

丁雅迪,刘绍雄,毛德昌,等. 思茅松菌根内生真菌多样性研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(12):369-373.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.115

思茅松菌根内生真菌多样性研究

丁雅迪¹,刘绍雄²,毛德昌¹,吴正富¹,熊智¹

(1. 西南林业大学生命科学学院,云南昆明 650224;2. 中华全国供销合作总社昆明食用菌研究所,云南昆明 650221)

摘要:开展思茅松菌根内生真菌多样性研究,为促进思茅松的生长及品质改良提供理论基础。采用组织分离法对思茅松菌根内生真菌进行分离纯化,再对分离得到的菌根内生真菌进行形态显微结构观察及 rDNA ITS 序列分析。结果表明,从思茅松菌根中共分离得到 67 株菌根内生真菌,隶属于 13 个属 16 个种。17 株为 *Penicillium* sp., 12 株为 *Umbelopsis* sp., 10 株为 *Meyerozyma guilliermondii*, 分离比率分别为 25.37%、17.91%、14.93%。思茅松菌根内生真菌具有丰富的多样性,其中 *Penicillium* sp.、*Umbelopsis* sp.、*Meyerozyma guilliermondii* 可能为优势菌群。

关键词:思茅松;菌根;内生真菌;多样性

中图分类号:S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)12-0369-05

思茅松(*Pinus kesiya* var. *langbianensis*)是云南省特有树种,主要分布于云南省的思茅林区^[1],具有种植面积广、生长速度快、木材蓄积量多、产脂量高等特点^[2-3]。思茅松木材广泛应用于建筑、家具、造纸与工业等方面,其松脂又是松香和松节油生产的原材料,在胶黏剂、涂料、油墨、合成橡胶以及食品与医药的研发与生产中具有很大的应用价值和潜力^[4-7]。因此思茅松在云南省林业产业结构占有举足轻重的地位,对云南省经济的可持续发展有重要的意义。近年来由于人类对思茅松的过量采伐及思茅松采脂强度的不断增加,使得现存的思茅松天然林面积锐减,产量低而不稳定,不利于经济的可持续发展,亟待进行高效优质的思茅松高产脂林的营建^[8-10]。现阶段对高产脂优树的研究主要集中于遗传改良^[11-13]、育苗造林^[14-15]及病虫害防治^[16-19]等方面开展。而目前从微生物角度出发对思茅松种质资源提高的研究未有报道。菌根(mycorrhizas)是植物根系与菌根真菌形成的互惠共生体,菌根通过促进思茅松养分吸收,改善土壤理化性质,提高思茅松水分的利用效率来改善思茅松的生长环境,增加思茅松抗逆性,进而提高思茅松品质,增加思茅松的出货率和产

量^[20]。内生真菌生活环境独特,它能够促进宿主植物的生长,即产生抗药性物质^[21],增强宿主植物抗旱性、提高宿主植物对重金属的耐受性等^[22]。采用纯培养技术、形态学和 rDNA-ITS 序列分析对思茅松菌根内生真菌进行分离鉴定,筛选出优势菌株,为思茅松的生长、松脂产量的提高及木材品质的改善提供更有价值的理论基础,并为营建高效优质的思茅松高产脂林的生态恢复与重建中的应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试思茅松根系采自云南省林业科学院普文林场,采集根样时选取须根,避免破坏主根,将样根连同泥土装入无菌袋中,带回实验室置于 4℃ 冰箱中保存备用。

马铃薯琼脂培养基(PDA)配方见参考文献[23]。孟加拉红培养基配方见参考文献[24]。马丁培养基配方见参考文献[25]。Ezup 柱式基因组 DNA 抽提试剂盒(真菌)及 2×Taq PCR Master Mix 等均由生工生物工程(上海)股份有限公司提供。

1.2 试验方法

1.2.1 思茅松菌根内生真菌的分离纯化 选取新鲜思茅松须根,将须根用纱布包好经流动自来水冲洗干净后,用 75% 乙醇处理 30 s,无菌水 2~3 次,用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 15 s,无菌水刷洗 4~5 次,再用灭菌滤纸将根上的水吸干,无菌解剖刀将须根切成 3 mm 长的根段,舍弃须根两端根段,分别接种于 PDA 培养基、马丁培养基、孟加拉红培养基中,每个

