广西植物 Guihaia Jan. 2026, 46(1): 52-64 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202501039

王雅珂, 吴巧芬, 柴胜丰, 等, 2026. 天贵卷瓣兰内生真菌分离鉴定及其促生作用研究 [J]. 广西植物, 46(1): 52-64.
WANG Y K, WU Q F, CHAI S F, et al., 2026. Isolation, identification and growth-promoting effects of endophytic fungi from *Bulbophyllum tianguii* [J]. Guihaia, 46(1): 52-64.

天贵卷瓣兰内生真菌分离鉴定及其促生作用研究

王雅珂[1], 吴巧芬[1], 柴胜丰[1], 蒋 强[2], 唐小华[3], 邓振海[2], 仇 硕[1*]

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西 桂林 541006; 2. 广西雅长兰科植物国家级自然保护区管理中心, 广西 百色 533209; 3. 全州县农业农村局, 广西 桂林 541500)

摘 要: 为了获得天贵卷瓣兰各组织间内生真菌,探究其促生特性及对幼苗的促生作用,该研究以广西雅长兰科植物国家级自然保护区内分布的野生天贵卷瓣兰植株为试验材料,采用传统的组织分离法对其内生真菌进行分离纯化,通过形态学和分子生物学方法进行鉴定,对分离得到的内生真菌开展溶磷及产 IAA 能力测定,并通过盆栽实验验证其对天贵卷瓣兰幼苗的促生作用。结果表明:(1)从天贵卷瓣兰不同组织中共获得真菌 74 株,根部、横走茎、假鳞茎和叶片中分离的菌株分别为 5 株、14 株、30 株和 25 株,分离频率分别为 12.5%、35.0%、75.0%、62.5%。(2)根据菌落形态以及显微结构特征,把同一海拔、同一器官部位分离的相同菌株归为同一菌株后,共获得 16 株;经分子生物学鉴定,其隶属于 2 门 4 纲 7 目 8 科 8 属。(3)在所分离到的 16 株内生真菌中,4 株具有溶有机磷能力,4 株具有溶无机磷能力,3 株具有产 IAA 能力。(4)将部分菌株发酵液喷施于天贵卷瓣兰幼苗表面,发现菌株 YJ2 的发酵液整体促生效果最好。该研究分离获得了天贵卷瓣兰不同组织内生真菌,并筛选获得具有促生特性的内生真菌,为天贵卷瓣兰种苗栽培提供了宝贵的微生物资源,为后续探究病原菌的拮抗作用奠定了基础。

关键词: 天贵卷瓣兰, 内生真菌, 分离, 鉴定, 促生特性

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2026)01-0052-13

Isolation, identification and growth-promoting effects of endophytic fungi from *Bulbophyllum tianguii*

WANG Yake[1], WU Qiaofen[1], CHAI Shengfeng[1], JIANG Qiang[2], TANG Xiaohua[3], DENG Zhenhai[2], QIU Shuo[1*]

(1. *Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences*, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. *Guangxi Yachang Orchid National Nature Reserve Management Center*, Baise 533209, Guangxi, China; 3. *Quanzhou County Agriculture and Rural Affairs Bureau*, Guilin 541500, Guangxi, China)

收稿日期: 2025-07-30 **接受日期:** 2025-10-10

基金项目: 国家重点研发计划课题(2022YFF1300703); 广西重点研发计划项目(桂科 AB24010138); 广西林业科技推广示范项目(桂林科字 [2021]第 28 号); 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室自主研究课题(ZRJJ2024-13)。

第一作者: 王雅珂(2000—),硕士研究生,主要从事园林植物栽培及景观设计研究,(E-mail)2449823483@qq.com。

*通信作者: 仇硕,博士,研究员,主要从事园艺植物种质资源创新与利用方面的研究,(E-mail)qiushuo001@163.com。

Abstract: In order to isolate endophytic fungi from different tissues of *Bulbophyllum tianguii*, to explore their growth-promoting properties, and to evaluate their effects on seedling growth. *B. tianguii* distributed in the Guangxi Yachang Orchid National Nature Reserve were used as experimental materials in this study. Endophytic fungi were isolated and purified from *B. tianguii* using the traditional tissue isolation method, and were further identified through morphological and molecular biological methods. The abilities of phosphorus solubilization and IAA production of these isolated endophytic fungi were determined, and the growth-promoting effects on *B. tianguii* seedlings were verified through pot experiments. The results were as follows: (1) A total of 74 fungal strains were obtained from different tissues of *B. tianguii*. The number of strains collected from roots, rhizomes, pseudobulbs and leaves were 5, 14, 30 and 25, respectively, and the isolation frequencies were 12.5%, 35.0%, 75.0% and 62.5%, respectively. (2) Based on the colony morphology and microscopic structural characteristics, after removing duplicate strains obtained from the same altitude or the same tissue, 16 distinct strains remained. These strains cover 2 phyla, 4 classes, 7 orders, 8 families, and 8 genera identified by molecular biology methods. (3) Among the 16 strains, 4 strains demonstrated the ability to solubilize organic phosphorus, 4 strains could solubilize inorganic phosphorus, and 3 strains were capable of producing IAA. (4) The fermentation broth of some strains was sprayed on the surface of *B. tianguii* seedlings, and strain YJ2 demonstrated the best overall growth-promoting effects among all tested strains in this study. This study isolated endophytic fungi from various tissues of *B. tianguii* successfully and identified strains with plant growth-promoting properties, providing valuable microbial resources for seedling cultivation of *B. tianguii* and laying a foundation for further investigation into antagonistic effects against pathogens.

Key words: *Bulbophyllum tianguii*, endophytic fungi, isolation, identification, growth-promoting properties

植物内生真菌(endophytic fungi)是指一类整个或一段生命周期内都能够在健康寄主植物器官内生活,并且不引起宿主植株产生不良疾病的菌群(李姝臻等,2024),包括部分潜伏性病原真菌和菌根真菌等。自然界中,内生真菌主要分布于植物的根、茎、叶片、种子等细胞间,能够与大多数植物共存(Carroll,1988)。植物内生真菌的存在不仅对植物的生长发育具有一定的促进作用并提高植物抗逆性(巨凤等,2021),而且其代谢产物还具有抗肿瘤、抗氧化、抗菌等功能,在医药、农业、环境保护等方面应用广泛,可作为抗生素、抗癌药物以及农药的研究,具有重要的经济价值。兰科植物作为单子叶植物的一大科,其因生境等原因内生真菌更为丰富(Dearnaley,2007)。自然条件下,兰科植物种子的萌发以及幼苗阶段完全依赖真菌为其提供养分来进行生长发育,并且兰科植物内生真菌具有一定的专一性,受到共生真菌的分布限制(Stöckel et al., 2014;杨建文等,2018),这种高度特化的共生关系对野生兰科的生存至关重要。因此,深入研究其内生真菌的特点,对珍稀濒危兰科植物种群的生态恢复具有重要意义(盖雪鸽等,2014)。目前,已有多种兰科植物内生真菌研究的相关报道,如石斛属(Yuan et al.,2009)、白及属(刘准等,2013)、金线莲属(郭顺星等,2000)等,多数集中于根系内生真菌多样性及促生功能等方面研究(王美娜等,2021)。其内生真菌种类主要隶属于担子菌门(Basidiomycota)、子囊菌门(Ascomycota)及毛霉门(Mucoromycota),担子菌门是最为常见也是最早被发现的兰科菌根真菌门(Ercole et al., 2015),包括瘤菌根菌属(*Epulorhiza*)、角担菌属(*Ceratobasidium*)、*Sistotrema*、胶膜菌属(*Tulasnella*)等(王美娜等,2021)。

天贵卷瓣兰(*Bulbophyllum tianguii*)属于兰科(Orchidaceae)石豆兰属(*Bulbophyllum*)附生草本植物,其花色艳丽夺目,花形奇特,姿态优美典雅,具有较高的观赏价值与药用价值(郎楷永和罗敦,2007;肖妮洁,2023)。然而,自然状态下其种子结实率低且对生境有较强的依赖性等原因,导致野外种群较少(赵熙黔等,2013;蒋强等,2020;柴胜丰等,2022),目前已被列入《广西壮族自治区重点保护野生植物名录》及《中国生物多样性红色名录—高等植物卷》。尽管目前已有对该植物组织培养的报道,但仍存在无菌苗及驯化苗生长缓慢的问题(王雅珂等,2024)。因此,内生真菌的分离鉴定及其促生作用分析对促进其种苗繁育,以及种质资源的保护具有重要意义。目前国内外对石

