

菌根真菌与兰科植物互作的组学研究进展

赵泽宇 刘娜 邢晓科[✉]

中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所 北京 100193

摘要: 兰科植物因其具有丰富的物种多样性和重要的社会经济价值, 多年来一直是植物学及生态学界的重点研究对象。菌根真菌对兰科植物的种子萌发、营养吸收和种群动态等多个方面都具有十分重要的作用, 因而近年来受到越来越多的关注。探究菌根真菌与兰科植物互作的内在机制是目前兰科菌根研究的一大热点领域, 同时也为兰科植物野生资源保护和种群恢复提供了许多新方法与新思路。随着新一代测序技术以及多种组学数据库的发展与建立, 菌根真菌与兰科植物互作机制研究已然进入了一个全新的时代。纵观近年来的研究, 通过基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等相关技术, 人们对兰科菌根共生过程中的种子萌发、营养物质转运、信号转导、宿主免疫和逆境抗性等方面的内在机制有了一定的了解。本文对近十年来国内外采用组学技术研究菌根真菌与兰科植物互作机制方面的研究成果进行了总结和梳理, 并对未来该领域的研究进行了展望。

关键词: 兰科菌根, 互作机制, 基因组学, 转录组学, 蛋白质组学, 代谢组学

[引用本文] 赵泽宇, 刘娜, 邢晓科, 2021. 菌根真菌与兰科植物互作的组学研究进展. 菌物学报, 40(3): 423-435

Zhao ZY, Liu N, Xing XK, 2021. Research advances in mechanisms of interaction between mycorrhizal fungi and Orchidaceae plants by using omics techniques. Mycosystema, 40(3): 423-435

Research advances in mechanisms of interaction between mycorrhizal fungi and Orchidaceae plants by using omics techniques

ZHAO Ze-Yu LIU Na XING Xiao-Ke[✉]

Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China

Abstract: Orchidaceae plants are always interested by phytologists and ecologists due to their high species diversity and important social economy values. Orchid mycorrhizal fungi (OMF) play an important role in seed germination, nutrition absorption and population dynamics of orchids, and attract more and more people's attention in recent years. Exploring the mechanisms of

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程-重大协同创新项目 (2016-I2M-2-002)

Supported by CAMS Initiative for Innovative Medicine (2016-I2M-2-002).

✉ Corresponding author. E-mail: xkx2009@hotmail.com

ORCID: ZHAO Ze-Yu (0000-0003-3859-5911), XING Xiao-Ke (0000-0002-1845-5076)

Received: 2020-11-12, accepted: 2020-12-01

interaction between orchids and OMF is the hotspot in orchid mycorrhiza research field, and provides new insight into orchid conservation and population recovery. With the development and establishment of next generation sequencing and multi-omics databases, research on mechanisms of interaction between OMF and orchids has been entered a new era, and people know more about internal mechanisms of seed symbiotic germination, nutrient transportation, symbiotic signal transduction, host immunity and stress resistance by using the omics techniques such as genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. In this paper, researches associated with the mechanisms of interaction between OMF and orchids by using omics technology in recent decade are summarized, and future advances in this field are prospected.

Key words: orchid mycorrhiza, interaction mechanisms, genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics

地球上大约有超过 90% 的陆生植物都与真菌形成菌根共生关系, 这种共生关系可以为植物提供所需营养中 80% 的氮源与磷源 (Bonfante & Genre 2010; van der Heijden *et al.* 2015)。按照定植区域以及真菌的形态与功能进行划分, 菌根类型可以主要分为外生菌根 (EcM)、丛枝菌根 (AM)、杜鹃类菌根 (ErM) 以及兰科菌根 (OrM) (Smith & Read 2008)。这些菌根真菌或生活在根部的皮层细胞内, 或在皮层细胞周围, 将根内部细胞与根系无法到达的土壤深处“连接”起来, 间接增大了根的营养吸收面积。菌根真菌还可以将不同的植物联系起来形成共生网路, 介导养分在整个生态系统中的循环与分配 (van der Heijden *et al.* 2015)。由于菌根真菌可以对主要农作物产量、植物物种多样性以及植物种群分布等多个方面产生显著影响, 该领域已受到越来越多生物学家及生态学家们的关注。当前, 人们对丛枝菌根真菌及外生菌根真菌与植物的互作机制已有了比较系统的认识, 相比之下, 对兰科菌根真菌 (OMF) 的了解还相对滞后, 仍有诸多未知亟待人们深入探索。

兰科植物是被子植物中的第二大科, 至

今已发现 28 484 种 (Govaerts *et al.* 2017), 其中许多种类具有非常重要的药用价值、观赏价值、科研价值以及经济价值 (陈心启和吉占和 2003)。由于人们的过度采挖以及对兰科植物的生境破坏, 很多野生兰科植物已处于濒临灭绝的边缘 (Teo *et al.* 2019)。世界各国都十分重视对兰科植物生物多样性的保护, 我国也已将兰科所有种植物列入《国家重点保护野生植物名录 (第二批)》。相比于其他植物而言, 兰科植物的种子十分微小且不含胚乳, 仅包含未分化完全的胚, 在自然环境中无法依靠自身储备的营养物质完成种子萌发 (Kauth *et al.* 2008), 进而兰科植物的种子必须依赖真菌提供的营养才能萌发并形成幼苗 (郭顺星和徐锦堂 1990; 陈瑞蕊等 2003; Rasmussen & Rasmussen 2009)。兰科植物与 OMF 的营养互换机制较为复杂, 但当前已有研究表明 OMF 可以向兰科植物传递磷、氮等营养, 而光合自养型的兰科植物为 OMF 提供碳水化合物作为回报 (Dearnaley & Cameron 2017), 完全真菌异养型以及部分真菌异养型的兰科植物在成年后由于无法进行光合作用或无法通过光合作用获得足够的碳源, 仍需要 OMF 供

给碳源 (Waterman *et al.* 2011; Merckx 2013; Rasmussen *et al.* 2015)。除此之外, OMF 还有助于兰科植物抵抗逆境, 如干旱 (McCormick *et al.* 2006, 2009; 魏明等 2018)、病害 (Ye *et al.* 2019)、重金属污染 (Herrera *et al.* 2018) 等。由此可见, OMF 对兰科植物的个体繁衍以及物种多样性的维持具有关键作用, 探明菌根共生的内在机制将对未来濒危野生兰科植物的保护工作提供重要的理论参考。

