



印度梨形孢对铁皮石斛种子萌发和原球茎生长的影响

许凤来, 朱志炎, 何勇, 田志宏

引用本文:

许凤来, 朱志炎, 何勇, 等. 印度梨形孢对铁皮石斛种子萌发和原球茎生长的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2021, 29(1): 59–66.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4231>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

授粉方式对铁皮石斛种质座果及种子萌发的影响

Effects of Artificial Pollination on Fruit Setting and Seed Germination of *Dendrobium officinale* Germplasms

热带亚热带植物学报. 2018, 26(1): 65–72 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3794>

带叶兜兰种子原地共生萌发及有效菌根真菌的分离与鉴定

In situ Symbiotic Seed Germination, Isolation and Identification of Effective Mycorrhizal Fungus in *Paphiopedilum hirsutissimum* (Orchidaceae)

热带亚热带植物学报. 2015, 23(1): 59–64 <https://doi.org/10.11926/j.issn.1005-3395.2015.01.009>

瘤菌根菌对铁皮石斛根系形态的影响及其共生关系的研究

Effect of *Epulorhiza* sp. on Root Morphology of *Dendrobium officinale* and Their Symbiotic Relationship

热带亚热带植物学报. 2020, 28(2): 124–130 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4093>

带叶兜兰种子原地共生萌发及有效菌根真菌的分离与鉴定

In situ Symbiotic Seed Germination, Isolation and Identification of Effective Mycorrhizal Fungus in *Paphiopedilum hirsutissimum* (Orchidaceae)

热带亚热带植物学报. 2015(1): 59–64 <https://doi.org/10.11926/j.issn.1005-3395.2015.01.009>

福建泰宁野生铁皮石斛种群的 ISSR 亲缘关系分析

Genetic Relationships among Wild *Dendrobium officinale* Populations in Taining, Fujian by ISSR

热带亚热带植物学报. 2016, 24(3): 259–266 <https://doi.org/10.11926/j.issn.1005-3395.2016.03.003>

印度梨形孢对铁皮石斛种子萌发和原球茎生长的影响

许凤来, 朱志炎, 何勇, 田志宏*

(长江大学生命科学学院, 湖北 荆州 434025)

摘要: 为探究印度梨形孢(*Piriformospora indica*)对铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)种子萌发和原球茎生长的影响, 在铁皮石斛种子离体培养和原球茎生长阶段分别接种印度梨形孢, 对其形态发育特征和生理特性进行研究。结果表明, 接种印度梨形孢的铁皮石斛种子的起始萌发时间提前, 接种印度梨形孢的铁皮石斛原球茎的株高、鲜质量、干质量、叶片数、叶长、叶宽、根数、根长等都高于对照。在接种 60 d 的种子萌发率为 68.8%, 高于对照(28.6%); 在接种 80 d 的铁皮石斛原球茎的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量显著高于对照, 叶绿素 a/b 小于对照, 净光合速率、气孔导度、蒸腾速率均高于对照, 药用多糖含量显著高于对照。因此, 接种印度梨形孢能促进铁皮石斛种子萌发和原球茎的生长, 提高铁皮石斛的品质和产量。

关键词: 铁皮石斛; 印度梨形孢; 种子; 萌发; 原球茎; 生长

doi: 10.11926/jtsb.4231

Effects of *Piriformospora indica* on Seed Germination and Protocorm Growth of *Dendrobium officinale*

XU Feng-lai, ZHU Zhi-yan, HE Yong, TIAN Zhi-hong*

(College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei, China)

Abstract: In order to explore the effects of *Piriformospora indica* on seed germination and protocorm growth of *Dendrobium officinale*, the morphological and physiological characteristics were studied inoculated by *P. indica* on seeds and protocorm. The results showed that the initial germination time of *D. officinale* seeds inoculated with *P. indica* was earlier than the control, and the height, fresh weight, dry weight, number of leaves, leaf length, leaf width, root number and root length of protocorm of *D. officinale* inoculated with *P. indica* were higher than the control. The seed germination rate was 68.8% after 60 days of inoculation, which was higher than the control (28.6%). The chlorophyll a content, chlorophyll b content and total chlorophyll content in the protocorm of *D. officinale* inoculated for 80 days were significantly higher than the control, chlorophyll a/b was lower than the control, the net photosynthesis rate, stomatal conductance and transpiration rate were higher than the control, and the content of medicinal polysaccharide was significantly higher than the control. Therefore, the seed germination and protocorm growth of *D. officinale* were promoted by inoculation, and the quality and yield were improved.

Key words: *Dendrobium officinale*; *Piriformospora indica*; Seed; Germination; Protocorm; Growth

目前, 药用石斛属(*Dendrobium*)植物有 40 多种, 其中铁皮石斛(*D. officinale*)是栽培面积最大的种类,

其干燥茎是珍贵的药材, 素有“药中黄金”之称^[1]。铁皮石斛含有多糖、芪类、联苳类、生物碱等化学成分,

收稿日期: 2020-04-03 接受日期: 2020-06-12

基金项目: 湖北省生物菌肥工程技术研究中心项目(GCZX2012042)资助

This work was supported by the Project of Hubei Biological Fertilizer Engineering Technology Research Center (Grant No. GCZX2012042).

