

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200220002

邢淑萍, 陈保冬, 郝志鹏, 等. 根际微生物增强宿主植物耐铬能力生理机制研究进展[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(1): 2-14

Xing S P, Chen B D, Hao Z P, et al. The role of rhizosphere microorganisms in enhancing chromium tolerance of host plants [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(1): 2-14 (in Chinese)

根际微生物增强宿主植物耐铬能力生理机制研究进展

邢淑萍^{1,2}, 陈保冬^{1,2}, 郝志鹏¹, 张莘^{1,2,*}

1. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085

2. 中国科学院大学, 北京 100049

收稿日期: 2020-02-20 录用日期: 2020-04-16

摘要: 植物根际有大量微生物, 其中一部分微生物, 如根际促生菌、丛枝菌根真菌、非麦角属内生真菌和外生菌根真菌, 在改善宿主营养状况、缓解宿主由于旱涝、盐分和重金属等环境胁迫导致的危害中起到重要作用。笔者将以这4种根际微生物为例, 综述它们提高宿主植物耐铬性的内在机制, 如通过促进宿主生长、降低根际土壤中铬的有效性、降低铬从根系向叶片的转运以及利用自身组织固持铬等, 直接或间接地提高植物对铬的耐受能力, 展现出多样且互有差异的功能。同时, 笔者提出了铬在根际微生物与宿主的共生体系内转运和解毒行为的分子和生理机制上的不足, 并对未来根际微生物互作的研究内容提出了展望。

关键词: 铬胁迫; 根际微生物; 耐受机制; 相互作用

文章编号: 1673-5897(2021)1-002-13 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

The Role of Rhizosphere Microorganisms in Enhancing Chromium Tolerance of Host Plants

Xing Shuping^{1,2}, Chen Baodong^{1,2}, Hao Zhipeng¹, Zhang Xin^{1,2,*}

1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Received 20 February 2020 accepted 16 April 2020

Abstract: There are ubiquitous microorganisms in the rhizosphere forming symbiosis with host plants. Some of them, including plant growth promoting rhizobacteria, arbuscular mycorrhizal fungi, non-clavicipitaceous endophytes and ectomycorrhizal fungi, play important roles in improving plant nutrition status and alleviating the damage caused by drought, flooding, salinity and heavy metal stress. This paper reviewed the underlying mechanisms of enhancing plant chromium (Cr) tolerance by these four groups of rhizosphere microorganisms. As a whole, they can directly or indirectly improve plant Cr tolerance via various and different functions including promoting plant growth, reducing the Cr bioavailability, decreasing the translocation of metal from roots to shoots, stabilizing metal by fungal structures and so on. However, the physiological and molecular mechanisms underlying Cr behavior and

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(21677164, 41977042); “十三五”国家重点研发计划项目 (2016YFD0800404)

第一作者: 邢淑萍(1996—), 女, 硕士, 研究方向为土壤污染修复, E-mail: stellar_xsp@sina.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: xinzhang@rcees.ac.cn

detoxification in rhizosphere remain largely unknown. It's also of great importance to clarify the effect of interaction networks between the rhizosphere microorganisms.

Keywords: chromium stress; rhizosphere microorganisms; tolerance mechanism; interaction networks

近年来,重金属铬(chromium, Cr)在地下水、土壤和沉积物中均有广泛分布,其污染问题倍受关注^[1]。环境中的Cr除了来自地壳岩石风化,主要来源于冶金、电镀、制染、制革、使用杀虫剂和化肥等人为化工活动^[2-3]。Cr有很丰富的价态(-2~+6),但其中最稳定和常见的形式是三价铬Cr(III)和六价铬Cr(VI)^[4-5]。Cr(III)的移动性低,相较于Cr(VI),其生物可利用性和毒性也更低^[6],在低浓度时,还可以作为葡萄糖耐量因子(glucose tolerance factor, GTF)的重要成分有益于动物和人体健康^[7];而Cr(VI)无论是在土壤还是细胞膜表面都更易渗透,具有致突变性和致癌性,被美国环境保护局(US EPA)划为A级人类致癌物^[8]。

除此之外,Cr还会对多种陆地植物产生危害^[9],比如,随其浓度升高,会抑制植物体内光合色素^[10]、1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)^[11]和吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA)^[12]等物质的合成;引发氧化胁迫^[13],增强依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)的超氧化物合成^[14];还会降低碳同化的速率^[15-16];影响营养元素如氮(N)、磷(P)、钾(K)、镁(Mg)、锌(Zn)、铁(Fe)、铝(Al)和锰(Mn)以及硫酸盐转运蛋白^[17]及水分的平衡^[18]等,最终抑制种子发芽和根的生长,诱发植株的叶黄病等,甚至导致死亡^[10,19-20]。Cr对水生植物也会产生相似的危害,比如抑制根、茎和叶等组织的生长,降低植物体内的叶绿素和蛋白质水平,最终导致萎黄和根部脱落等;还会抑制浮游植物的细胞生长,引发细胞质液泡化^[20-25]。

不同植物对Cr的响应有所不同,一些植物如白睡莲(*Nymphaea alba* L.)^[19]、水稻(*Oryza sativa* L.)和瓜尔豆(*Cyamopsis tetragonoloba* L.)^[26]等对Cr比较敏感,小冠重(*Ocimum tenuiflorum* L.)^[10]、麻风树(*Jatropha curcas* L.)和假马齿苋(*Bacopa monnieri* L.)^[27]等对Cr比较耐受^[28],而尼科菊(*Dicoma niccolifera*)和线蓬(*Sutera fodina*)则对Cr展现出超强的富集能力,这些植物为了缓解Cr胁迫,发展出多样的调控和防御机制,其中,除了自身的金属抗性体系^[9],另外一部分则得益于植物根际微生物^[29]。一些根际微生物

可以分解重金属复合物,通过生物吸附和生物沉淀等过程使之转变成低毒或无毒的形式,降低其可移动性与生物有效性,进而提高植物的耐受性^[30]。因此,笔者从植物与根际微生物相互作用的角度,重点综述了4种根际微生物,即根际促生菌、丛枝菌根真菌、非麦角属内生真菌和外生菌根真菌,提高宿主植物Cr耐受的机制,这将为通过根际微生物来调节根际环境,促进植物更好地适应Cr污染环境提供借鉴。

1 根际促生菌(Plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)

接种PGPR能够保护植物免受病原菌、营养缺乏以及其他环境胁迫的危害^[31-32],是当前比较热门的一种缓解植物生物及非生物胁迫的高效且环境友好的方法^[33-34]。已有研究总结了目前报道过的一些Cr耐受菌、Cr还原菌及其作为生物菌剂在Cr污染土壤中的具体应用效果与作用机制。研究表明^[35-36],这些PGPR主要来自假单胞菌属、芽孢杆菌属、根瘤菌属和固氮菌属。PGPR可以通过溶解矿物磷营养,分泌铁载体(siderophore)、吲哚乙酸和氢氰酸(HCN)等物质促进植物的生长,也可以释放有机酸和生物表面活性剂等物质降低土壤中Cr的生物有效性和毒性,以提高植物的耐受^[37]。

1.1 促进植物生长

PGPR能够分泌有机酸、生物吸附剂和铁载体^[38-39],这些物质会抑制金属与土壤矿质颗粒的结合,并以更强的亲和性与金属螯合后降低其生物有效性,减轻金属对植物根系产生的危害。另外,铁载体可以缓解金属胁迫导致的缺铁,减少植物根系自由基的形成,这有利于叶绿素的合成和植物对病原菌免疫力的提高^[40]。PGPR还能分泌植物生长素IAA,刺激细胞的分裂和延长,促进植物的生长,通过“生长稀释”的效应提高植物对Cr的耐受^[41],与此同时,ACC脱氨酶(ACC deaminase)的活性也被激发,通过降解乙烯合成的前体ACC,减少乙烯的生成,帮助植物形成更长更密集根系,提高植物对Cr的耐受^[42]。