目前兰科菌根互作方面的研究主要包括 OMF 促进兰科植物的种子萌发、生长发育、营养吸收以及提高抗逆性等方面, 但对其互作机制的研究还相对较少。近年来, 随着新一代测序技术和多组学技术的不断发展, 人们对 OMF 与兰科植物互作机制的了解也逐步深入, 多维组学技术已成为人们探究兰科植物与 OMF 互作机制的有效手段。本文从基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学 4 个方面, 对近十年来有关 OMF 与兰科植物互作机制的研究进行了归纳与总结。

1 菌根真菌与兰科植物互作的基因组研究

当前, 已有多种兰科植物完成了基因组测序, 如小兰屿蝴蝶兰 *Phalaenopsis equestris* (Cai *et al.* 2015)、蝴蝶兰 *Phalaenopsis aphrodite* (Chao *et al.* 2018)、铁皮石斛 *Dendrobium officinale* (Yan *et al.* 2015)、黄石斛 *Dendrobium catenatum* (Zhang *et al.* 2016)、深圳拟兰 *Apostheca shenzhenica* (Zhang *et al.* 2017) 以及天麻 *Gastrodia elata* (Yuan *et al.* 2018) 等; 另外, OMF 的基因组测序亦有开展, 但目前相关研究报道还比较少, 仅有个别菌株 (*Sebacina vermifera*、美胞胶膜菌 *Tulasnella calospora* 以及 *Ceratobasidium* sp.) 完成了全基因组测

序 (Kohler *et al.* 2015; Miyauchi *et al.* 2020)。同时, 基于 illumina 和 454 焦磷酸测序平台也产生了越来越多兰科植物与 OMF 共生过程中基因表达的转录组数据, 如大花蕙兰 *Cymbidium hybridum* (Zhao *et al.* 2014)、*Serapias vomeracea* (Perotto *et al.* 2014; Fochi *et al.* 2017a)、金线莲 *Anoectochilus roxburghii* (Liu *et al.* 2015)、天麻 *G. elata* (Tsai *et al.* 2016)、铁皮石斛 *D. officinale* (Chen *et al.* 2017, 2020; Wang *et al.* 2018)、火烧兰 *Epipactis helleborine* (Suetsugu *et al.* 2017) 以及白及 *Bletilla striata* (Miura *et al.* 2018) 等, 这些数据为揭示 OMF 与兰科植物互作过程中双方的生理学变化和调控机制提供了重要的参考。

近年来关于兰科植物基因组数据对揭示菌根互作机制最直观的应用就是通过已知的共生基因序列进行兰科植物全基因组水平的功能基因预测, 从而探究相关基因在兰科植物中的结构、功能与表达情况。杨前宇等 (2018) 利用钙调蛋白 (CaM) 及类钙调蛋白 (CML) 的蛋白质序列对小兰屿蝴蝶兰和铁皮石斛的基因组序列进行比对, 发现在小兰屿蝴蝶兰与铁皮石斛中均预测到 4 个 CaM 蛋白和 54 个 CML 蛋白; 通过对兰科植物不同组织的基因表达水平进行分析, 显示这些基因在不同的植物组织中具有重要作用; 同时铁皮石斛与 *T. calospora* 共生过程中 CaM 与 CML 可能参与该过程中的生物学调控。宋争 (2017) 对铁皮石斛质体蓝素 *Phycocyanin* (DoPCs)、WRKY (DoWRKY) 基因家族序列进行全基因组范围内的预测, 发现铁皮石斛中包含 38 个潜在的 DoPCs 基因, 均含有两个保守的半胱氨酸残基, 并可按照铜离子结合配体的结构划分为 4 个亚家族; 在共生萌发与非共生萌发的对比中, 有 3 个

基因在共生萌发中特异性表达, 7 个基因在共生萌发中上调表达, 只有 1 个基因下调表达, 暗示这些基因可能参与了共生萌发过程的调控; 进一步对 DoWRKY 进行分析发现, 总共获得的 52 条 DoWRKY 氨基酸序列中, 有 7 条序列含两个 WRKY 结构域, 45 条序列仅含有 1 个 WRKY 结构域, 在启动子区预测到顺式作用元件的全部 48 条序列都至少包含两种逆境胁迫或激素响应相关的顺式作用元件, 说明这些基因可能参与多种胁迫和激素应答响应。由此可见兰科植物与菌根真菌的基因组学研究为人们从分子水平上揭示菌根互作的机制提供了有力支撑, 然而目前能够利用的基因组数据还非常有限, 期待未来会有更多兰科植物与菌根真菌的基因组信息被挖掘。

2 菌根真菌与兰科植物互作的转录组研究

兰科植物与 OMF 的关系在早期被认为是从共生状态到寄生状态的连续变化过程 (Johnson *et al.* 1997)。早期定义的“丝核菌 *Rhizoctonia*”类群中, 就包含有植物病原菌 (Taylor *et al.* 2002; Weiss *et al.* 2004), 同时兰科植物的组织中也会积累植物抗毒素及抗真菌蛋白 (Wang *et al.* 2001; Shimura *et al.* 2007)。关于这一点, Perotto *et al.* (2014) 对兰科植物 *Serapias vomeracea* 与 *Tulasnella calospora* 在共生状态下的植物防御与抗病原机制进行了转录组分析, 结果发现病原相关和创伤诱导的基因均未在菌根侵染的原球茎中被诱导表达; 而一些结瘤素样蛋白基因, 如 *SvNod1* 及 *SvNod9* 则在有真菌定植的部分上调表达; 其中 *SvNod1* 编码含质体蓝素的早期结瘤素样蛋白, 被认为在细胞表面的互作中发挥作用 (Scheres *et al.* 1990), 而