收稿日期:2015-05-16

基金项目:林业公益性行业科研项目(编号:201304105);云南省优势特色重点学科生物学一级学科科技创新基金(编号:50097505)。

作者简介:丁雅迪(1989—),女,硕士研究生,主要从事资源微生物开发利用研究。E-mail:1203685364@qq.com。

通信作者:熊智,教授,博士生导师,主要从事微生物学和分子生物学、农林产品二次资源利用研究。E-mail:zhix@swfu.edu.cn。

[3] 蒋治国,堵燕钰,王博超,等. 氮磷流失生态拦截工程的绩效评价试验[J]. 农业环境与发展,2009(6):47-48,64.

[4] 胡宏祥,朱小红,黄界颖,等. 关于沟渠生态拦截氮磷的研究[J]. 水土保持学报,2010,24(2):141-145.

[5] 赵建宁,张贵龙,刘红梅,等. 农田排水氮磷拦截潜流坝的设计与运行[J]. 农业工程学报,2013,29(2):88-92.

[6] 杨伟球,吴钰明. 太湖流域典型蔬菜地氮磷流失生态拦截工程的实施与成效[J]. 安徽农业科学,2011,39(31):19402-19404.

[7] 姜翠玲,范晓秋,章亦兵. 农田沟渠挺水植物对 N、P 的吸收及二次污染防治[J]. 中国环境科学,2004,24(6):63-67.

[8] 徐红灯,席北斗,王京刚,等. 水生植物对农田排水沟渠中氮、磷的截留效应[J]. 环境科学研究,2007,20(2):84-88.

[9] 杨伟球,秦伟,束剑华. 苏州市农田径流氮磷生态拦截工程实施现状与思考[J]. 宁夏农林科技,2011,52(8):43-44,46.

[10] 张贵龙,赵建宁,刘红梅,等. 不同水生植物对富营养化水体无机氮吸收动力学特征[J]. 湖泊科学,2013,25(2):221-226.

培养皿放 4 个根段,并设置空白对照试验,即用已灭菌镊子夹取消毒完根段分别置于 3 种培养基上滚动数次,置于 28 ℃ 恒温培养箱培养 4 d,若无菌落生长,则表明样品根段消毒合格^[26]。为抑制细菌及放线菌的生长,配置这 3 种培养基时于灭菌前每升培养基中分别加入 1% 氯霉素溶液 3 mL^[27]。28 ℃ 下恒温培养,经多次分离纯化培养后得到单一菌株,分别转接于 PDA 试管斜面培养基,4 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 菌根内生真菌形态观察 采用常规点接种法和插片培养法观察菌根内生细菌的形态结构特征^[28]。参照《真菌鉴定手册》^[29]及《中国真菌总汇》^[30],初步确定内生真菌的种属地位。

1.2.3 菌株 DNA 提取及 ITS PCR 扩增 采用 Ezup 柱式基因组 DNA 抽提试剂盒(真菌)提取思茅松菌根内生真菌基因组 DNA,经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后,将其作为 ITS 序列 DNA 扩增的模板。ITS 序列 PCR 扩增引物、体系及条件参照赵欣宇等方法^[31]。取 4.0 μL PCR 扩增产物通过 1.2% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。其余产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司纯化并测序。采用 MEGA5.1 软件进行多序列的比对,比对结果进行系统发育树的构建,以确定菌株的种属地位。

2 结果与分析

2.1 思茅松内生真菌分离结果

通过 PDA 培养基、马丁培养基及孟加拉红培养基对思茅松菌根进行内生真菌的分离纯化,共分离得到 67 株菌根内生真菌。每种培养基分离到的内生真菌数量、种数见表 1。由表 1 可知,培养基种类的不同,其内生真菌的分离率和种数差异较大。PDA 培养基分离思茅松菌根内生真菌的效率最高,分离率达到 65.67%,种数为 8。而使用马丁培养基分离思茅

松菌根内生真菌,其分离率及种数均明显减少,分离率为 8.96%,种数为 3。使用孟加拉红培养基分离出 5 种内生真菌。因此 3 种培养基的有效利用使得分离出的思茅松菌根内生真菌具有丰富的多样性。

表 1 内生真菌分离结果

培养基	内生真菌总数 (株)	分离率 (%)	内生真菌种数
PDA 培养基	44	65.67	8
孟加拉红培养基	17	25.37	5
马丁培养基	6	8.96	3

