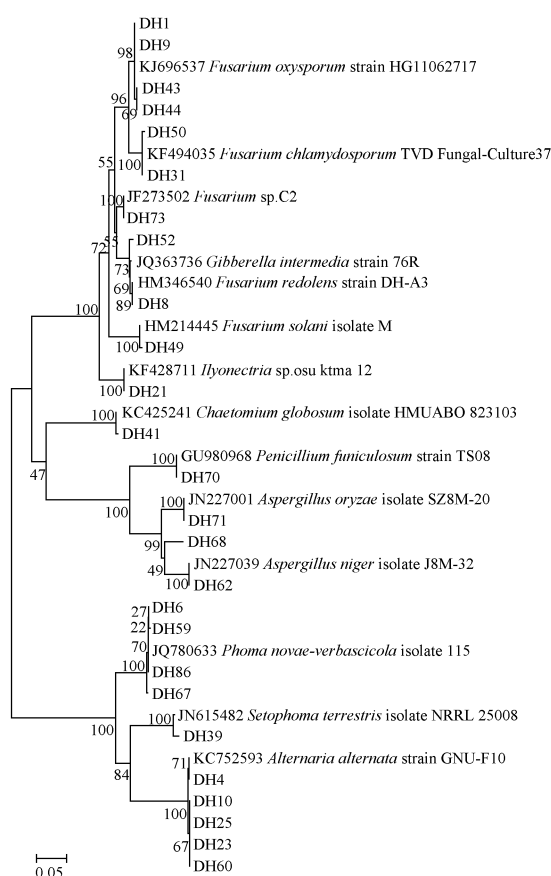


图1 基于 ITS-rDNA 序列构建地黄内生真菌系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of endophytic fungi from *R. glutinosa* based on ITS-rDNA sequences

要作用,不仅可以增强药用植物本身对温度、渗透、病原菌等逆境的抵抗能力^[8],也可以提高药用植物的产量和活性成分的含量,这对药用植物资源的开发与保护、次生代谢产物的生产等具有重要的应用价值。

该研究从地黄块茎中分离得到 81 株内生真菌,采用分子生物学手段进行了鉴定,其分别属于镰孢霉属、青霉属、茎点霉属、链格孢属、赤霉属、曲霉属、土赤壳属、毛壳属等。试验分离出的内生真菌大部分作为植物内生真菌被广泛报道,其中镰孢霉属等是已报道的从地黄块茎部位分离出的内生真菌。这可能与研究所采用分离培养基为通用培养基有关。柴新义等^[9]选择了采用添加宿主植物青檀组织汁液的培养基,补充青檀内生真菌可能需要的特殊营养因子,使得一些尚未在青檀以外的其它植物中报道的内生真菌属被分离,如汉斯霉属、孔球孢属、膝孢属、节丛孢属、烛台霉属等。游玲等^[10]在含有植株水浸液的平板培养基上分离到 1 株其它培养基均未能分离的山苍子内生真菌,说明该内生真菌对山苍子细胞内源性物质有显著依赖性,这种依赖性可能是经内生真菌与寄主长期协同进化所致。不同的药用植物应有特定的专一性内生真菌物种,在今后的内生真菌多样性的研究中,设计不同选

择性分离培养基、培养条件是必要的。

由于该试验所采用的单一 ITS 序列不能完全反映不同内生真菌遗传物质的差异^[11],各种系统发育分析计算方法也都存在一定缺陷等问题的影响,分子生物学鉴定也有其局限性^[12]。随着 DNA 高通量测序技术的不断完善及新计算方法的开发、应用,分子生物学方法在内生真菌的鉴定工作中的应用前景会越来越明朗。

植物内生真菌具有能够产生与宿主植物相同或相似的有效成分的能力。1993 年,STROBEL 等^[13]在红豆杉中筛选到能够产生其宿主树皮中重要抗癌物质紫杉醇的内生真菌之后,大量关于植物内生真菌产生活性代谢产物的报道^[14],从药用植物内生真菌次生代谢产物中寻找与其寄主相似的有效成分,已经成为植物内生真菌研究的热点。赵影等^[6]从野生地黄中分离纯化得到一株产地黄有效成分梓醇的内生细菌,结合菌落形态特征及分子生物学分析等手段,将其鉴定为蜡样芽孢杆菌。杨清香等^[5]从怀地黄中分离出 8 株假单胞菌属的内生细菌,其对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、黑曲霉和食管癌细胞系 Ec9706 均具抑制作用。但上述研究,主要集中在地黄内生细菌上,未能从地黄内生真菌着手,分离鉴定出产生地黄有效成分及其它次生代谢产物的内生真菌。该研究分离所得的 81 株内生真菌,极大的丰富了地黄内生真菌的资源,对进一步筛选产梓醇、毛蕊花糖苷等地黄有效成分的内生真菌具有重大意义。

