

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201907013

王美娜, 胡玥, 李鹤娟, 等. 兰科植物菌根真菌研究新见解 [J]. 广西植物, 2021, 41(4): 487-502.

WANG MN, HU Y, LI HJ, et al. New insights into orchid mycorrhizal fungi research [J]. *Guihaia*, 2021, 41(4): 487-502.



兰科植物菌根真菌研究新见解

王美娜^{1,2}, 胡玥², 李鹤娟², 李健², 陈建兵², 兰思仁^{1*}

(1. 福建农林大学 艺术学院 园林学院(合署), 福州 350002; 2. 深圳市兰科植物保护研究中心(全国兰科植物种质资源保护中心)兰科植物保护与利用国家林业与草原局重点实验室, 广东 深圳 518114)

摘要: 兰科(Orchidaceae)在地球生命系统演化中占有十分重要的地位,几乎全部兰科植物均处于不同程度的濒危状态,研究兰科菌根真菌对于保护珍稀濒危兰科植物具有重要意义。该文在对菌根真菌相关的概念及研究方法进行综述的基础上,对兰科菌根真菌的主要类群、特异性及其与兰科植物稀有性之间的关系,以及兰科菌根真菌与兰科植物之间的营养关系和进化关系进行了总结。兰科菌根真菌的研究方法可以归纳为经典研究方法、早期分子生物学方法、rDNA 片段高通量测序法、宏基因组学方法。兰科菌根真菌类群主要隶属于担子菌门(Basidiomycota)、子囊菌门(Ascomycota)和毛霉门(Mucoromycota)。根据兰科菌根真菌特异性与否,首次明确了兰科菌根真菌定植关系可分为三大类:特异性定植、广泛性定植和特异-广泛兼性定植。根据营养关系特点,首次将兰科植物与菌根真菌之间的营养关系划分为三大类:兰花单向利好型、典型共生型、分工合作型。兰科菌根真菌特异性与兰科植物稀有性之间的关系呈现出两面性,而兰科菌根真菌与兰科植物之间是否存在协同进化关系还需要更多的研究才能阐明。此外,该文还对兰科菌根真菌领域今后的研究提出了一些思路。

关键词: 兰科菌根真菌, 宏基因组, 特异性, 营养关系, 协同进化

中图分类号: Q933 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2021)04-0487-16

New insights into orchid mycorrhizal fungi research

WANG Meina^{1,2}, HU Yue², LI Hejuan², LI Jian², CHEN Jianbing², LAN Siren^{1*}

(1. College of Arts, College of Landscape Architecture, Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration for Orchid Conservation and Utilization, the National Orchid Conservation Center of China and Orchid Conservation & Research Center of Shenzhen, Shenzhen 518114, Guangdong, China)

Abstract: Orchidaceae occupies a very important position in the biological phylogeny and evolutionary system on the earth. Almost all Orchidaceae species are threatened or endangered to certain degrees. It is of great significance to study orchid mycorrhizal fungi (OMF) to protect rare and endangered orchids. In this article, OMF and its related terms were

收稿日期: 2019-07-08

基金项目: 深圳市科技计划项目(JCYJ20160531110513702) [Supported by the Science and Technology Plan Program of Shenzhen (JCYJ20160531110513702)].

作者简介: 王美娜(1986-), 博士, 工程师, 主要从事兰科植物宏基因组、分类与系统发育、药用植物学等研究, (E-mail) snow-wmn2005@163.com.

*通信作者: 兰思仁, 博士, 教授, 博士研究生导师, 长期从事林业、园林、水土保持、森林公园建设、城市景观设计和生态文明建设等研究, (E-mail) lsr9636@163.com.

本文在中国知网的网络首发时间为 2019-11-07。

introduced. The methods used for the OMF research were summarized. The main taxa and specificity of OMF, the relationship between OMF specificity and orchids rarity, the nutritional relationship and co-evolutionary relationship between OMF and orchids were reviewed. The OMF research methods mainly include: classical methods, early molecular biological methods, rDNA fragment high-throughput sequencing methods and metagenomic methods. The taxa of OMF mainly belong three fungal phyla: Basidiomycota, Ascomycota and Mucoromycota. According to the degree of OMF specificity, it is the first time that we put forward that the OMF colonization can be divided into three types: specific colonization, extensive colonization and specific extensive facultative colonization. According to the characteristics of the nutritional relationship, we first put forward that the nutritional relationship between orchids and OMF can be divided into three types: orchids unidirectional benefit type, typical symbiotic type and cooperation type. The correlation between OMF specificity and orchids rarity showed two sides. And more researches are still needed to clarify whether there is co-evolutionary relationship between orchids and OMF. Finally, some ideas based on the current researches were proposed for future OMF research.

Key words: Orchid mycorrhizal fungi, metagenomic, specificity, nutritional relationship, co-evolution

兰科(Orchidaceae)植物,俗称兰花(Orchids),是植物界中最大且多样性最丰富的类群之一,起源古老且仍在经历着快速的分化和物种形成(Chase, 2001; Cribb et al., 2003)。兰科植物约占开花植物的10%,具有独特的花形,生活方式多样化,成功占据了地球上绝大多数的栖息地类型(Roberts & Dixon, 2008; Givnish et al., 2016),在地球生命系统演化中占有十分独特且重要的地位(陈心启等, 2009)。兰科植物因具有重要的观赏价值、药用价值、文化价值,长期以来被过度采挖,导致几乎所有野生兰科植物都处于不同程度的濒危状态(Valadares, 2012)。《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES)将所有野生兰科植物列入附录I和附录II,在其所涉及的保护植物中90%以上是兰科植物。

菌根共生是大多数陆地植物的共同特征,从沙漠到热带森林再到耕地,在几乎所有的生态系统中存在菌根关联(Brundrett, 2009),据统计约有86%的维管植物都与菌根真菌共生(Brundrett & Tedersoo, 2018)。兰科植物是典型的菌根植物,约占全部菌根植物的10%(Brundrett & Tedersoo, 2018)。兰科植物想要完成完整的生活史并在生态系统中成功地存活下来,离不开菌根真菌及其他密切互作的微生物的作用。深入研究兰科菌根的特点,在不同生境、地域范围探索兰科菌根真菌的生态功能,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)。兰科菌根真

菌研究长达百余年的历史,让我们逐渐认识到兰科植物与其菌根真菌之间关系的复杂性。随着分子测序方法和分析手段的发展,越来越多的分子数据被挖掘,数据库不断完善,为兰科植物菌根真菌的研究提供了极大的便利,近年来更是出现了大量高通量测序的研究成果。然而,兰科植物与菌根真菌之间关系的复杂性缺乏归纳,并且概念较多容易模糊混淆。因此,本文对兰科菌根真菌的相关概念、研究方法及几个主要热点研究方向的进展进行概述,以期从事兰科菌根真菌研究的同行提供参考。

1 兰科菌根真菌相关概念

1885年, Frank首次提出菌根(mycorrhiza)一词,他认为这种植物与真菌之间的相互关系是双方营养的需求所致(Frank, 1885)。经过一百多年的研究,菌根一词的定义曾被多名学者修正过(Brundrett, 2004)。现综合前人研究将菌根真菌及其相关概念进行总结,认识清楚这些概念是研究菌根真菌及其相关领域的基础和关键。

1.1 菌根真菌与非菌根内生真菌

菌根真菌(mycorrhizal fungi),又称共生真菌(symbiotic fungi),是一类能与高等植物根系或其他与基质接触的类根器官形成特定共生结构的真菌类群,它们生活在植物根(类根器官)的表面、皮层内或根(类根器官)的表皮细胞周围,对植物和

真菌双方或其中一方有利好作用(van der Heijden et al., 2015)。这些真菌的主要作用是养分转移, 它们的菌丝在生长过程中可以从根部进入到土壤中以搜寻和获取限制植物生长的营养, 如硝酸盐和磷酸盐等, 之后这些营养物质被传递到它们的寄主植物, 有时可以换取菌根真菌自身生长所需的碳水化合物(Smith & Read, 2008)。

除菌根真菌外, 植物根部或类根器官中还存在数量更为庞大的内生真菌, 它们当中不与植物形成共生关系或暂时缺乏证据能与植物形成共生关系, 并且不存在致病真菌的典型解剖特征(Addy et al., 2005), 这类真菌类群称为非菌根内生真菌(non-mycorrhizal root-associated fungi, RAF)。

1.2 根内生真菌与根内生微生物

根内生真菌是指在植物生活史的某一时期生活在根系或类根器官当中所有的真菌类群, 既包含了菌根真菌、非菌根内生真菌, 同时又可能包含了致病真菌。根内生微生物则是包含植物根系或类根器官中内生真菌、细菌、病毒等所有微生物的总和。内生微生物是植物体内潜在的生物化学合成器(Chukalo & Krishna, 2018; Sarsaiya et al., 2019)。

1.3 兰科菌根真菌

兰科菌根真菌(orchid mycorrhiza fungi, OMF), 是指与兰科植物根系(或类根器官)形成内共生关系或兰花单向利好关系的真菌类群, 属于内生真菌。兰科菌根真菌大多数情况下不属于真正意义上的共生真菌, 相当大的程度上兰科植物是利用和欺骗菌根真菌为其生长提供营养, 而菌根真菌不能从其宿主兰科植物中获得任何好处(Taylor & Bruns, 1997)。兰科菌根真菌与其他类型的菌根真菌相比具有极大的独特性, 它们的斑块化非常明显, 很少与地下生态系统中其他类型的菌根真菌重叠(van der Heijden et al., 2015)。

2 兰科菌根真菌研究方法概述

根据研究方法的发展历程, 可以将兰科菌根真菌的研究方法归纳为几大类。

2.1 经典研究方法——分离、培养、鉴定

2.1.1 组织表面消毒分离法 经典的研究方法是随着兰科菌根真菌的分类而兴起的。最早的菌根真菌分离培养体系在 20 世纪初由 Bernard 创建, 即组织表面消毒分离法。该方法的操作步骤如下: 首先用流水冲洗兰科植物组织表面, 去除表面附属物、表面微生物; 然后用消毒剂进行表面消毒, 再用无菌水冲洗去除消毒剂; 最后将兰科植物组织块切成小段或小片, 接种在培养基上, 在适当的温度下培养, 可分离获得菌根真菌(Bernard, 1904)。该方法因操作简便且不需要复杂的仪器设备而被广泛应用, 但无法完全避免组织表面杂菌的污染, 不能保证分离出来的真菌全部都是菌根真菌。后人针对该方法的缺点进行了改良, 如使用酒精、双氧水、升汞、硝酸银等作为消毒剂, 现多使用多种消毒剂组合的方法进行消毒, 最为常用的是酒精-次氯酸盐组合消毒法。

