评述

印度梨形孢-植物共生关系的建立及共生体对重金属胁迫的响应

王晓慧¹, 常伟², 宋福强^{1,2*}

1. 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨 150080;

2. 黑龙江省寒地生态修复与资源利用重点实验室, 哈尔滨 150080

* 联系人, E-mail: 0431sfq@163.com

收稿日期: 2020-03-23; 接受日期: 2020-08-13; 网络版发表日期: 2020-11-25

黑龙江省自然科学基金(批准号: TD2019C002)、国家自然科学基金(批准号: 31971527)和哈尔滨市留学回国创业人才项目(批准号: 2017RALXJ008)资助

摘要 重金属污染土壤的治理一直是全球热点问题, 植物-微生物联合修复技术因其高效、经济和减少二次污染而被广泛关注. 印度梨形孢是一种能够与植物共生的真菌, 它能够通过与植物建立共生关系的方式来提高宿主植物的生长和耐胁迫能力. 本文系统总结了印度梨形孢-植物共生关系的建立过程, 以及重金属胁迫下共生体的生长、光合作用、抗性生理指标、防御基因表达和对重金属富集等响应的研究进展, 并针对研究现状提出了展望. 文章对深入了解利用印度梨形孢与植物共生体对重金属污染土壤的修复提供了理论参考.

关键词 印度梨形孢, 共生体, 重金属胁迫, 生物修复

随着经济的发展和进步, 土壤环境污染已成为人类面临的全球性问题. 其中, 人类活动造成的重金属污染因其蓄积量大、危害周期长、难以控制而备受关注^[1]. 重金属对植物、动物和生态系统的危害不可忽视. 研究表明, 低浓度的重金属可以促进植物生长, 但高浓度的重金属会对植物造成一定的损伤, 如氧化损伤、生理失衡、光合作用破坏、诱导植物形态异常等^[2-4]. 重金属可以通过皮肤接触、呼吸系统、食物链等途径在人体中富集, 如果它们超过了人体免疫极限, 就会对人体造成极大的伤害. 例如, Hg污染导致水俣病、Cd污染导致骨痛病等^[5,6]. 在世界环境污染日益严重的背景下, 土壤重金属污染环境的修复已成

为当前生态环境研究的热点. 许多学者致力于运用物理、化学、生物等科技手段对土壤重金属污染进行治理, 其中生物修复方法的菌根技术手段可在保护环境的基础上, 对土壤具有高效的修复效果, 有较好的经济效益^[7,8]. 利用菌根真菌与植物建立共生关系, 可提高植物对重金属的耐受性, 达到植物非食用部位积累重金属的目的, 在获得经济产值的基础上实现良好的修复效果, 避免土壤的二次污染.

印度梨形孢(*Serendipita indica*)曾以*Piriformospora indica*广为人知. 由于缺少肉眼可见的子实体, 且*Piriformospora*难以从*Serendipita*中分离, 出于优先考虑, 将其更名为*Serendipita indica*^[9]. 印度梨形孢是一

引用格式: 王晓慧, 常伟, 宋福强. 印度梨形孢-植物共生关系的建立及共生体对重金属胁迫的响应. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 427-437
Wang X H, Chang W, Song F Q. Roles of *Serendipita indica* in phytoremediation of heavy metal pollution (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 427-437, doi: 10.1360/SSV-2020-0101

种植物根系内生真菌, 属于担子菌门(Basidiomycota)、伞菌纲(Agaricomycetes)、蜡壳耳目(Sebacinales)、蜡壳耳科(Sebacinaceae)。1998年, Verma等人^[10]在印度西北部塔尔沙漠地区的灌木丛根部发现这种真菌, 该真菌主要由菌丝和孢子组成, 且因其厚垣孢子形状为梨形而得名“印度梨形孢”。印度梨形孢与丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)都能与植物形成共生体, 并且功能相似, 但不同的是, 印度梨形孢不仅可以在土壤中与植物建立共生关系, 也可以用于人工培养基纯培养^[11,12]。印度梨形孢与植物共生还可以刺激植物合成有经济价值的化合物, 如熊果酸、齐墩果酸、甜菊糖苷等^[13~15]。因此, 这种定殖范围广泛, 并具备促进植物生长、养分吸收, 提高植物的抗病性, 增强植物对生物和非生物胁迫的抗性和耐受性等优点的真菌, 可被用于制备代替化肥的生物菌肥, 其应用有利于绿色农业的可持续发展。

鉴于印度梨形孢良好的应用前景, 本文系统地总结了印度梨形孢与植物共生关系的建立过程、印度梨形孢-植物共生体响应重金属胁迫作用机制的研究进展, 以期对印度梨形孢开展深入研究, 及利用其解决重金属污染土壤的修复治理提供新思路, 为实现现代农业可持续发展提供技术支撑。