Gupta等^[43]通过给向日葵接种克雷伯氏菌属耐Cr促生菌*Klebsiella* sp.和肠杆菌属耐Cr促生菌*Enterobacter* sp.发现,菌群可以通过释放IAA、铁载体、

HCN、氨气(ammonia)和生物表面活性剂等物质,以及溶解土壤中的部分P,提高植物体内叶绿素和可溶性蛋白的含量,增强营养元素如N、P和Fe的吸收和富集,促进了植物生长,同时增强了向日葵对Cr的耐受与富集。

不同的抗Cr促生菌(chromium resistance)或Cr还原促生菌(chromium reduction)发挥促生功能时的机制也各有不同。如假单胞菌属抗Cr菌 *Pseudomonas* sp. VRK3 可以分泌 IAA 和铁载体,也具有解P能力^[44];同样的专性抗Cr缓病类芽孢杆菌 *Paenibacillus lentimorbus* B-30488(r)就只能分泌 IAA^[45];而兼具抗Cr和还原Cr性能的戴尔福特属促生菌 *Delftia* sp. JD2 除了能分泌 IAA,还有固氮的功能^[46];芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)也兼具抗Cr和还原Cr的能力,它既能分泌 IAA、铁载体、HCN 和氨气,也有较强的解P能力^[47]。

1.2 缓解氧化胁迫

为了缓解Cr导致的氧化胁迫,接种PGPR的植株会上调抗氧化酶如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和过氧化物酶(peroxidase, POD)的表达,但是不同菌种的产酶能力不同^[43]。

有研究者给向日葵和番茄接种恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida* strain CPSB21)之后发现,随着Cr(VI)浓度的增加,向日葵和番茄体内的SOD和CAT活性较未接种均有显著增加,POD活性也略有提高。另外,在接种处理的植物中检测到更低的丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,说明接种CPSB21有效减轻了氧化胁迫的危害^[43]。

1.3 影响根际菌群

除了细菌自身,宿主植物也会分泌小分子氨基酸、有机酸、糖类、维生素和酶等,这些物质会结合一部分的金属以减少植物对金属的吸收,同时,也使有益的菌群通过趋化性迁移定殖在植物根部^[37]。

一些荧光假单胞菌既是根际促生菌,也是菌根辅助细菌(mycorrhiza helper bacteria),在促进植物生长的同时,也提高了菌根在植物根系的定殖率和孢子的产量,促进了根外菌丝的生长。有研究表明,侵染有恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida* UW4)的黄瓜被刺激合成ACC脱氨酶,减少了乙烯的生成量,同时提高了根际巨孢囊霉(*Gigaspora rosea* BEG9)的定殖率,类似的现象在侵染放射形土壤杆菌(*Agrobacterium radiobacter*)和恶臭假单胞菌(*Pseudo-*

monas putida)的草莓中也被发现^[48-49]。

除了相互影响,PGPR和丛枝菌根真菌(AMF)有时还表现出协同促进植物生长的作用,这也是导致植物对金属耐受性提高的一个原因^[50]。另外,除了和AMF的协同促生作用,PGPR还表现出与水杨酸的协同作用。Islam等^[51]同时接种PGPR和水杨酸(salicylic acid, SA)到Cr污染的玉米上,发现SA通过产生更多的分泌物,使具有金属抗性的PGPR聚集到宿主根系,显著促进植物的生长。相较于单独接种PGPR,叶片中 α -淀粉酶和 β -淀粉酶的水平提高了,即植物中碳水化合物储备如淀粉以及可溶性糖类的有效性提高了,这不仅有利于植物生长,也改善了植物的防御和调节能力。另外,植物和微生物的互作增强,还刺激了总酚和黄酮等用于重金属解毒的次级代谢物的生成。但是,可能是由于接种了PGPR的植物受到的金属胁迫和膜损伤程度相对较轻,联合接种并没有显著提高组氨酸的富集。

2 丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)

AMF是环境中常见的一种土壤真菌,它可以和大多数的陆地植物以及部分水生植物^[52]形成良好的共生关系。并且共生AMF的植物对于干旱、盐碱、重金属污染和涝土等环境胁迫耐受性更高^[53-55]。

有研究调查了Cr污染土壤中的菌根真菌,发现以无梗囊霉属、球囊霉属、巨孢囊霉属、盾巨孢囊霉属和类球囊霉属等为主^[56]。而影响这些AMF定殖率的因素也有很多,如植物种类、P营养水平、土壤Cr污染水平和理化性质^[57]、AMF的种类等,定殖率又会进一步影响AMF提高植物Cr耐受的效率。以土壤中的P水平为例,植物如果能够获取充足的P营养,就会降低对AMF的依赖^[58],利用含P化合物直接结合重金属,以此提高自身的耐性^[59]。总的来说,AMF共生可以通过直接和间接2种途径改善植物对Cr的耐受,其中,直接途径主要是通过AMF利用自身结构吸收固持Cr或改变根际Cr的形态和生物有效性,间接途径主要是通过改善植物的营养状况以及调控植物体内对Cr的防御机制以提高植物对Cr的抗性^[60]。

2.1 间接作用

2.1.1 改善植物营养状况

AMF没有分解土壤中复杂有机质的能力,需要依赖于宿主植物获取生长所需要的碳水化合物,如植物光合作用产生的蔗糖,会在AMF的胞内菌丝

(intraradical mycelium, IRM)附近被降解为单糖后被IRM吸收利用^[61]。再如AMF(主要为异形根孢囊霉(*Rhizophagus irregularis*)和巨孢囊霉(*Gigaspora rosea*)等)缺乏脂肪酸合成酶I(FAS-I)的基因,需要依赖宿主将合成的部分脂质转运至AMF^[62-63]。作为交换,AMF可以活化土壤中的养分如N和P(尤其是无机磷)和一些大量元素,吸收并转运给宿主植物,供植物生长。同时,植物的生长环境改善,光合作用增强,也会增加光合产物向根系的转运^[62]。

土壤中的P大多结合在有机分子和矿质表面,或者形成难溶磷酸盐沉淀物,生物有效性较低^[64]。因此,植物通过直接磷酸盐吸收途径(direct phosphate uptake pathway, DPU)获取P的能力是有限的。而菌根磷酸盐吸收途径(mycorrhizal phosphate uptake pathway, MPU)可以大大提高植物吸收P的效率。AMF的菌丝不仅可以伸长并获取植物根系无法接触到的无机磷,还可以和共生微生物协同水解有机磷^[65]。有研究发现,在低P的环境中,植物会分泌更多的独脚金内酯(strigolactones, SL)、赤霉素(gibberellic acid, GA)和乙烯(ethlene)等以提高AMF的定殖率及促进菌丝的生长^[66]。

Gil-Cardesa等^[67]发现给蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)接种异形根孢囊霉(*R. irregularis* MULC 41833)后暴露在Cr(VI)中,4 h后就可以刺激P的吸收,而且根外菌丝暴露在Cr(VI)中的根系可以吸收更多的Cr。短期暴露就可以刺激根外菌丝对P的吸收,这说明AMF促进植物吸收P的过程是比较高效的。另外,在一些AMF中已经发现了高亲和或低亲和的磷酸盐转运子,但是目前它们参与P从真菌转移到植物细胞的机制仍然存在很多未知^[68-70]。

综上,较于未接种的植物,根部定殖有AMF^[56]的植物在Cr污染土中可以生长得更好。这是因为AMF共生缓解了Cr胁迫导致的养分缺失,尤其是Cr竞争硫酸盐和磷酸盐的吸收通道导致的P和S缺失。Wu等^[71]发现接种了AMF的蒲公英在Cr(VI)污染的土壤中显著增加了对P、S和N的吸收,而营养状况的改善大大增加了植物生物量,产生“生长稀释”的效果^[72],表现为接种AMF降低了植株体内的Cr浓度,进而提高了植物对Cr的耐受。