2.1.2 单菌丝团分离法 该方法是从组织内将菌丝团挑出来进行培养的方法。最早的成熟的单菌丝团分离体系是由 Warcup et al. (1967) 建立的。该方法大大提高了菌根真菌分离的准确度, 但同时存在很大的缺点, 如菌丝团容易结合到一起而很难分开, 培养基冷却温度难以控制等。针对这些缺点, 朱国胜(2009)对该种方法进行了改良: 首先将根段进行表面消毒, 刮取细胞内部菌丝团, 配制成菌丝团悬液; 然后接种于多个分离的琼脂培养基上。改良后此种方法有效解决了上述缺点。

2.1.3 原生境种子诱捕法 原生境种子诱捕法是指将兰科植物的种子套袋后播种到其原来生境中进行萌发试验, 待其萌发后从原球茎中定向分离菌根真菌的方法(Rasmussen & Whigham, 1993)。该方法有利于兰科植物种子萌发阶段促生菌的发现。原生境种子诱捕法能够有效避免人工栽培条件下兰科植物与其菌根真菌专一性改变的问题, 使数据更加真实严谨。

2.1.4 非原生境播种诱捕法 该方法由 Brundrett et al. (2003) 建立。非原生境播种诱捕法, 也称实验室播种诱捕法, 是指将原生境的枯枝落叶、土壤等基质取回实验室, 在实验室内进行种子播种诱捕,

以获得原生境中促进兰科植物种子萌发的促生菌 (Brundrett et al., 2003)。该方法的优点是突破了种子共生萌发研究的时空限制,对兰科植物的异地栽培有非常好的指导作用。

经典的研究方法常用于菌根真菌的分类鉴定、共生验证等研究。经过分离培养后得到的菌根真菌,可以使用诱导产孢法和菌丝融合群分类法,结合菌落形态特征、菌丝显微结构、菌丝细胞核数目、菌丝隔膜超微结构等进行分类鉴定。然而,经典的研究方法往往很难将菌根真菌鉴定到种,同时也容易出现鉴定不准确的现象,并且可能存在大量菌根真菌不能被分离培养的现象。现经典分类方法多用于前期处理,与分子技术相结合进行兰科植物菌根真菌的鉴定、多样性、特异性、营养交流、时空格局、代谢产物等研究。

2.2 早期分子生物学方法

20 世纪 50 年代,分子生物学的兴起为菌根真菌的研究带来了春天,多种分子标记开始应用到菌根真菌的研究领域,早期的分子生物学技术主要有限制性片段长度多态性技术 (RFLP)、末端限制性片段长度多态性技术 (T-RFLP)、DNA 微阵列 (芯片) 技术 (Microarray)、随机扩增多态性 DNA 技术 (RAPD)、扩增限制性片段长度多态性技术 (AFLP)、变性/温度梯度凝胶电泳技术 (DGGE/TGGE)、实时荧光定量 PCR 技术 (Real-time PCR)、磷脂脂肪酸图谱分析技术 (PLFAs)、荧光原位杂交技术 (FISH),以及早期的 rDNA 测序技术等。

上述分子技术方法常以组合的形式结合经典研究方法应用到兰科菌根真菌多样性、特异性、时空变化、互作网络、系统发育等诸多方面的研究中。如 Bougoure et al. (2005) 通过 ITS-PCR、RFLP 分析和原球茎定殖试验的方法对澳大利亚东南昆士兰地区兰科 *Acianthus*、*Caladenia* 和 *Pterostylis* 植物内生真菌的多样性及菌根真菌的特异性进行了研究。Taylor et al. (2003) 利用显微观察,结合 RFLP 分析、ITS 和 LSU 核糖体基因片段的测序方法对沙漠分布的非光合兰花 *Hexalectris spicata* 与其菌根真菌进行了研究,利用 RFLP 型对他们之间的进化关系进行了探讨。Pereira et al. (2005) 将

RAPD 和形态学分析相结合的方法应用到大西洋雨林兰科植物保护计划中,探讨了 7 种新热带兰花的菌根真菌及其特异性。

2.3 rDNA 片段高通量测序技术

rDNA 片段高通量测序技术,又称扩增子高通量测序。从兴起至今已经历了几代测序平台,如 454 测序平台、Miseq 测序平台、Hiseq 测序平台等,随着测序策略的发展,读长不断增长,使得基于高通量测序平台的测序研究物种多样性的准确性大幅度提高 (Luo et al., 2012)。利用高通量测序平台进行测序,具有费用低、测序深度高、利于鉴定低丰度群落物种的优点,已成为研究真菌群落多样性的首选之策 (Degnan & Ochman, 2011)。常用于此项技术的 rDNA 片段,对于真菌来说,有位于核糖体 18S 与 5.8S 之间的 ITS1 和位于 5.8S 与 28S 之间的 ITS2,它们都属于中度保守区域,适用于种及种以下分类单元的研究 (Waud et al., 2014);对于细菌来说,适宜的扩增片段有 16S 的 V4、V3-V4、V4-V5 区等 (Yu et al., 2013)。

近年来,应用扩增子测序的方法研究兰科菌根真菌或内生真菌的研究陆续出现。如 Jacquemyn et al. (2014) 使用 454 焦磷酸测序法,对地中海草原两个 25 m × 25 m 的样方中小尺度空间同域分布的 7 种兰科植物的菌根真菌特征进行了研究。Perotto et al. (2014) 利用 454 焦磷酸测序法对分布于地中海绿色草甸上的兰花 *Serapias vomeracea* 和其菌根真菌 *Tulasnella calospora* 之间的体外共生系统进行了研究。Jacquemyn et al. (2016) 使用 454 焦磷酸测序法研究了 14 种掌裂兰属 (*Dactylorhiza*) 兰科植物中菌根真菌组合的生态和地理变异。Cevallos et al. (2017) 利用 Illumina Miseq 平台对 ITS2 区进行了高通量测序,研究了厄瓜多尔南部山区雨林中三种同域附生热带兰科植物 (*Cyrtorchilum flexuosum*、*C. myanthum* 和 *Maxillaria calantha*) 菌根真菌群落的特征,结果发现了菌根真菌群落建群种 (keystone mycorrhizal fungi) 的存在。Cevallos et al. (2018) 利用同样的技术方法对上述三种兰科植物的内生真菌群落组成的驱动因素进行了研究。

2.4 宏基因组学方法

宏基因组学 (metagenomics) 这一概念最早是 1998 年由威斯康辛大学植物病理学家 Jo Handelsman 提出的。Handelsman 对宏基因组学的定义是一种以环境样品中的微生物群体基因组为研究对象, 以功能基因筛选和测序分析为研究手段, 以微生物多样性、种群结构、进化关系、功能活性、相互协作关系及与环境之间的关系为研究目的新的微生物研究方法 (Handelsman et al., 1998)。环境中大多数微生物物种及其生物量是未知的, 并且多达 99% 的微生物不可培养, 无法通过培养法进行研究 (Pandey et al., 2013)。宏基因组学则规避了对微生物进行分离培养, 提供了一种对不可分离培养的微生物进行研究的途径, 能更真实地反映样本中微生物的组成、互作情况, 同时可在分子水平上对其代谢通路、基因功能进行研究 (Tringe et al., 2005)。

宏基因组学技术经过近几十年的发展, 在发掘未培养微生物资源、开发微生物活性物质、研究微生物群落结构和功能、筛选新基因等方面显示了巨大的应用潜力和优越性。随着测序技术和信息技术的快速发展, 利用新一代测序技术 (Next Generation Sequencing) 能快速准确地得到大量微生物数据和丰富的微生物信息, 从而成为研究微生物的重要手段 (Tringe & Rubin, 2005)。如致力于研究微生物与人类疾病健康关系的人体微生物组计划 (Human Microbiome Project, HMP), 研究全球微生物组成和分布的全球微生物组计划 (Earth Microbiome Project, EMP) 都主要利用宏基因组高通量测序技术进行研究。宏基因组学已成为目前国际上微生物研究的前沿和热点领域, 但这项技术用于兰科植物菌根真菌的研究还未见报道。

3 兰科菌根真菌主要研究方向的进展情况

据记载, 早在 1886 年以前, 第一次对温带和热带地区的兰花进行大规模调查时就发现了真菌侵染兰花成株的普遍现象 (Smith & Read, 2008)。

然而, 直到 19 世纪末 20 世纪初, Bernard 和 Burgeff 才揭开兰科菌根真菌的秘密: 他们首次将菌丝团描述为兰科菌根的独特结构, 并对这些菌丝进行早期最系统的分离, 分类研究发现分离的真菌隶属于担子菌门 (Basidiomycete) 的丝核菌属 (*Rhizoctonia*); 他们还通过共生和非共生萌发试验, 对菌根真菌在兰花幼苗发育中潜在的作用提供了最早的见解 (Smith & Read, 2008)。之后, 涌现了大量关于兰科菌根真菌的研究成果, 这些研究成果逐渐让我们认识到菌根真菌与兰科植物之间关系的重要性及复杂性。

3.1 与兰科植物形成菌根的主要真菌类群

1992 年, Currah & Zelmer 首次列出了兰科菌根最基本的检索表, 记载了兰科菌根真菌 15 属 29 种和 2 个腐生类群, 为兰科菌根的分类研究提供了可靠依据 (Currah & Zelmer, 1992)。经过近几十年的研究发现, 兰科菌根真菌主要隶属于担子菌门 (Basidiomycota)、子囊菌门 (Ascomycota) 及毛霉门 (Mucoromycota) (Herrera et al., 2010; Illyes et al., 2010; Ercole et al., 2015), 其中担子菌门是最为常见也是最早被发现的兰科菌根真菌门。