1 印度梨形孢-植物共生关系的建立

1.1 印度梨形孢在植物体根部的定殖

(1) 印度梨形孢与宿主植物的识别。当印度梨形孢与宿主植物并未建立共生关系时, 植物把印度梨形孢当做病原体, 引起自身的免疫反应。研究表明, 水稻-印度梨形孢建立共生关系时, *Lec RK*起重要的感知和识别作用, *pii-2*基因也能编码一种富含亮氨酸的蛋白 *At5g16590*, 该蛋白能促进印度梨形孢和植物之间的识别^[16]。植物分泌的凝集素蛋白激酶可能起信号传导作用, 是调控真菌入侵的重要因素^[17]。可见, 这种印度梨形孢与植物根部的成功识别, 很可能来自印度梨形孢和植物自身释放的信号物质, 这些物质使印度梨形孢的孢子或菌丝能够顺利进入植物根系, 其有待于更深入的研究。

(2) 印度梨形孢与宿主植物根系的接触阶段。印度梨形孢与植物根系接触后, 可通过干扰植物的免疫系统达到侵入的目的。印度梨形孢通过分泌效应蛋白来

控制宿主反应, 从而主动抑制植物防御。在印度梨形孢侵入的过程中, 植物分泌976种具有信号肽的蛋白, 其中有543种可作为候选效应因子^[18]。在印度梨形孢-拟南芥中, *PIIN_08944*可干扰水杨酸(salicylic acid, SA)介导的基础免疫反应^[19], 而在印度梨形孢-大麦的早期定殖阶段, 真菌会产生游离的吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)来干扰植物的免疫反应^[20], 此外, 赤霉素(gibberellins, GAs)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)、乙烯(ethylene, ET)也可以阻抑水杨酸来降低植物根部的免疫能力, 提高印度梨形孢的定殖能力^[21~23]。印度梨形孢的入侵不仅会引起激素的改变, 一些信号通路和相关基因表达也会发生改变。尽管人们对印度梨形孢在宿主植物的入侵策略已有一定的了解, 但关于印度梨形孢对宿主的免疫抑制调控机制缺乏深入的分析。

(3) 印度梨形孢对宿主植物根系的侵入阶段。印度梨形孢在侵入植物根部的阶段时, 能够诱导根系内质网应激介导细胞死亡。研究发现, 大麦在接种印度梨形孢7天后, 抑制植物细胞死亡的基因 *HvBI-1* 表达减弱, 即植物细胞死亡率提高^[24]。更深入的研究发现, 印度梨形孢通过干扰半胱氨酸天冬酶-1(caspase 1)与液泡加工酶(vacuolar processing enzymes, VPEs)使宿主细胞内内质网膨大、液泡塌陷, 最后导致细胞程序性死亡^[25]。宿主细胞死亡是印度梨形孢在植物根部增殖的必要条件, 有研究表明植物细胞能被侵染而发生内源性程序性细胞死亡^[26]。也有研究表明, 印度梨形孢产生的一种核苷酸酶(*SiE50'NT*)能够修饰凋亡代谢产物, 水解质外体中的核苷酸来影响真菌定殖^[27], 这在一定程度上说明, 印度梨形孢可以主动杀死植物细胞, 但还需要更深入的研究才能验证这一观点。

(4) 印度梨形孢在宿主植物根系内的定殖。印度梨形孢成功侵入到植物根系后, 其在根部的定殖量会随着根部的成熟逐渐增加, 并且与AMF喜好植物根部的幼嫩部分不同, 印度梨形孢喜好植物根尖分化区和根毛区的内部而很少在伸长区和分生区。印度梨形孢侵染率的测定通常采用台盼蓝染色法, 如图1所示。有研究表明, 印度梨形孢需要贝壳杉烯合酶活性(kaurene synthase activity)才能在植物上成功定殖^[28]。虽然在印度梨形孢入侵植物的早期阶段乙烯因子可提高其定殖能力, 但过量的乙烯也会使侵染率下降。研究还发现, 持续施加脱落酸(abscisic acid, ABA)可增强印度梨形

图 1 紫花苜蓿根系内印度梨形孢的孢子(200×光学显微镜下观察, 台盼蓝染色法)(网络版彩图)

Figure 1 Spores of *S. indica* in *Medicago sativa* root (the light microscope, magnification 200× Trypan blue method) (color online)

孢在拟南芥根上的定殖能力^[29]。目前关于AMF与植物建立的共生关系中, 脱落酸不仅可以提高定殖能力, 还可以作为重要的胁迫响应因子, 促进植物抗性基因的表达, 以缓解胁迫条件带给植物的生理损伤^[30], 但这一结论在印度梨形孢与植物的共生关系中还有待于进一步研究。

可见, 人们对印度梨形孢与植物共生关系的建立过程有了初步的研究, 但关于信号识别物质的种类、信号的传导途径、植物防御门户开放的调控, 甚至真菌在植物根系内的物质交换等, 还需要进一步深入研究。

1.2 印度梨形孢的宿主范围

本团队于2020年6月17日基于web of science检索数据库的所有数据库进行文献检索, 检索条件设置如下: 以“*Piriformospora indica*”或“*Serendipita indica*”为标题, 年份为“1950~2020”年。符合条件的文献总计259篇。其中, 约有55篇是关于印度梨形孢与植物建立共生关系后能够促进宿主植物提早开花、养分吸收, 提高植物生物量、增加产量, 促进有较高价值代谢产物(如青蒿素、熊果苷等)的产生; 约有87篇是关于印度梨形孢提高宿主植物抗逆性方面的研究, 可能是由于印度梨形孢发现于沙漠地区, 针对印度梨形孢在提高宿主植物耐干旱、耐盐的研究分别有15篇和25篇, 并且还