2.1.2 调节植物代谢过程

Cr会介导活性氧(reactive oxygen species, ROS)引起DNA氧化损伤^[73],研究者^[58]发现有菌根共生

的蒺藜苜蓿会上调高亲和硫酸盐转运基因*MtSULTR1.1*和*MtSULTR1.2*的表达,提高植物对S的吸收,增加体内半胱氨酸(cysteine, Cys)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、植物螯合肽(phytochelatins, PCs)等S代谢产物的产量,提高谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)的活性。其中,GR既可以清除活性氧,也是其他植物螯合剂的合成前体,可以抑制HO·自由基的产生^[74-75],与其他S代谢产物一同螯合重金属,达到解毒的效果。

除了通过调节S代谢解毒,接种AMF还可以提高植物体内抗氧化酶的活性以及调节功能蛋白(如膜联蛋白和亲环素等)的表达以缓解重金属危害。常见的抗氧化酶如CAT、POD、SOD和抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase),这些酶可以通过抑制自由基反应减少氧化的危害^[25]。沈亚琴等^[76]研究锑(Sb)胁迫下AMF对玉米抗氧化性能的影响,发现接种AMF之后随着土壤中Sb添加量的增加,植株体内的MDA含量、CAT活性及POD活性均显著上升。结合其他如Cd胁迫^[77]下小麦接种AMF后体内抗氧化酶水平的提高,Cu和Zn复合污染下接种摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)诱导白杨体内与抗氧化防御有关的基因*AL35*的表达^[78],Cd胁迫下蒺藜苜蓿体内膜联蛋白及亲环素的表达上调等,可以推测AMF共生可能也会通过调节植物代谢缓解Cr产生的氧化胁迫,但需要更多的实验加以证明。

2.2 直接作用

2.2.1 影响根际Cr有效性

AMF可以通过直接影响根际或植物根部的Cr以提高植物的耐受性。有研究表明,AMF能够分泌小分子酸(low molecular weight acids, LMWA)或球囊霉素相关蛋白(glomalin related soil protein, GRSP),不仅改变了根际微环境,也可以螯合重金属,影响其形态与生物有效性,如提高根际酸溶态Cr的浓度^[74]。

GRSP有螯合多种金属如Cr、Cu、Pb和Zn等的的能力。Gil-Cardesa等^[79]研究了Cr污染土壤中GRSP的浓度及与Cr的螯合情况,发现大多数的Cr(Ⅲ)都与总球囊霉素相关蛋白(total glomalin related soil protein, T-GRSP)结合,并且这种结合力较静电吸附更强。

2.2.2 影响Cr在根系的吸收与转运

除了吸收过程,AMF还会减少Cr从根系到地上部的转运^[80],有研究者发现菌根植物中的Cr主要

分布在根的表皮,而非维管束,也就是说 AMF 共生会减少 Cr 从侧根向主根的转运,以及向地上部的转运^[81],Wu 等^[82]后续通过扫描透射 X 射线显微成像(scanning transmission X-ray microscopy, STXM)观察菌根中 Cr 的分布,进一步证明了这一结论。

另外,AMF 会利用真菌结构如菌丝或分泌胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)等^[82]改变氧化还原环境,将毒性更高的 Cr(VI)还原为 Cr(III),使之以磷酸盐或组氨酸结合态等更稳定的形式^[58]固持在根系和菌丝等真菌结构中^[82]。根外菌丝通过硫酸盐通道^[83]等主动吸收 Cr 后,会将其中一部分转运到菌根根系,同时限制 Cr 从根系到地上部的移动^[84],另一部分则被真菌结构区隔或固定在根外菌丝体中^[85],从而缓解 Cr 毒性^[81],增强植物的 Cr 耐受。

2.2.3 参与 Cr 的吸收与固定

AMF 可以在植物根际形成根外菌丝(extraradical mycelium, ERM)。根外菌丝细胞壁组分中的几丁质、纤维素等物质可以结合金属离子,其本身能够延伸到根系接触不到的区域,拥有相比根系更强的吸收营养和重金属的能力,并且不会将 Cr 转运到植物的地上部。

Wu 等^[85]利用双重无菌培养体系添加甲醛或 2,4-二硝基苯酚抑制菌丝的活性发现 Cr 在菌丝中的吸收和转运量也减少了,这说明菌丝对 Cr 的吸收可能是一个主动吸收的过程,且利用的可能是硫酸盐转运通道。另外,有部分 Cr(VI)被还原成 Cr(III),这说明在菌丝中,除了有铬酸盐酶或羧基、硫醇等小分子参与的酶还原途径,还存在非代谢的还原途径。

菌丝内的 Cr(III)主要有 2 种形态,其中,磷酸盐结合态主要沉积在菌丝表面,这些磷酸盐主要来自菌丝表面分泌的大量胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS),比较稳定,而一部分 Cr 会以组氨酸结合态的形式被转运固持到各个真菌结构如丛枝、液泡以及内生菌丝中^[82],从而缓解植物重金属毒害。

3 非麦角属内生真菌(Non-clavicipitaceous endophytes, NC endophytes)

非麦角属内生真菌主要包括子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)和毛霉亚门(Mucoromycotina),它们的宿主范围十分广泛,包括苔藓类、蕨类、裸子植物和被子植物。NC endophytes 与植物

共生,相较于 AMF 不会导致宿主产生可见的侵染性状,既可能在逆境胁迫下促进宿主生长,也可能成为潜在的病原菌^[86]。它们既通过参与土壤的形成过程间接影响植被,也能调节表观和转录基因,分泌转运蛋白、抗氧化酶、金属螯合蛋白、有机酸、铁载体、氨基酸和胞外聚合物等物质直接提高植物对金属的抗性^[87-88]。

3.1 与 AMF 的区别

AMF 和 NC endophytes 都属于内生真菌(endophytic fungi, EF),但在生活方式和功能上差别较大。研究表明,NC endophytes 可以定殖在难以形成菌根的十字花科植物^[89],在超耐受(metallophytes)和超富集植物中也比较常见。它们的生长并不依赖于宿主,可以独立地完成生命周期,因此可以进行体外培养^[90]。另外,它们还能定殖在宿主的叶片、茎和花等地上部组织中,而不局限于宿主的根部,这与 AMF 有很大的差异^[91-92]。但是,在一些菌根植物中,也发现了 NC endophytes 的定殖,这说明 AMF 和 NC endophytes 可以同时共生于一种宿主,且 NC endophytes 的定殖比较自由。另外,这也引发了关于共生真菌功能的讨论,即 NC endophytes 有何完全区别于 AMF 的功能?在二者功能重叠时,宿主如何进行共生选择^[90,93-95]?这些问题都还有待探究。并且这些研究对于理解 AMF 和 NC endophytes,或者说对于根际微生物群如何影响宿主植物的 Cr 耐受也有重要的意义。

3.2 影响植物对重金属的吸收和转运

AMF 的菌丝结构在吸收水分和营养物质,利用分泌物螯合及固持重金属,降低重金属的有效性,进而在提高植物的耐受中起到了很重要的作用,因此,与 AMF 共生的植物往往有比较短的根系^[90]。但 NC endophytes 没有为宿主吸收转运营养物质的功能,虽然它也可以分泌螯合剂,利用菌丝固持部分重金属,却主要是通过刺激宿主根的伸长,增加根的面积来获取更多的营养^[96-97],当然在实际情况中,植物根系往往共生着多种真菌和细菌,它们的响应远比单一接种时要复杂得多,即使共生有 NC endophytes,它们也不一定会发挥出这种功能^[98]。另外,在营养极度缺乏的条件下,NC endophytes 可以利用自身的腐生性分解有机质^[99],必要时还直接被宿主捕食,改善宿主的营养状况^[100]。

