

# 兰科植物菌根真菌的研究进展

范黎\* 郭顺星

(中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所 北京 100094)

关键词 兰科植物, 菌根真菌, 丝核菌

分类号 Q939.5

兰科 (Orchidaceae) 是仅次于菊科 (Compositae) 的一个兴盛、复杂的植物类群, 广布于全球, 多数种是著名的药用植物和珍贵花卉。兰科植物具有三大特点: 第一、其花形状奇特, 色彩艳丽, 芳香宜人, 授粉机制独特而复杂; 第二、种子细小, 仅具未分化的原胚; 第三、在生活史中, 与真菌共生形成内生菌根。因而, 长期以来受到人们的普遍喜爱, 带来了较高的商业利益, 科学家、园艺工作者也从各个角度对兰科植物作了大量的研究。本文从兰科菌根的共生物之一——菌根真菌的角度对有关其分类及与植物之间的专一性的研究状况进行了分析讨论, 旨在为从事兰科菌根、根际微生物及兰花栽培研究的同行提供参考。

## 1 菌根真菌的分类

自然界中, 无论是绿叶兰还是非绿叶兰, 在生活史——种子萌发阶段或不能进行光合自养的时期必须部分或完全依靠菌根真菌为其提供营养才能生存。因此, 自 20 世纪初法国的 Bernard 和德国的 Burgeff 真正揭开兰科菌根之谜后, 有关菌根真菌的种类和真菌对种子、幼苗和成株植物的作用的研究得到广泛开展, 发现大量的兰根分离物均隶属于半知菌 (imperfecti fungus) 丝核菌属 (*Rhizoctonia*), 包括了 3 个种: *R. repens*、*R. goodyerae-repentis* 和 *R. solani*。Caton 从 *Cypripedium*

国家自然科学基金资助项目

\* 现在地址: 中国热带农业科学院热带作物生物技术国家重点实验室 海口 571101

1997-04-25 收稿

sp.的根中分离到的一个丝核菌菌株产生了有性世代,定名为 *Corticium catonii*,还发现 *Xerotus javanicus* 可与 *Gastrodia* spp. 形成菌根, *Marasmius coniatu* 与 *Didmoplexis*, *Armillaria mellea* 与 *Galeola septentrionalis* 及 *Gastrodia elata* 也可形成菌根<sup>[1]</sup>。Warcup 和 Tolbat<sup>[2,3]</sup> 从澳大利亚兰花的菌根中分离到大量属于丝核菌属的菌株,他们设计了一套诱导其产生有性世代的方法,获得了部分分离物的有性世代,发现均为担子菌(Basidiomycotina),隶属于 *Thanatephorus*, *Ceratobasidium*, *Ypsilonidium*, *Sebacina* 和 *Tulasnella*。另外一些无丝核菌阶段的担子菌也从兰科菌根中被分离到,或被实验证实可与兰花种子共生而使种子萌发形成原球茎,如 *Corilus versicolor*, *Hymenochate* sp., *Fomes* sp.<sup>[2]</sup>等。至此,有关兰科菌根真菌的分离和分类的研究除少数无丝核菌阶段的担子菌外,多数都是有关丝核菌菌株或至少部分特征是属于丝核菌的菌株在不同兰花或同种兰花根中的再次发现,对常规分离兰科菌根真菌时所获得的隶属于丝孢纲(Hyphomycetes)的不育菌丝群(Mycelium radices atrovirens(MRA))的多种真菌未给予注意。1985年后,加拿大学者 R.S. Currah 及其研究小组对北温带陆生兰花的菌根内的分离物进行了一系列的研究,发表了15个种,包括5个新种,1个新组合,隶属于12个属,首次对生于兰根内的非丝核菌类的MRA类真菌作了研究<sup>[4,5]</sup>,成功地诱导这些菌株形成了产孢结构,对每个种的菌落培养特征和形态特征作了详细描述,为今后的研究工作提供了较准确而详实的资料。Moore<sup>[6]</sup>将菌丝隔膜的结构特征、菌丝细胞内细胞核的数目与真菌分类相联系,对原包括在丝核菌属中那些形态学上有明显区别的真菌进行了研究并建立了3个新属: *Ceratorhiza*, *Epulorhiza* 和 *Moniliopsis*,各新属相应的有性世代分别为 *Ceratobasidium*, *Tulasnella* 和 *Sebacina* *Thanatephorus*。丝核菌属则保留下来用来包括该属的模式种 *R. crocorum* (Pers.) DC. Fr.。这一分类体系使我们对此类真菌的认识更全面,进行分类鉴定也更准确。Currah 等<sup>[5]</sup>的工作证实了 Moore 依据菌丝隔膜与细胞内核的数目为分类特征划分的类群与利用菌落培养特征和菌丝显微结构为分类依据划分的类群是一致的,首次列出了兰科菌根真菌的最基本的检索表,记载了迄今已发现的兰科菌根真菌15属,29种和2个腐生类群,并附有主要的培养特征