有25篇文章表示印度梨形孢在植物的真菌和病毒等病害方面能起到积极作用; 此外, 还有研究表明, 印度梨形孢能够提高宿主植物在重金属胁迫、养分胁迫、石油污染等恶劣条件的生存能力。而在这些共生关系中, 宿主植物主要为被子植物(Angiospermae)31科60属(表1), 包括玉米(*Zea mays*)、大豆(*Glycine max*)、水稻(*Oryza sativa*)等粮食作物, 黄花蒿(*Artemisia annua*)、南非醉茄(*Withania Somnifera*)等药用作物, 熊果(*Arc-tostaphylos uva-ursi*)、甜菊(*Stevia rebaudiana*)等经济作物。印度梨形孢还可以与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)这种研究基因的模式植物建立共生关系, 这有助于学者进行分子生物学方面的研究, 它可以定殖在AMF不能定殖的白菜(*Brassica pekinensis*)、油菜(*Brassica napus*)等十字花科植物^[31~34]。除了被子植物, 印度梨形孢还能与苔藓植物(bryophytes)、蕨类植物(pteridophytes)、裸子植物(gymnosperm)建立共生关系^[10~13]。另有报道称, 印度梨形孢可以作为非致病根瘤菌F4(rFR4)的宿主, 起到促进植物生长的作用^[35]。由此可见, 印度梨形孢不仅可以在培养基条件下单独生长, 也可以把植物或微生物作为宿主来定殖, 在某种条件下也可以作为其他微生物的宿主。

2 印度梨形孢-植物共生体对重金属胁迫的响应

2.1 印度梨形孢对重金属的富集作用

(1) 纯培养的印度梨形孢可富集重金属。印度梨形孢可以在不同浓度Hg的PDA(potato dextrose agar)培养基上生长, 且菌丝对重金属Hg具有一定的吸收富集作用。研究表明, 印度梨形孢还对重金属Cd, Cr和Pb具有富集作用, 并且在相应浓度重金属——4 mg/L Cd, 30 mg/L Cr和5 mg/L Pb的胁迫下, 其菌丝体仍能够生长^[36]。重金属Hg胁迫下的印度梨形孢厚垣孢子的孢子壁变薄, 有许多金属螯合复合物附着于孢子壁的内壁^[37], 可见印度梨形孢菌丝和孢子壁都对重金属有一定的吸收富集作用。

(2) 印度梨形孢-植物共生体对重金属的富集作用。在Cu, As, Cd, Zn等重金属胁迫下, 印度梨形孢使重金属在植物各个部位积累程度不同, 一般的变化趋势是根>叶>茎>果实^[38,39]。这种从根到地上组织的Cd转移减少表明, 这种真菌有减轻宿主植物中金属毒性的能

表 1 印度梨形孢宿主范围

Table 1 Hosts of *Serendipita indica*

门	纲	目	科	属	种	门	纲	目	科	属	种
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	玄参科	假马齿苋属	假马齿苋	被子植物门	双子叶植物纲	伞形目	伞形科	积雪草属	积雪草
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	茄科	烟草属	烟草	被子植物门	双子叶植物纲	伞形目	伞形科	茴香属	茴香
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	茄科	烟草属	野生烟草	被子植物门	双子叶植物纲	石竹目	藜科	甜菜属	甜菜
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	茄科	茄属	茄子	被子植物门	双子叶植物纲	石竹目	藜科	藜属	藜麦
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	茄科	蕃茄属	番茄	被子植物门	双子叶植物纲	杜鹃花目	杜鹃花科	杜鹃花属	杜鹃
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	爵床科	鸭嘴花属	鸭嘴花	被子植物门	双子叶植物纲	桔梗目	菊科	蒿属	青蒿
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	唇形科	鞘蕊属	毛喉鞘蕊花	被子植物门	双子叶植物纲	十字花目	十字花科	鼠耳芥属	拟南芥
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	唇形科	罗勒属	罗勒	被子植物门	双子叶植物纲	微子目	马鞭草科	马缨丹属	马缨丹
被子植物门	双子叶植物纲	管状花目	唇形科	百里香属	麝香草	被子植物门	双子叶植物纲	杨柳目	杨柳科	杨属	杨树
被子植物门	双子叶植物纲	蔷薇目	豆科	苜蓿属	蒺藜苜蓿	被子植物门	双子叶植物纲	大戟目	大戟科	大戟属	一品红
被子植物门	双子叶植物纲	蔷薇目	豆科	苜蓿属	紫花苜蓿	被子植物门	双子叶植物纲	报春花目	报春花科	仙客来属	仙客来
被子植物门	双子叶植物纲	蔷薇目	豆科	决明属	狭叶番泻树	被子植物门	双子叶植物纲	金虎尾目	亚麻科	亚麻属	白亚麻
被子植物门	双子叶植物纲	蔷薇目	豆科	大豆属	大豆	被子植物门	双子叶植物纲	胡椒目	胡椒科	胡椒属	黑胡椒
被子植物门	双子叶植物纲	蔷薇目	豆科	鹰嘴豆属	鹰嘴豆	被子植物门	双子叶植物纲	茜草目	茜草科	拉拉藤属	猪殃殃
被子植物门	双子叶植物纲	蔷薇目	豆科	木豆属	木豆	被子植物门	双子叶植物纲	牻牛儿苗目	牻牛儿苗科	天竺葵属	天竺葵
被子植物门	双子叶植物纲	蔷薇目	豆科	豇豆属	绿豆	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	赖草属	羊草
被子植物门	双子叶植物纲	蔷薇目	豆科	菜豆属	菜豆	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	玉蜀黍属	玉米
被子植物门	双子叶植物纲	菊目	菊科	向日葵属	向日葵	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	燕麦属	野燕麦
被子植物门	双子叶植物纲	菊目	菊科	莴苣属	生菜	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	小麦属	小麦
被子植物门	双子叶植物纲	菊目	菊科	甜菊属	甜菊	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	黍属	黍
被子植物门	双子叶植物纲	菊目	菊科	金纽扣属	金纽扣	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	稗属	稗子
被子植物门	双子叶植物纲	菊目	菊科	蒿属	黄花蒿	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	看麦娘属	大穗看麦娘
被子植物门	双子叶植物纲	白花菜目	十字花科	芸薹属	白菜	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	甘蔗属	甘蔗
被子植物门	双子叶植物纲	白花菜目	十字花科	芸薹属	欧洲油菜	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	稻属	水稻