常见的兰科菌根真菌科有胶膜菌科 (Tulasnellaceae)、角担菌科 (Ceratobasidiaceae)、蜡壳耳科 (Sebacinaceae)、革菌科 (Thelephoraceae)、红菇科 (Russulaceae) 等 (Zelmer, 1995; Taylor & Bruns, 1997; Pandey et al., 2013; Cevallos et al., 2017), 它们均隶属于担子菌门。常见的兰科菌根真菌属有瘤菌根菌属 (*Epulorhiza*)、角菌根菌属 (*Ceratorhiza*)、角担菌属 (*Ceratobasidium*)、*Sistotrema*、胶膜菌属 (*Tulasnella*)、红菇属 (*Russula*)、小菇属 (*Mycena*)、*Tricharina*、盘菌属 (*Peziza*) 和 *Flavodon* 等 (Warcup & Talbot, 1967; 郭顺星和范黎, 1999; Taylor & McCormick, 2008; Girlanda et al., 2010; Waterman, 2011; Khamchatra et al., 2016), 其中胶膜菌属是与兰科植物形成菌根最主要和最广泛的属 (Pereira et al., 2005)。本文整理了部分已发表的常见兰科菌根真菌 3 门 51 科 69 属, 详见附表 1。

3.2 兰科菌根真菌特异性

兰科菌根真菌的特异性一直是研究的热点。

表 1 已发表的常见兰科菌根真菌

Table 1 Common orchid mycorrhizal fungi have been published

门 Phyla	科 Families	属 Genera	种 Species	参考文献 References	
子囊菌门 Ascomycota	黑盘孢科 Amphisphaeriaceae	盘多毛孢属 <i>Pestalotia</i>		范黎, 1998	
	子囊菌类未知科 Ascomycota incertae sedis	四枝孢霉属 <i>Tetracladium</i>		Pecoraro et al., 2017; Durán-López et al., 2019	
	曲霉科 Aspergillaceae		曲霉属 <i>Aspergillus</i>		裔景等, 2017
			青霉属 <i>Penicillium</i>		Yuan et al., 2009
	葡萄座腔菌科 Botryosphaeriaceae	色二孢属 <i>Diplodia</i>		李国平等, 2018	
	枝孢霉科 Cladosporiaceae	枝孢霉属 <i>Cladosporium</i>		蒋园园, 2016	
	麦角菌科 Clavicipitaceae	拟青霉属 <i>Paecilomyces</i>		Liu et al., 2010	
	皮盘菌科 Dermateaceae	<i>Cryptosporiopsis</i>		崔亚华和余知和, 2011; 裔景等, 2017	
	双足囊菌科 Dipodascaceae	地霉属 <i>Geotrichum</i>		Liu et al., 2010	
	平盘菌科 Discinaceae	腔块菌属 <i>Hydnotrya</i>		Ogura-Tsujita & Yukawa, 2008	
	小丛壳科 Glomerellaceae	炭疽菌属 <i>Colletotrichum</i>		陈晓芳, 2014	
	船壳菌科 Gloniaceae	土生空团菌属 <i>Cenococcum</i>	土生空团菌 <i>Cenococcum geophilum</i>	Pecoraro et al., 2017	
	柔膜菌科 Helotiaceae	<i>Meliniomyces</i>		Jacquemyn et al., 2016	
	柔膜菌目未知科 Helotiales incertae sedis	鞘孢属 <i>Chalara</i>	<i>Chalara dualis</i>	Shefferson et al., 2008	
	柔膜菌目未知科 Helotiales incertae sedis	<i>Leptodontidium</i>	<i>Leptodontidium orchidicola</i>	Currah, 1989; Currah et al., 1990	
	小蔓毛壳科 Herpotrichiellaceae	外瓶柄霉属 <i>Exophiala</i>	沙门外瓶柄霉 <i>Exophiala salmonis</i>	Pecoraro et al., 2017	
	肉座菌科 Hypocreaceae		瓶霉属 <i>Phialophora</i>		Vázquez, 2001
			肉座菌属 <i>Hypocrea</i>		侯天文, 2010
			木霉属 <i>Trichoderma</i>		Liu et al., 2010; 李国平等, 2018
			轮层炭壳属 <i>Daldinia</i>		王晓国等, 2016
			炭团菌属 <i>Hypoxyton</i>	<i>Hypoxyton vinosopulvinatum</i>	裔景等, 2017
	肉座菌目未知科 Hypocreales incertae sedis	头孢霉属 <i>Cephalosporium</i>		Liu et al., 2010	
	肉座菌目未知科 Hypocreales incertae sedis	粘帚霉属 <i>Gliocladium</i>		Liu et al., 2010; 孙晓颖, 2014	
	小囊菌科 Microascaceae	小囊菌属 <i>Microascus</i>		Liu et al., 2010	
	球腔菌科 Mycosphaerellaceae		尾孢菌属 <i>Cercospora</i>		陈晓芳, 2014
			丽赤壳属 <i>Calonectria</i>	<i>Calonectria penicilloides</i>	裔景等, 2017
			镰刀菌属 <i>Fusarium</i>	尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i> 层生镰刀菌 <i>F. proliferatum</i>	杨鹤同, 2015; 裔景等, 2017; Jiang et al., 2019 Durán-López et al., 2019
盘菌科 Pezizaceae	土赤壳属 <i>Ilyonectria</i>		裔景等, 2017		
盘菌科 Pezizaceae	盘菌属 <i>Peziza</i>		Jacquemyn et al., 2016		
叶点霉科 Phyllostictaceae	球座菌属 <i>Guignardia</i>		陈晓芳, 2014		
火丝菌科 Pyrenomataceae	地孔菌属 <i>Geopora</i>	库氏地孔菌 <i>Geopora cooperi</i>	Shefferson et al., 2008		
核盘菌科 Sclerotiniaceae		长毛盘菌属 <i>Trichophaea</i>	<i>Trichophaea woolhopeia</i>	Shefferson et al., 2008	
		威氏盘菌属 <i>Wilcoxina</i>	<i>Wilcoxina tuber</i>	Ogura-Tsujita & Yukawa, 2008	
黑腐皮壳科 Valsaceae	念珠菌属 <i>Monilia</i>		李国平等, 2018		
	拟茎点霉属 <i>Phomopsis</i>		陈晓芳, 2014		

续表 1

门 Phyla	科 Families	属 Genera	种 Species	参考文献 References	
担子菌门 Basidiomycota	炭角菌科 Xylariaceae	小花口壳属 <i>Anthostomella</i>	<i>Anthostomella leucospermi</i>	Durán-López et al., 2019	
		炭垫菌属 <i>Nemania</i>		裔景等, 2017	
		炭角菌属 <i>Xylaria</i>		裔景等, 2017	
	伞菌科 Agaricaceae	鬼伞属 <i>Coprinus</i>		Yamato et al., 2005	
	阿太菌科 Atheliaceae			Okayama et al., 2012	
	皮壳菌科 Botryobasidiaceae			Yukawa et al., 2009	
	角担菌科 Ceratobasidiaceae	角担菌属 <i>Ceratobasidium</i>		<i>Ceratobasidium albasitensis</i>	Fracchia et al., 2014; Mujica et al., 2016
			角菌根菌属 <i>Ceratorhiza</i>	<i>Ceratorhiza goodyerae-repentis</i> <i>C. pernacatena</i>	Currah, 1989 Zelmer & Currah, 1995
			念珠菌根菌属 <i>Moniliopsis</i>	<i>Moniliopsis anomala</i>	Currah, 1989; 缪福俊等, 2015
		丝核菌属 <i>Rhizoctonia</i>		<i>Rhizoctonia anomala</i>	Currah et al., 1990
布氏丝核菌 <i>R. butinii</i>				Mujica et al., 2016	
<i>R. repens</i>				Smith, 1966; Masuhara & Katsuya, 1992	
<i>R. solani</i>				Smith, 1966	
亡革菌属 <i>Thanatephorus</i>		<i>Thanatephorus cucumeris</i>	Steinfort et al., 2010; Herrera et al., 2019		
		<i>T. ochraceus</i>	Taylor et al., 2003		
	<i>Waitea</i>	<i>Waitea circinata</i>	Sousa et al., 2019		
伏革菌科 Corticiaceae	伏革菌属 <i>Corticium</i>		<i>Corticium salmonicolor</i>	缪福俊等, 2015	
		<i>Sistotrema</i>	<i>Sistotrema coroniferum</i>	Durán-López et al., 2019	
丝膜菌科 Cortinariaceae	滑锈伞属 <i>Hebeloma</i>		<i>Hebeloma senescens</i>	Jacquemyn, et al., 2010	
		丝膜菌属 <i>Cortinarius</i>		Jacquemyn et al., 2016	
腹菌科 Hymenogastraceae				Pecoraro et al., 2017	
丝盖伞科 Inocybaceae				Jacquemyn et al., 2016	
皱孔菌科 Meruliaceae	脉革菌属 <i>Phlebia</i>	槭射脉革菌 <i>Phlebia acerina</i>		Pecoraro et al., 2017	
小菇科 Mycenaceae	小菇属 <i>Mycena</i>	开唇兰小菇 <i>Mycena anoetochila</i>		Liu et al., 2010; 孙晓颖, 2014	
		石斛小菇 <i>M. dendrobii</i>		Liu et al., 2010; 孙晓颖, 2014	
		兰小菇 <i>M. orchidicola</i>		Liu et al., 2010; 孙晓颖, 2014	
		紫萁小菇 <i>M. osmundicola</i>		Liu et al., 2010	
		烟管菌属 <i>Bjerkandera</i>	烟管菌 <i>Bjerkandera adusta</i>		Pecoraro et al., 2017
		蜜环菌科 Physalaciaceae	蜜环菌属 <i>Armillaria</i>	蜜环菌 <i>Armillaria mella</i>	
多孔菌科 Polyporaceae	层孔菌属 <i>Fomes</i>	木蹄层孔菌 <i>Fomes fomentarius</i>		缪福俊等, 2015	
鬼伞科 Psathyrellaceae	鬼伞属 <i>Coprinellus</i>			Yagame et al., 2018	
	小脆柄菇属 <i>Psathyrella</i>			Yamato et al., 2005	
红菇科 Russulaceae	乳菇属 <i>Lactarius</i>			Okayama et al., 2012	
	红菇属 <i>Russula</i>			Okayama et al., 2012; Jacquemyn et al., 2016	
裂褶菌科 Schizophyllaceae	裂褶菌属 <i>Schizophyllum</i>	裂褶菌 <i>Schizophyllum commune</i>		Bailarote et al., 2012	
硬皮马勃科 Sclerodermataceae	<i>Scleroderma</i>			González-Chávez et al., 2017	