另外,NC endophytes 会通过分泌一些有机酸^[101]、铁载体、胞外聚合物及多酚类物质来降低金

属的有效性和毒性。而且 NC endophytes 可以分泌 AMF 无法分泌的柠檬酸盐、草酸及铁载体等物质^[90];还可以通过静电吸附金属离子或利用细胞质膜上的酶(如硝酸还原酶、依赖黄素腺嘌呤二核苷酸的 GR 等)、蛋白质和小分子等还原沉淀金属离子,形成一些纳米颗粒(nanoparticles, NPs),降低金属的毒性^[102-103]。但是关于 NPs 的合成在植物根际的具体影响以及是否在 AMF 中也有应用还需要进一步探索。

与 AMF 相似的是,NC endophytes 提高宿主对重金属的耐受也基本展现出 2 种模式^[88,104-105]。第 1 种模式是诱导植物抗性,降低金属的吸收,有研究者发现给油菜(*Brassica campestris*)接种一种从高污染土中分离的 NC endophytes *Mucor* sp. (class 2)之后发现 Cr 的吸收量降低了 90%,这主要是因为真菌能够活化土壤中的 Cr 后富集在菌丝结构中^[105]。另外,随着宿主植物和 NC endophytes 类型的改变,在植物均对重金属的耐受性提高的前提下,有时重金属从根向地上部的转运增强,有时则降低,这说明 NC endophytes 提高宿主对重金属耐受的机制是多样的,但目前针对此的研究还明显不足。第 2 种模式是增加植物对金属的富集,尤其是在超富集植物中,但无论是 AMF 还是 NC endophytes,它们在提高超富集植物对重金属耐受的过程中扮演着怎样的角色都还需要更深入的探究。

3.3 调节植物生理和分子过程

NC endophytes 和 AMF^[58]都可以通过调节 S 代谢,生成 GSH、PCs 和金属硫蛋白(metallothioneins, MTs)等物质螯合重金属^[106],降低其生物有效性,并利用液泡区隔达到解毒的效果,大大提高植物对重金属的耐受。另外,GSH 还作为抗氧化剂缓解氧化胁迫^[107],Zhao 等^[108]对暴露在 Cd 中的 NC endophytes 嗜鱼外瓶霉(*Exophiala pisciphila*)测序后发现一些与金属络合、转运和解毒,缓解氧化胁迫,维持内稳态以及 S 代谢有关的基因被上调表达^[108]。

另外,Rozpadek 等^[88]发现接种毛霉菌属内生真菌 *Mucor* sp.的拟南芥属物种 *Arabidopsis arenosa* 在受到重金属胁迫时根毛的长度、净光合速率、体内的水分和 P 含量均显著增加,并利用 qPCR 验证植物体内与合成乙烯,维持离子内稳态、金属内稳态和 P 内稳态有关的基因均上调表达,影响了重金属的转运和富集过程,提高了宿主对重金属的耐受。但是,除此之外,对于 NC endophytes 如何通过调节植物生理和代谢过程以缓解金属胁迫的研究少之又少。

4 外生菌根真菌(Ectomycorrhizal fungi, EMF)

EMF 也是植物根际的一种共生菌根真菌。与 AMF 相似的是,它也能改善宿主的营养状况,缓解干旱、病原菌、盐分及重金属等环境胁迫对宿主造成的损害^[109]。有研究给黑松(*Pinus thunbergia*)接种土生空团菌(*Cenococcum geophilum*)、彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)、红蜡蘑(*Laccaria laccata*)和酒红褶滑绣伞(*Hebeloma vinosophyllum*)后通过盆栽和根袋实验发现接种 EMF 可以促进宿主对营养物质的吸收,进而提高生物量,增强植物对 Cu 和 Cd 的耐受。在一个短期的暴露实验中,接种 EMF 加速了植物对 Cu 和 Cd 的吸收。这说明 EMF 并非完全起到一个屏障的作用,而是可以通过改善植物的营养状况促进生长,像 AMF 一样起到“生长稀释”的作用^[110]。

过去对 EMF 提高宿主对金属的耐受机制的研究中,很大一部分强调了共生 EMF 基因型的重要作用。研究者认为可以根据基因型将共生 EMF 分成 2 类,即敏感型和耐受型。敏感型通常分离于污染较轻的地区,对金属胁迫的响应比较灵敏和强烈。而耐受型通常分离于高污染地区,是已经对金属胁迫产生基因适应的物种,因此共生有耐受型 EMF 的植物往往对金属的耐性也比较高^[111]。

EMF 会利用复杂的菌丝网络,为根际的其他细菌提供矿质元素、水、光合产物和代谢产物^[112]。同时,EMF 还会释放一些挥发性的信号分子如有机酸、海藻糖和乙醇等,影响共生微生物的种类,并与根际的微生物互作^[113]。Fransson 等^[114]发现欧洲赤松(*Pinus sylvestris* L.)接种杂色羊肚菌(*Suillus variegatus*)和 *Piloderma fallax* 之后分泌出的有机酸和一种未鉴别出具体组成的复合物是影响微生物群落多样性的首要因素。而有研究将黄硬皮马勃(*Scleroderma citrinum*)、捕蝇菌(*Amanita muscaria*)和红褐乳菇(*Lactarius rufus*)和一种假单胞菌共同接种到 *Pinus sylvestris* L.后发现植物增加了对 Zn、Pb 和 Cd 的富集,且减少了金属从根到叶的转运^[115],这说明 EMF 能与根际的其他微生物协同提高宿主对金属的耐受。

与 AMF 不同的是,EMF 无法侵入根细胞内,因此更多的是通过提高自身对金属的耐受,在根表起到“保护屏障”的作用,间接地影响宿主对金属的耐受,而非直接提高宿主对金属的耐受能力。故接下来就围绕 EMF 自身对金属的耐受机制展开阐述。

4.1 胞外作用

4.1.1 对金属的阻拦

真菌的细胞壁往往由含葡聚糖、几丁质和半乳

糖胶等的聚合物以及蛋白质组成,伴随有大量游离的羧基、氨基酸、羟基、磷酸盐和巯基官能团,可以结合重金属^[116],并且不受真菌代谢活性的影响^[117]。除此之外,细胞壁上的黑色素也可以增强金属的生物吸附^[118]。有研究联合利用¹³C-NMR 光谱、X 射线衍射和红外光谱观察到了粗糙脉胞霉(*Neurospora crassa*)细胞壁上 Cd 和几丁质的复合物^[119]。Martino 等^[120]发现在 Cd 和 Zn 的胁迫下,粉树孢菌(*Oidiodendron maius*)提高了体内聚半乳糖醛酸酶的活性,加强了果胶的水解,从而增强了对金属的结合。

除此之外,EMF 可以在宿主根表形成菌鞘(sheath)。Ashford 等^[121]利用荧光示踪发现从根外到根表的溶液通道分布着密集的菌鞘结构,它像一个“屏障”阻挡金属进入根表,抑制了金属的迁移。而且,菌丝里的多酚也有结合和沉淀金属的功能,有效地减少了进入根细胞的金属量。

4.1.2 对金属的结合

真菌的细胞壁可以释放一些可以结合金属的有机小分子,如二羧酸和三羧酸,也可以分泌有机酸,提供溶解金属矿物复合物的质子^[122]。但分泌有机酸的过程,受到金属类型和真菌种类的影响^[123]。

除了细胞壁及其分泌物,EMF 的菌丝也在与金属的结合中发挥着重要的作用。密集的菌丝既可以保护宿主^[124],也有利于宿主形成更强大的根系^[125],增强营养物质的转运。Denny 等^[126]利用 X 射线微量分析研究卷边网褶菌(*Paxillus involutus*)侵染的桦树(*Betula* spp.)中 Zn 的分布发现,有高浓度的 Zn 富集在根外菌丝的细胞壁和多糖黏液(polysaccharide slime)中。