(续表1)

门	纲	目	科	属	种	门	纲	目	科	属	种
被子植物门	双子叶植物纲	白花菜目	十字花科	芸薹属	油菜	被子植物门	单子叶植物纲	禾本目	禾本科	大麦属	大麦
被子植物门	双子叶植物纲	白花菜目	十字花科	芸薹属	甘蓝	被子植物门	单子叶植物纲	百合目	百合科	芦荟属	芦荟
被子植物门	双子叶植物纲	茄目	茄科	睡茄属	南非醉茄	被子植物门	单子叶植物纲	百合目	百合科	吊兰属	吊兰
被子植物门	双子叶植物纲	茄目	茄科	茄属	马铃薯	被子植物门	单子叶植物纲	天门冬目	兰科	文心兰属	文心兰
被子植物门	双子叶植物纲	茄目	茄科	矮牵牛属	矮牵牛	被子植物门	单子叶植物纲	天门冬目	兰科	兰属	纹瓣兰
被子植物门	双子叶植物纲	无患子目	漆树科	杧果属	芒果	被子植物门	单子叶植物纲	粉状胚乳目	凤梨科	凤梨属	菠萝
被子植物门	双子叶植物纲	无患子目	橄榄科	乳香属	乳香	被子植物门	单子叶植物纲	姜目	芭蕉科	芭蕉属	香蕉
被子植物门	双子叶植物纲	无患子目	苦木科	臭椿属	臭椿	被子植物门	单子叶植物纲	佛焰花目	天南星科	花烛属	花烛
被子植物门	双子叶植物纲	葫芦目	葫芦科	黄瓜属	黄瓜	裸子植物门	松杉纲	松杉目	柏科	侧柏属	侧柏
被子植物门	双子叶植物纲	葫芦目	葫芦科	黄瓜属	甜瓜	绿藻门	绿藻纲	绿球藻目	小球藻科	拟小球藻	凯氏拟小球藻

力,也可以缓解植物受重金属毒害的程度.研究发现,Cr胁迫使烟草根部表皮层与皮层细胞受损严重,而接种印度梨形孢的烟草根细胞形态正常,细胞排列紧密,印度梨形孢的定殖使很大部分Cr固定在根表皮层^[38].重金属胁迫下,接种印度梨形孢会使植物细胞中的液泡增多,内质网上核糖体脱落较多,胞内的脂质体数量明显减少,且细胞内部金属螯合复合物分别聚集于细胞壁内侧、液泡内和细胞质中.菌丝体细胞壁和液泡对重金属也存在一定的吸附和富集作用,表明重金属在细胞壁的沉淀是植物解毒的一个重要途径^[40].重金属胁迫下,定殖有印度梨形孢的烟草根,其表面的大量印度梨形孢菌丝可吸收富集重金属,减少植物对重金属的吸收,从而减少重金属向地上部分的转移,降低植物地上部分重金属的积累量.同时,印度梨形孢菌丝体对重金属的吸附与富集,还能阻挡重金属与烟草根部的直接接触,影响植物对重金属的吸收、转运和累积,从而降低重金属对烟草的毒害作用,增强宿主植物对重金属的耐受性^[41].可见,在植物-印度梨形孢共生体中,液泡作为植物细胞中物质储存的场所,其中含有的多种蛋白质、有机酸、植物碱等能与重金属结合,使重金属离子在液泡内被区隔化,从而减少其对细胞的破坏作用.菌丝自身也能分泌与重金属进行

络合的物质,抑制重金属从植物根系向地上部分转运,从而降低地上部分重金属浓度以减轻重金属对植物的毒害.