作者简介: 许凤来(1995~), 女, 硕士研究生, 从事植物与微生物互作研究。E-mail: 2731438573@qq.com.

*通信作者 Corresponding author. E-mail: zhtian@yangtzeu.edu.cn

多糖具有调节免疫力和调节肝细胞活性的药理作用,生物碱具有抗氧化、抗癌和神经保护的药理作用,其他化合物具有抗氧化、抗癌和提高免疫力的药理作用^[2-3]。铁皮石斛具有益胃生津、滋阴清热、明目强身等功效^[1],其提取物具有抑制肝癌细胞增殖、生津改善干燥症、促进头发生长等多种药用价值^[4-6]。

印度梨形孢(*Piriformospora indica*)是一种根部内生真菌,可定殖多个厚垣孢子于多种植物的根系中,促进植物的生长和发育,增强植物对胁迫的抵抗力,提高作物产量。其可缩短水稻(*Oryza sativa*)、玉米(*Zea mays*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)等种子的萌发时间,同时明显提高种子的萌发率和生长速率^[7],对甘蔗(*Saccharum officinarum*)、辣椒(*Capsicum annuum*)、甘蓝(*Brassica oleracea*)、向日葵(*Helianthus annuus*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、吊兰(*Chlorophytum comosum*)等有明显促进生长的作用^[8-9],也能促进纹瓣兰(*Cymbidium aloifolium*)的生长和增加假马齿苋(*Bacopa monniera*)的生物量^[10-11]。印度梨形孢能促进兰科幼苗的生长^[12],但尚未有提高兰科种子萌发率的报道。鉴于印度梨形孢对植物种子萌发和幼苗生长发育的作用,我们推测印度梨形孢可能对铁皮石斛种子萌发和原球茎生长产生积极影响,以期后续能推进印度梨形孢生物菌肥的研发,提高铁皮石斛的品质和产量。

1 材料和方法

1.1 材料

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)种子和原球茎

由江苏同人生物科技有限公司牟永花女士惠赠,为来自浙江省雁荡山地方种选育的‘同人 1 号’品种;印度梨形孢(*Piriformospora indica*)菌种由德国耶拿大学 Ralf Oelmüller 教授和台湾大学叶开温教授惠赠,本实验室保存,在 PDA 培养基上活化待用。

1.2 方法

培养基 铁皮石斛种子萌发培养基为 MS+10 g/L 香蕉粉+8 g/L 琼脂;原球茎生长培养基为 1/2MS+100 g/L 马铃薯+8 g/L 琼脂,pH 均调至 5.8。

种子萌发试验 将无菌的铁皮石斛种子放置到 MS 液体培养基(无糖)中,充分摇匀,制作成种子悬浮液,浸泡 30 min,吸取 1 000 μ L 均匀播种于铺有无菌滤纸的萌发培养基上。用接种器取边缘活力强的印度梨形孢菌丝体,在培养基中间添加 3 mm 带有印度梨形孢的琼脂块,对照为同样大小的不含印度梨形孢的 PDA 琼脂块。每处理 20 个培养皿,3 次重复。铁皮石斛种子萌发阶段划分参照吴慧凤等^[13]的方法。

种子萌发阶段划分 铁皮石斛种子在萌发培养基上吸水膨胀,种皮透明,完整,为阶段 0;30 d 左右进入阶段 1,种胚膨大,转绿;60 d 左右进入阶段 2,种子突破种皮,种子开始萌发;出现原生组织为阶段 3;长出第 1 片叶为阶段 4;长出第 2 片叶为阶段 5(图 1)。

原球茎生长 每个培养瓶里放置 6 个原球茎,呈圆形排列。在培养基中间添加 3 mm 带有印度梨形孢的琼脂块,对照为同样大小的不含印度梨形孢的 PDA 琼脂块。每处理 60 个培养瓶,3 次重复。

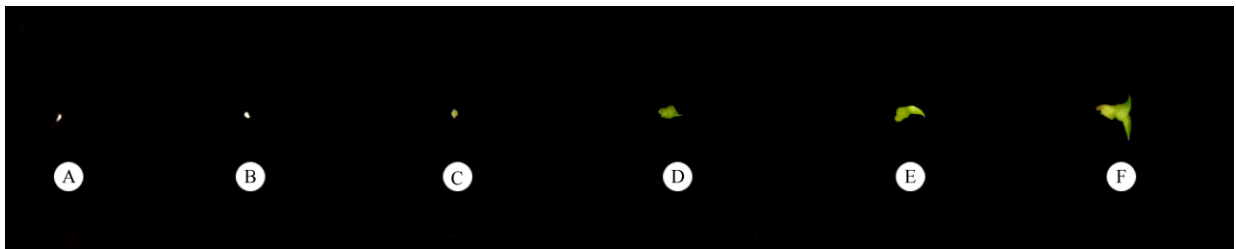


图 1 铁皮石斛种子萌发过程。A: 阶段 0; B: 阶段 1; C: 阶段 2; D: 阶段 3; E: 阶段 4; F: 阶段 5。

Fig. 1 Seed germination process of *Dendrobium officinale*. A: Stage 0; B: Stage 1; C: Stage 2; D: Stage 3; E: Stage 4; F: Stage 5.