续表 1

门 Phyla	科 Families	属 Genera	种 Species	参考文献 References
	蜡壳耳科 <i>Sebacinaceae</i>	梨形孢属 <i>Piriformospora</i>	印度梨形孢 <i>Piriformospora indica</i>	De Long et al., 2013
	无孢蜡壳科 <i>Serendipitaceae</i>	蜡壳菌属 <i>Sebacina</i>	<i>Sebacina vermifera</i>	De Long et al., 2013
	革菌科 <i>Thelephoraceae</i>	棉革菌属 <i>Tomentella</i>		Jacquemyn et al., 2010
	口蘑科 <i>Tricholomataceae</i>	口蘑属 <i>Tricholoma</i>		Jacquemyn et al., 2016
		蜡蘑属 <i>Laccaria</i>		Kristiansen et al., 2010
	胶膜菌科 <i>Tulasnellaceae</i>	瘤菌根菌属 <i>Epulorhiza</i>	<i>Epulorhiza albertensis</i> <i>E. anaticulae</i> <i>E. calendulina</i> <i>E. epiphytica</i> <i>E. inquilina</i> <i>E. repens</i>	Liu et al., 2010 Currah et al., 1990; Liu et al., 2010 Nontachaiyapoom et al., 2010 Pereira et al., 2005 Currah et al., 1997 Pereira et al., 2005; Yeh et al., 2019
		胶膜菌属 <i>Tulasnella</i>	美孢胶膜菌 <i>Tulasnella calospora</i> <i>T. cumulopuntiooides</i> <i>T. danica</i> <i>T. dendritica</i> <i>T. ellipsoidea</i> <i>T. irregularis</i>	De Long et al., 2013; 许璐, 2016; 宋争, 2017 Fujimori et al., 2019 Mujica et al., 2016 Fujimori et al., 2019 Fujimori et al., 2019 Nontachaiyapoom et al., 2010
毛霉门 <i>Mucoromycota</i>	被孢霉科 <i>Mortierellaceae</i>	被孢霉属 <i>Mortierella</i>	<i>Mortierella cerealis</i>	崔亚华和余知和, 2011; 付亚娟等, 2019
	伞形霉科 <i>Umbelopsidaceae</i>	伞形霉属 <i>Umbelopsis</i>	二型伞霉 <i>Umbelopsis dimorpha</i> 矮小伞霉 <i>U. nana</i>	杨鹤同, 2015 Yeh et al., 2019

总结前人研究, 兰科植物与其菌根真菌之间的定植关系, 根据其特异性与否可以分为三大类, 即特异性定植、广泛性定植和特异-广泛兼性定植。

在特异性定植关系中, 兰科植物仅与特定类群的菌根真菌发生定植关系, 这种定植关系不随地理分布区域的变化而变化。根据兰科植物的营养类型, 特异性定植又可分为两大类: 腐生类兰科植物菌根真菌特异性定植和光合类兰科植物菌根真菌特异性定植。前人研究发现不营光合作用(真菌异养)的腐生兰科植物更容易形成高度特异性的菌根真菌定植关系。如 Taylor & Bruns (1997) 对两种不营光合作用的兰科植物头蕊兰属(*Cephalanthera*)的 *C. austinae* 和珊瑚兰属(*Corallorhiza*)的 *C. maculata* 进行研究发现, 这两种兰科植物其菌根真菌具有高度特异性: *Cephalanthera austinae* 只与革菌科的一类真菌形成菌根, 而 *Corallorhiza maculata* 只与红菇科的一类

真菌形成菌根。Barrett et al. (2010) 对北美珊瑚兰属的 *Corallorhiza striata* 的 42 个种群 107 个个体进行研究, 结果也发现了高度特异的菌根真菌定植关系: *C. striata* 只与革菌科革菌属(*Tomentella*)的真菌形成菌根。有些营光合作用的兰科植物也具有特异性的菌根真菌关系(Pandey et al., 2013)。Shefferson et al. (2007) 对三大洲 15 种 90 个居群的杓兰属(*Cypripedium*)植物进行了研究, 结果发现 15 种杓兰属植物在属水平上具有高度特异的菌根真菌定植关系, 它们几乎全部与胶膜菌科(*Tulasnellaceae*)的一类真菌形成菌根。Ding et al. (2014) 对我国东北地区 7 个居群的羊耳蒜(*Liparis japonica*)进行研究发现, 所鉴定的 86 株真菌其序列和系统发育分析表明, 这些真菌均属于同一主枝, 与胶膜菌属亲缘关系最近, 结果表明至少在中国东北地区, 无论生境如何, 羊耳蒜都具有较高的菌根真菌特异性。

广泛性定植是指兰科植物与多种菌根真菌类群形成定植关系,在不同的地理分布区域中趋向于与不同的菌根真菌形成定植关系。相对于真菌异养兰科植物,大多数营光合作用的兰科植物与菌根真菌的关系特异性较低。Pecoraro et al. (2017)对营光合作用的头蕊兰属的大花头蕊兰 (*Cephalanthera damasonium*) 和头蕊兰 (*C. longifolia*) 进行研究,发现 11 种属于担子菌门和子囊菌门的真菌类群,研究结果有力地表明大花头蕊兰和头蕊兰的菌根关系都是多样性的。对兰科植物与菌根真菌是否为特异性定植关系的判定,理想的情况应是对多个不同地理种群的兰科植物的菌根真菌进行研究 (Herrera et al., 2019)。Herrera et al. (2019)对厄瓜多尔两种同域分布的兰科植物 *Epidendrum marsupiale* 和 *Cyrtorchilum pardinum* 进行研究,他们在两个不同的地点各取两个不同海拔梯度进行采样,研究发现这两个物种在物种间、不同的地点及不同海拔梯度的居群间都共享大量不同的菌根真菌,表现出广泛的菌根真菌定植关系。Qin et al. (2019)对独蒜兰属 (*Pleione*) 15 个种的菌根真菌的研究也发现多样性的真菌定植关系,独蒜兰属的菌根真菌有胶膜菌科、角担菌科、Serendipitaceae、Atractiellales 和木耳菌目 (Auriculariales),并且不同的种间能共享一定的菌根真菌。

特异-广泛兼性定植是指兰科植物在不同生活史阶段菌根真菌特异性程度有所差异。一些兰科植物在种子萌发阶段具有广泛的菌根真菌定植关系,而在成株阶段菌根真菌的定植具有高度特异性;另一些兰科植物则刚好相反,它们在种子萌发期具有高度特异性的菌根真菌定植关系,而在成株阶段则具有广泛的菌根真菌定植关系 (McCormick & Whigham, 2004)。

3.3 兰科植物的稀有性 (或濒危性) 与其菌根真菌特异性之间的关系

鉴于兰科植物在不同的生活期对菌根真菌都有或多或少的依赖,阐明兰科植物与菌根真菌的互作模式对兰科植物的生物学、生态学和保护生物学至关重要。然而,菌根真菌特异性是否是导致兰科植物稀有或濒危的原因不能一概而论。

有些研究发现,兰科植物的稀有性或濒危性与其菌根真菌特异性之间不存在直接关系。一方面,菌根真菌的特异性可能并不是造成兰科植物稀有或濒危的原因。Phillips et al. (2011)利用原位种子诱捕和 ITS 测序相结合的方法对三种常见且分布广泛、两种珍稀窄域的 *Drakaea* 兰科植物的菌根真菌进行了研究,研究发现不管是分布广泛还是珍稀窄域的 *Drakaea* 兰科植物,它们的菌根真菌都是胶膜菌属的一个特定类群,并且它们在原位种子诱捕试验中的发芽率无明显差异,这些结果表明菌根特异性与 *Drakaea* 的稀有性无直接关系。另一方面,很多稀有的兰科植物也有多样的菌根真菌定植关系。Pandey et al. (2013)对加利福尼亚特有濒危且极为窄域分布的兰科植物 *Piperia yadonii* 进行了研究,对两种不同生境 8 个居群的个体的菌根真菌内转录间隔区进行了扩增和测序,结果发现 *P. yadonii* 在不同的生境可以利用不同的菌根真菌,即 *P. yadonii* 不存在菌根真菌特异性。这表明 *P. yadonii* 的濒危性与其菌根真菌特异性无关。

也有一些研究指出,兰科植物的稀有性是其仅与较少种类的真菌形成菌根所导致的。Shefferson et al. (2005)对杓兰属菌根真菌进行研究,绝大多数杓兰属植物的菌根真菌属于胶膜菌科的一个特定类群,只有极为少数的杓兰属植物内生真菌包含了蜡壳耳科、角担菌科及子囊菌门的瓶霉属 (*Phialophora*) 等多个真菌类群,结果表明杓兰属植物的分布可能受到菌根特异性的限制。Swartz et al. (2010)发表了一项与 Phillips et al. (2011)对 *Drakaea* 研究实验设计相类似的另一个兰科 *Caladenia* 的研究成果,他们以地生的珍稀濒危兰科植物 *C. huegelii* 为研究对象,同时以 4 种同属广泛且同域分布的兰科植物 *C. arenicola*、*C. discoidea*、*C. longicauda*、*C. flava* 作为对照,进行了室内、原地共生萌发试验及 DNA 分子测序实验,但他们得出了与 Phillips et al. (2011)相反的研究结论。濒危兰科植物 *C. huegelii* 的菌根真菌有高度的特异性,除专有的菌根真菌外不能与其他真菌建立菌根关系,而其同域常见的同属兰科植物则可以利用并相互共享多种菌根真菌 (包括

C. huegelii 的菌根真菌),即菌根真菌的专一性与 *C. huegelii* 的稀有性有明显的相关关系。

3.4 兰科植物与其菌根真菌之间的营养关系

有些兰科植物在整个生活史中都依赖其菌根真菌提供养分,这类兰科植物属于完全真菌异养植物(fully mycoheterotropic plants)。越来越多的光合兰科植物被发现在利用自身光合作用产生养分的同时也从菌根真菌中吸收营养物质,这类兰花被称为兼性营养植物(mixotrophic plants)。Yoder et al.(2000)研究发现菌根真菌能为兰科植物提供 C、N、P 和维生素等多种营养物质,提供赤霉素等植物激素,同时也可能是幼苗期兰科植物水分的主要来源。长期以来,兰科植物与其菌根真菌之间的营养关系是研究的热点之一,其相互关系呈现出高度的复杂性,综合前人研究,本文提出了三种兰花-真菌营养关系类型。