2.2 印度梨形孢促进重金属胁迫下植物的生长

有学者发现,微量的重金属(如Cu和Zn)可以促进植物的生长^[42],但在Cd、As等有毒重金属的胁迫条件下,植物表现出重金属含量越高生长情况越差的现象^[43].无论在何种重金属胁迫条件下,随着重金属浓度的升高,菌根侵染率下降,而接种印度梨形孢植株的根、茎、叶生长情况均优于未接种的植株.研究发现,在10 mg/L Zn的胁迫下接种印度梨形孢的西生菜生长最好,茎长较未接种的高出10.61%.在1 mg/L Cu胁迫下接种印度梨形孢的狭叶番泻树(*Cassia angustifolia*)茎生长最好,长度相较于未接种的增长了8.41%.在As胁迫下接种印度梨形孢后水稻的生长情况明显改善,并且先接种印度梨形孢的植株受到重金属胁迫的生物量是先被重金属胁迫后接种印度梨形孢生物量的2倍^[44,45].可见,接种印度梨形孢的确能够促进植物的生长,但关于在重金属胁迫下,印度梨形孢与植物共生体中,该种真菌是否能够促进宿主植物对矿质营养元素吸收,以及生长激素分泌的相关研究还鲜有报道.

2.3 印度梨形孢能够促进重金属胁迫下植物的光合作用

光合作用是植物最重要的生理过程, 与其生产力和产量密切相关. 重金属对植物体的毒害主要表现为抑制叶绿素的合成, 影响光合速率等. 重金属胁迫能导致植物细胞内蛋白质结构及功能发生改变, 离子平衡遭到破坏, 引起植株营养失衡、气孔关闭、电子传递系统受阻等毒害症状, 抑制植物生长. 惠非琼^[37]发现, 印度梨形孢可以改善Cd和Cu等胁迫下植物叶片的叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素含量等光合生理参数^[38]. Shahabivand等人^[43]也发现, 在Cd胁迫下, 印度梨形孢可以提高向日葵叶片的光合速率、提高PSII反应中心的光能转化效率(Fv/Fm)增强植物的光合能力, 间接影响植株的生长发育、养分平衡和抗氧化能力, 这种促进的影响可使植物在逆境条件下提高抗风险能力^[44,45]. 印度梨形孢还能提高宿主植物叶片中的叶绿体放氧复合体蛋白、光系统II反应中心亚单位II(P23)放氧复合体、叶绿素b还原酶和半胱氨酸等17种差异蛋白基因的表达, 这些蛋白参与植物光合作用、抗氧化防御和解毒、信号传导和次生代谢等^[42]. 尽管重金属胁迫会使植物的生长参数改变, 但即使在金属毒性胁迫下, 印度梨形孢也能调节植物体内信号传导、能量合成, 提高植物的光合作用以增强宿主植物对重金属的耐受性. 目前对印度梨形孢与植物共生关系在重金属胁迫下的光合作用研究仅停留在表面, 未来还可以在与光合作用息息相关的碳同化、氮代谢等方面进行更深层次的探索, 例如, 从可溶性蛋白、Rubisco酶等指标和基因表达等方面多重分析重金属

污染下的印度梨形孢对宿主植物光合作用的影响.

2.4 印度梨形孢能够提高重金属胁迫下植物的抗性生理指标

重金属在植物中累积会导致过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累, ROS具有较高的活性和毒性, 能够影响细胞膜的特性, 对膜脂、蛋白质及核酸等造成氧化损伤. 在Cd, Cr和Pb等重金属胁迫下, 接种印度梨形孢的植物叶片中过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)等抗氧化物质的活性明显升高, 表明印度梨形孢能够增强烟叶中防御性物质的含量和防御酶活性, 减轻重金属胁迫对其造成的氧化损伤, 从而增强植物对重金属胁迫的耐性(表2). 此外, 在重金属胁迫条件下, 植物叶片中脯氨酸(proline, Pro)的积累能够起到稳定生物大分子结构、降低细胞酸性、解除氨毒以及作为能量库调节细胞氧化还原等重要作用. 与抗氧化水平的提高相反, 接种印度梨形孢的植物叶片中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、过氧化氢这类植物脂质过氧化毒性指标明显降低^[43]. 研究表明, 在50 mg/L Cu处理并接种印度梨形孢的狭叶番泻树中, 其脂质过氧化和过氧化氢下降幅度最大, 分别是13.76%和18.58%^[44]. 此外, 在抗性机制中起着最重要的、最有效作用的非酶物质的谷胱甘肽, 以及一系列酶促反应组成的抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统能够在植物遭受重金属胁迫时发挥作用, 形成抗氧化防御机制, 保证植物体的正常生理代谢功能. 在Cu等重金属胁迫下, 水

表 2 植物~印度梨形孢相互作用及ROS代谢情况

Table 2 Plant-Serendipita indica interactions and ROS metabolism

共生体		胁迫条件	接种印度梨形孢后植物的生长情况	共生体ROS代谢情况与氨基酸变化
真菌	植物			
印度梨形孢	狭叶番泻树	铜 ^[41]	在50 mg/L的含量下, 接种植株茎长提高程度最大, 为21.97%	接种印度梨形孢后, 植物的光合色素显著增加, SOD, CAT, APX, GPX和GR抗氧化活性提高
	向日葵	镉 ^[43]	植物在0 mg/L镉下生长最好, 接种印度梨形孢能提高植物在各个浓度镉下的生长状况	接种印度梨形孢后植物内脯氨酸含量升高, 地上部分SOD和GST升高, 地下部分GR和SOD升高
	水稻	砷 ^[42]	接种印度梨形孢后植株平均茎长提高92.43%, 平均根长提高47.30%	接种印度梨形孢后植物内脯氨酸含量升高
	烟草	铬 ^[39]	接种印度梨形孢的烟草叶、茎、根干重均较未接种的高, 尤其是干叶重提高31.2%	AsA, GSH含量和SOD, CAT活性均显著高于未接种烟草