4.2 胞内作用

4.2.1 对金属的区隔

进入 EMF 胞内的金属会被转运到液泡等组织,与聚磷酸盐^[127]、无机离子、PCs、MTs、GSH 和有机酸螯合^[117]。在不同的真菌中,受到不同金属类型的胁迫时产生的螯合剂可能不同。比如,受到 Cd 胁迫的 *Paxillus involutus* 会上调体内 GSH、 γ -谷氨酰半胱氨酸和一种金属硫蛋白的表达,但 PCs 的表达量基本没有变化。但是在耐受 As 的曲霉菌(*Aspergillus*)分离物中,则在 As 的胁迫下检测到大量类植物螯合肽 2(phytochelatins 2, PC2)复合物的生成。受到 Hg 和 Cd 胁迫的 *L. laccata* 没有改变体内金属硫蛋白的水平,而是上调了体内半胱氨酸、非蛋白的 GSH 以及它的前体 γ -谷氨酰半胱氨酸的表达。

除了这些螯合剂,EMF 还会在金属胁迫时增加聚胺和精胺的合成,也能通过提高酪氨酸酶的活性,增加菌丝中的黑色素,进一步抑制金属或其他离子通过菌丝进入细胞^[128]。

4.2.2 对金属的解毒

硫氧还蛋白的 2 个半胱氨酸残基可以参与折叠和调节蛋白质,减少脱氢抗坏血酸的生成,修复受氧化损伤的蛋白以及 S 代谢等过程^[129],在金属的解毒中起到很重要的作用。有研究者发现,受到 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 胁迫的 *Paxillus involutus* 上调了 *PiTrx1* 基因的表达^[130]。另外,和其他微生物抗金属氧化胁迫的机制相似,Ott 等^[131]发现在 Cd 胁迫下的 *Paxillus involutus* 诱导了 SOD 的生成,并且增加了 GSH、依赖 GSH 的过氧化酶以及 GSH 还原酶的生成。

在分子水平上,有研究者直接从一种外生真菌 *Suillus himalayensis* 中分离出 2 个金属硫蛋白基因: *shMT1* 和 *shMT2*,并在酵母突变型 *cup1 Δ* (Cu 敏感)、*ycf1 Δ* (Cd 敏感)和 *zrc1 Δ* (Zn 敏感)中做了功能互补表达,验证了 *shMTs* 的功能,发现这 2 个基因相较于 Cd 更容易被 Cu 诱导,并在解毒的过程中发挥重要的作用^[132]。

4.2.3 对金属的外排

在耐受型 EMF 中,金属的外排是为了防止金属在细胞质和液泡中过度累积。这个外排体系不仅减少了金属从真菌到共生界面的转移量,也不会妨碍正常的营养物质转运过程^[133]。

目前关于 EMF 提高宿主植物 Cr 耐性机制的研究十分少,只能根据上述对其他金属的研究进行了解 and 推测。例如,在受到 Cr 胁迫时,EMF 的细胞壁是否可以发挥阻挡、结合的功能? 是否可以在亚细胞水平上揭示 Cr 在 EMF 细胞壁或菌鞘、菌丝等结构中的微区分布? 也可以从解毒机制的角度出发,探究不同 EMF 在受到 Cr 胁迫时,会分泌何种螯合剂,影响何种基因的表达? S 的代谢产物是否也在 Cr 解毒中发挥着重要作用? 有无对 Cr 敏感或 Cr 耐受的基因? 关于 EMF 如何响应 Cr 的胁迫,提高植物对 Cr 的耐受,还存在太多未知有待探索。

5 总结与展望(Conclusion and prospect)

4 种根际微生物作为金属与植物接触的“第一道屏障”,在提高宿主 Cr 耐受的过程中发挥着多样且重要的作用。它们大多都能利用自身结构组织的特性或分泌一些螯合剂,结合根际环境中的金属,降低金属的有效性。此外,有的微生物如 PGPR 和

AMF,可以显著地改善宿主的营养条件,促进植物的生长。也有一些微生物可以刺激自身或植物细胞内与GSH、PCs和MTs等解毒关键物质相关基因的上调表达,以此降低金属的毒性。另外,还包括这4种在内的很多微生物及其功能没有被完整和深入地研究和认识,因此展望如下:

(1)关于Cr在植物体内定位、分布、转运和富集的过程还存在很多未知,需要更深入全面的探究。在未来生理和分子水平的研究中,可以通过利用更精密的分析方法如X射线吸收精细结构、扫描透射X射线显微分析等,揭示Cr在共生界面和植物体内的转化行为和微区分布,及利用分子学手段定位与鉴定参与调节植物内稳态、影响金属行为的相关基因等,以期从更微观的角度解释微生物提高宿主Cr耐受的机制,为未来利用分子生物和基因工程等技术进行种质创新,更安全更高效地提高植物的产量,提高植物对金属污染土壤的耐受等工作提供理论基础。

(2)在实际的生长环境中,植物会受到微生物尤其是病原菌以及土壤酸化、盐碱化和干旱等环境胁迫的多重影响,其根际的微生物也非互相独立,而是和其他微生物形成一个复杂的互作网络^[134],植物与微生物,微生物与微生物之间都在相互影响着^[98]。当植物受到Cr胁迫时,功能相近的根际微生物占据的生态位有何不同,有多大程度的不同,植物会如何权衡以提高对Cr的耐受都是亟待回答的问题^[90]。因此,可以开展一些田间试验,并结合根际微生物互作网络的研究,拓宽对实际环境中植物与微生物互作,微生物行为和功能的认识。反过来,这些研究也会帮助我们更深刻地认识根际微生物提高宿主Cr耐受的机制。

通讯作者简介:张芊(1980—),女,博士,副研究员,主要研究方向为逆境胁迫下菌根生理生态学。

参考文献(References):

- [1] Pradas del Real A E, García-Gonzalo P, Lobo M C, et al. Chromium speciation modifies root exudation in two genotypes of *Silene vulgaris* [J]. Environmental and Experimental Botany, 2014, 107: 1-6
- [2] Kotaś J, Stasicka Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation [J]. Environmental Pollution, 2000, 107(3): 263-283
- [3] Mohanty M, Patra H K. Attenuation of chromium toxicity by bioremediation technology [J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 2011, 210: 1-34
- [4] Kimbrough D E, Cohen Y, Winer A M, et al. A critical assessment of chromium in the environment [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 1999, 29(1): 1-46
- [5] Fendorf S E. Surface reactions of chromium in soils and waters [J]. Geoderma, 1995, 67(1-2): 55-71
- [6] Panda S K, Choudhury S. Chromium stress in plants [J]. Brazilian Journal of Plant Physiology, 2005, 17(1): 95-102
- [7] Losi M E, Amrhein C, Frankenberger W T Jr. Environmental biochemistry of chromium [J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 1994, 136: 91-121
- [8] Cheung K H, Gu J D. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, 59(1): 8-15
- [9] Singh H P, Mahajan P, Kaur S, et al. Chromium toxicity and tolerance in plants [J]. Environmental Chemistry Letters, 2013, 11(3): 229-254
- [10] Rai V, Vajpayee P, Singh S N, et al. Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, proline level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L. [J]. Plant Science, 2004, 167(5): 1159-1169
- [11] Poschenrieder C, Gunse B, Barcelo J. Chromium-induced inhibition of ethylene evolution in bean (*Phaseolus vulgaris*) leaves [J]. Physiologia Plantarum, 1993, 89(2): 404-408
- [12] 张黛静, 姜丽娜, 邵云, 等. 铬胁迫下不同品种小麦萌发和内源激素的变化[J]. 应用与环境生物学报, 2009, 15(5): 602-605
Zhang D J, Jiang L N, Shao Y, et al. Variations in germination and endogenous hormone contents of wheat cultivars under Cr stress [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2009, 15(5): 602-605 (in Chinese)
- [13] Montes-Holguin M O, Peralta-Videa J R, Meitzner G, et al. Biochemical and spectroscopic studies of the response of *Convolvulus arvensis* L. to chromium(III) and chromium(VI) stress [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2006, 25(1): 220-226
- [14] Pandey V, Dixit V, Shyam R. Chromium(VI) induced changes in growth and root plasma membrane redox activities in pea plants [J]. Protoplasma, 2009, 235(1-4): 49-55
- [15] Vernay P, Gauthier-Moussard C, Hitmi A. Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. [J]. Chemosphere, 2007, 68(8): 1563-1575
- [16] Subrahmanyam D. Effects of chromium toxicity on leaf