3.4.1 兰花单向利好型营养关系 在兰花单向利好型营养关系当中,学者认为菌根同其他古老的相互关系(如兰科植物与其传粉者之间的关系)一样,真菌容易受到兰花的欺骗(Taylor & Bruns, 1997),即兰花利用真菌为其提供生长发育所需要的营养物质,而真菌却不能从这个过程中得到任何好处。这类关系通常发生在非光合作用的兰科植物中及光合兰科植物的早期生活史中(Dearnaley & Cameron, 2017)。正如 Taylor et al.(1997)在对两种非光合作用的兰科植物 *Cephalanthera austinae* 和 *Corallorhiza maculata* 的研究中所报道的“所有的生理证据都表明兰科植物与它们的菌根真菌不是共生关系”。

3.4.2 典型的共生型营养关系 在典型的共生营养关系中,营养流动是双向的,菌根真菌为其宿主兰科植物提供生长所需的无机物、有机物及水分等,而兰科植物可以向其菌根真菌输送光合作用的产物,甚至在非光合作用阶段也可以向其菌根真菌输送 NH_4^+ 等营养物质(Dearnaley & Cameron, 2017)。

Cameron et al.(2006)对小斑叶兰(*Goodyera repens*)与其菌根真菌进行了放射性碳氮同位素追踪,在发现菌根真菌持续向成年小斑叶兰输送碳素的同时,也清楚地检测到了 $^{14}\text{CO}_2$ 由成年宿主植

物转向菌根真菌。Fochi et al.(2017)对菌根真菌 *Tulasnella calospora* 及其宿主兰花 *Serapias vomeracea* 的氮转移及吸收基因的表达量进行了研究,在 *T. calospora* 的基因组中发现了两个功能性氮转运体和几个氨基酸转运体,但没有发现硝酸盐摄取和吸收的基因,表明 *T. calospora* 不能利用硝酸盐。参与氮类化合物转运和吸收的基因在共生系统中的差异表达发现,植物铵转运体 SvAMT1 及真菌氮转运体 TcAMT2 在共生系统中都显著上调,这表明在非光合作用阶段, *S. vomeracea* 向 *T. calospora* 输送 NH_4^+ 。这项研究首次发现了营养物质在非光合阶段从兰科植物流向其真菌伴侣,刷新了对兰科植物与菌根真菌之间营养关系的认识。因此,兰科植物与其菌根真菌在植物发育的早期和成熟阶段都可能表现出真正的互利共生。这种真正的互利共生关系充分验证了一句古老的生态格言:在自然界中“没有免费的午餐”(Dearnaley & Cameron, 2017)。

3.4.3 分工合作型营养关系 在这种类型的营养关系中,兰科植物首先与其菌根真菌各自合成所需营养物质的一部分,然后组合到一起生成所需要的营养物质。Hijner & Arditto(1973)对兰属(*Cymbidium*)的研究案例发现了这一现象。从兰属中分离的丝核菌可以产生烟酸和维生素 B1 的嘧啶,而兰属植物可以合成叶酸的前体——对氨基苯甲酸,研究表明兰属植物可以与其菌根真菌合作完成维生素的合成以满足它们彼此生长发育的需求。

截止目前的研究表明,兰科植物与其菌根真菌之间的营养关系往往是复杂的,以上三种类型的营养关系可能出现在同一种兰科植物生活史的不同阶段中,如同是对小斑叶兰与其菌根真菌之间 $^{14}\text{CO}_2$ 转移的研究, Hadley & Purves(1974)未检测到任何碳素向菌根真菌转移的迹象,原因可能是限于当时的实验条件而没有被发现,也极有可能是不同的生长时期有不同的营养关系所致。另外,兰科菌根真菌还可能与生境中的其他植物形成外生菌根,从而形成兰花-菌根真菌-其他植物三者循环的营养流动关系(Martos et al., 2009)。

3.5 兰科植物与其菌根真菌之间的协同进化关系

协同进化涉及两组不同生物体之间亲密的相互作用,被认为是物种形成的一个关键驱动力,特别是当这种亲密的相互作用显示出高度的特异性时,如宿主-寄生关系及专一性的传粉关系等(Barrett, 1986)。兰科植物与其菌根真菌之间的进化关系目前还处于争议的状态。

有些学者认为,兰科植物与其菌根真菌之间不存在协同进化关系。虽然菌根相互作用确实影响了植物养分吸收策略的进化,但大多数植物并不与窄域的真菌类群发生特异性的相互作用(Molina et al., 1992),使得植物和真菌物种之间不太可能成对共同进化,即便是特异性的兰科植物-菌根真菌关系也不太可能导致共成种的分化。Roche et al. (2010)对同域发生的地生光合兰科 *Chiloglottis* 的 6 种植物进行了研究,它们有专性和高度特异的欺骗性传粉策略和菌根真菌定植关系,研究对比了专性的传粉策略与菌根关系对 *Chiloglottis* 的进化影响,结果表明专性的传粉关系而非专性的菌根关系,是导致该属植物多样化的主要原因,此项研究同时表明即便是具有高度专一性的菌根真菌定植关系的兰花,也可能不存在兰花-真菌协同进化。Xing et al. (2019)对西双版纳国家自然保护区勐仑片区的 25 属 44 种热带兰科植物与其菌根真菌的关系进行了研究,结果表明决定热带兰科植物与其菌根真菌网络结构建成的是生态约束而非宿主兰科植物系统发育关系,研究不支持兰科植物与其菌根真菌之间存在协同进化关系。

另有一些研究则认为,兰花与真菌之间高度特异的关系可能促进兰花的多样化,对于兰科植物与菌根真菌的相互作用来说,在某些显示出高度特异性的情况下,可能在某些兰科植物类群的形成中发挥了关键作用(Taylor et al., 2003)。从这类支持进化相关性的研究中可以总结出两种菌根真菌促进兰科植物物种形成的机制假说:一是菌根真菌驱动的生态地理隔离说(ecogeographic isolation)。这种假说认为居住在不同栖息地的种群与不同的菌根真菌群落发生相互作用,而菌根真菌又可能促进适应性分化,最终形成可繁殖的

孤立物种。菌根真菌群落的差异可能会导致最近分化的姊妹物种之间的生殖隔离,因为它们在一定程度上可影响这两个物种的空间分布,从而导致通过花粉或种子的基因流动在不同的地理分布区域之间受到限制(Jacquemyn et al., 2016)。二是菌根真菌介导的物种移植不可成活说(immigrant inviability)。这种假说认为菌根真菌群落不同物种栖息地间存在差异,使得一个物种无法在另一个物种的栖息地上存活,反之亦然(Nosil et al., 2005)。有大量的研究案例支持进化相关的观点。Taylor et al. (2003)对非光合作用沙漠兰花 *Hexalectris spicata* 的三个复合体的研究表明,兰科植物与菌根真菌之间的相互作用促进了兰科植物的进化多样化。Taylor & Bruns(1999)研究了珊瑚兰属的两个姊妹种 *Corallorhiza maculata* 和 *C. mertensiana* 的种群、生境及遗传背景对菌根真菌的影响,结果发现即便是在同一地区,这两个姊妹种也从共享菌根真菌,表现出极强的遗传控制性。Jacquemyn et al. (2011)对红门兰属(*Orchis*)的 16 种兰科植物及其菌根真菌的研究发现,红门兰属和胶膜菌科真菌之间的相互作用受到红门兰属物种间系统发育关系的显著影响,表明兰科植物进化过程可能是菌根结合模式的重要影响因素。Martos et al. (2012)对留尼旺岛的自然栖息地中 73 种兰科植物和 95 种菌根真菌 OTUs 进行了二维系统发育网络分析,研究发现了高度模块化的菌根关系架构,推测附生兰花与菌根真菌之间可能存在协同进化,结果表明菌根真菌是影响菌根共生系统生态组合和进化约束的重要因素。

综上所述,兰科植物与菌根真菌之间是否存在协同进化关系还悬而未决。前人的研究多针对亲缘关系密切的姊妹种或复合种与其菌根真菌进行进化验证。一方面,兰科作为一个高度进化的植物类群拥有丰富的物种多样性,物种选择的尺度过小可能不能充分阐明进化问题。另一方面,限于研究方法,已经发现的菌根真菌类群是否能够代表全部与兰科植物可能产生进化关系的真菌类群还是未解之谜。因此,还需要进一步的研究才能真正揭开兰科植物与菌根真菌或内生真菌之间的进化关系。

4 结论与展望

本文通过综合整理近年来国内外兰科菌根真菌的研究进展,提出了一些新的见解。纵观兰科菌根真菌的研究历史,兰科菌根真菌的研究可归纳为三个阶段,即经典研究阶段、早期分子生物学阶段和分子生物学高通量测序阶段。根据兰科菌根真菌特异性与否,兰科菌根真菌定植关系可分为特异性定植、广泛性定植和特异-广泛兼性定植。基于前人研究,对兰科植物与菌根真菌之间的营养关系也进行了总结,将其划分为三大类,即兰花单向利良好型、典型共生型和分工合作型。同时,对兰科菌根真菌特异性与兰科植物稀有性之间的关系及兰科菌根真菌与兰科植物之间的进化关系也进行了论述。兰科植物与其菌根真菌之间的关系是极为复杂的,虽然已有相关研究,但只是部分地揭示了其中的奥秘。本文提出的论点是否完整、正确还有待于进一步研究加以验证、补充。随着宏基因组学、宏蛋白组学、宏转录组学及代谢组学的发展,多组学相结合的研究方法将使得兰科植物与其菌根真菌之间的各种关系及机理机制进一步地被挖掘和认知。

除了已报道的兰科菌根真菌类群外,兰科植物还拥有数量更加庞大的非菌根内生真菌。非菌根内生真菌有促进兰科植物吸收根际土壤养分(Newsham, 2011; Zhao et al., 2014)、影响次级代谢物的产量和变化(Zhang et al., 2013)、保护宿主免受土壤病原体侵害(Ma et al., 2015)等作用。在未来的研究中,如何区分菌根真菌与非菌根真菌,菌根真菌与非菌根真菌之间的关系和互作模式,以及它们与宿主兰科植物之间的作用机制值得思考。兰科植物菌根中还存在大量的益生菌,这些内生细菌对兰科植物也有积极的作用,如促进种子萌发和植株生长(Wilkinson et al., 1989, 1994)、增强植物抗逆性(Cheng et al., 2008)、促进光合作用(Tsavkelova et al., 2003)、内生固氮(Hurek et al., 2002)、分泌植物生长所需的调节物质如吡啶乙酸(Tsavkelova et al., 2005)等。然而,相对于兰科菌根真菌来说,菌根细菌的研究还远