1.3 印度梨形孢定殖观察

随机选取处于第 2 阶段铁皮石斛种子,先用无菌水冲洗 3 次,用 10% KOH 浸泡 16 h,再用无菌水冲洗 3 次,再用 1% HCl 浸泡 30 min,然后用

0.05% 台盼蓝染色 7~10 min 后用无菌水冲洗 3 次。在显微镜下观察印度梨形孢是否定殖,使用正置显微镜拍照。

印度梨形孢与铁皮石斛原球茎共培养 7、10、

15 d 时随机选取原球茎, 用无菌水冲洗 3 次, 徒手纵切成厚度为 0.05~0.1 cm 的小片。取生长 40 d 的原球茎的根, 用无菌水洗涤 3 次, 徒手纵切根系成长 1 cm, 厚度 0.05~0.1 cm 的小段, 用上述方法处理后观察印度梨形孢在原球茎阶段的定殖情况。

1.4 生理指标的测定

取铁皮石斛与印度梨形孢共生的种子在体式显微镜下统计萌发率。最早萌发时间参照 Stewart 等的方法^[14], 参照周雨等的方法^[15], 以阶段 3 为萌发标准, 随机取 3 个视野统计萌发率。原球茎接种印度梨形孢 80 d 时, 分别测定株高、鲜质量、干质量、叶片数、叶长、叶宽、根数和根长, 取 9 个原球茎统计生物量, 重复 3 次。

原球茎接种印度梨形孢 80 d 时, 选择从下往上第 2、3 叶片测定叶绿素含量, 用紫外可见分光光度计在 663 和 645 nm 波长下测定吸光度, 参照 Arnon 的公式计算^[16]。接种印度梨形孢 80 d 的早上 9:00-

11:00, 使用 Li-6400 便捷式光合测定仪, 选择从下往上第 3 片叶测定净光合速率、气孔导度、蒸腾速率, PFD 设定为 $1\ 000\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 温度 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$, CO_2 浓度 $(390\pm 10)\ \mu\text{L}/\text{L}$, 每组测定 3 株, 3 次重复。接种印度梨形孢 80 d 时取原球茎的茎, 采用超声提取水溶性多糖, 用苯酚-硫酸方法测定多糖含量^[17]。

2 结果和分析

2.1 对种子萌发的影响

从图 2 可见, 印度梨形孢处理的铁皮石斛种子起始萌发时间约 22 d, 对照约 60 d。接种印度梨形孢的种子发育形成的原球茎更绿、更大, 生长速度较快; 对照种子发育形成的原球茎偏小, 颜色偏黄, 生长速度较慢。接种印度梨形孢 22 d 的铁皮石斛种子萌发率约为 31.8%, 接种 60 d 的萌发率约为 68.8%, 而对照仅为 28.6%。这表明印度梨形孢处理的种子萌发提前了约 38 d, 萌发率提高了 40.2%。