SvNod9 编码一个预测的 SWEET 家族双向糖转运蛋白, 可以根据糖梯度双向转运己糖通过细胞膜。类似地, 在对火烧兰与 OMF 共生的转录组分析中也没有发现与防御反应相关的 GO terms 出现, 这表明火烧兰与 OMF 的关系是“友好的” (Suetsugu *et al.* 2017)。Miura *et al.* (2018) 对白及与一种胶膜菌 *Tulasnella* sp. Strain HR1-1 共生早期的转录组进行分析, 发现白及中包含水稻 *Oryza sativa* 与百脉根 *Lotus japonicus* 中几乎全部的一般共生基因 (common symbiosis gene, CSG), 并且白及中大多数 CSG 的同源基因也能在共生萌发过程中被 *Tulasnella* sp. Strain HR1-1 诱导表达, 此外将白及中的钙和钙调蛋白依赖的蛋白激酶基因 (*CCaMK*) 转导到百脉根中也可以发挥功能促使其形成 AM 以及根瘤, 表明二者之间的 *CCaMK* 具有极高的同源性; 同时共生过程中一些生物胁迫以及防御相关的基因例如 *PR1* 样基因以及 *WRKY* 转录因子家族基因则并未被诱导, 暗示 *Tulasnella* sp. Strain HR1-1 定植白及原球茎并未激发一个显著的防御反应。除此之外, Zhao *et al.* (2013) 利用抑制性消减杂交技术对铁皮石斛与一种蜡壳菌 *Sebacina* sp. 共生培养的差异表达基因进行分析, 发现植物对压力响应以及对生物及非生物刺激物的响应只占差异表达转录本的一小部分, 也表明共生关系的形成并不引起植物显著的免疫反应。可以看出, 以上的这些研究均暗示 OMF 对兰科植物的关系更主要是互惠共生而非寄生。但也有例外, Zhao *et al.* (2014) 对大花蕙兰与菌根真菌 ML01、非菌根真菌 ZH3A-3 以及两种真菌同时共培养的 3 种处理分别进行转录组测序, 结果发现两种真菌的侵入都导致兰科植物防御反应的相关基因上调表达。究竟菌根真菌是否

能够引起兰科植物的免疫防御反应？真菌与植物之间的关系又是如何调节的？目前仍知之甚少。

菌根真菌可以促进兰科植物种子的萌发，且促萌发真菌具有较高的多样性（高越等 2019）。近年来亦有研究从转录组水平开展对 OMF 促种子萌发机制的研究。Chen *et al.* (2017) 对共生萌发和非共生萌发两种条件下不同发育时期的铁皮石斛种子进行了比较转录组学分析，发现真菌的定植可能改变植物的代谢模式并提升营养利用效率，特别是糖类及脂类的代谢被激活，例如在共生萌发早期的铁皮石斛种子中，与淀粉降解相关的基因较之同期非共生萌发的种子存在显著上调，同时乙酰辅酶 a 结合蛋白以及 β 氧化多功蛋白基因也发生了上调表达，而这两个基因又被认为是脂肪酸代谢过程中的关键酶基因，暗示真菌的定植可以诱导兰科植物表达相关酶类，从而更高效地利用胚中储存的高能淀粉和脂肪酸以度过萌发的早期阶段。关于铁皮石斛与 *Tulasnella calospora* 共生与非共生萌发的差异表达基因也有其他研究者进行了分析，发现共生过程中与赤霉素、吲哚乙酸、脱落酸、细胞分裂素和油菜素类固醇等激素的信号转导相关基因差异表达显著，在共生的 *T. calospora* 菌丝中甘氨酸/丝氨酸羟甲基转移酶基因、赤霉素受体蛋白基因 *GID1*、生长素/吲哚乙酸家族蛋白基因以及生长素响应和受体蛋白基因上调表达显著（宋争 2017）。在对金线莲比较转录组分析中也发现 OMF 共生可以显著增强金线莲 GA-GID1-DELLA 调控模式中 *GA20ox*、*GA2ox* 以及 *DELLA* 基因的表达（Liu *et al.* 2015）。其中 *GA20ox* 可以催化赤霉素的生物合成，*GA2ox* 可以通过羟基化使得具有生物活性的赤霉素或其前体物质转化为

无活性结构，而 *DELLA* 基因则已被证明在 AM 发育过程中发挥重要作用（Floss *et al.* 2013）。

除了种子萌发，关于 OMF 促进兰科植物营养转运的机制近年来也备受关注（陈艳红等 2017）。Fochi *et al.* (2017a) 对 *Serapias vomeracea* 在 *Tulasnella calospora* 定植与非定植的两种状态下进行比较转录组分析，结果发现植物的铵盐转运蛋白（*SvAMT1* 和 *SvAMT2*）均未在共生条件下显著上调，这与 AM 真菌向植物传递氮源主要以铵盐的形式不同，而两个编码氨基酸通透酶的基因（*SvAAP1* 和 *SvAAP2*）以及一个与赖氨酸-组氨酸转运蛋白高度相似的基因显著上调表达，暗示有机氮可能是真菌向植物转运氮源的主要形式；同时该研究还对共生与非共生的真菌转录组进行比较，发现组氨酸脱氢酶以及酵母氨酸脱氢酶等与赖氨酸与组氨酸生物合成相关酶类的基因在共生条件下上调表达，显示共生状态下菌根真菌合成氨基酸通路更加活跃。有趣的是，通过结合之前 OMF 与兰科植物营养传递方面的研究，对共生的 OMF 施以双重标记的 [^{13}C - ^{15}N] 甘氨酸后，植物根系提取物的 ^{13}C : ^{15}N 比甘氨酸中的比例低，表明真菌向兰科植物运输的是一种含氮量更高的物质（例如赖氨酸与组氨酸）（Cameron *et al.* 2006），进而推测 OMF 向兰科植物运输氮源可能以精氨酸、赖氨酸或组氨酸这类氮含量更高的氨基酸形式进行运输（Fochi *et al.* 2017a）。此外通过激光显微解剖技术，对不同菌丝团发育阶段的 *Serapias vomeracea* 根部细胞进行分离，并对其氮转运相关基因的表达进行研究，发现 3 个编码氨基酸转运蛋白的基因（*SvAAP1*、*SvAAP2* 和 *SvLHT*）在菌丝团完整的细胞中的表达量要显著高于菌丝团衰老浓缩的细胞，