远不够,兰科植物菌根细菌与菌根真菌之间的关系也有待于未来进一步深入研究。各类微生物群落在兰科植物根际、根内形成复杂的网络关系,兰科根际微生物-兰科根内微生物-兰科植物之间的相互关系及作用机制还有很多科学问题需要被打开和解决。

当前,我们对微生物的研究非常有限,按比例估计,仍有数万亿的微生物物种尚未被发现,同时微生物基因功能数据库也相当不完善。这使得研究学者在探索兰科内生微生物、根际微生物、土壤(或基质)微生物群落的物种构成、基因功能、代谢特征等方面的研究面临巨大的挑战。通过多组学方法整合分析多种高通量测序数据来发现未知基因、微生物物种、代谢产物等,将会提高数据库和方法论的完整性,有助于研究的推进。然而,仅依赖多组学手段并不能完全解决问题,由于大量微生物本身仍然是未知的,因此未来传统经典领域的研究也不能被忽略。

参考文献:

- ADDY HD, PIERCEY MM, CURRAH RS, 2005. Microfungal endophytes in roots [J]. *Can J Bot*, 83(1): 1-13.
- BAILAROTE BC, LIEVENS B, JACQUEMYN H, 2012. Does mycorrhizal specificity affect orchid decline and rarity? [J]. *Am J Bot*, 99(10): 1655-1665.
- BARRETT CF, FREUDENSTEIN JV, TAYLOR DL, et al., 2010. Rangewide analysis of fungal associations in the fully mycoheterotrophic *Corallorhiza striata* complex (Orchidaceae) reveals extreme specificity on ectomycorrhizal *Tomentella* (Thelephoraceae) across North America [J]. *Am J Bot*, 97(4): 628-643.
- BARRETT JA, 1986. Host-parasite interactions and systematics [J]. *Coevolution Systematics*: 1-17.
- BERNARD N, 1904. Recherches expérimentales sur les Orchidées [J]. *Revue générale de Botanique*, 16(405-451): 458-476.
- BOUGOURE JJ, BOUGOURE DS, CAIRNEY JW, et al., 2005. ITS-RFLP and sequence analysis of endophytes from *Acianthus*, *Caladenia* and *Pterostylis* (Orchidaceae) in southeastern Queensland [J]. *Mycol Res*, 109(4): 452-460.
- BRUNDRETT MC, 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations [J]. *Biol Rev*, 79(3): 473-495.
- BRUNDRETT MC, 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: Understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis [J]. *Plant Soil*, 320(1-2): 37-77.
- BRUNDRETT MC, SCADE A, BATTY AL, et al., 2003. Development of *in situ* and *ex situ* seed baiting techniques to

- detect mycorrhizal fungi from terrestrial orchid habitats [J]. *Mycol Res*, 107(10): 1210–1220.
- BRUNDRETT MC, TEDERSOO L, 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity [J]. *New Phytol*, 220(4): 1108–1115.
- CAMERON DD, LEAKE JR, READ DJ, 2006. Mutualistic mycorrhiza in orchids: Evidence from plant-fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens* [J]. *New Phytol*, 171(2): 405–416.
- CEVALLOS S, HERRERA P, SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ A, et al., 2018. Untangling factors that drive community composition of root associated fungal endophytes of neotropical epiphytic orchids [J]. *Fungal Ecol*, 34: 67–75.
- CEVALLOS S, SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ A, DECOCK C, et al., 2017. Are there keystone mycorrhizal fungi associated to tropical epiphytic orchids? [J]. *Mycorrhiza*, 27(3): 225–232.
- CHASE MW, 2001. The origin and biogeography of Orchidaceae [J]. *Genera orchidacearum*, 2: 1–5.
- CHEN XF, 2014. The preliminary trial of EGFP-labeled transformation of mycorrhizal fungus and its symbiotic relationship with *Bletilla ochracea* Schltr. (Orchidaceae) [D]. Guizhou: Guizhou Normal University. [陈晓芳, 2014. 兰科菌根真菌与兰科植物黄花白及的共生关系研究及绿色荧光蛋白标记体系的初步构建 [D]. 贵州: 贵州师范大学.]
- CHEN XQ, LIU ZJ, LUO YB, 2009. Chinese orchid identification manual [M]. Beijing: China Forestry Publishing. [陈心启, 刘仲健, 罗毅波, 2009. 中国兰科植物鉴别手册 [M]. 北京: 中国林业出版社.]
- CHENG P, ZHENG YL, LI YJ, et al., 2008. Study on Biocontrol of *Dendrobium* leaf spot caused by *Fusarium* [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 4(9): 357–361. [程萍, 郑燕玲, 黎永坚, 等, 2008. 石斛兰镰刀菌叶斑病的生物防治研究 [J]. *中国农学通报*, 4(9): 357–361.]
- CHUKALO CE, KRISHNA CR, 2018. Endophytic mycoflora and their bioactive compounds from *Azadirachta indica*: A comprehensive review [J]. *J Fungi*, 4(42): 1–12.
- CRIBB PJ, KELL SP, DIXON KW, 2003. Orchid conservation: A global perspective [J]. *Orchid Conserv*, 7(324): 1–24.
- CUI YH, YU ZH, 2011. A preliminary study on diversity of mycorrhizal fungi of *Cymbidium goeringii* and *Cymbidium faberi* [C] // Guangzhou: The Fifth General Assembly and Academic Annual Meeting of Chinese Society of Fungi: 155. [崔亚华, 余知和, 2011. 春兰和蕙兰菌根真菌多样性的初步研究 [C] // 广州: 中国菌物学会第五届会员代表大会暨学术年会: 155.]
- CURRAH RS, 1989. Mycorrhizae and mycorrhizal fungi of boreal species of *Platanthera* and *Coeloglossum* (Orchidaceae) [J]. *Can J Bot*, 68(6): 1171–1182.
- CURRAH RS, SMRECIU EA, HAMBLETON S, 1990. Mycorrhizae and mycorrhizal fungi of boreal species of *Platanthera* and *Coeloglossum* (Orchidaceae) [J]. *Can J Bot*, 68(6): 1171–1181.
- CURRAH RS, ZELMER CD, 1992. A key and notes for the genera of fungal mycorrhizal with orchids and a new species in the genus *Epulorhiza* [J]. *Rep Tottori Mycol Instit (Japan)*, 30: 43–59.
- CURRAH RS, ZETTLER LW, MCINNIS TM, 1997. *Epulorhiza inquilina* sp. nov. from *Platanthera* (Orchidaceae) and a key to *Epulorhiza* species [J]. *Mycotaxon*, 61: 335–342.
- DEARNALEY JDW, CAMERON DD, 2017. Nitrogen transport in the orchid mycorrhizal symbiosis—further evidence for a mutualistic association [J]. *New Phytol*, 213(1): 10–12.
- DEGNAN PH, OCHMAN H, 2011. Illumina-based analysis of microbial community diversity [J]. *ISME J*, 6(1): 183–194.
- DE LONG JR, SWARTS ND, DIXON KW, et al., 2013. Mycorrhizal preference promotes habitat invasion by a native Australian orchid: *Microtis media* [J]. *Ann Bot*, 111(3): 409–418.
- DING R, CHEN XH, ZHANG LJ, 2014. Identity and specificity of Rhizoctonia-like fungi from different populations of *Liparis japonica* (Orchidaceae) in Northeast China [J]. *PLoS ONE*, 9(8): e105573.
- DURÁN-LÓPEZA ME, CAROCA-CÁCERES R, JAHREIS K, et al., 2019. The micorrryzal fungi *Ceratobasidium* sp. and *Sebacina vermifera* promote seed germination and seedling development of the terrestrial orchid *Epidendrum secundum* Jacq. [J]. *S Afr J Bot*, 125: 54–61.
- ERCOLE E, ADAMO M, RODDA M, 2015. Temporal variation in mycorrhizal diversity and carbon and nitrogen stable isotope abundance in the wintergreen meadow orchid *Anacamptis morio* [J]. *New Phytol*, 205(3): 1308–1319.
- FAN L, 1998. Fungi endophyte from orchid mycorrhizae in China [J]. *J Shanxi Univ (Nat Sci Ed)*, 21(2): 169–177. [范黎, 1998. 我国部分兰科植物菌根的内生真菌种类研究 [J]. *山西大学学报(自然科学版)*, 21(2): 169–177.]
- FOCHI V, CHITARRA W, KOHLER A, et al., 2017. Fungal and plant gene expression in the *Tulasnella calospora-Serapias vomeracea* symbiosis provides clues about nitrogen mycorrhizas [J]. *New Phytol*, 213(1): 365–379.
- FRACCHIA S, ARANDA-RICKERT A, FLACHSLAND E, et al., 2014. Mycorrhizal compatibility and symbiotic reproduction of *Gavilea australis*, an endangered terrestrial orchid from south Patagonia [J]. *Mycorrhiza*, 24(8): 627–634.
- FRANK B, 1885. Über die auf Wurzelymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze [J]. *Berichte der Deutschen Botanischen Gessellschaft*, 3: 128–145.
- FU YJ, ZHANG J, FU QY, et al., 2019. Diversity of rhizospheric fungi and potential orchid mycorrhizas on *Cypripedium macranthum* estimated by clone library technique [J]. *SW Chin J Agric Sci*, 32(3): 117–122. [付亚娟, 张剑, 付琦媛, 等, 2019. 大花杓兰根际土壤真菌及兰科菌根真菌多样性分析 [J]. *西南农业学报*, 32(3): 117–122.]
- FUJIMORI S, JUNICHI PA, OKANE I, et al., 2019. Three new species in the genus *Tulasnella* isolated from orchid mycorrhiza of *Spiranthes sinensis* var. *amoena* (Orchidaceae) [J]. *Mycoscience*, 60: 71–81.
- GAI XG, XING XK, GUO SX, 2014. Ecological research of orchid mycorrhizae: a review [J]. *Mycosystema*, 33(4): 753–767. [盖雪鸽, 邢晓科, 郭顺星, 2014. 兰科菌根生态学研究进展 [J]. *菌物学报*, 33(4): 753–767.]