稻等植物的抗坏血酸过氧化物(ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)等含量均升高^[41]。可见, 印度梨形孢可通过调控抗氧化酶类和谷胱甘肽及其酶促反应系统来增强植物抗氧化防御体系, 维持细胞膜体系的完整性, 并且这种真菌还能减少宿主植物细胞膜脂过氧化程度, 减轻膜系统受到的损伤, 增强植物对重金属胁迫的耐性。

2.5 印度梨形孢可以提高植物与重金属胁迫相关的防御基因表达

当植物受到重金属胁迫时, 体内的病程相关(pathogenesis-related, PR)基因表达产生蛋白会激活一系列的防御反应来保护自身免受攻击以抵御胁迫。在重金属Cd, Cr和Pb胁迫下, 接种印度梨形孢的烟草中病程基因和基因*Chitinase*的表达量都有上调^[46], 说明印度梨形孢可以诱导植物体内的耐重金属胁迫基因表达, 增强植物对重金属防御的应答机制, 提高植物对重金属耐性。植物螯合肽(phytochelatins, PCs)广泛存在于植物体内, 它能与重金属离子结合形成不具生物活性的复合物, 从而达到解毒效果。在重金属Cd, Cr, Pb和Hg胁迫下, 印度梨形孢可提高水培烟草根中植物螯合肽合成相关基因*Hmt1*, *Hmt2*, *CAD1*, *PCS*, *IGsh 2*, *TaPCSI*和*loas1*的表达^[47]。金属硫蛋白(metallothionein, MTs)对多种重金属都具有较高亲和力, 能转运重金属并解除毒性, 还能与自由基、活性氧发生反应, 因此, 可推测它们也可以通过解决重金属导致的氧化损伤来缓解植物受到的金属毒害。彭兵^[47]发现, 印度梨形孢可提高烟草叶片中金属硫蛋白基因*MT 2*, *Ngm*的表达来增加烟草对重金属的络合作用, 从而增强植物对重金属胁迫的耐性, 重金属离子与配体的络合作用是重金属解毒, 提高植物对重金属耐受性的重要机制^[48]。另有报道, 印度梨形孢可诱导水稻根部介导液泡区室化作用的镉专一性蛋白基因*OsHMA 3*表达上调, 输出型转运蛋白基因*OsHMA 2*表达下调, 从而减少水稻体内Cd向地上部分的迁移^[49]。

可见, 印度梨形孢可以通过提高植物的基因表达来增强植物对重金属的耐受性。目前, 对印度梨形孢在植物耐重金属基因的研究主要集中在病程基因、金属螯合肽基因、金属硫蛋白基因等基因家族, 这些基因表达的改变直接影响宿主植物对重金属离子的积

累、转运, 验证了印度梨形孢可以增强金属离子与配体的螯合, 将螯合物主要固定在植物根部, 增强宿主植物整体对重金属的耐受性。

3 总结

印度梨形孢能够与多种植物建立共生关系, 在重金属胁迫条件下, 印度梨形孢自身菌丝和共生体可以富集重金属离子, 以及通过改善植物生理代谢和生长状况等间接作用, 增强宿主植物对重金属的耐受性, 也可以调控金属抗性基因直接影响植物对重金属的吸收、转运和累积。但关于重金属胁迫与印度梨形孢的研究方法和研究内容等方面还有待于更深入的研究和进一步改进。鉴于中国生态系统的多样性, 本文希望未来对于印度梨形孢应加强以下6方面的研究。

(1) 印度梨形孢经过与宿主之间的相互识别阶段、早期入侵阶段、侵入阶段、成功定殖阶段几个过程与植物体建立共生关系, 这种共生关系有助于植物缓解或躲避重金属毒害, 而目前关于印度梨形孢与植物的共生机制研究还停留在表面, 还应对共生关系各个阶段植物与真菌分泌的物质及共生机制进行深入研究。

(2) 重金属胁迫下, 印度梨形孢的定殖能有效地将重金属富集在植物根部, 降低重金属在地上部分的含量, 说明印度梨形孢对植物向根部转移重金属有促进作用, 有利于增强植物对重金属环境的耐受和稳定能力。但还应当加强印度梨形孢的根外菌丝对重金属的螯合作用、过滤作用、固持作用等机制的研究, 同时还要加强共生体对重金属在土壤-植物体界面的转运、累积方面的研究, 以此为我国重金属污染土壤的修复工作提供理论参考。