说明真菌向植物转运有机氮主要是发生在有完整真菌细胞膜的植物-真菌内共生界面上 (Fochi *et al.* 2017b)。除共生界面的营养交换外,菌丝团消化也是重要的兰科植物获取营养的途径。Tsai *et al.* (2016) 对天麻与蜜环菌共生的转录组分析显示,侵入蜜环菌后天麻中 TRINITY_DN70668_c0_g1 功能基因(被注释为天麻抗真菌蛋白)显著上调表达,该蛋白有助于天麻降解蜜环菌细胞壁从而获取营养。Suetsugu *et al.* (2017) 对白化和非白化的火烧兰菌根进行比较转录组分析,发现在白化植株中抗氧化代谢基因(硫氧还蛋白、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化物硫氧还蛋白)上调表达,同时植株内真菌 DNA 含量较绿色火烧兰菌根细胞中含量更低,推测白化植株抗氧化基因的表达量升高可能是由于其更依赖通过真菌降解以获取营养,导致发生大量消化反应使得兰科植物细胞内的活性氧水平升高而造成的。总而言之,OMF 促进植物种子萌发并传递营养,是兰科菌根非常重要的生理功能,逐步阐明其内在机理对未来进行濒危兰科植物的种群保护、生物菌剂的开发利用以及优化兰科栽培品种的功能性状等诸多方面有较广泛的指导与应用价值。

3 菌根真菌与兰科植物互作的蛋白质组研究

除了转录组分析之外,蛋白质组学也广泛应用于兰科菌根共生的研究中。Chen *et al.* (2017) 对铁皮石斛共生萌发种子与非共生萌发种子之间的蛋白质组学研究表明有 229 个差异表达的蛋白质,并有 32 个候选基因在转录组和蛋白质组中都表现出相同的变化趋势,其主要与细胞内翻译后修饰、基因转录以及碳水化合物代谢等方面相关,并且

在萌发早期一些代谢通路的蛋白质被显著地富集,包括“乙醛酸和二羧酸盐代谢”“谷胱甘肽代谢”以及“光合产物的碳代谢”,其中“乙醛酸循环代谢”更是脂肪酸代谢产生碳水化合物的主要途径,可能暗示真菌的侵入促进了宿主植物利用胚细胞中脂质的营养储备。Valadares *et al.* (2014) 利用蛋白质组学技术对飞燕兰 *Oncidium sphacelatum* 与一种角担菌 *Ceratobasidium* sp. 共生后不同阶段原球茎(无叶绿素和有叶绿素)中的营养模式进行研究,发现在完全真菌异养的无叶绿素原球茎中,糖酵解途径中的果糖二磷酸醛缩酶和烯醇酶以及三羧酸循环中异柠檬酸裂解酶显著积聚,同时真菌中糖类与蛋白质生物合成的相关蛋白也被富集,提示真菌来源有机碳的分解代谢被激活;而相较之下,绿色原球茎中主要与光合作用有关的蛋白质上调表达,例如二磷酸核酮糖羧化酶以及光系统 I 中叶绿素 a 载脂蛋白 A1,表明兰科植物的营养类型逐步由真菌异养转化为光合自养。López-Chávez *et al.* (2016) 利用蛋白质组学技术与形态测定的方法对飞燕兰与一种亡革菌 *Thanatephorus* sp. RG26 的互作进行研究,结果显示在为期 98d 的互作期间真菌显著地促进兰科植物的生长与分化,同时真菌的出现诱导兰科植物中与细胞周期(α -微管蛋白)、核糖体生物合成(DEAD-box RNA 解旋酶、核内 GTP 结合蛋白)、嘌呤循环(黄嘌呤脱氢酶)、生物防御(β -微管蛋白、DEAD-box RNA 解旋酶、黄嘌呤脱氢酶)等方面相关的蛋白水平增加;而真菌中与糖类、蛋白质生物合成(UDP-3-O-[3-hydroxymyristoyl]葡萄糖胺酰基转移酶、钼辅因子硫化酶)、压力响应(Sin1、TPR-2)方面相关的蛋白质水平增加,说明 *Thanatephorus* sp. RG26 定植飞燕兰的

过程中,一方面引起了植物的防御反应,一方面又向植物提供营养促进其生长发育。

还有一些研究关注成年兰科植物与菌根真菌互作的分子机理。Valadares *et al.* (2020) 对野外收集的成年兰科植物 *Oeceoclades maculata* 菌根真菌定植与未定植的根段进行了蛋白质组与转录组分析,发现有真菌侵染的根段中,与淀粉降解、营养转运相关的蛋白质水平与基因表达量均提高,而在无真菌侵染的根段中与淀粉生物合成、植物免疫相关的蛋白质水平更高。该研究者推测成年 *O. maculata* 中来自光合作用的碳源在无真菌侵染的年轻根段中合成淀粉,之后再由形成菌根的年老根段运输给真菌,但也不能排除年轻根段中积累的淀粉有一部分碳源来源于真菌,因为 *O. maculata* 虽然能够进行光合作用,但其也是部分真菌异养的兰科植物;同时该结果也与已有转录组方面的研究结果相一致,含菌根的根段中植物免疫相关的蛋白质水平较不含菌根的根段更低,即菌根的形成并不引起显著的宿主植物免疫反应。关于 OMF 帮助兰科植物抵抗逆境方面, Herrera *et al.* (2018) 对兰科植物 *Bipinnula fimbriata* 在重金属胁迫下的蛋白质组进行了研究,发现在重金属胁迫下 OMF 定植率更高,可能是由于无真菌定植的重金属处理根段中,植物会降低免疫反应以及细胞壁修饰相关蛋白的水平,并产生与胡萝卜素生物合成相关的酶类,从而诱导并吸引菌根真菌的定植;此外,真菌定植部分与无真菌定植的部分相比有更高的蛋白质水平,这些蛋白主要与细胞生长、膜转运、抗病原菌和氧化应激控制有关,能够有效地帮助宿主植物缓解重金属环境所带来的负面影响。

4 菌根真菌与兰科植物互作的代谢组研究

已有研究表明菌根真菌能导致兰科植物中代谢物发生改变,例如菌根真菌可以刺激兰科植物产生多糖类化合物 (Li *et al.* 2017a)、生物碱 (陈晓梅和郭顺星 2005; Li *et al.* 2017b)、黄酮类化合物 (Zhang *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2020) 等。Chen *et al.* (2020) 利用超高效液相-质谱连用对共生萌发与非共生萌发铁皮石斛种子中的内源激素含量进行分析,发现在幼苗发育阶段,共生萌发的铁皮石斛种子较非共生萌发的对照组赤霉素/脱落酸的比值更高,同时共生萌发的种子中还具有更高的吲哚乙酸含量,从而对铁皮石斛种子接菌后胚更快的生长发育与组织分化做出了解释。Wang *et al.* (2018) 利用 UPLC-ESI-qMS/MS 测定共生铁皮石斛种子、非共生铁皮石斛种子以及自由生长真菌菌丝中脱落酸,茉莉酸以及独脚金内酯的含量,发现在共生组织中 3 种植物激素的含量均小于非共生组织,其中茉莉酸、脱落酸是植物抑制病原菌入侵的重要防御物质,可以有效地减少病原菌侵染效率,因而这两种激素含量的减少有利于真菌侵入植物细胞发挥后续功能。Herrera *et al.* (2018) 对重金属污染下 *B. fimbriata* 的根内有机酸和酚类物质进行了分析,发现苹果酸、琥珀酸及柠檬酸盐的含量有所升高,而这些有机酸可以作为重金属螯合剂、无机营养增溶剂发挥保护植物的作用。