豆兰属植物内生菌的研究已经有所展开。其中，高景凯等(2019)、苗永美等(2022)对广东石豆兰(*B.kwangtungense*)的内生细菌进行了分离鉴定以及抑菌活性分析。Liang 等(2022)对天贵卷瓣兰的根、根状茎和根际土壤中的真菌群落和菌根真菌组成通过直接提取 DNA 测序进行了群落分析，但未对具体种类进行分离和鉴定。同时，目前也有对于尼尔吉里石豆兰(*B. neilgherrense*)、短耳石豆兰(*B. crassipes*)、*B. exiguum*、*B. bracteatum* 和 *B. shepherdii* 等石豆兰属不同组织间的内生真菌种类差异性进行研究(Sudheep & Sridhar, 2012; Sawmya et al., 2013; Adit et al.,2022)，但其内生真菌对植株的促生作用并未深入开展。

鉴于此，本研究采用组织块分离法对生长于不同海拔条件下天贵卷瓣兰内生真菌进行分离鉴定，拟解决以下问题：(1)分离并获得天贵卷瓣兰不同组织内生真菌；(2)对不同组织内生真菌促生特性进行筛选；(3)探究内生真菌对天贵卷瓣兰移栽苗的生长是否具有促进作用。本研究以期获得一些具有潜在应用价值的内生真菌菌株，为进一步探讨天贵卷瓣兰与内生真菌的相互作用提供理论基础。

A. 天贵卷瓣兰居群；**B**. 天贵卷瓣兰单株。
A. Population of *B. tianguii*; **B**. Single plant of *B. tianguii*.

图 1 天贵卷瓣兰野外生境照片
Fig. 1 Wild habitat photos of *Bulbophyllum tianguii*

1 材料与方法

1.1 试验材料

天贵卷瓣兰(包括根、横走茎、假鳞茎、叶片)于 2023 年 11 月采自广西雅长兰科植物国家自然保护区(地理坐标为 24°44′16″—24°53′58″N、106°11′31″—106°27′04″E)2 个不同海拔(山腰 950 m 和山顶1 208 m)种群。共 2 个样地，每个样地采集 10 株左右。自然生境见图 1。

1.2 试验方法

1.2.1 植物组织表面消毒 将植物表面清洗干净后吸干表面水分，称取植株根、横走茎、假鳞茎、叶片 4 种器官各 1 g。在超净工作台中，将准备好的材料分别用 75%的酒精浸泡 30 s，用无菌水清洗 3 次，再用 0.1%升汞分别浸泡 3、5、7 min，用无菌水冲洗 5 次(吸取 200 μL 最后 1 次洗涤水涂布于 PDA 平板，培养 3~5 d，以检查植株表面消毒效果)，最后用无菌滤纸吸干组织表面水分，备用。

1.2.2 内生真菌分离纯化 按照 1.2.1 所得出的最佳消毒时间进行表面消毒后，参考刘艳萍等(2024)的方法利用组织块分离法进行内生真菌分离，利用解剖刀切取植物组织。其中，根和横走茎切成长度为 0.5 cm 的小段，假鳞茎切成 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 的小块，叶片切成 0.5 cm × 0.5 cm 的小块，将切下的组织块分别接种到 PDA 培养基上，每个器官各 5 个平板，每个平板放置 4 个组织块，采自山顶、山腰的样本各选取了 80 个组织块，共 160 个组织块。置于培养箱中 28 ℃恒温培养，5~10 d 后，挑取组织边缘长出的菌丝转接至新 PDA 平板上进行纯化。若菌落形态有异，则进行二次转接，如此反复直至得到纯菌，再接种至 PDA 平板上继续培养，4 ℃冰箱保藏，将每个组织块分离出的内生真菌进行统计，记录不同组织分离内生真菌的频率，其中分离频率(%)=(某组织块中分离到的内生真菌总数/某组织总组织块数)×100。

1.2.3 内生真菌的形态学鉴定 将纯化后得到的菌种进行分离培养 5~8 d 后，参照刘艳萍等(2024)的方法观察并记录培养得到的内生真菌菌落形态，指标主要包括菌落颜色、形状、生长特征

等。采用直接挑取制片法，于德国徕卡 DM 2500 显微镜下进行真菌形态观察，记录菌丝的特征及结构，分生孢子的形态、大小等特征。

1.2.4 内生真菌分子鉴定　将纯化后的菌株接种至 PDA 培养基上培养 10 d 左右，利用北京酷来搏科技有限公司 CTAB 试剂盒提取内生真菌 DNA 用于 PCR 扩增，扩增引物如下：ITS1（5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′）和 ITS4（5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′）。采用 50 μL PCR 扩增体系：25 μL 2×Taq PCR Master Mix，上下游引物各 2 μL，DNA 模板 2 μL，21 μL ddH_2O。反应程序如下：94 ℃预变性 3 min，94 ℃变性 30 s，55 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1 min，循环 30 次，72 ℃终延伸 5 min，最后 16 ℃保温。反应结束后取 5 μL 反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检验，得到的 PCR 产物送至武汉擎科创新生物有限科技公司进行纯化和测序，将测序所得菌株的 rDNA-ITS 序列在美国国家生物技术信息中心（NCBI 数据库 https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.Cgi）中进行 BLAST 同源性比对分析，挑选并下载吻合度较高（大于 97%）的序列用于初步分子鉴定。将供试菌株与所下载其他菌株序列置于 MEGA 12.0 软件中构建系统发育树。

1.2.5 内生真菌溶磷能力测定　参考毛欣颖等（2025）的方法，通过溶磷圈法测定菌株的溶磷能力，挑取活化后的内生真菌菌块接种于有机磷（培养基成分如下：葡萄糖 10 g、硫酸铵 0.5 g、酵母浸粉 0.5 g、氯化钠 0.3 g、氯化钾 0.3 g、硫酸镁 0.3 g、硫酸亚铁 0.03 g、硫酸锰 0.03 g、卵磷脂 0.2 g、碳酸钙 1.0 g、琼脂 15 g、蒸馏水定容至1 000 mL，pH 7～7.5）与无机磷（培养基成分如下：葡萄糖 10 g、硫酸铵 0.5 g、酵母浸粉 0.5 g、氯化钠 0.3 g、氯化钾 0.3 g、硫酸镁 0.3 g、硫酸亚铁 0.03 g、硫酸锰 0.03 g、卵磷脂 0.2 g、碳酸钙 1.0 g、琼脂 15 g、蒸馏水定容至1 000 mL，pH 7～7.5）培养基平板中，28 ℃恒温倒置培养，每株内生真菌设置 3 个重复，3～5 d 内观察透明溶磷圈的出现并选出具有溶磷活性的菌株，在第 5 天测定透明圈直径（D）和菌落直径（d），计算内生真菌的溶磷指数。其中，溶磷指数 $=D/d$，比值越大，溶磷能力越强。

1.2.6 内生真菌产 IAA 能力测定　采用 Salkowski 比色法（周士家等，2024）将待测菌株分别接种于含有 200 mg·L^{-1} L-色氨酸的 PDB 培养基，28 ℃、150 r·min^{-1}条件下振荡培养 5 d，每株内生真菌设置 3 个重复。5 d 后吸取 5～10 mL 菌液置于离心管中，将离心管放入离心机，室温下12 000 r·min^{-1}离心 10 min。取 1 mL 上清液和 2 倍体积的 Salkowski 比色液（1.015 g 六水氯化铁、150 mL 浓硫酸、250 mL 蒸馏水），混匀。阴性对照为 1 mL 未接菌的 PDB 培养基，阳性对照为 1 mL 50 mg·L^{-1}的 IAA 溶液。在黑暗环境下静置 30 min 后观察颜色变化，若颜色变成粉红色或红色，则说明菌株具有产 IAA 的能力。

