

黄位年,曾华兰,华丽霞,等. 内生木霉菌与石斛相互作用关系的研究进展[J]. 江苏农业科学,2020,48(13):57-61.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.13.011

内生木霉菌与石斛相互作用关系的研究进展

黄位年,曾华兰,华丽霞,叶鹏盛,何 炼,蒋秋平,张 敏

(四川省农业科学院经济作物育种栽培研究所,四川成都 610300)

摘要:石斛是典型的菌根植物,木霉菌是一种重要的内生菌和生防菌,深入开展两者之间相互作用关系的研究对石斛的人工栽培和石斛内生木霉菌的应用具有重要意义。综述内生木霉菌与石斛相互作用关系的研究进展,包括木霉菌在石斛上的定殖,木霉菌对石斛的促生作用、抗病作用及其在石斛人工栽培中的应用等;最后展望下一步的研究方向,对石斛内生木霉菌进行系统研究、开发利用和共生机制等方面的研究提出建议。

关键词:木霉;石斛;共生;促生作用;抗病作用;研究进展

中图分类号: Q143⁺.2;S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)13-0057-05

木霉(*Trichoderma* spp.)属真菌界、双核菌门、半知菌亚门、丝孢纲、丛梗孢目、丛梗孢科,喜长于木屑、树皮等富含腐蚀质的基质上,是一类适应性强、繁殖速度快、具有较高生防价值的真菌,对多种植物病害有防治作用。部分木霉菌能够定殖于石斛组织上,哈茨木霉、深绿木霉、绿木霉等木霉菌能与植物产生共生关系^[1-2]。石斛属(*Dendrobium* spp.)是兰科附生植物中较大的属,目前在全世界共发现约 1 000 种,我国有 74 种和 2 个变种,常见的有铁皮石斛、齿瓣石斛、细茎石斛、束花石斛、霍山石斛等,其中铁皮石斛和金钗石斛均被我国历版药典所收录,具有生津滋阴等功效,是重要的中药材资源^[3-4]。石斛为附生植物,肉质根,野生多见生长于树皮、树干上或石缝中,是典型的菌根植物,具有丰富的内生真菌。木霉菌是石斛 25 种内生真菌之一^[5],在石斛生长和病害防控过程中起到重要的作用。随着石斛组培和人工繁殖技术的成熟和推广,种植面积不断扩大,在云南、广西、四川、浙江等省份均有人工栽培,2017 年铁皮石斛在全国的种植面积已经超过 6 667 hm²,年产量 1 万 t 以上,产业规模已突破百亿元^[6]。为了提高石斛的产量和效益,部分人工栽培中存在滥用多菌灵、甲基托布津等杀菌农药的现象,不但增加农残超标的风险,影响到

石斛的品质,还会破坏石斛根际有益微生物菌群。石斛和木霉都喜好生长于透气的有机质中,利用内生木霉菌与石斛之间的相互作用关系,提高人工种植石斛的产量和品质,是推动石斛产业绿色健康发展行之有效的方法。本文综述总结近几年来石斛内生木霉菌与寄主相互作用的研究和应用进展,并就石斛内生木霉的研究与应用进行展望,旨在为今后石斛内生木霉菌的研究及其在农业生产中的应用提供参考。

1 石斛内生木霉菌的分离与鉴定

1.1 石斛内生木霉菌的分离

石斛内生菌的获得主要采用组织分离法,经过表面消毒后,将石斛的根、茎、叶或菌丝团等组织接种到真菌分离培养基上分离纯化。单独分离石斛内生木霉菌的研究较少,多见于石斛内生真菌多样性分析,能够分离到石斛内生菌的培养基有马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA)^[7]、马铃薯葡萄糖培养基(PDA)(含链霉素)^[8]、真菌分离培养基(FIM)^[9]等,但只能分离到少量的内生木霉菌。柴晓蕾等使用 PDA、1/5 PDA、FIM、华石斛粉培养基(水琼脂和加华石斛粉)等 4 种不同的培养基分离内生真菌,结果只在华石斛粉培养基中分离得到 1 株木霉菌^[10]。