和形态结构特征描述,为兰科菌根真菌的分类研究提供了可靠的依据和有效的手段。另外值得一提的是 Richardson<sup>[7,8]</sup> 有关产于哥斯达黎加的59种附生兰花的菌根内生真菌的研究,他从5个种中分离到属于担子菌的真菌,其余分离物属于子囊菌(Ascomycotina)和半知菌丝孢纲真菌,共40个属和2个不育菌丝组,但没有探讨它们在种子萌发中的作用。

我国对兰科菌根真菌的分类研究仅见徐锦堂等<sup>[9]</sup> 分离自天麻的紫萁小菇 *Mycena osmundicola* 和蜜环菌 *Armillaria mellea* 和郭顺星<sup>[10]</sup> 自细叶石斛 (*Dendrobium hancockii*) 和见血清 (*Liparis nervosa*) 原球茎中分别分离到的微囊菌属 (*Microascus*) 和毛壳菌属 (*Chaetomium*) 的2个未定种菌株,上述3个菌株(种)均可促进其“寄主”兰科植物的种子萌发。1994年7~10月间我们对产于我国云南和福建地区的45种兰科植物的菌根内生真菌进行了分离、鉴定,发现了3个小菇属 (*Mycena*) 菌株,诱导其产生了实体后,证明是新种;26个兰科丝核菌类(Orchidaceous rhizoctorias)菌株,分别属于3个属,即 *Ceratorhiza*, *Epulorhiza* 和 *Moniliopsis*; 102个丝孢纲的菌株,隶属于13个属及2个不育菌丝组;1个半知菌腔孢纲(Coelomycetes)盘多毛孢属 (*Pestalotia*) 的菌株。其中有7个菌株已证明可与某些兰科植物共生,促进其种子发芽形成原球茎。

兰科丝核菌类及其他兰科菌根真菌的鉴定是非常困难的,一方面真菌本身缺乏稳定的形态学和培养特征,产孢结构的诱导往往不易成功,另一方面可靠的文献也较少。Andersen<sup>[11]</sup> 尝试从形态学、超微结构和分子水平对40个隶属于丝核菌的菌株(包括相应的有性世代和大量未鉴定的兰科菌根内生真菌)的分类作了比较研究,证实了 Moore(1987)对丝核菌属的重新划分,并指出 *Epulorhiza* 的有性世代应限制在 *Tulasnella* 中,因为 *Sebacina* 中的菌丝隔膜孔的超微结构不同于 *Epulorhiza*。 *Ceratorhiza* 的种在形态、隔膜孔超微结构及 RFLPS 图谱三方面与 *Moniliopsis* 难以区分,二者的区别仅限于核的数目不同。 *Moniliopsis* 的有性世代限制在 *Thanatephorus* 中。Mordue 等<sup>[12]</sup> 从培养特征、生化技术、菌株融合组等角度探讨兰科丝核菌类的分类,认为兰根中分离到的 *Thanatephorus pennatus* 和 *Rhizoctonia repens* 是独立的种。显然针对兰科丝核菌类的分类鉴定而言,需要多种方法的结合,要从菌株的

形态学、生理生化和分子水平多方面进行研究,比较,相互补充以求获得一个相对有效、简便、快速的分类方法。解决其他兰科菌根内生真菌分类的关键在于有效地诱导其形成产孢结构的方法的建立, Currah<sup>[4]</sup>对MRA类菌株进行的4℃低温下存放6个月诱导其形成产孢结构及徐锦堂等<sup>[9]</sup>建立的利用染菌树叶在100Lux光照下诱导担子菌形成子实体的方法都是非常简便有效的。我们在对兰科菌根真菌进行分类研究时,利用上述两种方法,成功地诱导大量菌株形成了产孢结构或子实体,为菌株的鉴定提供了较可靠而稳定的特征,使鉴定结果更趋于准确。

## 2 兰科植物与菌根真菌之间的专一性

自人们认识到兰科植物具有内生菌根以来,兰科植物与菌根真菌之间的专一性问题就一直是一个争论的焦点。一度曾认为,二者间存在着高度的专一性,事实上,大量研究已经证明,正如在其它菌根类型中一群,在兰科菌根中,真菌与兰花之间的专一性也并不十分严格。