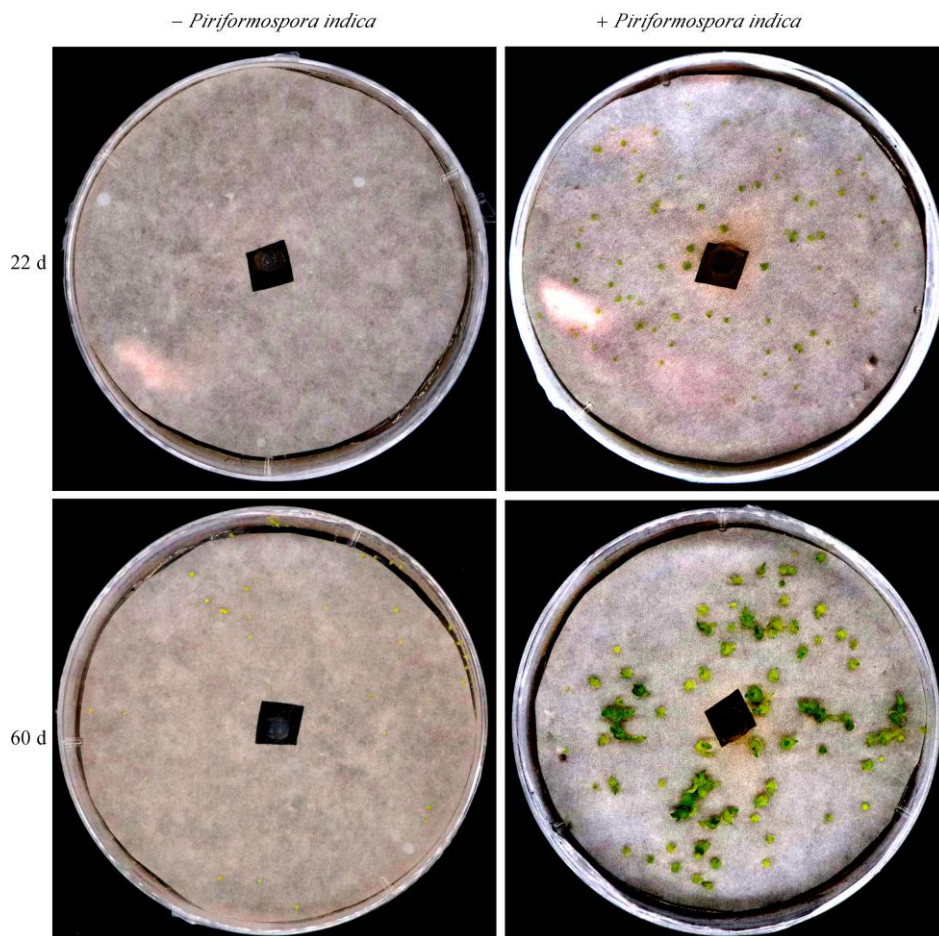


图 2 印度梨形孢对铁皮石斛种子萌发的影响

Fig. 2 Effect of *Piriformospora indica* on seed germination of *Dendrobium officinale*

2.2 对原球茎生长和叶绿素含量的影响

与对照相比,接种印度梨形孢的铁皮石斛原球茎的株高、鲜质量、干质量、叶片数、叶长、叶宽、根数和根长均有提高(表 1),且随接种时间延长持

续促进原球茎生长(图 3)。接种 80 d 的原球茎叶绿素含量比对照高(表 2),叶绿素 a/b 则小于对照,这表明叶片中的叶绿素 a、叶绿素 b 含量比对照的更稳定。

表 1 接种印度梨形孢 80 d 的铁皮石斛原球茎的生长特性

Table 1 Growth characters of protocorm of *Dendrobium officinale* cultured with *Piriformospora indica* for 80 d

	对照 Control	处理 Treatment
株高 Height (cm)	1.667±0.321	2.400±0.173*
鲜质量 Fresh weight (g)	0.041±0.004	0.145±0.017**
干质量 Dry weight (g)	0.012±0.003	0.034±0.010*
叶片数 Number of leaf	4.557±0.510	7.000±1.528*
叶长 Leaf length (cm)	0.800±0.058	1.278±0.019**
叶宽 Leaf width (cm)	0.306±0.004	0.511±0.019**
根数 Number of root	2.778±0.192	4.553±0.387**
根长 Root length (cm)	0.745±0.107	1.256±0.154**

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。下表同。

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$. The same is following Tables.

表 2 接种印度梨形孢 80 d 的铁皮石斛原球茎叶绿素含量

Table 2 Chlorophyll (Chl) contents of protocorm of *Dendrobium officinale* cultured with *Piriformospora indica* for 80 d

	对照 Control	处理 Treatment	对照 Control	处理 Treatment
Chl a (mg/g)	0.225±0.030	0.303±0.016*	Chl a/b	1.953±0.743
Chl b (mg/g)	0.115±0.012	0.214±0.029*	Chl a+b (mg/g)	0.340±0.424
				1.423±0.115*
				0.517±0.046*

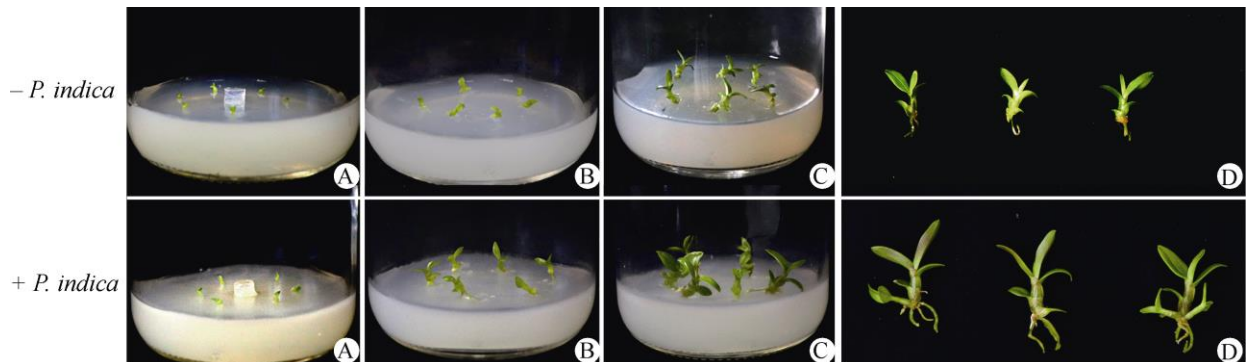


图 3 印度梨形孢接种对铁皮石斛原球茎生长的影响。A: 20 d; B: 40 d; C: 60 d; D: 80 d。

Fig. 3 Effect of *Piriformospora indica* on growth of protocorm of *Dendrobium officinale*. A: 20 d; B: 40 d; C: 60 d; D: 80 d.