分离时,由于受到其他生长较快的真菌的抑制,分离培养基对石斛内生木霉菌的分离影响较大,不同培养基种类分离内生木霉菌的能力存在差异,通用真菌分离纯化培养基分离内生木霉菌的效率较低,为了提高木霉菌的分离效率可使用木霉选

收稿日期:2019-08-23

基金项目:国家自然科学基金(编号:31701830)。

作者简介:黄位年(1987—),男,广西蒙山人,主要从事中药材品种选育及栽培技术研究。E-mail:626564014@qq.com。

通信作者:叶鹏盛,硕士,研究员,主要从事经济作物育种与栽培。

E-mail:ypsl8@163.com。

择培养基,如秸秆培养基、麦糠培养基或木霉专用培养基等。利用不同细菌、放线菌和木霉菌对抗菌物质的敏感程度的差异,在分离培养基中加入丙酸钠、庆大霉素^[11]、氯霉素、孟加拉红、敌克松、克菌丹^[12-13]等选择木霉真菌的成分,可抑制多数根霉菌、毛霉菌、细菌、放线菌,提高木霉的分离成功率。Elad 等研制出的木霉属真菌专用培养基 TSM 及其改进型培养基(TME),可抑制毛霉、根霉、镰刀菌等快速生长的真菌^[12-13],其他木霉专用选择培养基还有 TSB^[14]、PDAm^[15]等。木霉属真菌是一个庞大的家族,在木霉真菌分离过程中,选择合适的培养基分离内生木霉菌至关重要,须在了解样品中微生物种类的基础上选择恰当的抗菌物质,避免错用抗菌物质从而对木霉属真菌的分离产生较大影响,因此,建议不只使用 1 种分离培养基^[16]。夏晓敏从 5 种分离培养基中筛选出 TSB 和改良的 TSM 培养基,能专一性地分离出大量的香蕉根系木霉菌,共分离得到 7 种 187 株木霉菌,其中 29 株为内生木霉,表生木霉 5 种,内生 4 种,其中棘孢木霉和绿色木霉是内表均可生长,短密木霉、黄绿木霉仅在根内分离得到,为香蕉内生木霉菌的多样性分析奠定了基础^[17]。

1.2 石斛内生木霉菌的鉴定

形态学是内生真菌鉴定的重要方法,依据真菌菌丝、产孢结构、孢子形态及发育特点等,卢东升等在野生铁皮石斛根内分离鉴定出长孢木霉和深绿木霉^[7]。但对于形态性状复杂、易受环境影响、特征不显著的内生真菌不易鉴定,利用分子生物学方法在一定程度上能有效地解决这一难题^[18]。因此,采用形态学进行初步鉴定后,再用分子生物学的技术进行鉴定,可以提高石斛内生木霉菌的鉴定率和鉴定准确性。用于木霉菌鉴定或多样性分析的分子生物技术有核糖体内转录间隔区序列分析(rDNA - ITS)、通用引物 PCR(UP - PCR)、随机扩增多态性 DNA(RAPD)、扩增片段多态性(AFLP)等。其中 rDNA - ITS 技术多态性水平高、可靠性好、技术难度和成本低^[19]。该技术利用内转录间隔区(ITS),如 ITS1、5.8S 和 ITS2,既具保守性,又在科、属、种水平上具有特异序列的特性,应用 ITS 序列中不同位置上的几段特异的寡核苷酸序列,与数据库中的条形码进行比对,从而鉴定出真菌的属或种。目前,使用 rDNA - ITS 技术在尖刀唇石斛、钩状石斛^[8]、流苏石斛^[20]等石斛的体内均分离鉴定得到了内生木