1.2.7 内生真菌促生作用验证　为进一步验证天贵卷瓣兰内生真菌的促生作用，选择从天贵卷瓣兰根部分离出的内生真菌以及从 1.2.5 和 1.2.6 中筛选出的具有促生特性的部分内生真菌，利用培养基打孔的方式将打下的长有真菌的培养基圆柱投入 150 mL PDB 液体培养基，每瓶液体培养基投入 5 个培养基圆柱，28 ℃、120 r·min^{-1}振荡培养 7 d 获得发酵液，利用移液枪吸取 10 mL 真菌发酵液，缓慢滴于天贵卷瓣兰幼苗的叶片、茎基部以及周围基质，试验设 6 个处理组和 1 个对照组，每个处理 10 株，3 个重复，共 30 株；对照组喷施 PDB 培养基。每隔 10 d 用相同方式处理 1 次，共处理 3 次。观察不同真菌发酵液对幼苗的整体促生效应，实验所用幼苗为经过移栽驯化 6 个月且长势基本一致的组培苗；移栽基质经过高压灭菌，配比为蛭石∶珍珠岩=2∶1（体积比）。实验期间定期喷施无菌水保持基质水分，并进行隔离培养。90 d 后随机选取 5 株天贵卷瓣兰幼苗，并对其株高、根长、根数进行统计，同时记录生长大小一致（2～3.5 cm）叶片鲜重，计算平均值及方差。

1.3 数据统计

试验数据采用 SPSS Statistics 26.0 和 WPS 软件进行处理。

2　结果与分析

2.1 不同器官最佳消毒时间的确定

采用 1.2.1 所述方法对天贵卷瓣兰植物组织表面进行消毒，结果发现当消毒时间达到 3 min 时，根部消毒彻底，假鳞茎、横走茎、叶片等部位有污染现象；当消毒 5 min 时，假鳞茎、横走茎、叶片等部位均消毒彻底；当消毒 7 min 时，根部平板并未出现菌落，而假鳞茎、横走茎、叶片等部位平板

菌落种类数量相对减少。这表明根部最佳消毒时间为 3 min,其他部位最佳消毒时间为 5 min。

2.2 内生真菌的分离

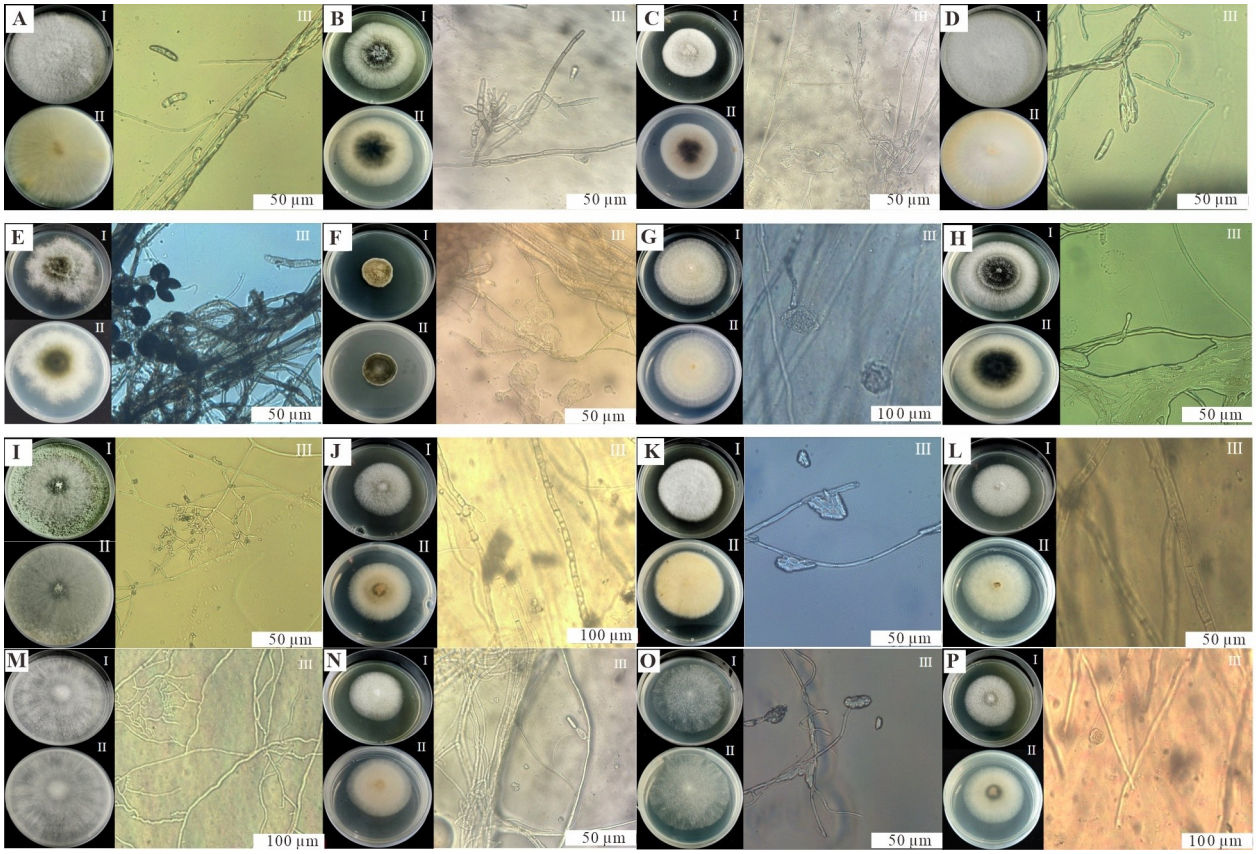
经 1.2.2 所述方法进行分离培养后在 PDA 平板上陆续长出大量形态存在差异的菌落,经分离纯化培养后共得到 74 株内生真菌,其中根、横走茎、假鳞茎以及叶片中分别分离出 5 株、14 株、30 株、25 株,4 种不同组织的分离频率分别为12.5%、35.0%、75.0%、62.5%。依据菌落形态及显微结构特征,对 74 株内生真菌进行归纳分类,把同一海拔、同一器官部位的相同菌株归为同一菌株,最后共获得 16 种内生真菌,对其进行编号。其中,从假鳞茎中分离到的内生真菌种类最多,共 7 种(DJ1、DJ2、DJ3、YJ1、YJ2、YJ3、YJ4);其次是叶片,共 5 种(DY1、DY2、DY3、YY1、YY2);横走茎及根分离到的内生真菌菌株数量最少,均 2 种(DH1、YH1、DG1、YG1)。

2.3 内生真菌形态学鉴定

观察并记录培养过程中菌落的形态特征,菌丝显微特征观察结果如图 2。各菌落的生长速度不一致,DH1 生长最慢,1.5 mm · d^{-1};YJ2 生长最快,10.7 mm · d^{-1}。将纯化后菌株的菌落生长特征和菌丝特性与《真菌鉴定手册》进行比较,对分离所得内生真菌进行初步鉴定,通过观察菌落及显微镜菌丝形态,初步鉴定 DG1、DY3、YH1、YJ4、YY1 属于镰刀霉属,在 PDA 培养基中表现为白色绒毛状,背面为黄色,菌丝细长、有隔膜,分生孢子梗有分支或不分支,分生孢子多为镰刀形或圆柱形。YJ2 属于木霉属真菌,在 PDA 培养基中生长迅速,绒毛状,初为白色,3 d 后边缘逐渐为绿色,菌丝细长、具有较多分支,分生孢子为圆形。其余几株菌株形态差异较大,难判断具体种类。其中,YG1 和 YJ1 菌株表面相似,菌落圆形,3 d 后菌落中部呈现白色,往外依次为黑色、白色,5~7 d 后逐渐形成年轮状,紧贴培养基生长,通过显微镜观察到其菌丝细长、浅褐色、有隔,分生孢子椭圆形,10 d 左右平板背面有菌核长出。DH1 菌株菌落圆形,在培养基正面呈现白色,背面中心为褐色,外部为棕黄色,菌丝细长、有隔、有分支、分生孢子圆形。DJ1 菌株菌落不规则,棉絮状,先为白色后变为黑褐色,菌丝垂直生长迅速,有隔,分生孢子顶生、黑色球形。DJ2 菌株生长缓慢,菌落圆形,5~7 d 菌落直径仅 1 cm,中心褐色绒毛状,边缘白色,紧贴培养基生长,分生孢子器呈球形、梨形,单生或丛生,顶部突起。DY2 菌株菌落圆形,白色绒毛状,在培养基平板表面形成一层较薄菌丝,具有一定层次,菌丝较长,有隔,有分支。另外,DY1、DJ3、YJ3、YY2 四个菌株生长状况类似,菌落圆形,呈绒毛状,先为白色后为淡黄色,菌落年轮状,菌丝较短、有隔、有分支。