2.3 对原球茎叶片光合特性和多糖的影响

接种印度梨形孢 80 d 的铁皮石斛原球茎叶片的光合性能和多糖含量均有提高(表 3),接种印度梨形孢的原球茎叶片净光合速率比对照显著提高了 59.47%, 其多糖含量是对照的 1.29 倍。

2.4 印度梨形孢的定殖

取处于萌发第 2~3 阶段的种子用台盼蓝染色

检测,在显微镜下可观察到印度梨形孢孢子贴着铁皮石斛的种皮,并通过表皮毛进入种子(图 4: E)。

印度梨形孢与原球茎共生 7、10 和 15 d 时,随机选取 10 个原球茎用台盼蓝染色检测,在显微镜下可见印度梨形孢孢子通过表皮毛进入原球茎组织中(图 4: A~C)。共培养 7 d 时印度梨形孢孢子接触到处于种子萌发第 3 阶段的原球茎表皮毛(图 4: A);共培养 10 d 时孢子开始进入处于种子萌发第 4

表 3 共培养 80 d 时印度梨形孢对铁皮石斛原球茎光合参数和多糖的影响

Table 3 Effect of *Piriformospora indica* on photosynthetic parameters and polysaccharides of protocorm of *Dendrobium officinale* cultured for 80 d

	对照 Control	处理 Treatment
净光合速率 Net photosynthesis rate [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]	0.802 46 \pm 0.125 06	1.979 90 \pm 0.686 01*
气孔导度 Stomatal conductance [$\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]	0.021 12 \pm 0.015 14	0.033 06 \pm 0.015 79
蒸腾速率 Transpiration rate [$\text{mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]	0.210 55 \pm 0.151 17	0.341 78 \pm 0.168 82
多糖 Polysaccharide (mg/g)	31.119 36 \pm 0.412 19	40.195 80 \pm 0.861 24**

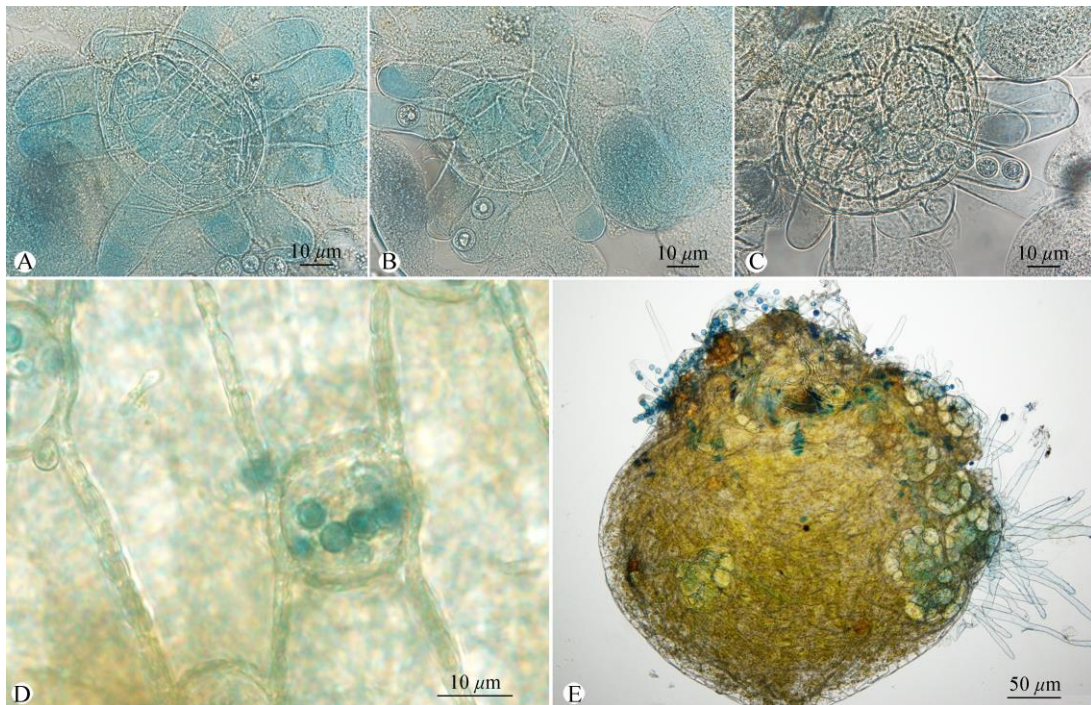


图 4 印度梨形孢在铁皮石斛种子和原球茎中的定殖。A: 孢子与原球茎表皮毛接触; B: 孢子开始进入原球茎表皮毛中; C: 孢子大量进入原球茎表皮毛中; D: 孢子定殖到原球茎根中; E: 孢子在种子表皮毛中定殖。

Fig. 4 Colonization of *Piriformospora indica* in seed and protocorm of *Dendrobium officinale*. A: Spores of *P. indica* contact with epidermis hairs of protocorm; B: Spores of *P. indica* begin to enter epidermis hairs of protocorm; C: *P. indica* spores enter epidermis hairs of protocorm in large numbers; D: *P. indica* colonized into the root; E: *P. indica* spores colonize in epidermis hairs of seed.