霉菌,提高了分离内生菌的鉴定率。

2 木霉菌在石斛上共生的影响因素

2.1 环境对木霉菌 - 石斛共生的影响

木霉菌在石斛上的定殖能力受生境、石斛种类等多种因素影响,不同地域环境条件下石斛内生木霉菌的种类和数量存在显著差异^[20],这是适应生存环境选择的结果。生境集合了光、温度、湿度、基质等非生物因子,也包括根际微生物种群等生物因子,是影响木霉菌在石斛上定殖的主要因素。在部分生境下,木霉菌是兰科菌根内的优势属^[21],而在部分生境下分离不到内生木霉菌。水分适中、温度温和、pH 值偏酸的环境有利于木霉菌株的定殖^[22]。王淑媛等研究不同种质、生境和附生立木对铁皮石斛内生真菌种类多样性及分布状况的影响,发现不同地理环境铁皮石斛内生真菌的优势类群分布存在较大差异,木霉菌仅为浙江省义乌市上溪镇的优势属,而在浙江省临安市的铁皮石斛上并未分离到;不同种质和附生立木对铁皮石斛内生真菌多样性与丰富度无显著影响^[23]。毛益婷等对比了 2 种不同生境野生铁皮石斛的内生真菌,在内生真菌多样性高的广西雅长兰科植物国家级自然保护区内未分离到内生木霉菌,而在偏干旱环境的崑山铁皮石斛内分离得到了内生木霉菌^[24]。

2.2 石斛种类对木霉菌 - 石斛共生的影响

即使在相同生境下,木霉菌对不同种类石斛的定殖能力存在差异,具有一定的宿主特异性,可能与两者之间的相互识别有关。目前在野生石斛和人工栽培石斛上均有分离得到内生木霉菌,如华石斛^[9]、流苏石斛^[20]、钩状石斛^[8]、铁皮石斛^[25]等。洪群艳等鉴定分析云南省德宏州的 8 种野生石斛内生真菌,结果只在长苏石斛茎上分离得到木霉菌^[26]。毛益婷在崑山生境下的铁皮石斛和罗河石斛内分离到了木霉菌,而在重唇石斛内未分离到;在舜皇山生境下,在霍山石斛、罗河石斛中分离到了木霉菌,而在细茎石斛内并未分离到^[27]。

2.3 石斛内生木霉菌定殖的组织特异性

木霉菌在石斛上的定殖受不同组织类型间的组织结构、营养成分和其他内生微生物等微环境影响,主要定殖在石斛的根^[26]、茎^[10]内,叶、原球茎等组织内鲜见报道,具有一定的组织特异性。木霉菌能趋向性地在根毛基部、根外皮层通道细胞、茎表和叶面腺毛基部等分泌物较多的位点侵入组织

内部,并在一定范围内传导,在不同植物组织间定殖能力存在显著差异^[22]。柴晓蕾等在华石斛的根、茎、叶中分离内生真菌,结果只在茎内分离得到 5 株木霉菌,占茎内真菌分离总数的 11.11%,为第二大优势菌群^[10]。王淑媛等分析浙江省义乌市上溪铁皮石斛栽培基地松树木段上种植的铁皮石斛根、茎和叶内生真菌的分布情况,发现不同组织优势菌种存在差异,木霉菌主要分布在铁皮石斛根内^[23]。

3 内生石斛木霉菌对宿主生长的影响

内生菌对石斛种子的自然萌发和植株生长具有促进作用,在石斛生活史中扮演重要角色^[28-29]。范黎等发现分离自狭叶紫毛兜兰的木霉菌菌株 OEF0064 能与报春石斛和长苏石斛种子形成共生关系,为种子萌发提供营养^[30]。从石斛的组织中分离出了长孢木霉、深绿木霉^[7]、绿孢木霉^[31]等具有内生特性的菌株,能与石斛形成互利共生的关系,一方面内生木霉菌的代谢物能刺激石斛的生长发育,提高宿主对生物胁迫和非生物胁迫的抵抗能力,甚至直接为石斛提供营养;另一方面石斛为木霉菌提供光合作用产物和矿物质。