2.4 天贵卷瓣兰内生真菌分子鉴定

将纯化得到的 16 种菌株进行测序,将所得序列提交至 GenBank 数据库中进行 BLAST 比对,结果显示,DG1、YH1、YJ4、YY1 四种菌株分别与茄病镰刀菌(*Fusarium solani*)(MN625846.1、PP990702.1、AM412643.1、MT529266.1)的一致性最高,相似度为 97.74%~100%;菌株 DY3 与尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)(MK392015.1)一致性高达 100%;YG1 和 YJ1 两种菌株与炭疽菌属 *Colletotrichum arxii*(KF687717.1)相似度最高,分别为 99.21% 和 99.02%;DH1 与 *Edenia* 属 *E. gomezpompae*(MF495450.1)相似度最高,为 99.23%;DJ1 与黑孢属 *Nigrospora rubi*(MN486553.1)相似度高达 100%;DJ2 与须壳孢属 *Pyrenochaeta* sp. DoF20(JQ388265.1)相似度达到 99.64%;DJ3、YJ3、DY1、YY2 四种菌株均与巨座壳属 *Muyocopron alcornii*(NR_164052.1)相似度最高,一致性为 99.34% ~ 99.68%;YJ2 与木霉属 *Trichoderma harzianum*(MH911418.1)、DY2 与脉革菌属 *Phlebia acerina*(MT601952.1)的相似度均为 100%。以毛霉门(Mucoromycota)伞形霉科真菌二型伞霉 *Umbelopsis dimorpha*(KM013440.1)为外类群对照,构建系统进化树。结果(图 3)显示,菌株 DG1、YJ4、YH1、YY1 与镰刀菌属真菌(*Fusarium*)聚为小类,而 DY3 与尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*(MK392015.1)聚为小类。YJ1 和 YG1 与 *Colletotrichum arxii*(KF687717.1)聚为一类且与镰刀菌属(*Fusarium*)菌株聚为 1 个大类。DH1 与 *Edenia gomezpompae*(MF495450.1)聚为一类,DJ2 与 *Pyrenochaeta* sp. DoF20(JQ388265.1)聚为一类,而这 4 种菌株聚为 1 个大类,判断其亲缘关系较近。DJ1 与 *Nigrospora rubi*(MN486553.1)聚为 1 个小类,并与木霉属真菌 *Trichoderma acerina*(MT601952.1)以及巨座壳属真菌 *Muyocopron alcornii*(NR_164052.1)聚为 1 个大类。另外,DY2 与脉革菌属真菌 *Phlebia acerina*(MT601952.1)聚为



A-P 依次为 DG1、YG1、DH1、YH1、DJ1、DJ2、DJ3、YJ1、YJ2、YJ3、YJ4、DY1、DY2、DY3、YY1、YY2；**I**. 正面；**II**. 反面；**III**. 菌丝形态。

A-P are DG1, YG1, DH1, YH1, DJ1, DJ2, DJ3, YJ1, YJ2, YJ3, YJ4, DY1, DY2, DY3, YY1, YY2 in order; **I**. Front; **II**. Back; **III**. Mycelium morphology.

图 2　内生真菌菌落及菌丝形态

Fig. 2　Colony and mycelium morphology of endophytic fungi

一类且其为担子菌门真菌，因此单独聚为 1 个小类。

通过序列比对与进化树的构建，将以上菌株进行综合分析发现，DG1、YH1、YJ4、YY1 四种菌株相似度最高的菌株均为镰刀菌属（*Fusarium*）茄病镰刀菌（*F. solani*），将这四种菌株的菌落形态与生长特性、菌丝特征以及序列进行比对，发现其菌株形态与菌丝特征基本一致。因此，综合考虑将这 4 种菌株归为同一菌种（只是分布于不同海拔不同组织块）。同样将相似菌株进行分析后可将 YJ1 与 YG1 视为分布于同一海拔不同组织的同一菌种；DJ3、YJ3、DY1、YY2 四种菌株同样视为分布于不同海拔的不同组织的同一菌种。综上认为，可将 16 株内生真菌分为 9 种。

2.5 内生真菌分布特征

经形态学鉴定和 ITS 序列分析，将所分离到的内生真菌分布特征归纳如表 1。从分离部位来说，镰刀菌属（*Fusarium*）真菌在不同器官中分布最为广泛，在 4 个组织中均有分布，共有 5 种菌；其次为巨座壳属（*Muyocopron*），含有 4 种菌，分布于假鳞茎及叶片中；炭疽菌属（*Colletotrichum*）真菌 2 种，分布于根及假鳞茎中。其他真菌仅分布于 1 个组织，其中木霉属（*Trichoderma*）分布于假鳞茎中，*Edenia* 分布于横走茎中，须壳孢属（*Pyrenochaeta*）和黑孢属（*Nigrospora*）分布于假鳞茎中，脉革菌属（*Phlebia*）分布于叶片中。从地理位置来说，高海拔和低海拔地区均有 8 种真菌。其中，镰刀菌属真菌与巨座壳属真菌的分布最为

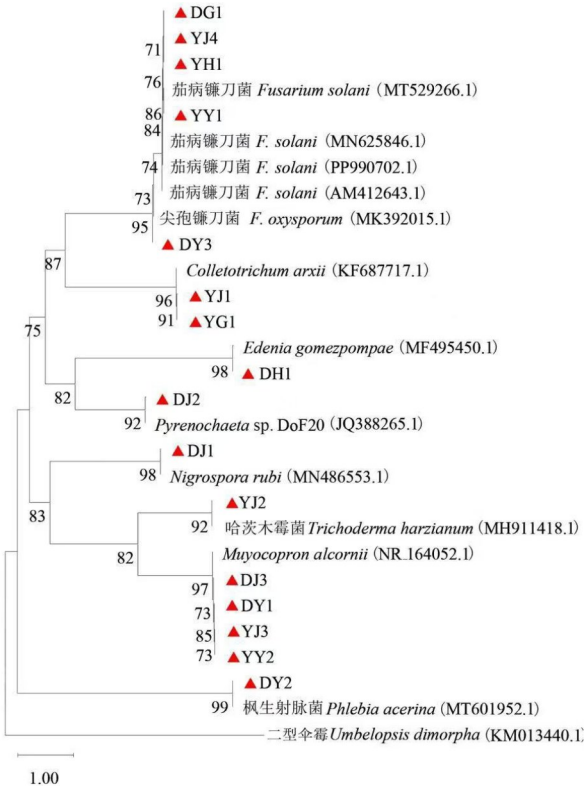


图 3 天贵卷瓣兰内生真菌 ITS 序列的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of endophytic fungi in *Bulbophyllum tianguii* based on ITS sequences

广泛,在高海拔地区与低海拔地区均有分布。*Edenia*、须壳孢属、黑孢属以及脉革菌属真菌仅分布于高海拔地区,炭疽菌属与木霉属真菌仅分布于低海拔地区。

2.6 内生真菌溶磷能力测定

采用 1.2.5 中所述方法,5 d 后对 9 种内生真菌的溶磷能力进行检测,发现具有溶磷能力真菌的平板上出现了不同大小的透明圈,而不具有溶磷能力的真菌平板上并未产生溶磷圈。由图 4 和图 5 可知,从天贵卷瓣兰内生真菌菌株中筛选出溶解无机磷以及有机磷的菌株均有 4 种,其中 DH1、DY2、DY3 三种菌同时具有溶解有机磷和无机磷能力,而 DJ2 菌株仅有溶解有机磷的能力,DG1 菌株仅有溶解无机磷能力且发现其在有机磷培养基上并不生长,而另外几种真菌并不具有溶磷能力。对菌株溶磷指数进行计算(表 2,不具有溶磷能力的未进行统计)发现,菌株 DH1 在有机磷培养基中的 *D/d* 值最大,为1.52±0.05,而菌株 DY2 在无机磷培养基上的 *D/d* 值最大,为 1.12±0.04。初步判定菌株 DH1 具有较强的溶解有机磷能力,而菌株 DY2 具有较强的溶解无机磷能力。