2.2 内生真菌形态鉴定

从思茅松菌根中共分离得到 67 株内生真菌,经分离纯化后将分离的内生真菌初步合并为 16 种形态型,命名为 SMS01 ~ SMS16。根据菌落形态特征(图 1)及菌丝或孢子(图 2)等显微结构特征(表 2),初步判定 SMS01 与 SMS11 为 *Trichoderma* sp., SMS02 为 *Mortierella* sp., SMS03 为 *Aspergillus* sp., SMS04 与 SMS09 为 *Penicillium* sp., SMS05 与 SMS08 为 *Umbelopsis* sp., SMS06 为 *Meyerozyma* sp., SMS07 为 *Neurospora* sp., SMS10 为 *Rhizopus* sp., SMS12 为 *stagonosporopsis* sp., SMS13 为 *Pestalotiopsis* sp., SMS14 为 *Lrpex* sp., SMS15 为 *Phanerochaete* sp., SMS16 为 *Fusarium* sp.。部分菌株经形态结构特征不易鉴定,因此需结合分子生物学进行鉴定。从表 2 可以看出,分离的 67 株菌根内生真菌中,菌株 *Penicillium* sp.、*Umbelopsis* sp.、*Meyerozyma* sp. 为优势菌群,分离比率分别为 25.37%、17.91%、14.93%;菌株 *Mortierella* sp.、*Rhizopus* sp.、*Trichoderma* sp. 及 *Fusarium* sp. 分离比率分别为 10.45%、7.46%、5.97% 及 5.97%;其他种群的分离比率均低于 5.97%。表明思茅松菌根内生真菌具有丰富的多样性。