阶段的原球茎表皮毛中(图 4: B); 到共培养 15 d 时原球茎处于种子萌发的第 4 阶段, 孢子大量进入原球茎表皮毛中(图 4: C); 共生 40 d 时原球茎处于种子萌发的第 5 阶段, 可见孢子定殖到原球茎根部细胞内或细胞间(图 4: D)。

3 结论和讨论

姜鹏等提出兰科植物种子萌发阶段和成年兰花阶段有较多的真菌种类与其共生, 幼苗阶段的共生真菌种类较少^[18], 真菌可能同时出现在多个时期, 也可能只出现在其中的一个时期。本试验验证在铁皮石斛种子和原球茎发育阶段分别接种印度

梨形孢, 可以达到共生的目的。不同兰科植物对共生萌发真菌的专一性不同, 有些植物对特定真菌具有偏好性, 有些植物呈现泛化的特征, 如火烧兰属植物(*Epipactis atrorubens*)可与多种真菌共生^[19]。有研究表明, 瘤菌根菌属、丝核菌属、角菌根菌属、小菇属真菌可侵染铁皮石斛幼苗, 枝孢霉菌、胶膜菌属等真菌可侵染铁皮石斛种子^[20-24]。因此, 我们推测促进铁皮石斛种子萌发的真菌可能具有一定的泛化特征, 但这仍需更多的试验来验证。

兰科植物种子细小且无胚乳, 共生微生物可以促进种子发芽, 而且可以使成年植物更好地适应环境压力, 通常情况下兰科种子与适宜的内生真菌共生后能够较好萌发^[25]。王亚妮等报道菌根真菌与兰

科植物共生时能主动分泌赤霉素、吲哚乙酸、脱落酸等多种植物激素和生长调节类物质,从而打破细胞休眠,刺激细胞分裂分化,促进兰科植物种子萌发和植株生长^[26]。据报道印度梨形孢感染大麦(*Hordeum vulgare*)后,其植物生长素、赤霉素、脱落酸生长激素代谢基因上调表达^[27]。通过镜检,推断印度梨形孢孢子可能是在种子萌发的第 0 和 1 阶段粘附种皮,提高铁皮石斛种子的抗逆能力,在第 2 和 3 阶段通过表皮毛作用于种子,刺激种子分泌相关生长素,加快种子生长发育。

印度梨形孢可以与被子植物、裸子植物、苔藓植物和蕨类植物共生,提高植物的生物量^[28-33]。据报道印度梨形孢可以促进兰科植物的生长^[34-35]。本研究表明,印度梨形孢在根没有长出时通过表皮毛作用于原球茎,这和种子的侵入方式相同,在根长出后,再次侵入到已经生长为幼苗的原球茎。与对照相比,接种印度梨形孢 80 d 的原球茎的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素、多糖含量和净光合速率均提高,推断印度梨形孢可能是通过增强铁皮石斛叶片的光合性能,从而促进原球茎的生长,提高多糖含量。印度梨形孢对铁皮石斛原球茎具有显著促进生长的作用,而印度梨形孢促进铁皮石斛种子萌发、原球茎生长的作用机制还有待深入研究。

参考文献

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Vol. 1 [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 282-283.
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, 2015: 282-283.
- [2] SUN H, HU Q, JIN H, et al. Research advances in chemical constituents and pharmacological activities of *Dendrobii Officinalis Caulis* [J]. Chin J Exp Trad Med Formul, 2017, 23(11): 225-234. doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.2017110225.
孙恒, 胡强, 金航, 等. 铁皮石斛化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 225-234. doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.2017110225.
- [3] NG T B, LIU J Y, WONG J H, et al. Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 93(5): 1795-1803. doi: 10.1007/s00253-011-3829-7.
- [4] GUO Z B, ZHOU Y M, YANG J P, et al. *Dendrobium candidum* extract inhibits proliferation and induces apoptosis of liver cancer cells by inactivating Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Biomed Pharma-
cother, 2019, 110: 371-379. doi: 10.1016/j.biopha.2018.11.149.
- [5] XIAO L, NG T B, FENG Y B, et al. *Dendrobium candidum* extract increases the expression of aquaporin-5 in labial glands from patients with Sjögren's syndrome [J]. Phytomedicine, 2011, 18(2-3): 194-198. doi: 10.1016/j.phymed.2010.05.002.
- [6] CHEN J, QI H, LI J B, et al. Experimental study on *Dendrobium candidum* polysaccharides on promotion of hair growth [J]. China J Chin Mat Med, 2014, 39(2): 291-295. doi: 10.4268/cjcm20140225.
陈健, 戚辉, 李金标, 等. 铁皮石斛多糖促进毛发生长的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(2): 291-295. doi: 10.4268/cjcm20140225.
- [7] VARMA A, VERMA S, SUDHA, et al. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte [J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(6): 2741-2744. doi: 10.1128/AEM.65.6.2741-2744.1999.
- [8] VARMA A, BAKSHI M, LOU B G, et al. *Piriformospora indica*: A novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus [J]. Agric Res, 2012, 1(2): 117-131. doi: 10.1007/s40003-012-0019-5.
- [9] SU Z Z, WANG T, SHRIVASTAVA N, et al. *Piriformospora indica* promotes growth, seed yield and quality of *Brassica napus* L. [J]. Microbiol Res, 2017, 199: 29-39. doi: 10.1016/j.micres.2017.02.006.
- [10] SHAH S, THAPA B B, CHAND K, et al. *Piriformospora indica* promotes the growth of the *in-vitro*-raised *Cymbidium aloifolium* plantlet and their acclimatization [J]. Plant Signal Behav, 2019, 14(6): 1596716. doi: 10.1080/15592324.2019.1596716.
- [11] PRASAD R, KAMAL S, SHARMA P K, et al. Root endophyte *Piriformospora indica* DSM 11827 alters plant morphology, enhances biomass and antioxidant activity of medicinal plant *Bacopa monniera* [J]. J Bas Microbiol, 2013, 53(12): 1016-1024. doi: 10.1002/jobm.201200367.
- [12] CAO X X. Isolation and identification of pathogenic fungi causing diseases on *Dendrobium officinale* and the research of growth-promoting effect of *Piriformospora indica* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
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.
- [13] WU H F, SONG X Q, LIU H X. *Ex-situ* symbiotic seed germination of *Dendrobium catenatum* [J]. Acta Ecol Sin, 2012, 32(8): 2491-2497. doi: 10.5846/stxb201101280147.
吴慧凤, 宋希强, 刘红霞. 铁皮石斛种子的室内共生萌发 [J]. 生态学报, 2012, 32(8): 2491-2497. doi: 10.5846/stxb201101280147.
- [14] STEWART S L, ZETTLER L W. Symbiotic germination of three semi-aquatic rein orchids (*Habenaria repens*, *H. quinquiseta*, *H. macro-*