2.7 内生真菌产 IAA 能力测定

采用 Salkowski 比色法对 9 种菌株进行产 IAA 能力筛选,由显色结果(图 6)可知,与对照(CK)相比,DJ2、YG1、DH1、DG1、DY2 和 DY3 六种真菌的菌液反应液无明显颜色变化,而 DJ1、DJ3 和 YJ2 等 3 种真菌的反应液出现粉红色变化,说明这 3 种真菌具有分泌 IAA 的能力。根据颜色深浅,可以初步判断 3 个菌株的产 IAA 能力高低依次为 YJ2>DJ3>DJ1。

2.8 不同内生真菌对移栽苗促生作用的影响

选择部分内生真菌发酵液喷施于生长状况一致的天贵卷瓣兰移栽苗,90 d 后观察内生真菌对其生长状况影响,结果如表 3 和图 7 所示。从叶片鲜重上看,在生长 90 d 后叶片鲜重变化幅度并不大,总体保持在 0.154~0.221 g 之间。然而,对比未处理发酵液(CK)与处理发酵液,可以看出,DG1、YJ2、DJ2 及 DY2 四种菌的发酵液处理后的鲜重高于 CK,而 YG1 和 DH1 菌株的发酵液处理后的叶片鲜重低于 CK。从根系生长情况上看,YJ2 菌株的发酵液处理后的整体生长效应最好。YG1 次之,经过处理后植株的根长较长且分蘖较多,而经过其他菌株发酵液处理后的根部生长情况与 CK 的差异较小。从株高上看,YJ2 菌株与 DJ2 菌株的发酵液对株高的影响更加明显,而其他处理的影响不够显著。综合以上分析,6 种菌株中 YJ2(木霉属)菌株的发酵液对天贵卷瓣兰的整体促生效果最好。

3 讨论与结论

表面消毒的方法对确保成功分离并验证内生真菌的内生性至关重要。消毒时间过短,往往无法充分消灭附着在植物组织表面的微生物,消毒时间过长,则可能破坏植物组织表面及其内部的微生态环境,进而减少分离得到的内生真菌种类和数量(赵文星等,2021)。因此,在进行内生真菌分离之前要先进行预实验,确定最佳消毒时间。高景凯等(2019)和苗永美等(2022)对石豆兰不同器官内生细菌进行分离鉴定时指出,用0.1% $HgCl_2$, 消毒 8 min 是石豆兰各器官表面消毒的最

表 1　天贵卷瓣兰内生真菌分布特征

Table 1　Distribution characteristics of endophytic fungi of *Bulbophyllum tianguii*

门 Phyla	科 Family	属 Genera	菌株编号 Strain No.	来源组织 Source tissue	海拔 Height (m)
子囊菌门 Ascomycota	丛赤壳科 Nectriaceae	镰刀菌属 *Fusarium*	YH1、YJ4、DG1、YY1、DY3	根、横走茎、假鳞茎、叶片 Root, rhizome, pseudobulb, leaf	1 208、950
	小丛壳科 Glomerellaceae	炭疽菌属 *Colletotrichum*	YG1、YJ1	根、假鳞茎 Root, pseudobulb	950
	巨座壳科 Magnaporthaceae	巨座壳属 *Muyocopron*	DJ3、DY1、YJ3、YY2	假鳞茎、叶片 Pseudobulb, leaf	1 208、950
	肉座菌科 Hypocreaceae	木霉属 *Trichoderma*	YJ2	假鳞茎 Pseudobulb	950
	格孢菌科 Pleosporaceae	*Edenia*	DH1	横走茎 Rhizome	1 208
	丝座壳科 Cucurbitariaceae	须壳孢属 *Pyrenochaeta*	DJ2	假鳞茎 Pseudobulb	1 208
	梨孢假壳科 Apiosporaceae	黑孢属 *Nigrospora*	DJ1	假鳞茎 Pseudobulb	1 208
担子菌门 Basidiomycota	皱孔菌科 Meruliaceae	脉革菌属 *Phlebia*	DY2	叶片 Leaf	1 208

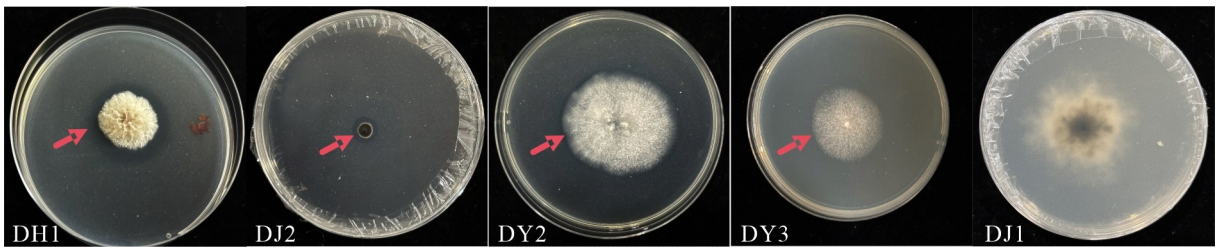


图 4　溶有机磷的内生真菌

Fig. 4　Endophytic fungi that dissolve organic phosphorus

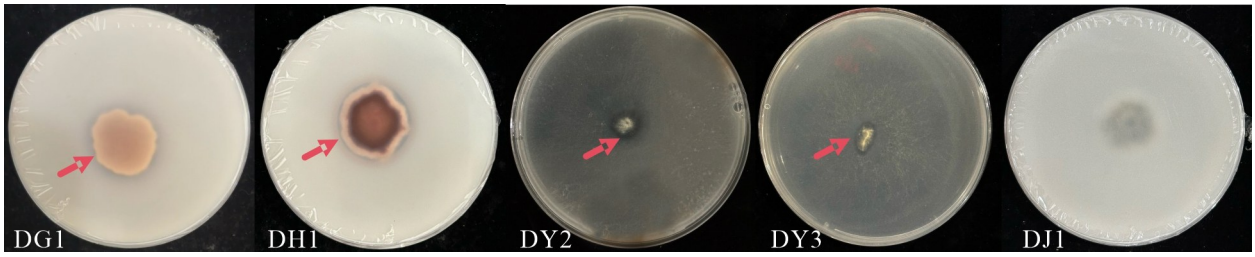


图 5　溶无机磷的内生真菌

Fig. 5　Endophytic fungi that dissolve inorganic phosphorus

佳时间。国外多个文献报道，不同植株、不同器官所需消毒时间不同（Sudheep & Sridhar, 2012; Sawmya et al., 2013; Calvert, 2017; Adit et al., 2022）。本试验选用 0.1% $HgCl_2$ 对材料表面进行消毒，结果显示天贵卷瓣兰根部最佳消毒时间为 3 min，横走茎、假鳞茎以及叶片消毒时间最好为 5 min，这种不同器官消毒时间的差异主要是由不同植物以及不同器官表面质地不同引起的。本试验从天贵卷瓣兰组织块中共获得真菌 74 株，根据菌落形态以及显微结构特征，将分布于同一海拔、同一器官部位的相同菌株归为同一菌株后，共获得 16 株内生真菌，隶属于 2 门 4 纲 7 目 8 科 8 属，经

表 2 不同内生真菌溶磷能力

Table 2 Phosphorus solubilization abilities of different endophytic fungi

菌株编号 Strain No.	有机磷 Organic phosphorus			无机磷 Inorganic phosphorus		
	溶磷圈直径 Diameter of phosphorous solubilization ring (cm)	菌落直径 Diameter of colony (cm)	*D*/*d*	溶磷圈直径 Diameter of phosphorous solubilization ring (cm)	菌落直径 Diameter of colony (cm)	*D*/*d*
DG1	0	0	0	3.55±0.11b	3.48±0.02	1.02±0.09d
DJ2	0.55±0.06d	0.43±0.01b	1.23±0.01b	0	0	0
DH1	3.52±0.03b	2.31±0.13c	1.52±0.05a	3.61±0.02a	4.48±0.01	1.03±0.07c
DY2	4.91±0.15a	4.58±0.04a	1.07±0.01c	1.02±0.07d	0.91±0.07	1.12±0.04a
DY3	2.33±0.08c	2.27±0.20d	1.02±0.04d	1.77±0.13c	1.68±0.05	1.05±0.08b

注：同列中不同小写字母表示显著性差异（$P<0.05$）。下同。

Note: Different small letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$). The same below.