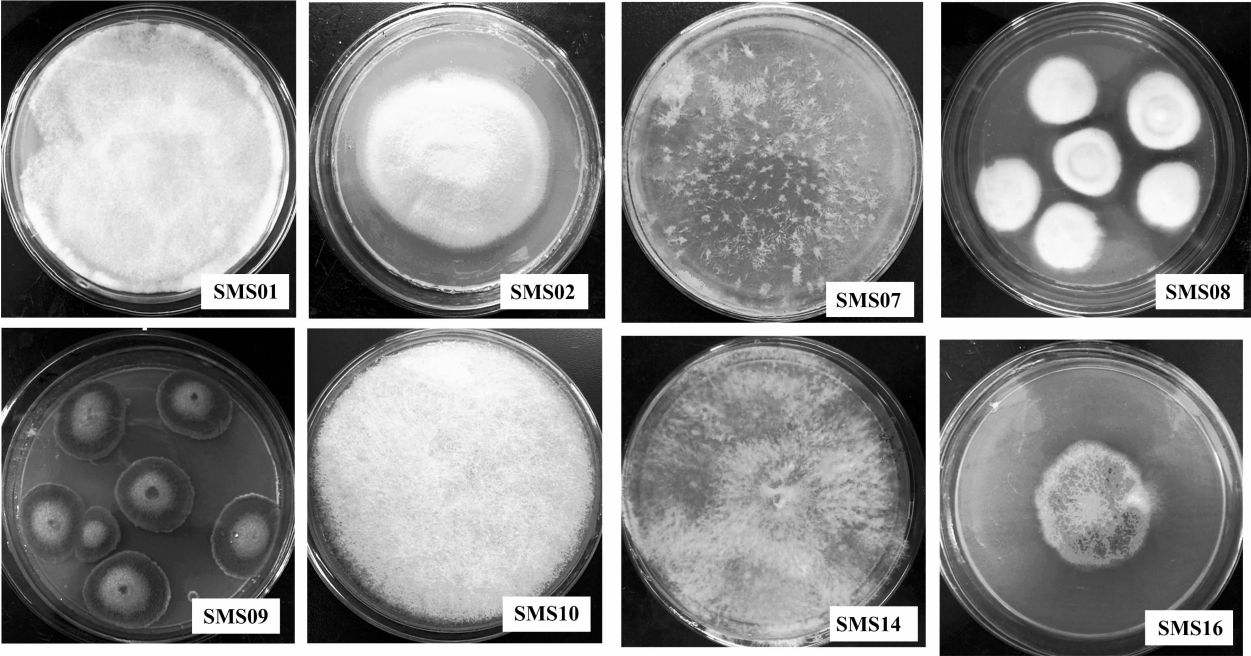


图 1 部分菌根内生真菌菌落形态

2.2 内生真菌 rDNA ITS 区段 PCR 扩增

将分离出的思茅松菌根内生真菌进行 DNA 的提取,检测

其浓度及纯度合格后,以真菌通用引物 ITS1 和 ITS4 进行 ITS 区段的 PCR 扩增,在 1.2% 的琼脂糖凝胶上进行电泳,4S

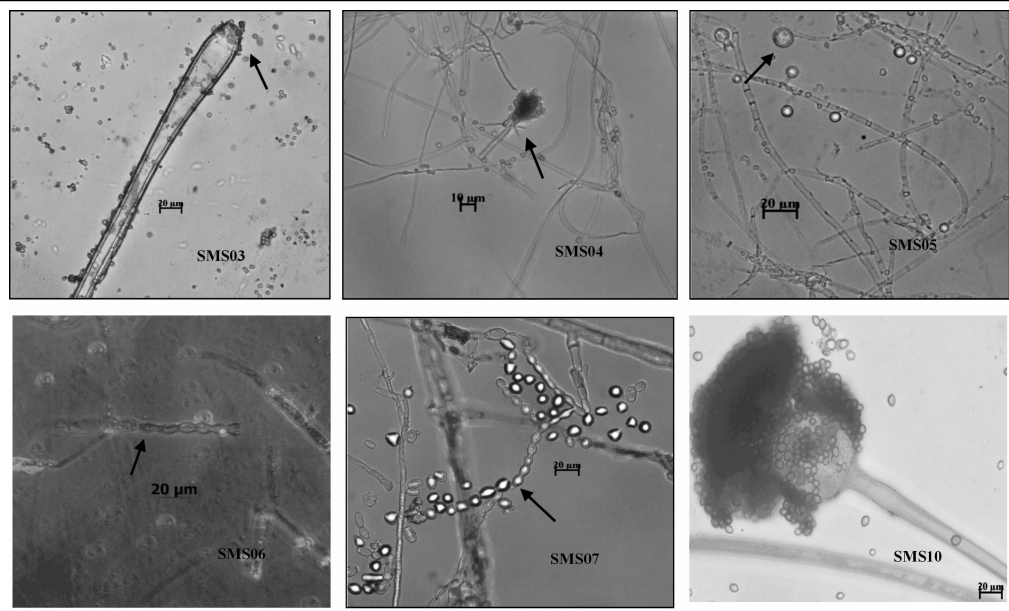


图2 部分菌根内生真菌的显微结构特征

表 2 内生真菌形态学特征

菌株编号	主要特征	数目 (株)	分离比率 (%)
SMS01	菌落密集如毡,布满整个培养皿;气生菌丝羊绒状,乳白色,背面黄色;厚垣孢子产生于幼嫩菌丝的侧枝上,单生;分生孢子梗从菌丝侧枝生出,直立,分枝,小枝常对生,梗基部粗壮,顶端逐渐变细并呈螺旋状;分生孢子绿色,椭圆形,表面光滑。	2	2.99
SMS02	菌落致密,短绒毛状,气生菌丝不发达,菌丝匍匐潜生或紧靠基物表面生长,正面粉色,背面肉色;分生孢子梗较长,孢囊梗直立,顶生孢子囊,孢子囊球形,无囊轴,膜易破,成熟时消融,孢子囊多孢子,孢子小;孢囊孢子单细胞,球形,有刺。	7	10.45
SMS03	菌落致密,初为白色,后期为黑色厚绒状,背面无色或中间略带黄褐色;菌丝发达,呈褐黑色;分生孢子梗长短不一,从足细胞(厚壁而膨大的菌丝细胞)垂直向上生出,无隔膜,梗顶部膨大形成棍棒状至球形的顶囊,顶囊上着生小梗,小梗单层或双层;分生孢子为球形,呈黑色或褐黑色。	3	4.48
SMS04	菌落致密,绒毛状,边缘呈黄色,中央呈深绿色,背面呈深红色,并扩散于基质中;分生孢子梗无色,由菌丝上直接生出,无足细胞;梗常呈扫帚状分枝;产孢瓶体顶生;分生孢子单胞,椭圆形至近球形,串生。	9	13.43
SMS05	菌落致密,绒毛状,初为乳白色,后期为粉红色与乳白色相间,中间高,边缘低;菌丝发达,孢囊梗直立,较长,多基部分枝,单生,顶生球形孢子囊。	6	8.96
SMS06	菌落致密,绒毛状,灰白乳酪样菌落;有较多假菌丝,部分假菌丝为念珠状长椭圆形细胞,假菌丝芽生孢子,厚膜孢子;卵圆形芽生细胞串生。	10	14.93
SMS07	菌落疏松,黄色柳絮状;气生菌丝发达,疏松网状的长菌丝,有隔膜、分枝、多核;分生孢子团黄色至淡橙色,串生成链。	1	1.49
SMS08	菌落致密,天鹅绒状,边缘反卷;气生菌丝发达,孢囊梗多分支,较短,顶生球形孢子囊。	6	8.96