- GIRLANDA M, SELOSSE MA, CAFASSO D, 2010. Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae [J]. *Mol Ecol*, 15(2): 491–504.
- GIVNISH TJ, SPALINK D, AMES M, et al., 2016. Orchid historical biogeography, diversification, Antarctica and the paradox of orchid dispersal [J]. *J Biogeogr*, 43 (10): 1905–1916.
- GONZÁLEZ-CHÁVEZ MCA, TORRES-CRUZ TJ, SÁNCHEZ SA, et al., 2017. Microscopic characterization of orchid mycorrhizal fungi: Scleroderma as a putative novel orchid mycorrhizal fungus of *Vanilla* in different crop systems [J]. *Mycorrhiza*, 28(2): 147–157.
- GUO SX, FAN L, 1999. A new species of mycorrhizal fungi — *Mycena dendrobii* [J]. *Mycosystema*, 18(2): 141. [郭顺星, 范黎, 1999. 菌根真菌一新种——石斛小菇 [J]. *菌物学报*, 18(2): 141–144.]
- HADLEY G, PURVES S, 1974. Movement of ¹⁴carbon from host to fungus in orchid mycorrhiza [J]. *New Phytol*, 73(3): 475–482.
- HANDELSMAN J, RONDON MR, BRADY SF, 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes a new frontier for natural products [J]. *Chem Biol (London)*, 5(10): 245–249.
- HERRERA P, SUÁREZ JP, KOTTKE I, 2010. Orchids keep the Ascomycetes outside: A highly diverse group of Ascomycetes colonizing the velamen of epiphytic orchids from a tropical mountain rainforest in Southern Ecuador [J]. *Mycology*, 1(4): 262–268.
- HERRERA P, SUÁREZ JP, SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ A, et al., 2019. Many broadly-shared mycobionts characterize mycorrhizal interactions of two coexisting epiphytic orchids in a high elevation tropical forest [J]. *Fungal Ecol*, 39: 26–36.
- HIJNER JA, ARDITTI J, 1973. Orchid mycorrhiza: Vitamin production and requirements by the symbionts [J]. *Am J Bot*, 60(8): 829–835.
- HOU TW, 2010. Mycorrhizal fungi diversity of dominant orchids in the Huanglong Valley, Sichuan [D]. Beijing: Beijing Forestry University. [侯天文, 2010. 四川黄龙沟优势兰科植物菌根真菌多样性研究 [D]. 北京: 北京林业大学.]
- HUREK T, HANDLEY LL, REINHOLD-HUREK B, et al., 2002. *Azoarcus* grass endophytes contribute fixed nitrogen to the plant in an unculturable state [J]. *Mol Plant Microbe Interaction*, 15(3): 233–242.
- ILLYES Z, OUANPHANIVANH N, RUDNOY S, 2010. The most recent results on orchids mycorrhizal fungi in Hungary [J]. *Acta Biol Hung*, 61(1): 68–76.
- JACQUEMYN H, BRYS R, VINCENT SFTM, 2014. Coexisting orchid species have distinct mycorrhizal communities and display strong spatial segregation [J]. *New Phytol*, 202(2): 616–627.
- JACQUEMYN H, HONNAY O, CAMMUE BPA, et al., 2010. Low specificity and nested subset structure characterize mycorrhizal associations in five closely related species of the genus *Orchis* [J]. *Mol Ecol*, 19(18): 4086–4095.
- JACQUEMYN H, MERCKX V, BRYS R, et al., 2011. Analysis of network architecture reveals phylogenetic constraints on mycorrhizal specificity in the genus *Orchis* (Orchidaceae) [J]. *The New Phytol*, 192(2): 518–528.
- JACQUEMYN H, WAUD M, LIEVENS B, et al., 2016. Differences in mycorrhizal communities between *Epipactis palustris*, *E. helleborine* and its presumed sister species *E. neerlandica* [J]. *Ann Bot*, 118(1): 105.
- JACQUEMYN H, WAUD M, MERCKX VSFT, 2016. Habitat-driven variation in mycorrhizal communities in the terrestrial orchid genus *Dactylorhiza* [J]. *Sci Rep*, 6(1): 37182.
- JIANG JW, ZHANG K, CHENG S, et al., 2019. *Fusarium oxysporum* KB-3 from *Bletilla striata*: An orchid mycorrhizal fungus [J]. *Mycorrhiza*, DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00904-3>.
- JIANG YY, 2016. Optimization of fast propagation system of *Bletilla striata* and isolation-identification of mycorrhizal fungi [D]. Chongqing: Southwest University. [蒋园园, 2016. 白及快繁体系优化及菌根菌的分离鉴定 [D]. 重庆: 西南大学.]
- KHAMCHATRA N, DIXON KW, TANTIWIWAT S, 2016. Symbiotic seed germination of an endangered epiphytic slipper orchid, *Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Stein. from Thailand [J]. *S Afr J Bot*, 104: 76–81.
- KRISTIANSEN KA, TAYLOR DL, KJOLLER R, et al., 2010. Identification of mycorrhizal fungi from single pelotons of *Dactylorhiza majalis* (Orchidaceae) using single-strand conformation polymorphism and mitochondrial ribosomal large subunit DNA sequences [J]. *Mol Ecol*, 10(8): 2089–2093.
- LI GP, YANG LS, LI J, 2018. Mycorrhizal microstructure of *Cymbidium kanran* and its mycorrhizal fungi isolation and identification [J]. *J Wuyi Univ*, 37(3): 26–31. [李国平, 杨鹭生, 李娟, 2018. 寒兰菌根的显微结构与菌根真菌的分离 [J]. *武夷学院学报*, 37(3): 26–31.]
- LIU H, LUO Y, LIU H, 2010. Studies of mycorrhizal fungi of Chinese orchids and their role in orchid conservation in China-A review [J]. *Bot Rev*, 76(2): 241–262.
- LUO CW, TSEMENTZI D, KYRPIDES N, 2012. Direct comparisons of Illumina vs. Roche 454 sequencing technologies on the same microbial community DNA sample [J]. *PLoS ONE*, 7(2): e30087.
- MA XY, KANG JC, NONTACHAIYAPOOM S, et al., 2015. Non-mycorrhizal endophytic fungi from orchids [J]. *Curr Sci*, 109(1): 72–87.
- MARTOS F, DULORMNE M, PAILLER T, et al., 2009. Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids [J]. *New Phytol*, 184(3): 668–681.
- MARTOS F, MUNOZ F, PAILLER T, et al., 2012. The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids [J]. *Mol Ecol*, 21(20): 5098–5109.
- MASUHARA G, KATSUYA K, 1992. Mycorrhizal differences between genuine roots and tuberous roots of adult plants of *Spiranthes sinensis* var. *amoena* (Orchidaceae) [J]. *Botanical Magazine Shokubutsu-gaku-zasshi*, 105(3): 453–460.
- MCCORMICK MK, WHIGHAM DJ, 2004. Mycorrhizal diversity in photosynthetic terrestrial orchids [J]. *New Phytol*, 163(2): 425–438.
- MIU FJ, JIANG H, DING YD, et al., 2015. Mycorrhizal fungal diversity of 5 species of *Cypripedium* plants in Shangri-La County [J]. *J West Chin For Sci*, 44(4): 58–62. [缪福