完全真菌异养型的兰科植物被认为是从混合营养型进化而来,为了阐明植物体内驱动这种进化的代谢和生理机制, Lallemand *et al.* (2019) 对 3 种兰科植物 (大花头蕊兰 *Cephalanthera damasonium*、火烧兰 *E. helleborine*、*Epipactis purpurata*) 中白化植

物组织和绿色植物组织的代谢组及转录组进行研究,结果发现在白化的植物中,与光合作用相关的基因及代谢产物含量均下调,同时矿质营养转运相关蛋白(氮、磷、硫、镁、锌转运子)的表达也被抑制,导致白化植物对无机氮的吸收同化能力较绿色植物更低,但有趣的是,代谢组数据表明白化突变体植株中氨基酸及其衍生物含量较正常植株显著升高,暗示这些氨基酸及其衍生物来源于菌根真菌;此外,白化植株中蔗糖和果糖的含量下降,蔗糖磷酸合成酶基因表达量也显著降低,然而蔗糖降解酶基因以及多种糖转运蛋白基因则上调表达,氨基酸分解代谢以及脂肪酸分解代谢相关基因也上调表达;综合以上结果,不难看出白化植物的光合作用和矿质营养吸收能力虽然受到了抑制,但其吸收同化真菌来源的营养物质的能力获得了提高,依靠这些外源的营养供给白化植物获取了足够的能量,从而推测驱动混合营养型进化为完全真菌异养型兰科植物的过程并非产生了新的代谢通路,而是通过增强一些已有的同化真菌外源营养的代谢途径来弥补光合作用缺失造成的负面影响,最终导致更加依赖于菌根真菌提供的外源营养。

以上的研究都主要聚焦在共生关系中兰科植物的代谢改变,最近, *Ghirardo et al.* (2020) 首次报道了菌根真菌在共生过程中代谢组水平所发生的变化。该研究针对 *Serapias vomeracea* 与 *Tulasnella calospora* 的共生关系进行研究,分别对共生原球茎 (SYMB)、非共生原球茎 (ASYMB)、原球茎周边生长菌丝 (MYC) 以及自由生长菌丝 (FLM) 进行了代谢组分析,发现 MYC 与 FLM 相比脂类含量显著增加,其中大部分都与真菌菌丝细胞膜生长、能量储备、营养传递相

关,但也有脂类物质作为信号物质在共生互作以及防御反应中发挥作用;此外,大量壳寡糖以及脱乙酰基几丁质在 SYMB 中积累,其中的壳寡糖聚合度比引起植物免疫防御的壳寡糖聚合度更低,而几丁质去乙酰基化也可以使壳寡糖诱导子无法识别壳寡糖从而避免植物免疫。目前关于兰科植物与菌根真菌之间的代谢组研究仍处于起步阶段,主要问题在于代谢物的鉴定以及注释不能像基因组与蛋白质组一样较为全面,没有一个涵盖广泛的参考数据库。对于尤其是兰科菌根如 *S. vomeracea* 与 *T. calospora* 这样非模式生物的功能分析就显得更为困难。

5 展望

通过结合多维组学的研究,人们对菌根形成过程中植物与真菌所发生的变化已越来越清楚,对兰科菌根互作调控机制的了解也越来越深入,特别是对于 OMF 促进兰科植物的种子萌发以及二者之间的营养转运更是有较多的研究报道,为濒危兰科植物的保护与种群恢复提供了新的视角。如上文所述,大量研究表明菌根真菌对兰科植物是“友好的”,并不会引起植物强烈的防御反应。在 OMF 侵入兰科植物种子后,主要通过调节植物激素和激活相关代谢通路,并为种子提供外源营养而促进兰科植物的生长发育。然而,目前共生过程中具体的信号通路及分子机制仍不清楚,许多问题也有待进一步探索,例如 OMF 与兰科植物是如何相互识别,是否也存在一定的信号识别分子? OMF 如何帮助兰科植物抵抗逆境胁迫? OMF 与兰科植物如何进行营养交换,交换了什么营养? 真菌为什么要侵染兰科植物的种子,在促进种子萌发过程中真菌又得到了什么益处? 这些问题一直以来都是学界所

共同关注的热点问题,我们也期待更多基于多维组学的菌根真菌与兰科植物互作机制研究的开展。当然,随着研究的不断深入,对研究手段与技术方法也有新的要求,例如更加敏锐的检测方法、更高注释覆盖率的数据库以及可用于验证基因功能的兰科植物与菌根真菌的遗传转化体系等。相信随着人们对菌根真菌与兰科植物互作机制的认识逐步加深,未来对野生兰科植物的资源保护以及合理地开发利用生物菌剂助力生产实践也将会变得更加科学、有效。

[REFERENCES]