- photosynthetic characteristics and oxidative changes in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Photosynthetica*, 2008, 46(3): 339-345
- [17] Schiavon M, Pilon-Smits E A, Wirtz M, et al. Interactions between chromium and sulfur metabolism in *Brassica juncea* [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2008, 37(4): 1536-1545
- [18] Gopal R, Rizvi A H, Nautiyal N. Chromium alters iron nutrition and water relations of spinach [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2009, 32(9): 1551-1559
- [19] Vajpayee P, Tripathi R D, Rai U N, et al. Chromium(VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L. [J]. *Chemosphere*, 2000, 41(7): 1075-1082
- [20] Shanker A K, Cervantes C, Loza-Tavera H, et al. Chromium toxicity in plants [J]. *Environment International*, 2005, 31(5): 739-753
- [21] Duman F, Koca F D, Sahan S. Antagonist effects of sodium chloride on the biological responses of an aquatic plant (*Ceratophyllum demersum* L.) exposed to hexavalent chromium [J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2014, 225(2): 1-12
- [22] Pereira M, Bartolomé M C, Sánchez-Fortún S. Bioadsorption and bioaccumulation of chromium trivalent in Cr(III)-tolerant microalgae: A mechanisms for chromium resistance [J]. *Chemosphere*, 2013, 93(6): 1057-1063
- [23] Chandra P, Kulshreshtha K. Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants [J]. *The Botanical Review*, 2004, 70(3): 313-327
- [24] Choo T P, Lee C K, Low K S, et al. Accumulation of chromium(VI) from aqueous solutions using water lilies (*Nymphaea spontanea*) [J]. *Chemosphere*, 2006, 62(6): 961-967
- [25] Ganesh K S, Baskaran L, Rajasekaran S, et al. Chromium stress induced alterations in biochemical and enzyme metabolism in aquatic and terrestrial plants [J]. *Colloids and Surfaces B, Biointerfaces*, 2008, 63(2): 159-163
- [26] Sangwan P, Kumar V, Joshi U N. Effect of chromium(VI) toxicity on enzymes of nitrogen metabolism in clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) [J]. *Enzyme Research*, 2014, 2014: 784036
- [27] Shukla O P, Dubey S, Rai U N. Preferential accumulation of cadmium and chromium: Toxicity in *Bacopa monnieri* L. under mixed metal treatments [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 78(3-4): 252-257
- [28] Kundu D, Dey S, Raychaudhuri S S. Chromium(VI)-induced stress response in the plant *Plantago ovata* Forsk *in vitro* [J]. *Genes and Environment*, 2018, 40: 21
- [29] Narendrula-Kotha R, Theriault G, Mehes-Smith M, et al. Metal toxicity and resistance in plants and microorganisms in terrestrial ecosystems [J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2020, 249: 1-27
- [30] Abdu N, Abdullahi A A, Abdulkadir A. Heavy metals and soil microbes [J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2017, 15(1): 65-84
- [31] Kong Z Y, Glick B R. The role of plant growth-promoting bacteria in metal phytoremediation [J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2017, 71: 97-132
- [32] Glick B R. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications [J]. *Scientifica*, 2012, 2012: 963401
- [33] Ma Y, Prasad M N, Rajkumar M, et al. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils [J]. *Biotechnology Advances*, 2011, 29(2): 248-258
- [34] Pandey P, Irulappan V, Bagavathiannan M V, et al. Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physi-morphological traits [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 537
- [35] Benizri E, Baudoin E, Guckert A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *Bio-control Science and Technology*, 2001, 11(5): 557-574
- [36] Ahemad M. Enhancing phytoremediation of chromium-stressed soils through plant-growth-promoting bacteria [J]. *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, 2015, 13(1): 51-58
- [37] Gupta P, Kumar V, Usmani Z, et al. A comparative evaluation towards the potential of *Klebsiella* sp. and *Enterobacter* sp. in plant growth promotion, oxidative stress tolerance and chromium uptake in *Helianthus annuus* (L.) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 377: 391-398
- [38] Somers E, Vanderleyden J, Srinivasan M. Rhizosphere bacterial signalling: A love parade beneath our feet [J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2004, 30(4): 205-240
- [39] Indiragandhi P, Anandham R, Madhaiyan M, et al. Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *Current Microbiology*, 2008, 56(4): 327-333
- [40] Neubauer U, Furrer G, Kayser A, et al. Siderophores, NTA, and citrate: Potential soil amendments to enhance heavy metal mobility in phytoremediation [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2000, 2(4): 353-368
- [41] Rajkumar M, Nagendran R, Lee K J, et al. Influence of plant growth promoting bacteria and Cr^{6+} on the growth

- of Indian mustard [J]. *Chemosphere*, 2006, 62(5): 741-748
- [42] Belimov A A, Hontzas N, Safronova V I, et al. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern) [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(2): 241-250
- [43] Gupta P, Rani R, Chandra A, et al. Potential applications of *Pseudomonas* sp. (strain CPSB21) to ameliorate Cr^{6+} stress and phytoremediation of tannery effluent contaminated agricultural soils [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 4860
- [44] Hemambika B, Balasubramanian V, Rajesh Kannan V, et al. Screening of chromium-resistant bacteria for plant growth-promoting activities [J]. *Soil and Sediment Contamination*, 2013, 22(7): 717-736
- [45] Khan N, Mishra A, Chauhan P S, et al. *Paenibacillus lentimorbus* enhances growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium-amended soil [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2012, 101(2): 453-459
- [46] Morel M A, Ubalde M C, Braña V, et al. *Delftia* sp. JD2: A potential Cr(VI) -reducing agent with plant growth-promoting activity [J]. *Archives of Microbiology*, 2011, 193(1): 63-68
- [47] Wani P A, Khan M S, Zaidi A. Chromium reduction, plant growth-promoting potentials, and metal solubilization by *Bacillus* sp. isolated from alluvial soil [J]. *Current Microbiology*, 2007, 54(3): 237-243
- [48] Vosatka M, Gryndler M, Prikryl Z. Effect of the rhizosphere bacterium *Pseudomonas putida*, arbuscular mycorrhizal fungi and substrate composition on the growth of strawberry [J]. *Agronomie*, 1992, 12(10): 859-863
- [49] Todeschini V, AitLahmidi N, Mazzucco E, et al. Impact of beneficial microorganisms on strawberry growth, fruit production, nutritional quality, and volatiles [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1611
- [50] 曾加会, 李元媛, 阮迪申, 等. 植物根际促生菌及丛枝菌根真菌协助植物修复重金属污染土壤的机制[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(5): 1214-1221
- Zeng J H, Li Y Y, Ruan D S, et al. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils by plant growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *Microbiology China*, 2017, 44(5): 1214-1221 (in Chinese)
- [51] Islam F, Yasmeen T, Arif M S, et al. Combined ability of chromium (Cr) tolerant plant growth promoting bacteria (PGPB) and salicylic acid (SA) in attenuation of chromium stress in maize plants [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 108: 456-467
- [52] Xu Z Y, Ban Y H, Jiang Y H, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi in wetland habitats and their application in constructed wetland: A review [J]. *Pedosphere*, 2016, 26(5): 592-617
- [53] Lenoir I, Fontaine J, Lounès-Hadj Sahraoui A. Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: A review [J]. *Phytochemistry*, 2016, 123: 4-15
- [54] Leyval C, Turnau K, Haselwandter K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: Physiological, ecological and applied aspects [J]. *Mycorrhiza*, 1997, 7(3): 139-153
- [55] Ferrol N, Tamayo E, Vargas P. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: From mechanisms to biotechnological applications [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(22): 6253-6265
- [56] Nakatani A S, Mescolotti D L C, Nogueira M A, et al. Dosage-dependent shift in the spore community of arbuscular mycorrhizal fungi following application of tannery sludge [J]. *Mycorrhiza*, 2011, 21(6): 515-522
- [57] Coughlan A P, Dalpe Y, Lapointe L, et al. Soil pH-induced changes in root colonization, diversity, and reproduction of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi from healthy and declining maple forests [J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 2000, 30(10): 1543-1554
- [58] Wu S L, Hu Y J, Zhang X, et al. Chromium detoxification in arbuscular mycorrhizal symbiosis mediated by sulfur uptake and metabolism [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2018, 147: 43-52
- [59] Singh S, Parihar P, Singh R, et al. Heavy metal tolerance in plants: Role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 1143
- [60] Wu S L, Zhang X, Huang L B, et al. Arbuscular mycorrhiza and plant chromium tolerance [J]. *Soil Ecology Letters*, 2019, 1(3-4): 94-104
- [61] Wang W X, Shi J C, Xie Q J, et al. Nutrient exchange and regulation in arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *Molecular Plant*, 2017, 10(9): 1147-1158
- [62] 冯欢, 蒙盼盼, 豆青, 等. 菌根真菌与植物共生营养交换机制研究进展[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(10): 3596-3604
- Feng H, Meng P P, Dou Q, et al. Advances in mechanisms of nutrient exchange between mycorrhizal fungi and host plants [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(10): 3596-3604 (in Chinese)
- [63] Tang N W, San Clemente H, Roy S, et al. A survey of the gene repertoire of *Gigaspora rosea* unravels conserved features among glomeromycota for obligate biotrophy [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 233