一部分根际真菌能通过外皮层通道细胞或破坏根部组织和外皮层细胞,侵入皮层细胞,与宿主形成共生关系。在皮层细胞内新定殖的和正在被消化侵入的菌丝或菌丝结维持着动态平衡,随着菌丝及菌丝团被逐渐消解吸收^[32],不断为植株提供维生素、氨基酸、植物激素等营养^[33-34],促进植株快速生长。另外,生长于根际的菌丝体通过释放纤维素酶、木质素酶、还原酶、有机酸、螯合剂等方式,增加植物对氮(N)、磷(P)、钾(K)及难容矿物质的吸收,提高养分利用率,改善根际微环境,促进植物生长^[35-36]。部分木霉菌在石斛的根表和根内均有分布^[7],通过菌丝体将基质中的营养输送到石斛根内,大大增加了石斛根部营养吸收的面积,同时也提高了宿主的抗逆能力和适应能力。徐文婷等选用石斛的内生真菌制备菌剂,研究其对铁皮石斛的定殖和促生效果,在田间试验中,木霉菌制剂能显著提高铁皮石斛幼苗的存活率,有效提高幼苗的株高和根系生长,显著提高鲜质量和干质量及叶绿素 a、叶绿素 b 含量,植株 N、P、K 的含量显著高于对照,说明该内生木霉菌剂对石斛具有良好的促生效果^[37]。刚扩繁出的兰科组培苗适应外界能力差,筛选出合适的内生木霉菌能够提高组培苗适应环境

的能力,提高成活率。黄磊等从墨兰中分离得到 4 株木霉菌菌株,分别施用到种植有春兰与大花蕙兰杂交种子培育出的组培苗基质上,发现 zjm002 对瓶外组培苗的生长有促进作用,8 个月的成活率可达 100%,比对照质量增加 16.95%^[38]。

4 内生石斛木霉菌对宿主的抗病作用

石斛内生菌资源丰富,蕴含着大量的抗病、抑菌菌株^[8,39],木霉菌是其中重要的成员。木霉菌可以通过以下方式提高植物的抗病力:与其他菌根微生物竞争、抢占根部的有利生态位点,在穿入区周围形成胞壁沉积物,增加植物细胞壁的机械强度,减少病原菌侵入;分泌几丁质酶、果糖酶等溶解病原菌细胞壁;提高植株生理生化指标以及防卫基因的表达水平^[40],同时改变根际微生物种群,增加放线菌、固氮菌等有益根际微生物的数量,有效减少病原菌的侵害,对石斛的病害防治具有重要作用。

石斛常见的病害有白绢病、茎腐病、黑斑病、灰霉病等,引起这些病的病原菌分别为齐整小核菌、镰孢菌、极细链格孢菌、灰葡萄孢菌等^[41],有研究表明木霉对这些病原菌具有拮抗作用,甚至产生抑制作用^[42-43]。朱江敏等利用分离自野生石斛的木霉菌菌株 F35 对病原真菌镰刀菌进行对峙培养,拮抗系数为 II 级,经测定发现该菌种能分泌高活性的几丁质酶,分解病原菌的细胞壁,这可能是其实现拮抗作用的原因^[44]。邢咏梅等利用分离自齿瓣石斛的内生木霉菌拟康宁木霉(*T. koningiopsis*)进行金钗石斛盆栽试验,发现其对终极腐霉菌具有较强的拮抗活性,在双培养皿对峙试验中对终极腐霉菌表现出了抑制作用;其分泌的 $\beta-1,3$ 葡聚糖酶和 $\beta-1,4$ 葡聚糖酶活性都较高,可能是其在破坏终极腐霉菌细胞壁方面发挥了作用;同时该菌种对金黄色葡萄球菌等具有明显的拮抗作用^[45]。在其他作物上的研究表明,木霉菌与丛枝菌根真菌(AMF)、枯草芽孢杆菌^[46]等益生菌合用能够减少作物的连作障碍、改善作物根际菌群,促生和控病作用更显著。哈茨木霉与丛枝菌根真菌合用能有效减低丹参连作病害的发生率,病害发生率比对照组降低了 61.50%,并且提高了丹参根中丹酚酸 B 和隐丹参酮的含量^[47]。