SMS09	菌落致密,绒状兼絮状,正面边缘呈深绿色,中间呈灰色,反面乳白色;分生孢子梗从菌丝垂直生出,无足细胞,帚状枝不规则双轮生,叉开,在近末端或中间偶有副枝;分生孢子椭圆形至球形,壁粗糙或平滑;分生孢子链长,纠缠。	8	11.94
SMS10	菌落质地疏松,呈放射性生长,菌落初呈白色,后产生大量黑色孢子,菌丝生长较快,生长 3 d 可长满整个培养皿;菌落正反面颜色无差异;孢囊梗与假根相对,生于匍匐丝节上,单生或丛生,孢子囊近球形,囊轴头状,内含大量孢囊孢子,孢囊孢子为单胞,扁球状。	5	7.46
SMS11	菌落致密,毡状,白色;菌丝匍匐潜生或紧靠基物表面生长;在分生孢子梗主根常不分枝,粗壮,顶端常生单一瓶梗;瓶梗安瓿形,多轮生、少单生于分生孢子梗上;分生孢子绿色,较多,椭圆形至短柱形。	2	2.99
SMS12	菌落致密,短绒毛状;正面呈灰白色,背面呈浅黄色。	1	1.49
SMS13	菌落致密,短绒毛状,布满整个培养皿;初为乳白色,后期为黄色;背面呈暗黄色,分泌黄色色素;气生菌丝发达,有隔,偶有隔膜间膨大,呈结状体,互生;分生孢子梗轮状分枝,分生孢子顶生。	1	1.49
SMS14	菌落疏松,绒毛状,乳白色,长满整个培养皿;气生菌丝发达,菌丝有隔;分生孢子平滑,椭圆形。	1	1.49
SMS15	菌落致密,短绒毛状,乳白色,长满整个培养皿。	1	1.49
SMS16	菌落致密,绒毛状,初呈白色,后期呈紫色,分泌紫色色素,背面呈暗紫色;小型分生孢子较多,多为单胞,卵圆形至肾形,散生于菌丝间;大型分生孢子较少,多胞,多有 3 个隔膜,纺锤形至镰刀形,厚垣孢子球形。	4	5.97

Green Nucleic Acid 染色,在凝胶成像系统中观察扩增条带在 700 bp 左右(图 3)。

2.3 系统发育树的分析

所得菌株 rDNA ITS 序列在 GenBank 中注册,获得

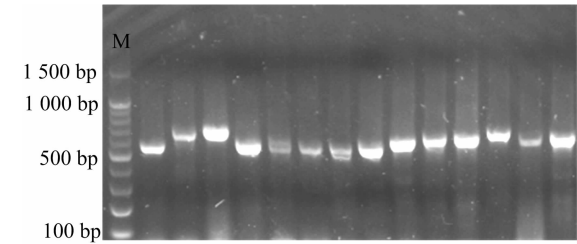


图3 部分内生真菌 rDNA ITS 区段 PCR 产物电泳结果

GenBank 登录号(表 3)。序列提交至 GenBank 进行 Blast 同源比对,以同源性最高序列作为参照菌株。选取参照菌株序列进行多序列比对,利用 MEGA5.1 软件构建系统发育树,确定该菌株的种属地位,结果见图 4。在系统发育树上,分离到的内生真菌与聚在同一系统发育树上相应菌株的 ITS 序列相似度在 99.1% ~ 100% 之间。根据系统发育树,进一步判定菌根内生真菌 SMS01 ~ SMS16 的种属地位,结果如表 3 所示。