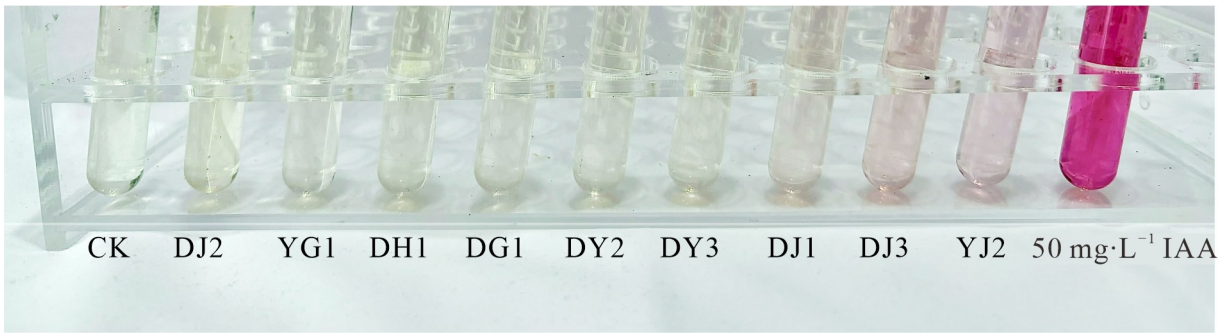


图 6 内生真菌的显色情况

Fig. 6 Color vendering status of endophytic fungi

表 3 内生真菌对组培苗的促生作用

Table 3 Growth promoting effect of endophytic fungi on tissue culture seedlings

处理 Treatment	鲜重 Fresh weight (g)	根长 Root length (cm)	根数 Root number	株高 Plant height (cm)	长势 Growth potential
CK	0.195±0.012c	2.23±0.69d	7.05±3.13e	5.06±1.27b	一般 Generally
DG1	0.202±0.037bc	2.78±0.20bc	15.12±1.24b	4.32±1.06de	一般 Generally
YG1	0.154±0.027e	3.15±0.51b	12.30±5.23bc	3.58±1.15f	部分叶片凋落，根长较长 Partial leaves fall, the roots are long
DH1	0.171±0.010d	1.34±0.34f	8.17±4.02d	4.78±0.89d	一般 Generally
YJ2	0.221±0.056a	3.98±1.38a	17.61±3.37a	5.59±1.36a	最好，叶片深绿、假鳞茎膨大 Best, the leaves are dark green with enlarged pseudobulbs
DJ2	0.205±0.035b	2.01±0.27de	10.09±1.15c	5.34±0.78ab	良好 Well
DY2	0.198±0.041c	2.56±0.74c	9.11±1.23cd	4.89±0.91bc	一般 Generally

过进一步分析，本研究中分离的真菌均不属于菌根真菌，这一结果远少于 Liang 等（2022）通过 DNA 提取后直接测序获得的真菌数量，这主要是分离培养本身难度大，很难分离出全部内生真菌；

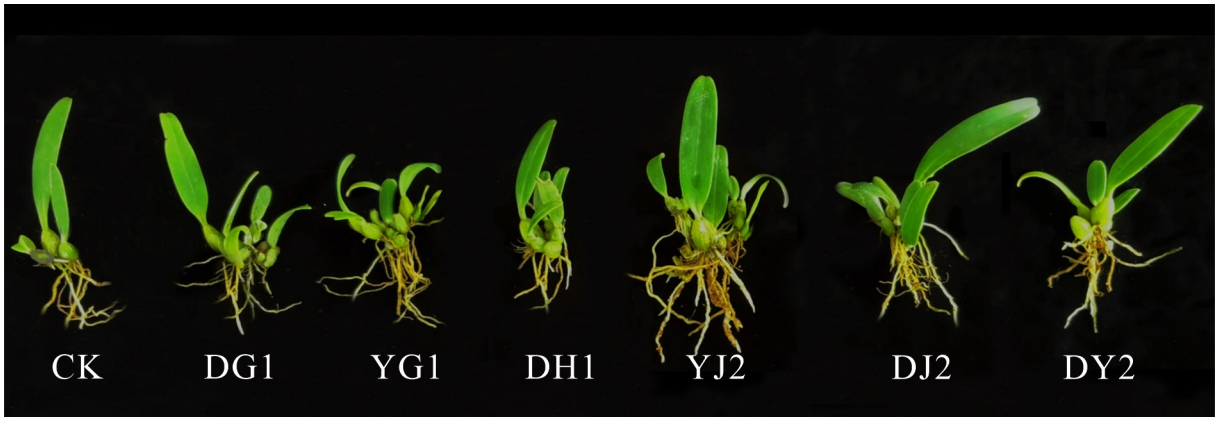


图 7　内生真菌对天贵卷瓣兰生长的影响

Fig. 7　Effects of endophytic fungi on the growth of *Bulbophyllum tianguii*

此外，也与本研究选择分离培养基种类较少以及分离的样本数量少有关，前人已有类似报道（杨志军等，2018），因此今后在内生真菌的分离中应尝试选用多种培养基种类进行分离培养。

本试验中，同种植物在不同海拔所分离出的内生真菌种类有所不同，其中镰刀菌属以及巨座壳属真菌在不同海拔中均有分布，而 *Edenia*、须壳孢属、黑孢属以及脉革菌属真菌仅分布于高海拔地区，炭疽菌属与木霉属真菌仅分布于低海拔地区。其原因可能是不同海拔生长的兰科植物会受到土壤中温度、湿度以及氮（N）、磷（P）、钾（K）含量不同的影响，这在 Liang 等（2022）的研究中也有所报道。通过进一步分析发现，16 株菌以镰刀菌属种类最多，为 5 株，在 4 个部位中均分离出，巨座壳属 4 株，数量次之。另外，黑孢属、木霉属、脉革菌属等均分离得到少量菌株。镰刀菌属种类多样，其不仅可作为内生菌，也是引起多种植物病害的病原菌（刘莹莹，2023），广泛分布于其他兰科植物当中，如白及（Jiang et al.，2019）、铁皮石斛（杨鹤同，2015）、兜兰（裔景，2017）等。本研究从横走茎中分离出的菌株 DH1，经序列一致性表明，可能是 *Edenia gomezpompae*，而据崔岩等（2013）报道，*E. gomezpompae* 的次级代谢产物中可能含有具有抗肿瘤活性的化合物。张晓尘等（2024）和王凯等（2024）研究指出哈茨木霉菌（*Trichoderma harzianum*）作为一种生防菌被广泛用于预防由病原菌引起的植物病害，而本研究中从假鳞茎中分离出的菌株 YJ2 与此菌种序列比对具有 100% 相似度。张富美和侯瑞（2020）指出槭射脉革菌（*Phlebia acerina*）能够分泌木质素降解酶，用来处理污水等，而本研究中从叶片分离出的菌株 DY2 与此菌种序列比对具有 100% 相似度。因此，这些菌株具有很高的潜在应用价值，可进一步开展后续研究。