- 俊, 蒋宏, 丁雅迪, 等, 2015. 香格里拉 5 种杓兰属植物菌根真菌的多样性分析 [J]. 西部林业科学, 44(4): 58–62.]
- MOLINA RH, MASSICOTTE, TRAPPE JM, 1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses community-ecological consequences and practical implications [M]. New York USA: Chapman and Hall: 357–423.
- MUJICA MI, SAEZ N, CISTERNAS M, et al., 2016. Relationship between soil nutrients and mycorrhizal associations of two *Bipinnula* species (Orchidaceae) from central Chile [J]. Ann Bot, 118: 149–158.
- NEWSHAM KK, 2011. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes [J]. New Phytol, 190(3): 783–793.
- NONTACHAIYAPOOM S, SASIRAT S, MANOCH L, 2010. Isolation and identification of Rhizoctonia-like fungi from roots of three orchid genera, *Paphiopedilum*, *Dendrobium*, and *Cymbidium*, collected in Chiang Rai and Chiang Mai provinces of Thailand [J]. Mycorrhiza, 20(7): 459–471.
- NOSIL P, VINES TH, FUNK DJ, 2005. Perspective: Reproductive isolation caused by natural selection against immigrants from divergent habitats [J]. Evolution, 59(4): 705–719.
- OGURA-TSUJITA Y, YUKAWA T, 2008. *Epipactis helleborine* shows strong mycorrhizal preference towards ectomycorrhizal fungi with contrasting geographic distributions in Japan [J]. Mycorrhiza, 18(6–7): 331–338.
- OKAYAMA M, YAMATO M, YAGAME T, et al., 2012. Mycorrhizal diversity and specificity in *Lecanorchis* (Orchidaceae) [J]. Mycorrhiza, 22(7): 545–553.
- PANDEY M, SHARMA J, TAYLOR DL, et al., 2013. A narrowly endemic photosynthetic orchid is non-specific in its mycorrhizal associations [J]. Mol Ecol, 22(8): 2341–2354.
- PECORARO L, HUANG L, CARUSO T, et al., 2017. Fungal diversity and specificity in *Cephalanthera damasonium* and *C. longifolia* (Orchidaceae) mycorrhizas [J]. J Syst Evol, 55(2): 158–169.
- PEREIRA OL, KASUYA MCM, BORGES AC, et al., 2005. Morphological and molecular characterization of mycorrhizal fungi isolated from neotropical orchids in Brazil [J]. Can J Bot, 83(1): 54–65.
- PEROTTO S, RODDA M, BENETTI A, et al., 2014. Gene expression in mycorrhizal orchid protocorms suggests a friendly plant-fungus relationship [J]. Planta, 239(6): 1337–1349.
- PHILLIPS RD, BARRETT MD, DIXON KW, 2011. Do mycorrhizal symbioses cause rarity in orchids? [J]. J Ecol, 99(3): 858–869.
- QIN J, ZHANG W, GE Z, et al., 2019. Molecular identifications uncover diverse fungal symbionts of *Pleione* (Orchidaceae) [J]. Fungal Ecol, 37: 19–29.
- RASMUSSEN HN, WHIGHAM DF, 1993. Seed ecology of dust seeds *in situ*: A new study technique and its application in terrestrial orchids [J]. Am J Bot, 80(12): 1374–1378.
- ROBERTS DL, DIXON KW, 2008. Orchids [J]. Curr Biol, 18(8): 325–329.
- ROCHE SA, CARTER RJ, PEAKALL R, et al., 2010. A narrow group of monophyletic *Tulasnella* (Tulasnellaceae) symbiont lineages are associated with multiple species of *Chiloglottis* (Orchidaceae): Implications for orchid diversity [J]. Am J Bot, 97(8): 1313–1327.
- SARSAIYA S, SHI J, CHEN J, 2019. A comprehensive review on fungal endophytes and its dynamics on Orchidaceae plants: Current research, challenges, and future possibilities [J]. Bioengineered, 10(1): 316–334.
- SHEFFERSON RP, KULL T, TALI K, 2008. Mycorrhizal interactions of orchids colonizing Estonian mine tailings hills [J]. Am J Bot, 95(2): 156–164.
- SHEFFERSON RP, TAYLOR DL, WEISS M, et al., 2007. The evolutionary history of mycorrhizal specificity among lady's slipper orchids [J]. Evolution, 61(6): 1380–1390.
- SHEFFERSON RP, WEISS M, KULL T, et al., 2005. High specificity generally characterizes mycorrhizal association in rare lady's slipper orchids, genus *Cypripedium* [J]. Mol Ecol, 14(2): 613–626.
- SMITH SE, 1966. Physiology and ecology of orchids mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition [J]. New Phytol, 65(4): 488–499.
- SMITHSE, READ D, 2008. Mycorrhizal symbiosis, 3rd ed [M]. 3rd ed. London: UK: Academic Press: 419–457.
- SONG Z, 2017. Research on symbiotic relationship of *Dendrobium* sp. and *Tulasnella calospora* [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry Sciences. [宋争, 2017. 石斛与美孢胶膜菌共生关系研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院.]
- SOUSA KCI, ARAÚJO LG, SILVA C, et al., 2019. Original paper / Artigo original seed germination and development of orchid seedlings (*Cyrtopodium saintlegerianum*) with fungi [J]. Rodriguésia, DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201970004>.
- STEINFORT U, VERDUGO G, BESOAIN X, et al., 2010. Mycorrhizal association and symbiotic germination of the terrestrial orchid *Bipinnula fimbriata* (Poepp.) Johnst (Orchidaceae) [J]. Flora (Jena), 205(12): 800–817.
- SUN XY, 2014. Diversity of mycorrhizal fungi isolated from five species of the genus *Paphiopedilum* [D]. Beijing: Beijing Forestry University. [孙晓颖, 2014. 五种野生兜兰植物菌根真菌多样性研究 [D]. 北京: 北京林业大学.]
- SWARTS ND, SINCLAIR EA, FRANCIS A, et al., 2010. Ecological specialization in mycorrhizal symbiosis leads to rarity in an endangered orchid [J]. Mol Ecol, 19(15): 3226–3242.
- TAYLOR DL, BRUNS TD, 1997. Independent, specialized invasions of the ectomycorrhizal mutualism by two non-photosynthetic orchids [J]. Proc Nat Acad Sci, 94(9): 4510–4515.
- TAYLOR DL, BRUNS TD, 1999. Population, habitat and genetic correlates of mycorrhizal specialization in the 'cheating' orchids *Corallorhiza maculata* and *C. mertensiana* [J]. Mol Ecol, 8(10): 1719–1732.
- TAYLOR DL, BRUNS TD, SZARO TM, et al., 2003. Divergence in mycorrhizal specialization within *Hexaletris spicata* (Orchidaceae), a nonphotosynthetic desert orchid [J]. Am J Bot, 90(8): 1168–1179.
- TAYLOR DL, MCCORMICK MK, 2008. Internal transcribed spacer primers and sequences for improved characterization of basidiomycetous orchid mycorrhizas [J]. New Phytol,

- 177(4): 1020–1033.
- TRINGE SG, MERING CV, KOBAYASHI A, et al., 2005. Comparative metagenomics of microbial communities [J]. *Science*, 308(5721): 554–557.
- TRINGE SG, RUBIN EM, 2005. Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples [J]. *Nat Rev Genet*, 6(11): 805–814.
- TSAVKELOVA EA, CHERDYNTSEVA TA, NETRUSOV AI, 2005. Auxin production by bacteria associated with orchid roots [J]. *Microbiology*, 74(1): 46–53.
- TSAVKELOVA EA, LOBAKOVA ES, KOLOMEITSEVA GL, et al., 2003. Localization of associative cyanobacteria on the roots of epiphytic orchids [J]. *Microbiology*, 72(1): 86–91.
- VALADARES RB, PEREIRA MC, OTERO JT, et al., 2012. Narrow fungal mycorrhizal diversity in a population of the orchid *Coppensia doniana* [J]. *Biotropica*, 44(1): 114–122.
- VAN DER HEIJDEN MGA, MARTIN FM, SELOSSE MA, et al., 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future [J]. *New Phytol*, 205(4): 1406–1423.
- VÁZQUEZ AM, 2001. Insight into somaclonal variation [J]. *Plant Biosyst*, 135(1): 57–62.
- WANG XG, LU JS, ZHOU ZG, et al., 2016. Isolation and preliminary identification of mycorrhizal fungi from *Paphiopedilum hirsutissimum* (Orchidaceae) [J]. *SW Chin J Agric Sci*, 29(2): 316–319. [王晓国, 卢家仕, 周主贵, 等, 2016. 带叶兜兰菌根真菌分离和初步鉴定 [J]. *西南农业学报*, 29(2): 316–319.]
- WARCUP J, TALBOT P, 1967. Perfect state of Rhizoctonias associated with orchids [J]. *New Phytol*, 66(4): 631–641.
- WATERMAN RJ, BIDARTONDO MI, STOFBERG J, et al., 2011. The effects of above-and belowground mutualisms on orchid speciation and coexistence [J]. *Am Nat*, 177(2): 54–68.
- WAUD M, BUSSCHAERT P, RUYTERS S, et al., 2014. Impact of primer choice on characterization of orchid mycorrhizal communities using 454 pyrosequencing [J]. *Mol Ecol Res*, 14(4): 679–699.
- WILKINSON KG, DIXON KW, SIVASITHAMPARAM K, 1989. Interaction of soil bacteria, mycorrhizal fungi and orchid seed in relation to germination of Australian orchids [J]. *New Phytol*, 112(3): 429–435.
- WILKINSON KG, DIXON KW, SIVASITHAMPARAM K, et al., 1994. Effect of IAA on symbiotic germination of an Australian orchid and its production by orchid-associated bacteria [J]. *Plant Soil*, 159(2): 291–295.
- XING X, JACQUEMYN H, GAI X, et al., 2019. The impact of life form on the architecture of orchid mycorrhizal networks in tropical forest [J]. *Oikos*, DOI: <https://doi.org/10.1111/oik.06363>.
- XU L, 2016. Research on mechanisms of symbiosis formed by *Epidendrum secundum* and *Tulasnella* spp. [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry Sciences. [许璐, 2016. 树兰 (*Epidendrum secundum*) 与胶膜菌属真菌的共生机制研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院.]
- YAGAME T, FUNABIKI E, YUKAWA T, et al., 2018. Identification of mycobionts in an achlorophyllous orchid, *Cremastra aphylla* (Orchidaceae) based on molecular analysis and basidioma morphology [J]. *Mycoscience*, 59(1): 18–23.
- YAMATO M, YAGAME T, SUZUKI A, et al., 2005. Isolation and identification of mycorrhizal fungi associating with an achlorophyllous plant *Epipogium roseum* (Orchidaceae) [J]. *Mycoscience*, 46(2): 73–77.
- YANG HT, 2015. Screening and Functional Characterization of Endophytic mycorrhizal fungus in *Dendrobium officinale* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [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.]
- YEH CM, CHUNG KM, LIANG CK, et al., 2019. New insights into the symbiotic relationship between orchids and fungi [J]. *Appl Sci*, 9(3): 585.
- YI J, CHEN J, ZHANG QX, 2017. The composition and diversity analysis on mycorrhizal fungi from four *Paphiopedilum* species in Xingyi Guihzou [C] // *Advances in ornamental horticulture of China*: 75–80. [裔景, 程瑾, 张启翔, 2017. 贵州兴义四种兜兰属植物菌根真菌的组成与多样性分析 [C] // *中国观赏园艺研究进展*: 75–80.]
- YODER JA, ZETTLER LW, STEWART SL, 2000. Water requirements of terrestrial and epiphytic orchid seeds and seedlings, and evidence for water uptake by means of mycotrophy [J]. *Plant Sci*, 156(2): 145–150.
- YU J, ZHOU XF, YANG SJ, et al., 2013. Design and application of specific 16s rDNA-targeted primers for assessing endophytic diversity in *Dendrobium officinale* using nested PCR-DGGE [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97(22): 9825–9836.
- YUAN L, YANG ZL, LI SY, et al., 2009. Mycorrhizal specificity, preference, and plasticity of six slipper orchids from South Western China [J]. *Mycorrhiza*, 20(8): 559–571.
- YUKAWA T, OGURA-TSUJITA Y, SHEFFERSON RP, et al., 2009. Mycorrhizal diversity in *Apostasia* (Orchidaceae) indicates the origin and evolution of orchid mycorrhiza [J]. *Am J Bot*, 96(11): 1997–2009.
- ZELMER CD, CURRAH R, 1995. *Ceratorhiza pernacatena* and *Epulorhiza calendulina* spp. nov.: Mycorrhizal fungi of terrestrial orchids [J]. *Can J Bot*, 73(12): 1981–1985.
- ZHANG FS, LV YL, ZHAO Y, et al., 2013. Promoting role of an endophyte on the growth and contents of kinsenosides and flavonoids of *Anoectochilus formosanus* Hayata, a rare and threatened medicinal Orchidaceae plant [J]. *J Zhejiang Univ-Sci B*, 14(9): 785–792.
- ZHAO XL, YANG JZ, LIU S, et al., 2014. The colonization patterns of different fungi on roots of *Cymbidium hybridum* plantlets and their respective inoculation effects on growth and nutrient uptake of orchid plantlets [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 30(7): 1993–2003.
- ZHU GS, 2009. Study and application of symbiotic fungi of *Cremastra appendiculata* and *Pleione bulbocodioides* in Guizhou Province [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University: 1–193. [朱国胜, 2009. 贵州特色药用兰科植物杜鹃兰和独蒜兰共生真菌研究与应用 [D]. 武汉: 华中农业大学: 1–193.]