- ceratitis*) from Florida [J]. *Aquat Bot*, 2002, 72(1): 25–35. doi: 10.1016/S0304-3770(01)00214-5.
- [15] ZHOU Y, FU Q, WANG Y, et al. Effects of different hormones on seed sterile germination and cultivation of *Bletilla striata* [J]. *Seed*, 2019, 38(2): 83–85,88. doi: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2018.02.083.
周雨, 付巧, 汪意, 等. 不同激素对白及种子无菌萌发生长的影响 [J]. *种子*, 2019, 38(2): 83–85,88. doi: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2018.02.083.
- [16] LI H S. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 35–160.
李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 35–160.
- [17] JIN R, XIE W H, CHEN J B, et al. Effects of ultrasonic-assisted hot water extraction on the yield and structure of water soluble polysaccharides from *Dendrobium officinale* [J]. *J Zhejiang Univ (Agric Life Sci)*, 2019, 45(2): 196–204. doi: 10.3785/j.issn.1008-9209.2018.04.161.
金蓉, 谢文华, 陈杰标, 等. 超声辅助热水提取对铁皮石斛水溶性多糖得率和结构的影响 [J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2019, 45(2): 196–204. doi: 10.3785/j.issn.1008-9209.2018.04.161.
- [18] JIANG P, FAN L. The application of research methods in the symbiosis between orchids and fungi [J]. *Mycosystema*, 2009, 28(6): 895–901.
姜鹏, 范黎. 兰科植物与真菌共生关系研究方法及其应用 [J]. *菌物学报*, 2009, 28(6): 895–901.
- [19] GAO Y, CHEN Y H, XING X K. Symbiotic fungi inducing seed germination of medicinal *Gymnadenia conopsea* of Orchidaceae [J]. *Mycosystema*, 2019, 38(11): 1948–1957. doi: 10.13346/j.mycosystema.190208.
高越, 陈艳红, 邢晓科. 兰科药用植物手参种子的真菌共生萌发 [J]. *菌物学报*, 2019, 38(11): 1948–1957. doi: 10.13346/j.mycosystema.190208.
- [20] WANG W Y, ZOU H, DAI Y M, et al. Effect of *Epulorhiza* sp. on root morphology of *Dendrobium officinale* and their symbiotic relationship [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2020, 28(2): 124–130. doi: 10.11926/jtsb.4093.
王伟英, 邹晖, 戴艺民, 等. 瘤菌根菌对铁皮石斛根系形态的影响及其共生关系的研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2020, 28(2): 124–130. doi: 10.11926/jtsb.4093.
- [21] KANG Z H, HAN S F, HAN Z M. Effects of Orchidaceous rhizotomias on the growth of *Dendrobium candidum* [J]. *J Nanjing For Univ (Nat Sci)*, 2007, 31(5): 49–52. doi: 10.3969/j.issn.1000-2006.2007.05.011.
亢志华, 韩素芬, 韩正敏. 兰科丝核菌类真菌对铁皮石斛生长的影响 [J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2007, 31(5): 49–52. doi: 10.3969/j.issn.1000-2006.2007.05.011.
- [22] GAO W W, GUO S X. Effects of endophytic fungal hyphae and their metabolites on the growth of *Dendrobium candidum* and *Anoectochilus roxburghii* [J]. *Acta Acad Med Sin*, 2001, 23(6): 556–559.
高微微, 郭顺星. 内生真菌菌丝及代谢物对铁皮石斛及金线莲生长的影响 [J]. *中国医学科学院学报*, 2001, 23(6): 556–559.
- [23] YANG J W, CHEN X M, MENG Z X, et al. Effects of fungus S7 (*Tulasnella* sp.) and extracts on the germination of *Dendrobium candidum* seeds [J]. *Sci Sin Vit*, 2020, 50(5): 559–570.
杨建文, 陈晓梅, 孟志霞, 等. 胶膜菌属真菌 S7 (*Tulasnella* sp.) 及提取物对铁皮石斛种子萌发的影响 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2020, 50(5): 559–570.
- [24] WANG Z C. Response mechanisms of *Dendrobium officinale* inoculated with *Cladosporium halotolerans* and key environmental factors for its seed germination [D]. Chongqing: Southwest University, 2019.
王兆春. 铁皮石斛接种枝孢霉菌的响应机制及其种子萌发关键环境因子研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2019.
- [25] TEIXEIRA DA SILVA J A, TSAVKELOVA E A, ZENG S J, et al. Symbiotic *in vitro* seed propagation of *Dendrobium*: Fungal and bacterial partners and their influence on plant growth and development [J]. *Planta*, 2015, 242(1): 1–22. doi: 10.1007/s00425-015-2301-9.
- [26] WANG Y N, WANG L K, MIAO Z B, et al. Research advances in mycorrhizal fungi of *Dendrobium* (Orchidaceae) [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2013, 21(3): 281–288. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.03.015.
王亚妮, 王丽琨, 苗宗保, 等. 兰科石斛属植物菌根真菌研究进展 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2013, 21(3): 281–288. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.03.015.
- [27] SCHÄFER P, PFIFFI S, VOLL L M, et al. Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica* [J]. *Plant J*, 2009, 59(3): 461–474. doi: 10.1111/j.1365-3113X.2009.03887.x.
- [28] CHENG C Z, SUN X L, HAO X Y, et al. Effects of *Piriformospora indica* treatment on seed germination and seedling growth of longan plants [J]. *Fujian J Agric Sci*, 2018, 33(5): 481–484. doi: 10.19303/j.issn.1008-0384.2018.05.006.
程春振, 孙雪丽, 郝向阳, 等. 印度梨形孢对龙眼种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. *福建农业学报*, 2018, 33(5): 481–484. doi: 10.19303/j.issn.1008-0384.2018.05.006.
- [29] JISHA S, SABU K K. Multifunctional aspects of *Piriformospora indica* in plant endosymbiosis [J]. *Mycology*, 2019, 10(3): 182–190. doi: 10.1080/21501203.2019.1600063.
- [30] ZHOU X Y, LIANG Y, DONG Z, et al. Effects of *Piriformospora*