5 内生木霉菌在石斛等兰科植物生产上的应用

木霉菌生长快,对氮源和碳源具有较高的利用

率,能够快速在基质中繁殖,减少病害的发生,在生产上具有较高的生物防控价值。将石斛内生木霉菌应用于生产上,利用木霉菌与石斛产生共生关系,不但能增加石斛的产量,提高石斛多糖和总生物碱等成分的含量,同时可以对病害起到防治作用,避免其他有害微生物的侵染,具有广阔的应用前景。徐文婷等对比不同的保存基质保存木霉菌和其他共生内生菌,对比得出使用草炭土保存效果最好,6 个月后菌体数量达到 8.1×10^7 CFU/g;在田间试验中,接种菌剂的铁皮石斛植株鲜质量和干质量显著提高^[37]。应奇才等研制出含有木霉菌 F35 菌株的石斛菌根菌复合菌剂,确定了其保存期及最适用量,金钗石斛组培苗移栽试验结果表明,施用复合菌剂的金钗石斛组培苗干质量比对照提高 29.03%,比单一菌剂提高 8.11% ~ 17.65%,石斛多糖和总生物碱含量显著提高^[48]。能够大面积应用于石斛生产上的木霉菌制剂鲜有报道,在生物防治方面,使用木霉菌制剂防治其他兰科植物的研究较多。李霞等对比木霉菌、枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌等 3 种不同生防菌对香荚兰根腐病作用的研究结果表明,木霉菌对尖镰孢菌香荚兰专化型的抑制率可达 78.57%,比枯草芽孢杆菌和荧光假单胞菌的抑制作用更强,建议在温室、大田试验时优先考虑使用木霉菌和枯草芽孢杆菌^[49]。魏林等使用哈茨木霉菌菌剂 T2-16 对建兰防病及促生的研究结果表明,木霉菌制剂不同处理方式对白绢病、黑腐病和炭疽病等 3 种真菌性病害的防治效果优于或相当于纯白多菌灵处理,并且对建兰具有促进长叶、发枝、延长花期的效果^[50]。

6 展望

石斛菌根中存在着包括木霉菌在内的许多有益促生和控病真菌,对石斛的生长发育、系统演化、病虫害防御起着重要作用,是一座值得深入开发的“宝库”。温室栽培的兰花内生真菌种类明显少于野生兰花,且种类不同^[51],开发和利用石斛内生木霉菌,可以促进石斛的生长,同时可以防治白绢病、黑腐病和炭疽病等病害,减少化肥农药的施用,提高人工栽培石斛的品质和产量,对石斛种植产业的健康可持续发展具有重要意义。但目前的研究主要集中于石斛内生真菌的分离和多样性分析,缺乏对石斛内生木霉菌的系统研究和产品开发,建议下一步从以下 3 个方面进行深入研究。

6.1 对野生石斛内生木霉菌进行系统调查、分离、鉴定

使用木霉菌专用培养基对石斛内生木霉菌进行分离,再利用分子生物学的方法对分离的木霉菌进行鉴定,建设资源保存库进行收集和长期保存,为后续的开发利用研究奠定基础。

6.2 加强石斛内生木霉菌的开发和利用

瓶内共培养是石斛共生菌鉴定的常用方法,由于木霉菌利用碳氮的能力强,瓶内共培养时生长速度快,不利于与石斛共生关系的建立,因此建立木霉与石斛共生关系的评价方法,才能筛选出更多的木霉共生菌株。利用诱变育种、基因工程等技术手段对内生木霉菌进行改造,筛选出定殖能力强,又具有抗病促生作用的菌株。探索菌剂规模化生产、保存、使用等技术,开展示范及推广。

6.3 深入分子和基因水平开展机制研究

深入分子和基因水平开展内生木霉菌与石斛促生、控病作用机制的研究,探索两者形成共生关系的识别机制及建立的条件,明确内生木霉菌对石斛品质的影响等。

参考文献:

- [1] Shores M, Harman G E, Mastouri F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents[J]. Annual Review of Phytopathology, 2010, 48(1): 21-43.
- [2] Harman G E, Herrera-Estrella A H, Benjamin A H, et al. Special issue: *Trichoderma*—from basic biology to biotechnology [J]. Microbiology, 2012, 158(1): 1-2.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 67.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [5] 姜道宏. 植物内生真菌及其展望[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 742-749.
- [6] 陈晓梅, 田丽霞, 单婷婷, 等. 铁皮石斛种质资源和遗传育种研究进展[J]. 药学报, 2018, 53(9): 1493-1503.
- [7] 卢东升, 黄新华, 陈玉栋. 野生铁皮石斛根围真菌的种类与特点[J]. 江苏农业科学, 2009(2): 288-290.
- [8] 吴剑丙, 朱江敏, 白坚, 等. 野生兰科植物菌根内生真菌分离及鉴定[J]. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2011, 10(3): 228-232.
- [9] Clemmens M A, Muir H, Cribb P J. A preliminary report on the symbiotic germination of European terrestrial orchids [J]. Kew Bulletin, 1986, 41(2): 437-445.
- [10] 柴晓蕾, 宋希强, 朱婕. 华石斛内生真菌组织分布特点及其抑菌活性[J]. 热带作物学报, 2018, 39(1): 137-144.
- [11] 贾振华, 石万龙, 田连生. 从土壤中分离木霉的培养基的研究