参考文献

- [1] 温学森,杨世林,魏建和,等.地黄栽培历史及其品种考证[J].中草药,2002(10):84-87.
- [2] RODRIGUEZ R J, WHITE J J, ARNOLD A E, et al. Fungal endophytes: diversity and functional roles[J]. New Phytol, 2009, 182(2): 314-330.
- [3] TAN R X, ZOU W X. Endophytes: a rich source of functional metabolites[J]. Nat Prod Rep, 2001, 18(4): 448-459.
- [4] 陈雪英,都晓伟,李滨.内生菌与药用植物活性成分相关性研究进展[J]. 国外医药(植物药分册), 2008(2): 47-51.
- [5] 杨清香,谢永生,张昊,等.怀地黄活性内生菌的分离鉴定及抗菌抗肿瘤活性[J]. 微生物学通报, 2010(10): 1467-1474.
- [6] 赵影,徐海燕,辛国芹,等.产梓醇地黄内生菌的分离鉴定及遗传稳定性研究[J]. 药学研究, 2014(10): 567-570.
- [7] SOLTANI J, HOSSEYNI M M. Fungal endophyte diversity and bioactivity in the mediterranean cypress *Cupressus sempervirens* [J]. Curr Microbiol, 2015, 70(4): 580-586.
- [8] 王志伟,纪燕玲,陈永敢.植物内生菌研究及其科学意义[J]. 微生物学通报, 2015(2): 349-363.
- [9] 柴新义,陈双林.青檀内生真菌菌群多样性的研究[J]. 菌物学报, 2011(1): 18-26.
- [10] 游玲,林娜,郭华,等.山苍子内生真菌多样性研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2013(1): 121-126.
- [11] 郑建华,康冀川,雷帮星,等.银杏内生真菌多样性研究(英文)[J]. 菌物学报, 2013(4): 671-681.
- [12] 杨明俊,李娟,王永刚,等.水仙内生真菌的分离鉴定及聚类分析[J]. 中草药, 2014(11): 1625-1630.

观赏狼尾草新品系‘LS-1’品种比较试验

王丽宏, 李会彬, 娄世杰, 边秀举

(河北农业大学 农学院, 河北省作物生长调控实验室, 河北 保定 071001)

摘要:以观赏狼尾草新品系‘LS-1’为试材, 原始无性繁殖群体为对照, 研究比较了新品系与对照的物候期、绿色期、越冬(夏)率、形态特征、观赏性和抗逆性等指标因子。结果表明:新品系‘LS-1’移栽第1年株高、冠幅和花序数比原始亲本无性繁殖群体低;第2年和第3年, 株高、冠幅和花序数趋于稳定, 总体表现优于原始亲本群体;叶长、叶宽和花序长度变化不明显。‘LS-1’田间表现绿色期长、萌芽期早、抽穗前叶片下垂、株型紧凑、单株花序多、越冬(夏)率100%、抗逆性强、生长速度快等特点, 总体评价为“优”, 移栽2~3年后, 新品系‘LS-1’观赏性优于原始亲本无性繁殖群体。

关键词:观赏草;狼尾草;品种比较

中图分类号:S 681.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)03-0149-04

狼尾草(*Pennisetum alopecuroides*)属禾本科狼尾草属多年生草本植物^[1-2], 广泛分布在温带和热带地区。我国的东北、华北、华东、中南及西南各省均有野生资源, 多分布于田野、荒地、山坡^[2-5]。由于狼尾草具有极强

的抗逆性, 耐贫瘠土壤, 较低的水资源消耗和独特的园林景观利用价值, 逐渐作为园林景观设计的新型植物材料^[6-9]。目前, 园林应用的观赏草多是野生狼尾草资源, 通过分栽扩繁, 数量有限。野生采集种子质量差、育苗后种苗不整齐, 严重影响狼尾草的大面积推广。通过对华北及周边地区丰富的野生狼尾草种质资源进行调查、收集、栽培及评价, 以期从中筛选出观赏性强、耐寒、耐旱、抗病虫的狼尾草栽培新品种。

第一作者简介:王丽宏(1976-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事草坪草与观赏草种质资源等研究工作。E-mail: wanglh@hebau.edu.cn.

基金项目:河北省教育厅资助项目(QN2014200)。

收稿日期:2015-09-24

[13] STROBEL G, STIERLE A, STIERLE D, et al. Taxomyces andreanae, a proposed new taxon for a bulbiliferous hyphomycete associated with Pacific yew (*Taxus brevifolia*)[J]. Mycotaxon, 1993, 47: 71-80.

[14] 梁子宁, 朱华, 赖开平, 等. 药用植物鸦胆子内生真菌分离及其抑菌活性初步研究[J]. 中药材, 2014, 37(4): 564-568.

Diversity of Endophytic Fungi From Tubers of *Rehmannia glutinosa* Libosch

ZHU Yunhao, DU Zhenhui, DONG Chengming, LENG Muchan

(College of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450006)

Abstract: Taking tubers of *R. glutinosa* from Wen county in Henan Province as materials, the plate cultivation methods were used to isolate the endophytic fungi. The endophytic fungi were identified based on morphology and ITS-rDNA sequences. The results were analyzed by the indexes such as isolation rate (IR), colonization rate (CR), relative frequency (RF), Shannon-Wiener biodiversity index (H). The results showed that 28 strains were classified as *Fusarium*, 19 strains were classified as *Penicillium*, 15 strains were classified as *Phoma*, 12 strains were classified as *Alternaria* and the other 6 strains were classified as *Gibberella*, *Aspergillus*, *Ilyonectria*, *Chaetomium*. Among the isolates, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma*, *Alternaria* were the dominant genera. The composition of endophytic fungi community had a certain diversity in the tubers of *R. glutinosa*.

Keywords: *Rehmannia glutinosa* Libosch; endophytic fungi; ITS