- Bonfante P, Genre A, 2010. Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications*, 1: 1-11
- Cai J, Liu X, Vanneste K, Proost S, Tsai WC, Liu KW, Chen LJ, He Y, Xu Q, Bian C, Zheng Z, Sun F, Liu W, Hsiao YY, Pan ZJ, Hsu CC, Yang YP, Hsu YC, Chuang YC, Dievart A, Dufayard JF, Xu X, Wang JY, Wang J, Xiao XJ, Zhao XM, Du R, Zhang GQ, Wang M, Su YY, Xie GC, Liu GH, Li LQ, Huang LQ, Luo YB, Chen HH, van de Peer Y, Liu ZJ, 2015. The genome sequence of the orchid *Phalaenopsis equestris*. *Nature Genetics*, 47(1): 65-72
- Cameron DD, Jonathan RL, David JR, 2006. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *New Phytologist*, 171(2): 405-416
- Chao YT, Chen WC, Chen CY, Ho HY, Yeh CH, Kuo YT, Su CL, Yen SH, Hsueh HY, Yeh JH, Hsu HL, Tsai YH, Kuo TY, Chang SB, Chen KY, Shih MC, 2018. Chromosome-level assembly, genetic and physical mapping of *Phalaenopsis aphrodite* genome provides new insights into species adaptation and resources for orchid breeding. *Plant Biotechnology Journal*, 16(12): 2027-2041
- Chen J, Liu SS, Kohler A, Yan B, Luo HM, Chen XM, Guo SX, 2017. iTRAQ and RNA-Seq analyses provide new insights into regulation mechanism of symbiotic germination of *Dendrobium officinale* seeds (Orchidaceae). *Journal of Proteome Research*, 16: 2174-2187
- Chen J, Yan B, Tang Y, Xing Y, Li Y, Zhou D, Guo S, 2020. Symbiotic and asymbiotic germination of *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) respond differently to exogenous gibberellins. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 17 6104
- Chen RR, Lin XG, Shi YQ, 2003. Research advances of orchid mycorrhizae. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 9(1): 97-101 (in Chinese)
- Chen XM, Guo SX, 2005. Effects of four species of endophytic fungi on the growth and polysaccharide and alkaloid contents of *Dendrobium nobile*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 30(4): 14-18 (in Chinese)
- Chen XQ, Ji ZH, 2003. The orchids of China. 2nd ed. China Forestry Publishing House, Beijing. 14-118 (in Chinese)
- Chen YH, Xing XK, Guo SX, 2017. Nutritional relationships between orchids and mycorrhizal fungi: a review. *Mycosystema*, 36(7): 807-819 (in Chinese)
- Dearnaley JD, Cameron DD, 2017. Nitrogen transport in the orchid mycorrhizal symbiosis - further evidence for a mutualistic association. *New Phytologist*, 213(1): 10-12
- Floss DS, Levy JG, Lévesque-Tremblay V, Pumplin N, Harrison MJ, 2013. DELLA proteins regulate arbuscule formation in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110: E5025-E5034
- Fochi V, Chitarra W, Kohler A, Voyron S, Singan VR, Lindquist EA, Barry KW, Girlanda M, Grigoriev IV, Martin F, Balestrini R, Perotto S, 2017a. Fungal and plant gene expression in the *Tulasnella calospora*–*Serapias vomeracea* symbiosis provides clues about nitrogen pathways in orchid mycorrhizas. *New Phytologist*, 213(1): 365-379
- Fochi V, Falla N, Girlanda M, Perotto S, Balestrini R,

- 2017b. Cell-specific expression of plant nutrient transporter genes in orchid mycorrhizae. *Plant Science*, 263: 39-45
- Gao Y, Guo SX, Xing XK, 2019. Fungal diversity and mechanisms of symbiotic germination of orchid seeds: a review. *Mycosystema*, 38(11): 1808-1825 (in Chinese)
- Ghirardo A, Fochi V, Lange B, Witting M, Schnitzler JP, Perotto S, Balestrini R, 2020. Metabolomic adjustments in the orchid mycorrhizal fungus *Tulasnella calospora* during symbiosis with *Serapias vomeracea*. *New Phytologist*, 228(6): 1939-1952
- Govaerts R, Bernet P, Kratochvil K, Gerlach G, Carr G, Alrich P, Pridgeon AM, Pfahl J, Campacci MA, Holland Baptista D, Tigges H, Shaw J, Cribb P, George A, Kreuz K, Wood J, 2017. World checklist of Orchidaceae. Kew: Facilitated by the Royal Botanic Gardens. Published on the internet at <http://wcsp.science.kew.org>.
- Guo SX, Xu JT, 1990. Action and relation of fungi to the seed germination of Orchidaceae. *Chinese Bulletin of Botany*, 7(1): 13-17 (in Chinese)
- Herrera H, Valadares R, Oliveira G, Fuentes A, Almonacid L, do Nascimento SV, Bashan Y, Arriagada C, 2018. Adaptation and tolerance mechanisms developed by mycorrhizal *Bipinnula fimbriata* plantlets (Orchidaceae) in a heavy metal-polluted ecosystem. *Mycorrhiza*, 28(7): 651-663
- Johnson NC, Graham JH, Smith FA, 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135(4): 575-585
- Kauth PJ, Dutra Elliott D, Johnson TR, Kane M, Stewart SL, Kane M, Vendrame W, 2008. Techniques and applications of *in vitro* orchid seed germination. In: Jaime A, Teixeira da Silva (eds.) *Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues*. Vol. 5. Global Science Books, London. 375-391
- Kohler A, Kuo A, Nagy LG, Morin E, Barry KW, Buscot F, Canbäck B, Choi C, Cichocki N, Clum A, Colpaert J, Copeland A, Costa MD, Doré J, Floudas D, Gay G, Girlanda M, Henrissat B, Herrmann S, Hess J, Högberg N, Johansson T, Khouja HR, LaButti K, Lahrmann U, Levasseur A, Lindquist EA, Lipzen A, Marmeisse R, Martino E, Murat C, Ngan CY, Nehls U, Plett JM, Pringle A, Ohm RA, Perotto S, Peter M, Riley R, Rineau F, Ruytinx J, Salamov A, Shah F, Sun H, Tarkka M, Tritt A, Veneault-Fourrey C, Zuccaro A, Mycorrhizal Genomics Initiative Consortium, Tunlid A, Grigoriev IV, Hibbett DS, Martin F, 2015. Convergent losses of decay mechanisms and rapid turnover of symbiosis genes in mycorrhizal mutualists. *Nature Genetics*, 47(4): 410-415
- Lallemand F, Figura T, Damesin C, Fresneau C, Griveau C, Fontaine N, Zeller B, Selosse MA, 2019. Mixotrophic orchids do not use photosynthates for perennial underground organs. *New Phytologist*, 221(1): 12-17
- Li Q, Ding G, Li B, Guo SX, 2017b. Transcriptome analysis of genes involved in dendrobine biosynthesis in *Dendrobium nobile* Lindl. infected with mycorrhizal fungus MF23 (*Mycena* sp.). *Scientific Reports*, 7(1): 1-16
- Li Q, Li B, Zhou LS, Ding G, Li B, Guo SX, 2017a. Molecular analysis of polysaccharide accumulation in *Dendrobium nobile* infected with the mycorrhizal fungus *Mycena* sp. *RSC Advances*, 7(42): 25872-25884
- Liu SS, Chen J, Li SC, Zeng X, Meng ZX, Guo SX, 2015. Comparative transcriptome analysis of genes involved in GA-GID1-DELLA regulatory module in symbiotic and asymbiotic seed germination of *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. (Orchidaceae). *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12): 30190-30203
- López-Chávez MY, Guillén-Navarro K, Bertolini V, Encarnación S, Hernández-Ortiz M, Sánchez-Moreno I, Damon A, 2016. Proteomic and morphometric study of the *in vitro* interaction