表 3 菌株序列登录号及相似性比对

菌株编号	登录号	最大相似度菌株	相似度(%)	菌株编号	登录号	最大相似度菌株	相似度(%)
SMS01	KR085960	<i>Trichoderma spirale</i> (HQ229947.1)	100	SMS09	KR085967	<i>Penicillium simplicissimum</i> (HQ607866.1)	99.5
SMS02	KR085961	<i>Mortierella</i> sp. (HQ608143.1)	100	SMS10	KR085968	<i>Rhizopus oryzae</i> (AB109754.1)	100
SMS03	KR085975	<i>Aspergillus niger</i> (JX501365.1)	100	SMS11	KR085969	<i>Trichoderma strigosum</i> (EU280114.1)	99.1
SMS04	KR085962	<i>Penicillium pinophilum</i> (AB455516.1)	100	SMS12	KR085970	<i>stagonosporopsis cucurbitacearum</i> (KM979927.1)	100
SMS05	KR085963	<i>Umbelopsis dimorpha</i> (KC489478.1)	100	SMS13	KR085971	<i>Pestalotiopsis</i> sp. (GU592005.1)	100
SMS06	KR085964	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> (KP132426.1)	100	SMS14	KR085972	<i>Lrpex lacteus</i> (EU273517.1)	100
SMS07	KR085965	<i>Neurospora crassa</i> (FJ360521.1)	100	SMS15	KR085973	<i>Phanerochaete sordida</i> (AF475150.1)	100
SMS08	KR085966	<i>Umbelopsis versiformis</i> (LN714618.1)	100	SMS16	KR085974	<i>Fusarium oxysporum</i> (KF624781.1)	100

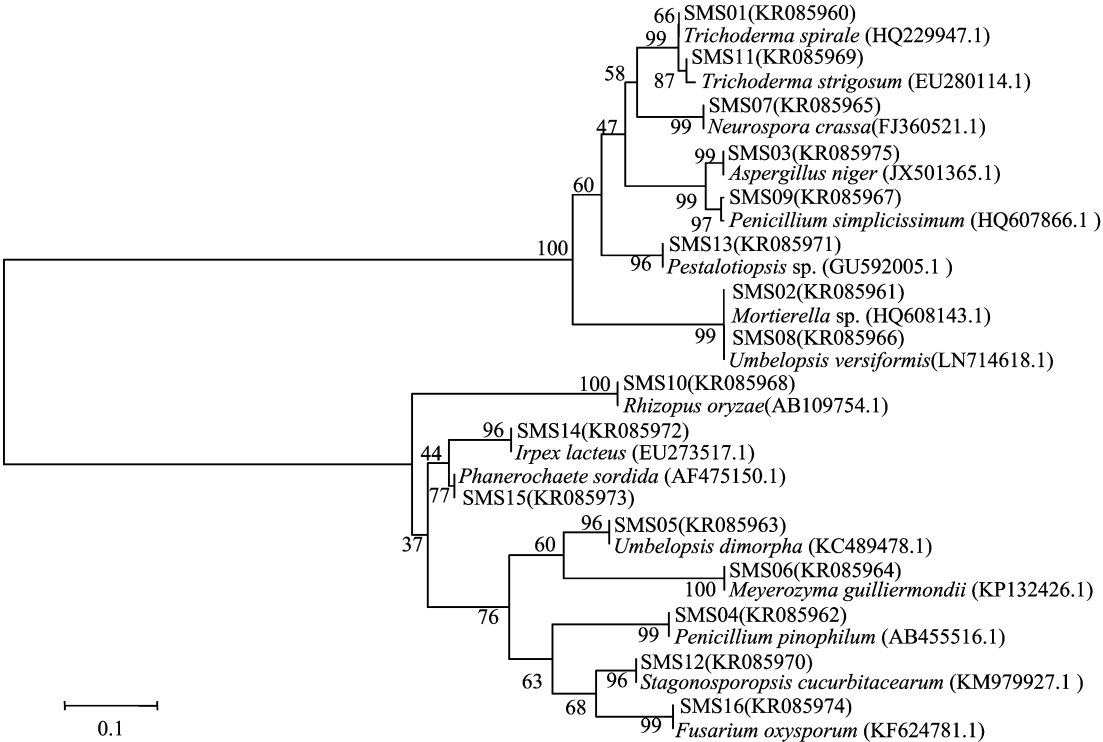


图4 基于 rDNA-ITS 序列构建内生真菌的系统发育树(邻接法)