(3) 目前来看, 对于印度梨形孢与植物的研究停留在生理生化方面, 未来可采用多学科研究技术交叉的方法, 综合植物生理学、分子生物学、生态学、菌根生物学等方面的技术手段, 从基因、细胞、个体、种群、群落和生态系统等不同层次充分挖掘印度梨形孢对植物产生影响的机制, 以期开发印度梨形孢作为植物稳定剂应用于重金属污染土壤修复方面的应用潜力。

(4) 目前, 国内外鲜有印度梨形孢的定殖对重金属镉胁迫下植物根际土中脲酶及蔗糖酶等土壤酶活性影

响的报道^[50]。因此,下一阶段尚需进一步研究印度梨形孢如何与其他有益菌互作,如何对土壤功能产生影响,以及土壤中相关化合物残留等。随着对印度梨形孢与植物、土壤的研究深入,人们可以看到它对土壤中微生物数量、活性及土壤肥力的影响,以此为重金属污染防治提供有效措施。

(5) 对于印度梨形孢和其他微生物,如丛枝菌根真菌、根瘤菌等,在促进植物生长、耐胁迫等方面的对比研究鲜有报道,尤其是在重金属胁迫下,各种微生物与植物体共生关系的建立、对宿主植物生长发

育的作用、对于宿主植物ROS基因响应、分子水平的调控等方面有待于学者们进行更深入、更广泛的研究,以此揭示印度梨形孢对重金属污染土壤的修复机制。

(6) 利用植物与内生真菌联合修复污染土壤的方法操作简单、成本低、绿色环保,符合生态可持续发展观。加强印度梨形孢菌剂产品的研发及推广应用,旨在减少化肥和农药的使用,提高印度梨形孢对农田生态系统生产力的正效应,减轻集约型农业生产对生态环境的压力。

参考文献

- Li Z, Ma Z, van der Kuip T J, et al. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment. *Sci Total Environ*, 2014, 468–469: 843–853
- Agomuo E N, Amadi P U. Accumulation and toxicological risk assessments of heavy metals of top soils from markets in Owerri, Imo state, Nigeria. *Environ Nanotechnol Monitor Manage*, 2017, 8: 121–126
- Edelstein M, Ben-Hur M. Heavy metals and metalloids: Sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops. *Sci Hort*, 2018, 234: 431–444
- Juozulynas A, Jurgelėnas A, Butkienė B, et al. Implications of soil pollution with heavy metals for public health. *Geologija*, 2008, 50: 75–79
- Sakamoto M, Itai T, Murata K. Effects of prenatal methylmercury exposure: from minamata disease to environmental health studies. *Nippon Eiseigaku Zasshi Jpn J Hyg*, 2017, 72: 140–148
- Nogawa K, Suwazono Y. Itai-Itai disease. *Encyclopedia Environ Health*, 2011, 30: 308–314
- Taghinasab M, Imani J, Steffens D, et al. The root endophytes *Trametes versicolor* and *Piriformospora indica* increase grain yield and P content in wheat. *Plant Soil*, 2018, 426: 339–348
- Rai M, Varma A. Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adiantum vasica* Nees. *Electro J Biotech*, 2005, 8: 107–112
- Weiß M, Waller F, Zuccaro A, et al. Sebaciales—One thousand and one interactions with land plants. *New Phytol*, 2016, 211: 20–40
- Verma S, Varma A, Rexer K H, et al. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia*, 1998, 90: 896–903
- Singh G, Sharma P, Sharma S. Role of growth media on the phytopromotional potential of symbiotic fungus *Piriformospora indica*. *J Environ Biol*, 2016, 37: 889–894
- 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. *Plant Signal Behav*, 2019, 14: 1596716
- Kilam D, Saifi M, Abdin M Z, et al. Endophytic root fungus *Piriformospora indica* affects transcription of steviol biosynthesis genes and enhances production of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana*. *Physiol Mol Plant Pathol*, 2017, 97: 40–48
- Kilam D, Saifi M, Abdin M Z, et al. Combined effects of *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* enhance plant growth, antioxidant potential and steviol glycoside content in *Stevia rebaudiana*. *Symbiosis*, 2015, 66: 149–156
- Vassilev N, Eichler-Löbermann B, Flor-Peregrin E, et al. Production of a potential liquid plant bio-stimulant by immobilized *Piriformospora indica* in repeated-batch fermentation process. *AMB Expr*, 2017, 7: 106
- Dolatabadi H K, Goltapeh E M, Jaimand K, et al. Effects of *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* on growth and yield of essential oil in fennel (*Foeniculum vulgare*) under greenhouse conditions. *J Basic Microbiol*, 2015, 51: 33–39
- Dolatabadi H K, Goltapeh E M, Moieni A, et al. Effect of *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* on plant growth and essential oil yield in *Thymus vulgaris* *in vitro* and *in vivo* experiments. *Symbiosis*, 2011, 53: 29–35
- Rafiqi M, Jelonek L, Akum N F, et al. Effector candidates in the secretome of *Piriformospora indica*, a ubiquitous plant-associated fungus. *Front*