1936年, Burgeff<sup>[11]</sup>指出兰花与真菌间没有严格的专一性,但某种菌根真菌同哪种兰科植物更能有效地共生却有明显的倾向。Curtis的研究结果则表明在同样生境下的不同兰花种有着相似的菌根真菌,而不同生境下的同一兰花种有不同的菌根真菌,两者间的共生关系是非专一性的。Hadley利用10个丝核菌属的菌株与10个兰花种进行共生萌发试验,发现兰花的种子可与多于一种以上的真菌共生而萌发,因而得出了与Curtis同样的结论。Warcup的一系列有关从澳大利亚陆生兰花菌根中分离到的大量丝核菌菌株的研究表明,至少在属的水平上,兰科植物与其菌根真菌之间存在着专一性<sup>[2]</sup>。Clement<sup>[13]</sup>对5种兰花和3种真菌之间的共生关系的研究却证明兰花与菌根真菌之间的专一性在种、属、族等各个不同的水平上是高度专一的,专一性的存在既有助于探讨未测试过的兰科植物的种子萌发,又有助于阐明兰科种间的关系。我们对兰花种子与菌根真菌进行的共生萌发试验,表明不同的真菌种可促进一种兰花的种子萌发,同一真菌种也可与多于一种以上的兰花种的种子形成共生关系<sup>[14]</sup>。这里有一个问题,兰科植物与菌根真菌共生关系的专一性应该是指在自然环境条件下,两者之间能否形成相对稳定的共生关系的可能性,而上述研究主要采用两种方法

来确定二者间的专一性,一是自成年兰花根的皮层细胞中分离菌根真菌,探讨成年兰科植物与菌根真菌之间的关系,二是在体外实验室条件下,利用兰花种子与各种菌根真菌进行共生萌发试验,探讨实验室条件下,种子和原球茎与菌根真菌之间的关系,并进一步验证方法一中所得出的结论。显然,这不足以很好地阐明兰科植物与菌根真菌之间的专一性,只有检测自然环境条件下,真菌对种子萌发的诱导作用,才能证实并阐明二者间的专一性。Masuhara等<sup>[15]</sup>对*Spiranthes sinensis* var. *amoena*与*Rhizoctonia repens*所作的种子共生萌发试验表明,二者在自然条件下和实验室条件下表现出不同的专一性,前者表现为高度专一,*S. sinensis* var. *amoena*仅与*R. repens*共生而萌发;后者则不,*S. sinensis* var. *amoena*可因*R. repens*, *R. solani*及其他双核的丝核菌菌株的存在而萌发。对成年*S. sinensis* var. *amoena*的根内分离物的研究亦表明其菌根真菌均为*R. repens*,在此基础上, Masuhara提出了生态专一性(ecological specificity)和潜在专一性(potential specificity)的概念,前者指在自然环境条件下可与一个特定兰花种形成菌根的真菌的范围,后者指在实验室条件下,可与同一兰花种形成菌根的真菌的范围。上述两个概念的提出是很重要的,二者间的差异为我们进行兰花栽培,尤其是使兰花能重新在其自然生态环境中生长提供了理论依据,潜在的,可与兰科植物共生的真菌的利用将扩大兰花与其共生物继续生存的机会,并从理论上剔除了有关兰科植物与菌根真菌共生关系的专一性研究中存在的一些混乱,更多的研究资料的获得将有助于对这一命题的阐明。综上所述,兰科植物与菌根真菌之间的关系不是高度专一的,这种共生平衡的关系是有条件的,环境条件的改变可能会导致这种平衡关系发生变化。应该指出的是,从成年兰根中分离到的真菌并不总是能促进同种兰科植物种子的萌发,也就是说,在植物的不同发育阶段,形成菌根的真菌的种类可能也不相同。如腐生型的非绿叶兰天麻,在种子萌发和原球茎阶段需与紫箕小菇等真菌共生,而在块茎形成时期,则与蜜环菌共生,而且蜜环菌的存在抑制天麻种子的萌发。

## 参 考 文 献

- [1] Harley J L. The Biology of Mycorrhiza. Plant

- science Monographs, London. Leonard Hill. Limited  
Eden Street, N.W.1., 1959, 141~171.
- [2] Harley J L, Smith S E. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press. London, 1983, 268~295.
- [3] Warcup J H. *Mycol Res*, 1991, 95:656~659.
- [4] Currah R S, Sigler L, Hambleton S. *Can J Bot*, 1987, 65:2473~2482.
- [5] Currah R S, Zelmer C. *Rept Tottori Mycol Inst*, 1992, 30:43~59.
- [6] Moore R T. *Mycotaxon*, 1987, 29:91~99.
- [7] Richardson. K A, Currah R S, Hambleton S. *Lindleyana*, 1993, 8:127~137.
- [8] Richardson K A, Currah R S. *Selbyana*, 1995, 16(1): 49~73.
- [9] 徐锦堂, 郭顺星. 真菌学报, 1989, 8(3): 221~226.
- [10] 郭顺星, 徐锦堂. 中国医学科学院学报, 1991, 13(1): 46~49.
- [11] Andersen T F. *Mycol. Res*, 1996, 100(9):1117~1128.
- [12] Mordue J E M, Currah R S, Bridge P D. *Mycol Res*, 1989, 92(1):78~90.
- [13] Clements M A. *Lindleyana*, 1988, 3(2):73~86.
- [14] 范黎, 郭顺星, 曹文苓等. 真菌学报, 1996, 15(4): 251~255.
- [15] Masuhara G, Katsuya K. *New Phytol*, 1994, 127: 711~718.