促生菌是指对植株的生长发育具有一定促进作用的细菌、放线菌以及真菌的统称。植物内生真菌通过产生激素或信号分子、溶解土壤中难溶性磷、增强植物对病原菌的抗性和忍耐力等方式对植株的生长产生影响（沈仁芳和赵学强，2015）。镰刀属真菌多数具有一定的溶磷能力（Biswas & Sarojini，2024），这在本研究中同样有所发现，同时本研究还发现 *Edenia* 属真菌、*Pyrenochaeta* 属真菌以及射脉菌属真菌均具有一定的溶磷能力。另外，有报道指出黑孢属真菌（Sodhi & Saxena，2023）、木霉属真菌（高雅新等，2023）具有一定产 IAA 能力。本研究同样发现黑孢属真菌以及木霉属真菌具有一定的产 IAA 能力，同时发现巨座壳属真菌也具有一定的产 IAA 能力。最后，将分离得到的部分内生真菌发酵液喷施于天贵卷瓣兰移栽苗，发现木霉属真菌（YJ2）的发酵液整体的促生作用最好，对植株的生长发育具有显著影响。序列一致性结果表明，YJ2 菌株可能属于木霉属真菌中的哈茨木霉菌，而该菌不仅被认为是防治作物真菌病害的重要生防因子（张丽芳等，2024），还对多种植物的生长具有一定促进作用（路宁海等，2007；Zhang et al.，2013）。因此，菌株 YJ2 与天贵卷瓣兰共生且

促进其生长发育的内部机理还需要进一步深入研究。

综上所述,本研究采用传统的组织分离法首次对天贵卷瓣兰根、横走茎、假鳞茎以及叶片内生真菌进行分离鉴定,共获得 16 株菌,隶属于 2 门 4 纲 7 目 8 科 8 属。通过溶磷及产 IAA 能力的测定,发现 4 株具有溶有机磷能力,4 株具有溶无机磷能力,3 株具有产 IAA 能力,其中菌株 YJ2 发酵液对天贵卷瓣兰幼苗的整体促生作用最好。

参考文献:

ADIT A, KOUL M, KAPOOR R, et al., 2022. Topological analysis of orchid-fungal endophyte interaction shows lack of phylogenetic preference [J]. South African Journal of Botany, 149: 339-346.

BISWAS S, SAROJINI S, 2024. Fungal endophytic species *Fusarium annulatum* and *Fusarium solani*: Identification, molecular characterization, and study of plant growth promotion properties [J]. Plant Science Today, 11: 466-472.

CARROLL G, 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualisticsymbiont [J]. Ecology, 69(1): 2-9.

CALVERT J, 2017. Mycorrhizal associations and phylogenetic relationships of South-east Queensland *Bulbophyllum* orchids [D]. Brisbane, Australia: University of Southern Queensland: 72-87.

CHAI S F, QIN H Z, TANG J M, et al., 2022. Concomitant community characteristics of a rare and endangered plant *Bulbophyllum tianguii* [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 38(2): 138-146. [柴胜丰, 秦惠珍, 唐健民, 等, 2022. 珍稀濒危植物天贵卷瓣兰的伴生群落特征 [J]. 广西科学院学报, 38(2): 138-146.]

CUI Y, 2013. Study on antitumor activity and biological characteristics of *Edenia gomezpompae* [D]. Changchun: Jilin University: 81-82. [崔岩, 2013. *Edenia gomezpompae* 的抗肿瘤活性及其生物学特性研究 [D]. 长春: 吉林大学: 81-82.]

DEARNALEY J D W, 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research [J]. Mycorrhiza, 17(6): 475-486.

ERCOLE E, ADAMO M, RODDA M, et al., 2015. Temporal variation in mycorrhizal diversity and carbon and nitrogen stable isotope abundance in the wintergreen meadow orchid *Anacamptis morio* [J]. New Phytologist, 205(3): 1308-1319.

GAI X G, XING X K, GUO S X, 2014. Ecological research of orchid mycorrhizae: a review [J]. Mycosystema, 33(4): 753-767. [盖雪鸽, 邢晓科, 郭顺星, 2014. 兰科菌根的生态学研究进展 [J]. 菌物学报, 33(4): 753-767.]

GAO J K, ZHAO Q C, SUN J Q, et al., 2019. Isolation and identification of endophytic bacteria in *Bulbophyllum kwangtungense* Schltr for antimicrobial activities [J]. Journal of Anhui Science and Technology University, 33(3): 15-21. [高景凯, 赵前程, 孙佳琦, 等, 2019. 广东石豆兰内生细菌分离鉴定及抑菌活性 [J]. 安徽科技学院学报, 33(3): 15-21.]

GAO Y X, WANG J G, ZHANG X K, et al., 2023. Screening of mutant *Trichoderma harzianum* M95 with high IAA yield and its growth promotion effect on cucumber [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 46(3): 499-509. [高雅新, 王甲果, 张翔凯, 等, 2023. 高产 IAA 哈茨木霉突变株 M95 的筛选及其对黄瓜的促生作用 [J]. 南京农业大学学报, 46(3): 499-509.]

GUO S X, CHEN X M, YU X M, et al., 2000. Investigation on the isolation of mycorrhizal fungi from *Anoectochilus roxburghii* and its biological activity [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 35(7): 443-444. [郭顺星, 陈晓梅, 于雪梅, 等, 2000. 金线莲菌根真菌的分离及其生物活性研究 [J]. 中国药学杂志, 35(7): 443-444.]

JIANG J W, ZHANG K, CHENG S, et al., 2019. *Fusarium oxysporum* KB-3 from *Bletilla striata*: an orchid mycorrhizal fungus [J]. Mycorrhiza, 29(5): 531-540.

JIANG Q, TANG J M, LUO Y J, et al., 2020. Preliminary study of pollination biology of *Bulbophyllum tianguii* in Leye Yachang Laowuji Tiankeng [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 36(1): 96-100. [蒋强, 唐健民, 罗亚进, 等, 2020. 乐业雅长老屋基天坑天贵卷瓣兰传粉生物学研究 [J]. 广西科学院学报, 36(1): 96-100.]

JU F, LUO F, FENG D, et al., 2021. Study on the chemical constituents of *Penicillium crustosum*, an endophytic fungus from *Ophiocordyceps sinensis* [J]. Natural Product Research and Development, 33(7): 1147-1155. [巨凤, 罗凡, 冯丹, 等, 2021. 冬虫夏草内生菌 *Penicillium crustosum* 的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 33(7): 1147-1155.]

LANG K Y, LUO D, 2007. A new species of the genus *Bulbophyllm* (Orchidaceae) from China [J]. Plant Science Journal, 25(6): 558-560. [郎楷永, 罗敦, 2007. 中国兰科石豆兰属一新种 [J]. 植物科学学报, 25(6): 558-560.]

LI S Z, LIU M H, REN Y F, et al., 2024. Diversity of endophytic fungi from *Taxillussut chuenensis* (Lecomte) Danser in different host plants [J/OL]. Molecular Plant Breeding: 1-17 [2024-09-06]. http://kns.cnki.net/

kcms/detail/46.1068.S.20240712.1730.003.html.［李姝臻，刘梦辉，任艳妃，等，2024. 不同寄主植物桑寄生内生真菌多样性研究［J/OL］. 分子植物育种：1-17［2024-09-06］. http://kns. cnki. net/kcms/detail/46. 1068. S. 20240712.1730.003.html.］

LIANG J Y, ZOU R, HUANG Y, et al., 2022. Structure and diversity of mycorrhizal fungi communities of different part of *Bulbophyllum tianguii* in three terrestrial environments［J］. Frontiers in Plant Science, 13: 992184.

LIU Y P, ZHANG D F, WEN H X, 2024. Isolation and identification of endophytic fungi in *Nitraria tangutorum* Bobr. in saline soil［J］. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 33(7): 1375-1385.［刘艳萍，张得芳，文怀秀，2024. 盐碱土壤中唐古特白刺内生真菌分离与鉴定［J］. 西北农业学报，33(7)：1375-1385.］

LIU Y Y, 2023. Distribution and pathogenicity of *Fusarium* soybean root rot in Heilongjiang Province［D］. Harbin: Harbin Normal University: 1-7.［刘莹莹，2023. 黑龙江省大豆根腐病镰刀菌种类分布与致病力研究［D］. 哈尔滨：哈尔滨师范大学：1-7.］

LIU Z, TAO G, LIU Z Y, et al., 2013. Diversity analysis of endophytic fungi associated with *Bletilla ochracea* (Orchidaceae)［J］. Mycosystema, 32(5): 812-818.［刘准，陶刚，刘作易，等，2013. 兰科植物黄花白及 *Bletilla ochracea* 内生真菌多样性分析［J］. 菌物学报，32(5)：812-818.］

LU N H, WU L M, TIAN X L, et al., 2007. The effect of *Trichoderma harzianum* on tomato seedling growth［J］. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 16(6): 192-194.［陆宁海，吴利民，田雪亮，等，2007. 哈茨木霉对番茄幼苗促生作用机理的初步研究［J］. 西北农业学报，16(6)：192-194.］

MAO X Y, DING Y, WANG Y, et al., 2025. Endophytic fungal diversity and its correlation with metabolism in *Panax quinquefolium* L. seedlings［J/OL］. Microbiology China: 1-24［2025-04-08］. https://doi. org/10. 13344/j. microbiol. china. 241055.［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/OL］. 微生物学通报：1-24［2025-04-08］.https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.241055.