- between *Oncidium sphacelatum* Lindl. (Orchidaceae) and *Thanatephorus* sp. RG26 (Ceratobasidiaceae). *Mycorrhiza*, 26(5): 353-365
- McCormick MK, Whigham DF, O'Neill JP, Becker JJ, Werner S, Rasmussen HN, Bruns TD, Taylor DL, 2009. Abundance and distribution of *Corallorhiza odontorhiza* reflect variations in climate and ectomycorrhizae. *Ecological Monographs*, 79: 619-635
- McCormick MK, Whigham DF, Sloan D, O'Malley K, Hodkinson B, 2006. Orchid-fungus fidelity: a marriage meant to last? *Ecology*, 87: 903-911
- Merckx V, 2013. Mycoheterotrophy: an introduction. *Mycoheterotrophy*. Springer, New York. 1-17
- Miura C, Yamaguchi K, Miyahara R, Yamamoto T, Fuji M, Yagame T, Imaizumi-Anraku H, Yamato M, Shigenobu S, Kaminaka H, 2018. The mycoheterotrophic symbiosis between orchids and mycorrhizal fungi possesses major components shared with mutualistic plant-mycorrhizal symbioses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(10): 1032-1047
- Miyauchi S, Kiss E, Kuo A, Drula E, Kohler A, Sánchez-García M, Morin E, Andreopoulos B, Barry KW, Bonito G, Buée M, Carver A, Chen C, Cichocki N, Clum A, Culley D, Crous PW, Fauchery L, Girlanda M, Hayes RD, Kéri Z, LaButti K, Lipzen A, Lombard V, Magnuson J, Maillard F, Murat C, Nolan M, Ohm RA, Pangilinan J, Pereira MF, Perotto S, Peter M, Pfister S, Riley R, Sitrit Y, Stielow JB, Szöllősi G, Žifčáková L, Štursová M, Spatafora JW, Tedersoo L, Vaario LM, Yamada A, Yan M, Wang P, Xu J, Bruns T, Baldrian P, Vilgalys R, Dunand C, Henrissat B, Grigoriev IV, Hibbett D, Nagy LG, Martin FM, 2020. Large-scale genome sequencing of mycorrhizal fungi provides insights into the early evolution of symbiotic traits. *Nature Communications*, 11(1): 5125
- Perotto S, Rodda M, Benetti A, Sillo F, Ercole E, Rodda M, Girlanda M, Murat C, Balestrini R, 2014. Gene expression in mycorrhizal orchid protocorms suggests a friendly plant-fungus relationship. *Planta*, 239(6): 1337-1349
- Rasmussen HN, Dixon KW, Jersáková J, Těšitelová T, 2015. Germination and seedling establishment in orchids: a complex of requirements. *Annals of Botany*, 116(3): 391-402
- Rasmussen HN, Rasmussen FN, 2009. Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style. *Oikos*, 118(3): 334-345
- Scheres B, van Engelen F, van der Knaap E, van de Wiel C, van Kammen A, Bisseling T, 1990. Sequential induction of nodulin gene expression in the developing pea nodule. *Plant Cell*, 2: 687-700
- Shimura H, Matsuura M, Takada N, Koda Y, 2007. An antifungal compound involved in symbiotic germination of *Cypripedium macranthos* var. *rebunense* (Orchidaceae). *Phytochemistry*, 68(10): 1442-1447
- Smith SE, Read DJ, 2008. Mycorrhizal symbiosis. 3rd ed. Academic Press, New York. 1-10
- Song Z, 2017. Research on symbiotic relationship of *Dendrobium* sp. and *Tulasnella calospora*. PhD Dissertation, Chinese Academy of Forestry, Beijing. 64-121 (in Chinese)
- Suetsugu K, Yamato M, Miura C, Yamaguchi K, Takahashi K, Ida Y, Shigenobu S, Kaminaka H, 2017. Comparison of green and albino individuals of the partially mycoheterotrophic orchid *Epipactis helleborine* on molecular identities of mycorrhizal fungi, nutritional modes and gene expression in mycorrhizal roots. *Molecular Ecology*, 26(6): 1652-1669
- Taylor DL, Bruns T, Leake JR, Read DJ, 2002. Mycorrhizal specificity and function in myco-heterotrophic plants. *Mycorrhizal Ecology*. Springer, Berlin, Heidelberg. 375-413
- Teo ZWN, Zhou W, Shen L, 2019. Dissecting the function of MADS-box transcription factors in orchid reproductive development. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1474
- Tsai CC, Wu KM, Chiang TY, Huang CY, Chou CH, Li SJ, Chiang YC, 2016. Comparative transcriptome