- [64] Rausch C, Bucher M. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants [J]. *Planta*, 2002, 216(1): 23-37
- [65] Bucher M. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces [J]. *The New Phytologist*, 2007, 173(1): 11-26
- [66] Müller L M, Harrison M J. Phytohormones, miRNAs, and peptide signals integrate plant phosphorus status with arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2019, 50: 132-139
- [67] Gil-Cardesa M L, Calonne-Salmon M, Gómez E, et al. Short-term chromium(VI) exposure increases phosphorus uptake by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833 [J]. *Chemosphere*, 2017, 187: 27-34
- [68] Benedetto A, Magurno F, Bonfante P, et al. Expression profiles of a phosphate transporter gene (GmosPT) from the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae* [J]. *Mycorrhiza*, 2005, 15(8): 620-627
- [69] Xie X N, Lin H, Peng X W, et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis requires a phosphate transceptor in the *Gigaspora margarita* fungal symbiont [J]. *Molecular Plant*, 2016, 9(12): 1583-1608
- [70] de Plassard C, Becquer A, Garcia K. Phosphorus transport in mycorrhiza: How far are we? [J]. *Trends in Plant Science*, 2019, 24(9): 794-801
- [71] Wu S L, Chen B D, Sun Y Q, et al. Chromium resistance of dandelion (*Taraxacum platyepedum* Diels.) and bermudagrass (*Cynodon dactylon* [Linn.] Pers.) is enhanced by arbuscular mycorrhiza in Cr(VI)-contaminated soils [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2014, 33(9): 2105-2113
- [72] 陈保冬, 张莘, 伍松林, 等. 丛枝菌根影响土壤-植物系统中重金属迁移转化和累积过程的机制及其生态应用[J]. *岩矿测试*, 2019, 38(1): 1-25
- Chen B D, Zhang X, Wu S L, et al. The role of arbuscular mycorrhizal fungi in heavy metal translocation, transformation and accumulation in the soil-plant continuum: Underlying mechanisms and ecological implications [J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2019, 38(1): 1-25 (in Chinese)
- [73] Costa R C, Moura F C, Oliveira P E, et al. Controlled reduction of red mud waste to produce active systems for environmental applications: Heterogeneous Fenton reaction and reduction of Cr(VI) [J]. *Chemosphere*, 2010, 78(9): 1116-1120
- [74] Anjum N A, Ahmad I, Mohmood I, et al. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids—A review [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, 75: 307-324
- [75] Foyer C H, Noctor G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: A re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28(8): 1056-1071
- [76] 沈亚琴, 魏源, 陈志鹏, 等. 镉胁迫下丛枝菌根真菌对玉米生长与镉吸收及抗氧化酶的影响[J]. *环境科学研究*, 2017, 30(5): 712-719
- Shen Y Q, Wei Y, Chen Z P, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, antimony uptake and antioxidant enzymes of maize under antimony stress [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2017, 30(5): 712-719 (in Chinese)
- [77] Sharma V, Parmar P, Kumari N. Differential cadmium stress tolerance in wheat genotypes under mycorrhizal association [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2016, 39(14): 2025-2036
- [78] Pallara G, Todeschini V, Lingua G, et al. Transcript analysis of stress defence genes in a white poplar clone inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and grown on a polluted soil [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 63: 131-139
- [79] Gil-Cardesa M L, Ferri A, Cornejo P, et al. Distribution of chromium species in a Cr-polluted soil: Presence of Cr(III) in glomalin related protein fraction [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 493: 828-833
- [80] Arias J A, Peralta-Videa J R, Ellzey J T, et al. Plant growth and metal distribution in tissues of *Prosopis juliflora-velutina* grown on chromium contaminated soil in the presence of *Glomus deserticola* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(19): 7272-7279
- [81] Wu S L, Zhang X, Chen B D, et al. Chromium immobilization by extraradical mycelium of arbuscular mycorrhiza contributes to plant chromium tolerance [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 122: 10-18
- [82] Wu S L, Zhang X, Sun Y Q, et al. Chromium immobilization by extra- and intraradical fungal structures of arbuscular mycorrhizal symbioses [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 316: 34-42
- [83] Holland S L, Avery S V. Chromate toxicity and the role of sulfur [J]. *Metallomics: Integrated Biometal Science*, 2011, 3(11): 1119-1123
- [84] Wu S L, Zhang X, Chen B D, et al. Chromium immobilization by extraradical mycelium of arbuscular mycorrhiza contributes to plant chromium tolerance [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 122: 10-18
- [85] Wu S L, Zhang X, Sun Y Q, et al. Transformation and immobilization of chromium by arbuscular mycorrhizal fungi as revealed by SEM-EDS, TEM-EDS, and XAFS