- indica* on growth and root morphology of *Pinus thunbergii* seedlings [J]. *J Shandong Univ (Nat Sci)*, 2018, 53(7): 7–14. doi: 10.6040/j.issn.1671-9352.0.2018.019.
- 周晓莹, 梁玉, 董智, 等. 印度梨形孢对黑松幼苗生长量及其根系形态的动态影响 [J]. *山东大学学报(理学版)*, 2018, 53(7): 7–14. doi: 10.6040/j.issn.1671-9352.0.2018.019.
- [31] WU J D, CHEN Q, LIU X X, et al. Preliminary study on mechanisms of growth promotion in rice colonized by *Piriformospora indica* [J]. *Chin J Rice Sci*, 2015, 29(2): 200–207. doi: 10.3969/j.issn.1001-7216.2015.02.012.
- 吴金丹, 陈乾, 刘晓曦, 等. 印度梨形孢对水稻的促生作用及其机理的初探 [J]. *中国水稻科学*, 2015, 29(2): 200–207. doi: 10.3969/j.issn.1001-7216.2015.02.012.
- [32] WANG H L, ZHENG J R, ZHENG X D. Effect of *Piriformospora indica* on the growth and nutritional quality of Chinese celery (*Apium graveolens* L.) [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2017, 17(6): 124–130. doi: 10.16429/j.1009-7848.2017.06.017.
- 王慧俐, 郑积荣, 郑晓冬. 印度梨形孢对芹菜的生长及营养品质的影响 [J]. *中国食品学报*, 2017, 17(6): 124–130. doi: 10.16429/j.1009-7848.2017.06.017.
- [33] LIN H F, XIONG J, ZHOU H M, et al. Growth promotion and disease resistance induced in *Anthurium* colonized by the beneficial root endophyte *Piriformospora indica* [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 40. doi: 10.1186/s12870-019-1649-6.
- [34] LIU H C, LI M J, JIN L, et al. Effect of *Piriformospora indica* on tissue cultured seedling growth of *Oncidium* orchid [J]. *Zhejiang Agric Sci*, 2019, 60(4): 642–645. doi: 10.16178/j.issn.0528-9017.20190436.
- 刘慧春, 李明江, 金亮, 等. 印度梨形孢对文心兰组培苗生长的影响 [J]. *浙江农业科学*, 2019, 60(4): 642–645. doi: 10.16178/j.issn.0528-9017.20190436.
- [35] YE W, SHEN C H, LIN Y L, et al. Growth promotion-related miRNAs in *Oncidium* orchid roots colonized by the endophytic fungus *Piriformospora indica* [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e84920. doi: 10.1371/journal.pone.0084920.