MIAO Y M, HAN S, MIAO C P, et al., 2022. Isolation, identification and fermentation conditions optimization of endophytes from *Bulbophylum* sp. and its inhibitory effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*［J］. Natural Product Research and Development, 34(4): 656-664.［苗永美，韩朔，苗翠苹，等，2022. 石豆兰内生细菌分离鉴定、发酵条件优化及对棉花枯萎病菌的抑制［J］. 天然产物研究与开发，34(4)：656-664.］

SAWMYA K, YASUDEVAN T G, MURALI T S, 2013. Fungal endophytes from two orchid species pointer towards organ specificity［J］. Czech Mycology, 65(1): 89-101.

SHEN R F, ZHAO X Q, 2015. Role of soil microbes in the acquisition of nutrients by plants［J］. Acta Ecologica Sinica, 35(20): 6584-6591.［沈仁芳，赵学强，2015. 土壤微生物在植物获得养分中的作用［J］. 生态学报，35(20)：6584-6591.］

SODHI G K, SAXENA S, 2023. Promising drought and salinity tolerance features of *Nigrospora* species existing as endophytes in *Oryza sativa*［J］. 3 Biotech, 13(8): 262.

STÖCKEL M, TESTELOVA T, JERSAKOVA J, et al., 2014. Carbon and nitrogen gain during the growth of orchid seedlings in nature［J］. New Phytologist, 202(2): 606-615.

SUDHEEP N M, SRIDHAR K R, 2012. Non-mycorrhizal fungal endophytes in two orchids of Kaiga forest (Western Ghats), India［J］. Journal of Forestry Research, 23(3): 453-460.

WANG K, ZHANG K J, LI Y Y, et al., 2024, Microcapsule preparation of *Peniciltium lilac* and *Trichoderma harzia*, and it inhibition activity against *Physalospora piricola* Nose［J］. Chinese Journal of Biological Control, 40(2): 388-398.［王凯，张开娇，李洋洋，等，2024. 淡紫拟青霉·哈茨木霉微胶囊剂的制备及对苹果轮纹病菌的抑制作用［J］. 中国生物防治学报，40(2)：388-398.］

WANG M N, HU Y, LI H J, et al., 2021. New insights into orchid mycorrhizal fungi research［J］. Guihaia, 41(4): 487-502.［王美娜，胡玥，李鹤娟，等，2021. 兰科植物菌根真菌研究新见解［J］. 广西植物，41(4)：487-502.］

WANG Y K, WU Q F, CHAI S F, et al., 2024. Tissue culture and rapid propagation of *Bulbophyllum tianguii*［J］. Guihaia, 45(4): 678-688.［王雅珂，吴巧芬，柴胜丰，等，2024. 天贵卷瓣兰组培快繁技术研究［J］. 广西植物，45(4)：678-688.］

XIAO N J, 2023. Comprehensive evaluation of germplasm resources of four *Bulbophyllum* plants［D］. Guilin: Guilin University of Technology: 42.［肖妮洁，2023. 四种石豆兰属植物种质资源综合评价研究［D］. 桂林：桂林理工大学：42.］

YANG H T, 2015. Screening and functional characterization of endophytic mycorrhizal fungus in *Dendrobium officinale*［D］. Nanjing: Nanjing Agricultural University: 59.［杨鹤同，2015. 铁皮石斛内生菌根真菌的筛选及其作用机理研究［D］. 南京：南京农业大学：59.］

YANG J W, LING H, ZHANG Y, et al., 2018. Effects of endophytic fungi on seed germination of medicinal plants of

Orchidaceae: a review [J]. Mycosystema, 37(1): 22-34. [杨建文, 凌鸿, 张盈, 等, 2018. 内生真菌对兰科药用植物种子萌发作用研究进展 [J].菌物学报, 37(1): 22-34.]

YANG Z J, DENG Y, MAN Q, et al., 2018. Progress in search for endophytes associated with natural medicine [J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 34(5): 593-596. [杨志军, 邓毅, 曼琼, 等, 2018. 内生菌在天然药物研究中的研究进展 [J]. 中国临床药理学杂志, 34(5): 593-596.]

YI J, 2017. Mycorrhizal fungi and symbiotic seed germination of four *Paphiopedilum* species [D]. Beijing: Beijing Forestry University: 53-55. [裔景, 2017. 四种兜兰的菌根真菌及共生萌发研究 [D]. 北京: 北京林业大学: 53-55.]

YUAN Z L, CHEN Y C, YANG Y, 2009. Diverse non-mycorrhizal fungal endophytes inhabiting an epiphytic, medicinal orchid (*Dendrobium nobile*): estimation and characterization [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25(2): 295-303.

ZHANG F G, YUAN J, YANG X M, et al., 2013. Putative *Trichoderma harzianum* mutant promotes cucumber growth by enhanced production of indole acetic acid and plant colonization [J]. Plant and Soil, 368: 433-444.

ZHANG F M, HOU R, 2020. Isolation and identification of strain *Phlebia acerina* MY51 and its decolorization to dyes [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 26(2): 332-338. [张富美, 侯瑞, 2020. 一株槭射脉革菌 MY51 的分离鉴定及对染料的脱色能力 [J]. 应用与环境生物学报, 26(2): 332-338.]

ZHANG L F, CAO Y, ZHANG L, 2024. Preparation of *Trichoderma harzianum* T-102 bactericide and its effects on peanut sheath blight and soil biodiversity [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 46(6): 1398-1404. [张丽芳, 曹阳, 张兰, 2024. 哈茨木霉 T-102 菌剂的制备及其对花生纹枯病和土壤生物多样性的影响 [J].中国油料作物学报, 46(6): 1398-1404.]

ZHANG X C, ZHANG H J, LI S B, et al., 2024. The control effect of *Trichoderma harzianum* EMF910 on the root rot pathogens of *Astragalus membranaceus* in Ningxia saline-alkali regions [J]. Microbiology, 51(10): 4162-4180. [张晓尘, 张红杰, 李生兵, 等, 2024. 哈茨木霉 EMF910 对宁夏盐碱地区黄芪根腐病致病菌的防治作用 [J]. 微生物学通报, 51(10): 4162-4180.]

ZHAO W X, WU K X, GUO Z Y, et al., 2021. Isolation and identification of endophytic fungi in *Thermopsis lanceolata* [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 52(10): 2986-2994. [赵文星, 吴可欣, 郭梓豫, 等, 2021. 披针叶黄华内生真菌的分离与鉴定 [J]. 畜牧兽医学报, 52(10): 2986-2994.]

ZHAO X Q, YAN L B, AN M T, et al., 2013. Ecological adaptability and distribution of Ochidaceae plants in Guiyang [J]. Seed, 32(12): 60-64. [赵熙黔, 严令斌, 安明态, 等, 2013. 贵阳市野生兰科植物分布特征及其生态适应性研究 [J]. 种子, 32(12): 60-64.]

ZHOU S J, SUN Z H, LI L P, 2024. Isolation, identification and growth promoting function of endophytic fungi in *Solanum aculeatissimum* [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 37(11): 2436-2443. [周士家, 孙正海, 李丽萍, 2024. 喀西茄内生真菌分离鉴定及促生功能验证 [J]. 西南农业学报, 37(11): 2436-2443.]

(责任编辑 邓斯丽)