- [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(24): 14036-14047
- [86] Schulz B, Boyle C, Draeger S, et al. Endophytic fungi: A source of novel biologically active secondary metabolites [J]. Mycological Research, 2002, 106(9): 996-1004
- [87] Li H Y, Wei D Q, Shen M, et al. Endophytes and their role in phytoremediation [J]. Fungal Diversity, 2012, 54(1): 11-18
- [88] Rozpądek P, Domka A, Ważny R, et al. How does the endophytic fungus *Mucor* sp. improve *Arabidopsis arenosa* vegetation in the degraded environment of a mine dump? [J]. Environmental and Experimental Botany, 2018, 147: 31-42
- [89] Ent A, Baker A J M, Reeves R D, et al. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction [J]. Plant and Soil, 2013, 362(1-2): 319-334
- [90] Domka A M, Rozpądek P, Turnau K. Are fungal endophytes merely mycorrhizal copycats? The role of fungal endophytes in the adaptation of plants to metal toxicity [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 371
- [91] Hardoim P R, van Overbeek L S, Berg G, et al. The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2015, 79(3): 293-320
- [92] Atsatt P R, Whiteside M D. Novel symbiotic protoplasts formed by endophytic fungi explain their hidden existence, lifestyle switching, and diversity within the plant kingdom [J]. PLoS One, 2014, 9(4): e95266
- [93] Sim C S F, Cheow Y L, Ng S L, et al. Discovering metal-tolerant endophytic fungi from the phytoremediator plant *Phragmites* [J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2018, 229(3): 1-11
- [94] Zhou Y, Li X, Gao Y, et al. Plant endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi alter plant competition [J]. Functional Ecology, 2018, 32(5): 1168-1179
- [95] Field K J, Rimington W R, Bidartondo M I, et al. Functional analysis of liverworts in dual symbiosis with Glomeromycota and Mucoromycotina fungi under a simulated Palaeozoic CO₂ decline [J]. The ISME Journal, 2016, 10(6): 1514-1526
- [96] Shanmugaiah V, Balasubramanian N, Gomathinayagam S, et al. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants [J]. African Journal of Agricultural Research, 2009, 4(11): 1220-1225
- [97] Hiruma K, Gerlach N, Sacristán S, et al. Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status dependent [J]. Cell, 2016, 165(2): 464-474
- [98] Agler M T, Ruhe J, Kroll S, et al. Microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation [J]. PLoS Biology, 2016, 14(1): e1002352
- [99] Purahong W, Hyde K D. Effects of fungal endophytes on grass and non-grass litter decomposition rates [J]. Fungal Diversity, 2011, 47(1): 1-7
- [100] White J F, Kingsley K L, Verma S K, et al. Rhizophagy cycle: An oxidative process in plants for nutrient extraction from symbiotic microbes [J]. Microorganisms, 2018, 6(3): E95
- [101] Gadd G M. Fungal production of citric and oxalic acid: Importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes [J]. Advances in Microbial Physiology, 1999, 41: 47-92
- [102] Devi L S, Joshi S R. Ultrastructures of silver nanoparticles biosynthesized using endophytic fungi [J]. Journal of Microscopy and Ultrastructure, 2015, 3(1): 29-37
- [103] Singh P, Kim Y J, Zhang D B, et al. Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms [J]. Trends in Biotechnology, 2016, 34(7): 588-599
- [104] DalCorso G, Manara A, Furini A. An overview of heavy metal challenge in plants: From roots to shoots [J]. Metalomics: Integrated Biometal Science, 2013, 5(9): 1117-1132
- [105] Zahoor M, Irshad M, Rahman H, et al. Alleviation of heavy metal toxicity and phytostimulation of *Brassica campestris* L. by endophytic *Mucor* sp. MHR-7 [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 142: 139-149
- [106] Na G, Salt D E. The role of sulfur assimilation and sulfur-containing compounds in trace element homeostasis in plants [J]. Environmental and Experimental Botany, 2011, 72(1): 18-25
- [107] Freeman J L, Persans M W, Ken N M, et al. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators [J]. The Plant Cell, 2004, 16(8): 2176-2191
- [108] Zhao D K, Li T, Shen M, et al. Diverse strategies conferring extreme cadmium (Cd) tolerance in the dark septate endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila*: Evidence from RNA-seq data [J]. Microbiological Research, 2015, 170: 27-35
- [109] Adriaansen K, van der Lelie D, van Laere A, et al. A zinc-adapted fungus protects pines from zinc stress [J]. New Phytologist, 2004, 161(2): 549-555
- [110] Tang Y Z, Shi L, Zhong K C, et al. Ectomycorrhizal fungi may not act as a barrier inhibiting host plant absorption of

- heavy metals [J]. Chemosphere, 2019, 215: 115-123
- [111] Hartley J, Cairney J W G, Meharg A A. Do ectomycorrhizal fungi exhibit adaptive tolerance to potentially toxic metals in the environment ? [J]. Plant and Soil, 1997, 189 (2): 303-319
- [112] Lastovetsky O A, Gaspar M L, Mondo S J, et al. Lipid metabolic changes in an early divergent fungus govern the establishment of a mutualistic symbiosis with endobacteria [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113 (52): 15102-15107
- [113] Uroz S, Calvaruso C, Turpault M P, et al. Effect of the mycorrhizosphere on the genotypic and metabolic diversity of the bacterial communities involved in mineral weathering in a forest soil [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(9): 3019-3027
- [114] Fransson P, Andersson A, Norström S, et al. Ectomycorrhizal exudates and pre-exposure to elevated CO₂ affects soil bacterial growth and community structure [J]. Fungal Ecology, 2016, 20: 211-224
- [115] Krupa P, Kozdrój J. Ectomycorrhizal fungi and associated bacteria provide protection against heavy metals in inoculated pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2007, 182(1-4): 83-90
- [116] Strandberg G W, Shumate S E, Parrott J R. Microbial cells as biosorbents for heavy metals: Accumulation of uranium by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1981, 41(1): 237-245
- [117] Gadd G M. Interactions of Fungi with Toxic Metals [M]// The Genus *Aspergillus*. Boston: Springer US, 1994: 361-374
- [118] Fogarty R V, Tobin J M. Fungal melanins and their interactions with metals [J]. Enzyme and Microbial Technology, 1996, 19(4): 311-317
- [119] Bhanoori M, Venkateswerlu G. *In vivo* chitin-cadmium complexation in cell wall of *Neurospora crassa* [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2000, 1523(1): 21-28
- [120] Martino E, Coisson J D, Lacourt I, et al. Influence of heavy metals on production and activity of pectinolytic enzymes in ericoid mycorrhizal fungi [J]. Mycological Research, 2000, 104(7): 825-833
- [121] Ashford A E, Allaway C A, Peterson C A, et al. Nutrient transfer and the fungus-root interface [J]. Functional Plant Biology, 1989, 16(1): 85
- [122] Fomina M A, Alexander I J, Colpaert J V, et al. Solubilization of toxic metal minerals and metal tolerance of mycorrhizal fungi [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(5): 851-866
- [123] Meharg A A. The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations [J]. Mycological Research, 2003, 107(11): 1253-1265
- [124] Colpaert J V, Assche J A. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. [J]. New Phytologist, 1993, 123(2): 325-333
- [125] Jones M D, Hutchinson T C. The effect of mycorrhizal infection on the response of *Betula papyrifera* to nickel and copper [J]. New Phytologist, 1986, 102(3): 429-442
- [126] Denny H J, Wilkins D A. Zinc tolerance in *Betula* spp. IV. The mechanism of ectomycorrhizal amelioration of zinc toxicity [J]. New Phytologist, 1987, 106(3): 545-553
- [127] Ashford A E, Peterson R L, Dewart D, et al. Polyphosphate granules in eucalypt mycorrhizas: Determination by energy dispersive X-ray microanalysis [J]. Canadian Journal of Botany, 1986, 64(3): 677-687
- [128] Zarb J, Walters D R. Polyamine biosynthesis in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* exposed to lead [J]. Mycological Research, 1996, 100(4): 486-488
- [129] Bellion M, Courbot M, Jacob C, et al. Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi [J]. FEMS Microbiology Letters, 2006, 254(2): 173-181
- [130] Trotter E W, Grant C M. Thioredoxins are required for protection against a reductive stress in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Molecular Microbiology, 2002, 46 (3): 869-878
- [131] Ott T, Fritz E, Polle A, et al. Characterisation of antioxidative systems in the ectomycorrhiza-building basidiomycete *Paxillus involutus* (Bartsch) Fr. and its reaction to cadmium [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 42(3): 359-366
- [132] Kalsotra T, Khullar S, Agnihotri R, et al. Metal induction of two metallothionein genes in the ectomycorrhizal fungus *Suillus himalayensis* and their role in metal tolerance [J]. Microbiology, 2018, 164(6): 868-876
- [133] Colpaert J V, Wevers J H L, Krznaric E, et al. How metal-tolerant ecotypes of ectomycorrhizal fungi protect plants from heavy metal pollution [J]. Annals of Forest Science, 2011, 68(1): 17-24
- [134] Wężowicz K, Rozpądek P, Turnau K. The diversity of endophytic fungi in *Verbascum lychnitis* from industrial areas [J]. Symbiosis, 2014, 64(3): 139-147