- analysis of *Gastrodia elata* (Orchidaceae) in response to fungus symbiosis to identify gastrodin biosynthesis-related genes. BMC Genomics, 17: 212
- Valadares RB, Perotto S, Santos EC, Lambais MR, 2014. Proteome changes in *Oncidium sphacelatum* (Orchidaceae) at different trophic stages of symbiotic germination. Mycorrhiza, 24(5): 349-360
- Valadares RBS, Perotto S, Lucheta AR, Santos EC, Oliveira RM, Lambais MR, 2020. Proteomic and transcriptomic analyses indicate metabolic changes and reduced defense responses in mycorrhizal roots of *Oeceoclades maculata* (Orchidaceae) collected in nature. Journal of Fungi, 6(3): 148
- van der Heijden MG, Martin FM, Selosse MA, Sanders IR, 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. New Phytologist, 205(4): 1406-1423
- Wang T, Song Z, Wang X, Xu L, Sun Q, Li L, 2018. Functional insights into the roles of hormones in the *Dendrobium officinale*-*Tulasnella* sp. germinated seed symbiotic association. International Journal of Molecular Sciences, 19(11): 3484.6
- Wang X, Bauw G, van Damme EJ, Peumans WJ, Chen ZL, Van Montagu M, Angenon G, Dillen W, 2001. Gastrodianin-like mannose-binding proteins: a novel class of plant proteins with antifungal properties. The Plant Journal, 25(6): 651-661
- Waterman RJ, Bidartondo MI, Stofberg J, Combs JK, Gebauer G, Savolainen V, Barraclough TG, Pauw A, 2011. The effects of above-and belowground mutualisms on orchid speciation and coexistence. The American Naturalist, 177(2): E54-E68
- Wei M, Tong QY, Cai RJ, Ding JH, 2018. Effects of orchid mycorrhizal fungi on growth, antioxidant defense and related gene expression of *Dendrobium officinale* under drought stress. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 38(10): 1905-1912 (in Chinese)
- Weiss M, Selosse MA, Rexer KH, Urban A, Oberwinkler F, 2004. Sebaciniales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. Mycological Research, 108(9): 1003-1010
- Yan L, Wang X, Liu H, Tian Y, Lian J, Yang R, Hao S, Wang X, Yang S, Li Q, Qi S, Kui L, Okpekum M, Ma X, Zhang J, Ding Z, Zhang G, Wang W, Dong Y, Sheng J, 2015. The genome of *Dendrobium officinale* illuminates the biology of the important traditional Chinese orchid herb. Molecular Plant, 8(6): 922-934
- Yang QY, Wang T, Liang LX, Li LB, Liu L, 2018. Genome-wide analysis of *CaM/CML* gene family in two Orchidaceae species. Forest Research, 31(6): 15-25 (in Chinese)
- Ye W, Jiang J, Lin Y, Yeh KW, Lai Z, Xu X, Oelmüller R, 2019. Colonisation of *Oncidium* orchid roots by the endophyte *Piriformospora indica* restricts *Erwinia chrysanthemi* infection, stimulates accumulation of *NBS-LRR* resistance gene transcripts and represses their targeting micro-RNAs in leaves. BMC Plant Biology, 19(1): 601
- Yuan L, Wang X, Liu H, Tian Y, Lian J, Yang R, Hao S, Wang X, Yang S, Li Q, Qi S, Kui L, Okpekum M, Ma X, Zhang J, Ding Z, Zhang G, Wang W, Dong Y, Sheng J, 2018. The *Gastrodia elata* genome provides insights into plant adaptation to heterotrophy. Nature Communications, 9(1): 1-11
- Zhang FS, Lv YL, Zhao Y, Guo SX, 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. Journal of Zhejiang University, Science, B, 14(9): 785-792
- Zhang GQ, Liu KW, Li Z, Lohaus R, Hsiao YY, Niu SC, Wang JY, Lin YC, Xu Q, Chen LJ, Yoshida K, Fujiwara S, Wang ZW, Zhang YQ, Mitsuda N, Wang M, Liu GH, Pecoraro L, Huang HX, Xiao XJ, Lin M, Wu XY, Wu WL, Chen YY, Chang SB, Sakamoto S, Ohme-Takagi M, Yagi M, Zeng SJ, Shen CY, Yeh CM, Luo YB, Tsai WC, Van de Peer Y, Liu ZJ, 2017. The *Apostasia* genome and the

- evolution of orchids. *Nature*, 549(7672): 379-383
- Zhang GQ, Xu Q, Bian C, Tsai WC, Yeh CM, Liu KW, Yoshida K, Zhang LS, Chang SB, Chen F, Shi Y, Su YY, Zhang YQ, Chen LJ, Yin Y, Lin M, Huang H, Deng H, Wang ZW, Zhu SL, Zhao X, Deng C, Niu SC, Huang J, Wang M, Liu GH, Yang HJ, Xiao XJ, Hsiao YY, Wu WL, Chen YY, Mitsuda N, Ohme-Takagi M, Luo YB, Van de Peer Y, Liu ZJ, 2016. The *Dendrobium catenatum* Lindl. Genome sequence provides insights into polysaccharide synthase, floral development and adaptive evolution. *Scientific Reports*, 2016(6): 19029
- Zhang Y, Li Y, Chen X, Meng Z, Guo S, 2020. Combined metabolome and transcriptome analyses reveal the effects of mycorrhizal fungus *Ceratobasidium* sp. AR2 on the flavonoid accumulation in *Anoectochilus roxburghii* during different growth stages. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2): 564
- Zhao MM, Zhang G, Zhang DW, Hsiao YY, Guo SX, 2013. ESTs analysis reveals putative genes involved in symbiotic seed germination in *Dendrobium officinale*. *PLoS One*, 8(8): e72705
- Zhao X, Zhang J, Chen C, Yang J, Zhu H, Liu M, Lü F, 2014. Deep sequencing-based comparative transcriptional profiles of *Cymbidium hybridum* roots in response to mycorrhizal and non-mycorrhizal beneficial fungi. *BMC Genomics*, 15(1): 747
- [附中文参考文献]
- 陈瑞蕊, 林先贵, 施亚琴, 2003. 兰科菌根的研究进展. *应用与环境生物学报*, 1: 97-101
- 陈晓梅, 郭顺星, 2005. 4种内生真菌对金钗石斛无菌苗生长及其多糖和总生物碱含量的影响. *中国中药杂志*, 30(4): 14-18
- 陈心启, 吉占和, 2003. 中国兰花全书. 第二版. 北京: 中国林业出版社. 14-118
- 陈艳红, 邢晓科, 郭顺星, 2017. 兰科植物与菌根真菌的营养关系. *菌物学报*, 36(7): 807-819
- 高越, 郭顺星, 邢晓科, 2019. 兰科植物种子共生萌发真菌多样性及共生萌发机制研究进展. *菌物学报*, 38(11): 1808-1825
- 郭顺星, 徐锦堂, 1990. 真菌在兰科植物种子萌发生长中的作用及相互关系. *植物学通报*, 1990(1): 13-17
- 宋争, 2017. 石斛与美孢胶膜菌共生关系研究. 中国林业科学研究院博士论文, 北京. 64-121
- 魏明, 童秦怡, 柴瑞娟, 丁佳红, 2018. 兰科菌根真菌对于干旱胁迫下铁皮石斛生长和抗氧化能力及相关基因表达的影响. *西北植物学报*, 38(10): 1905-1912
- 杨前宇, 王涛, 梁立雄, 李潞滨, 刘蕾, 2018. 两种兰科植物 CaM 及 CML 基因家族全基因组分析. *林业科学研究*, 31(6): 15-25

(本文责编: 韩丽)