- [J]. 河北省科学院学报,2000,17(4):232-234.
- [12] Elad Y, Chet I, Henis Y. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil [J]. *Phytoparasitica*, 1981, 9(1): 59-67.
- [13] Elad Y, Chet I. Improved selective media for isolation of *Trichoderma* spp. or *Fusarium* spp. [J]. *Phytoparasitica*, 1983, 11(1): 55-58.
- [14] Yang H T, Ryder M, Tang W H. Toxicity of fungicides and selective medium development for isolation and enumeration of *Trichoderma* spp. in agricultural soils [J]. *Shandong Science*, 2005, 18(3): 113-123.
- [15] Griffith G W, Easton G L, Detheridge A, et al. Copper deficiency in potato dextrose agar causes reduced pigmentation in cultures of various fungi [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2007, 276(2): 165-171.
- [16] 任虎, 田晔, 许鹏程, 等. 木霉属真菌分离培养的研究进展 [J]. *中国微生态学杂志*, 2017, 29(9): 1090-1096, 1102.
- [17] 夏晓敏. 香蕉内生木霉的分布、种群结构及对香蕉枯萎病的生防作用研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2009.
- [18] 陈娟, 谭小明, 邢咏梅, 等. 石斛属植物内生真菌及菌根真菌物种多样性研究进展 [J]. *中国药理学杂志*, 2013, 49(19): 1649-1653.
- [19] 董楠, 许艳丽. 现代分子生物学技术在木霉鉴定及多样性分析中的应用 [J]. *植物保护*, 2008, 34(4): 1-5.
- [20] 王亚妮, 王丽琨, 苗宗保, 等. 流苏石斛根部内生真菌多样性研究 [J]. *生态科学*, 2014, 33(4): 672-679.
- [21] 侯天文. 四川黄龙岗优势兰科植物菌根真菌多样性研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2010.
- [22] 孙超岷. 绿色木霉菌 Tv-1 菌株在烟草根部及叶面的定殖研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2002.
- [23] 王淑媛, 吴令上, 董洪秀, 等. 铁皮石斛种质和附生立木对其内生真菌菌群的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(8): 1588-1595.
- [24] 毛益婷, 代晓宇, 马荣. 不同生境下野生铁皮石斛内生真菌多样性的初步研究 [J]. *新疆农业大学学报*, 2011, 34(3): 234-238.
- [25] 陈玉栋, 李文锦, 雷玲, 等. 铁皮石斛内生真菌的分离与鉴定 [J]. *信阳师范学院学报(自然科学版)*, 2009, 22(2): 236-238.
- [26] 洪群艳, 董文汉, 徐文婷, 等. 几种云南野生石斛内生真菌的鉴定及分布 [J]. *生物技术进展*, 2012, 2(3): 190-194.
- [27] 毛益婷. 兰科石斛属根部内生真菌及其对种子萌发和苗木生长的效应 [D]. 北京: 北京林业大学, 2011.
- [28] 徐焰平. 铁皮石斛内生真菌研究进展 [J]. *微生物学杂志*, 2015, 35(5): 108-112.
- [29] 伍建榕. 云南濒危野生兰花与菌根真菌的相互关系 [D]. 南京: 南京林业大学, 2005.
- [30] 范黎, 郭顺星, 徐锦堂. 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)*, 1998, 21(2): 69-77.
- [31] Yuan Z L, Chen Y C, Zhang C L, et al. *Trichoderma chlorosporum*, a new record of endophytic fungi from *Dendrobium nobile* in China [J]. *Mycosystema*, 2008, 27(4): 608-610.
- [32] 范黎, 郭顺星, 肖培根. 密花石斛等六种兰科植物菌根的显微结构研究 [J]. *植物学通报*, 2000, 17(1): 73-79.
- [33] 吴静萍, 钱吉, 郑师章. 兰花菌根分泌物成分的初步分析 [J]. *应用生态学报*, 2002, 13(7): 845-848.
- [34] 范黎, 郭顺星. 兰科植物菌根真菌的研究进展 [J]. *微生物学通报*, 1998, 25(4): 227-230.
- [35] Avni A, Bailey B A, Mattoo A K, et al. Induction of ethylene biosynthesis in *Nicotiana tabacum* by a *Trichoderma viride* xylanase is correlated to the accumulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase and ACC oxidase transcripts [J]. *Plant Physiology*, 1994, 106(3): 1049-1055.
- [36] 李瑞霞. 贵州木霉 NJAU 4742 对矿质元素的活化及对番茄的促生效果研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [37] 徐文婷, 张雅琼, 董文汉, 等. 石斛内生真菌固体菌剂对铁皮石斛组培苗促生作用研究 [J]. *西南农业学报*, 2014, 27(1): 317-324.
- [38] 黄磊, 贺筱蓉, 郑立明, 等. 促进兰花组培苗生长的墨兰菌根真菌研究初报 [J]. *热带作物学报*, 2004, 25(1): 36-38.
- [39] 张丽春, 郭顺星. 5 种石斛内生真菌的分离及其抗菌活性研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2009, 44(20): 1540-1543.
- [40] Benítez T, Rincón A M, Limón M C, et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains [J]. *International Microbiology*, 2004, 7(4): 249-260.
- [41] 曹星星. 铁皮石斛病原真菌分离与鉴定及印度梨形孢促生作用研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [42] 高克祥, 王淑红, 刘晓光, 等. 木霉菌株 T88 对 7 种病原真菌的拮抗作用 [J]. *河北林果研究*, 1999, 14(2): 159-162.
- [43] 张健. 生防木霉 (*Trichoderma guizhouense* NJAU 4742) 重寄生分子机理研究 I. 中性金属肽酶 NMP1 和活性氧的功能分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [44] 朱江敏, 赵英梅, 白坚, 等. 石斛共生真菌木霉菌拮抗作用的初步研究 [J]. *杭州师范大学学报(自然科学版)*, 2011, 10(4): 340-344.
- [45] 邢咏梅, 李向东, 李莉, 等. 木霉属真菌拮抗金钗石斛病原菌的研究 [J]. *中国医药生物技术*, 2017, 12(1): 35-39.
- [46] 陈瑾. 复合生防菌剂防治大豆根腐病的研究 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2010.
- [47] 王雪, 陈美兰, 杨光, 等. 丛枝菌根真菌与哈茨木霉菌合用对连作丹参生长及质量的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(9): 1574-1578.
- [48] 应奇才, 徐祥彬, 王慧中. 石斛菌根复合菌剂的研制及应用 [J]. *浙江农业科学*, 2012(8): 1119-1120, 1124.
- [49] 李霞, 王云月, 朱有勇, 等. 香荚兰根腐病主要病原的生防因子作用比较 [J]. *热带农业科技*, 2003, 26(2): 1-3, 14.
- [50] 魏林, 梁志怀, 吕刚, 等. 哈茨木霉 T2-16 菌剂对建兰防病及促生长效果的研究 [J]. *中国园艺文摘*, 2017(2): 45-48.
- [51] 田佳妮. 几种兰花根际土壤真菌及根内生真菌研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2015.