3 结论与讨论

本研究对从思茅松菌根中分离得到的 67 株内生真菌进

行了多样性研究,经形态结构特征及 rDNA ITS 序列分析相结合,结果表明分离得到的 67 株菌根内生真菌隶属于 13 个属 16 个种,说明思茅松菌根内生真菌具有丰富的多样性。其中

Penicillium sp. (25.37%)、*Umbelopsis* sp. (17.91%) 及 *Meyerozyma guilliermondii* (14.93%) 可能为思茅松菌根内生真菌的优势菌群,这有助于探索营林措施及防治病虫害的生物防治途径,使思茅松在云南具有更高的经济和生态效益。

采用 PDA 培养基、孟加拉红培养基、马丁培养基对菌根内生真菌进行分离培养,结果 3 种培养基分离的菌根内生真菌差异较大。PDA 培养基分离的菌株数量及种类要大于后 2 种培养基,因此针对这 3 种培养基而言,PDA 培养基分离效果最好,其原因可能是 PDA 培养基中含有丰富的碳水化合物、蛋白质及大量维生素及矿物质^[32]更适于内生真菌的生长,而孟加拉红及马丁培养基是针对性比较强的分离培养基,其所含的营养物质只适于特定真菌的生长。因此综合利用 3 种培养基对思茅松菌根内生真菌进行分离,其分离出的内生真菌具有丰富的多样性。

本试验采用传统平板培养法对菌根内生真菌进行分离培养,此法不能分离出所有内生真菌,90%~99%的内生真菌没有办法分离出来^[33]。这些有可能受到采样地点、样品部位、季节、培养基种类,甚至是样品消毒试剂、消毒时间、样品大小等方面因素的限制^[22],近年来分子生物学为植物内生真菌多样性的研究提供了更有效的方法^[34]。

分离出的部分思茅松菌根内生真菌种群在其他植物菌根中均有发现,这些内生真菌是宿主植物的菌根真菌。陈娅娅等从鹅毛玉凤花中分离出木霉属(*Trichoderma* sp.)、镰刀菌属(*Fusarium* sp.)等菌根真菌^[28]。田凡等从硬叶兜兰中分离出镰刀菌属(*Fusarium* sp.)等菌根真菌^[35]。但本研究中分离出的菌根内生真菌不能断定是菌根真菌,有可能是思茅松根系的内生真菌或其他种类的内生真菌。应依据科赫法则,将分离得到的内生真菌回接到宿主植物中,待宿主植物形成菌根及子实体后,再对其子实体进行分类鉴定。若该子实体的种属地位与原有内生真菌种属地位一致,则可判定该内生真菌可能为菌根真菌。

参考文献:

- [1] 穆茹,王曙光,普晓兰. 高、低产脂思茅松树脂道的解剖学比较[J]. 林业科技开发,2012,26(2):49-53.
- [2] 胡光辉,雷玮,槐可跃,等. 松实小卷蛾在云南生活史及其对思茅松的危害[J]. 中国森林病虫,2005,24(2):13-15.
- [3] 王瑞玲,汪元超,刘建祥,等. NaCl 胁迫对思茅松幼苗生长的影响[J]. 安徽农业科学,2012,40(26):12957-12958,12960.
- [4] 李思广,付玉嫔,张快富,等. 高松香思茅松无性系的选育[J]. 东北林业大学学报,2009,37(3):4-5.
- [5] 魏博,汪元超,王大玮,等. 思茅松 SRAP-PCR 反应体系的建立与优化[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):27-30.
- [6] 徐明艳,邓桂香,凌万刚. 思茅松良种利用方法的探讨[J]. 种子,2012,31(8):95-96,101.
- [7] 楼浙辉,舒洪岚. 松树高产脂力遗传改良的研究进展[J]. 江西林业科技,2002(5):40-41,44.
- [8] 唐红燕,付玉嫔,李思广,等. 思茅松促萌及扦插试验[J]. 西部林业科学,2012,41(4):75-78.
- [9] 孟梦,李莲芳,周云,等. 不同处理对思茅松种子发芽的影响[J]. 种子,2011,30(3):88-90.
- [10] 翁海龙,贾红亮,陈宏伟,等. 思茅松高产脂优树产脂量相关因子分析[J]. 东北林业大学学报,2008,36(11):69-70.
- [11] 陈少瑜,赵文书,王炯. 思茅松天然种群及其种子园的遗传多样性[J]. 福建林业科技,2002,29(3):1-5.
- [12] 吴涛,陈少瑜,陈芳,等. 思茅松成熟胚无菌萌发及农杆菌介导的遗传转化[J]. 东北林业大学学报,2008,36(2):10-12,15.
- [13] 吴涛,陈少瑜,陈芳,等. 思茅松胚性愈伤组织的诱导[J]. 中南林业科技大学学报,2007,27(5):74-78.
- [14] 邓桂香,雷玮,李江,等. 8 种育苗基质的思茅松嫩枝扦插育苗试验[J]. 西部林业科学,2005,34(4):58-61.
- [15] 邱琼,杨德军,李江. 思茅松容器苗育苗基质研究[J]. 林业调查规划,2008,33(2):139-142.
- [16] 闫争亮,胡光辉,冯志伟,等. 松实小卷蛾雌蛾对思茅松针叶挥发化合物的触角电位反应[J]. 安徽农业科学,2009,37(3):1153-1154,1162.
- [17] 胡光辉,刘云彩,王忠祥,等. 思茅松人工林主要虫害及其持续控制技术[J]. 西部林业科学,2007,36(4):34-40.
- [18] 马惠芬,刘凌,闫争亮,等. 思茅松主要鳞翅目害虫的产卵选择性[J]. 东北林业大学学报,2013,41(9):107-109.
- [19] 蒋云东,李思广,李明,等. 思茅松与 4 种阔叶树混交林的生长及抗松梢螟效果的研究[J]. 西部林业科学,2005,34(4):1-4.
- [20] 刘润进,陈应龙. 菌根学[M]. 北京:科学出版社,2007:14-40.
- [21] Stierle A S D. Taxane production by *Taxomyces ansreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew[J]. Science,1993,260(5105):214-216.
- [22] 孙辉. 植物内生真菌多样性及其共生作用[J]. 现代农业科技,2012(18):143-145.
- [23] 董洪梅,王新风. PDA 培养基的微波灭菌研究[J]. 北方园艺,2005(1):71-72.
- [24] 刘坚真,钟青萍,方祥,等. 霉菌总数测定培养基的改进研究[J]. 生物学杂志,2004,21(4):17-20.
- [25] 闫贵龙,刁其玉,姜成钢,等. 玉米青贮饲料乳酸菌检测培养基中放线菌酮添加量的优选[J]. 中国畜牧杂志,2009,45(9):49-54.
- [26] 黄芳,张春英. 不同消毒和培养基条件对兰花菌根真菌分离的影响[J]. 生物学杂志,2013,30(5):93-95.
- [27] 余知和,曾昭清,张明涛. 春兰菌根的显微结构及菌根真菌的分离[J]. 武汉植物学研究,2009,27(3):332-335.
- [28] 陈娅娅,杨琳,朱国胜,等. 鹅毛玉凤花菌根真菌的分离与鉴定[J]. 贵州农业科学,2010,38(8):84-86.
- [29] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979.
- [30] 戴芳澜. 中国真菌总汇[M]. 北京:科学出版社,1979.
- [31] 赵欣宇,缪福俊,李璐,等. 云南杓兰和紫点杓兰菌根真菌 rDNA ITS 序列及共生专一性分析[J]. 西部林业科学,2014,43(3):57-61.
- [32] 丁浩,张帆,曹研,等. 马铃薯葡萄糖培养基制作方法的改进[J]. 中国酿造,2012,31(4):141-144.
- [33] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. FEMS Microbiology Reviews,1995,59(1):143-169.
- [34] 罗培凤,朱丹丽,李汉清,等. 铁皮石斛菌根内生真菌的分离[J]. 内江师范学院学报,2010,25(增刊2):462-465.
- [35] 田凡,白新祥,王莲辉,等. 硬叶兜兰菌根真菌的形态学特征与鉴定[J]. 贵州林业科技,2014,42(2):11-16,5.