Plant Sci, 2013, 4

- 19 Nivedita , Verma P K, Upadhyaya K C. Lectin protein kinase is induced in plant roots in response to the endophytic fungus, *Piriformospora indica*. *Plant Mol Biol Rep*, 2017, 35: 323–332
- 20 Akum F N, Steinbrenner J, Biedenkopf D, et al. The *Piriformospora indica* effector PIIN_08944 promotes the mutualistic *Sebacinalean* symbiosis. *Front Plant Sci*, 2015, 6
- 21 Alga Z, Urs L, Güldener Ulrich, et al. Endophytic life strategies decoded by genome and transcriptome analyses of the mutualistic root symbiont *Piriformospora indica*. *PLoS Pathog*, 2011, 7: e1002290
- 22 Bajaj R, Huang Y, Gebrechistos S, et al. Transcriptional responses of soybean roots to colonization with the root endophytic fungus *Piriformospora indica* reveals altered phenylpropanoid and secondary metabolism. *Sci Rep*, 2018, 8: 10227
- 23 Hilbert M, Nostadt R, Zuccaro A. Exogenous auxin affects the oxidative burst in barley roots colonized by *Piriformospora indica*. *Plant Signal Behav*, 2013, 8: e23572
- 24 Qiang X, Weiss M, Kogel K H, et al. *Piriformospora indica*—A mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Mol Plant Pathol*, 2012, 13: 508–518
- 25 Khatabi B, Molitor A, Lindermayr C, et al. Ethylene supports colonization of plant roots by the mutualistic fungus *Piriformospora indica*. *PLoS ONE*, 2012, 7: e35502
- 26 Jacobs S, Zechmann B, Molitor A, et al. Broad-spectrum suppression of innate immunity is required for colonization of *Arabidopsis* roots by the fungus *Piriformospora indica*. *Plant Physiol*, 2011, 156: 726–740
- 27 Nizam S, Qiang X, Wawra S, et al. *Serendipita indica* E5'NT modulates extracellular nucleotide levels in the plant apoplast and affects fungal colonization. *EMBO Rep*, 2019, 20
- 28 Deshmukh S, Huckelhoven R, Schafer P, et al. The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 18450–18457
- 29 Qiang X, Zechmann B, Reitz M U, et al. The mutualistic fungus *Piriformospora indica* colonizes *Arabidopsis* roots by inducing an endoplasmic reticulum stress-triggered caspase-dependent cell death. *Plant Cell*, 2012, 24: 794–809
- 30 Li L, Chen X, Ma C, et al. *Piriformospora indica* requires kaurene synthase activity for successful plant colonization. *Plant Physiol Biochem*, 2016, 102: 151–160
- 31 Banhara A, Ding Y, Kühner R, et al. Colonization of root cells and plant growth promotion by *Piriformospora indica* occurs independently of plant common symbiosis genes. *Front Plant Sci*, 2015, 6
- 32 Peskan-Berghöfer T, Vilches-Barro A, Müller T M, et al. Sustained exposure to abscisic acid enhances the colonization potential of the mutualist fungus *Piriformospora indica* on *Arabidopsis thaliana* roots. *New Phytol*, 2015, 208: 873–886
- 33 Chen Q. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and disease resistance of invasive clonal plants (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Zhenjiang: Jiangsu University, 2019 [陈琪. 丛枝菌根真菌对入侵克隆植物生长及抗病性的影响研究. 硕士学位论文. 镇江: 江苏大学, 2019]
- 34 Rui P, Le X, Qiao W, et al. *Piriformospora indica* promotes early flowering in *Arabidopsis* through regulation of the photoperiod and gibberellin pathways. *PLoS ONE*, 2017, 12: e0189791
- 35 Glaeser S P, Imani J, Alabid I, et al. Non-pathogenic *Rhizobium radiobacter* F4 deploys plant beneficial activity independent of its host *Piriformospora indica*. *ISME J*, 2015, 10: 871–884
- 36 Hui F, Liu J, Gao Q, et al. *Piriformospora indica* confers cadmium tolerance in *Nicotiana tabacum*. *J Environ Sci*, 2015, 37: 184–191
- 37 Hui F Q. Preliminary study on effects and mechanism of salt and drought resistance and heavy metals in *Nicotiana tabacum* conferred by *Piriformospora indica* (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Hangzhou: Zhejiang University, 2014 [惠非琼. 印度梨形孢对烟草耐盐、抗旱及重金属作用及机理的初步研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2014]
- 38 Guo C T. Preliminary study on mechanisms of reducing heavy metal contents in *Nicotiana tabacum* leaves conferred by *Piriformospora indica* (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Hangzhou: Zhejiang University, 2019 [郭辰彤. 印度梨形孢降低烟叶重金属含量机理的初步研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2019]
- 39 Cheng F. Preliminary study on mechanisms of reducing Hg contents in *Nicotiana tabacum* leaves conferred by *Piriformospora indica* (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Hangzhou: Zhejiang University, 2019 [程帆. 印度梨形孢降低烟叶中汞含量机理的初步研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2019]

- 40 Nanda R, Agrawal V. *Piriformospora indica*, an excellent system for heavy metal sequestration and amelioration of oxidative stress and DNA damage in *Cassia angustifolia* Vahl under copper stress. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 156: 409–419
- 41 Padash A, Shahabivand S, Behtash F, et al. A practicable method for zinc enrichment in lettuce leaves by the endophyte fungus *Piriformospora indica* under increasing zinc supply. *Sci Hortic*, 2016, 213: 367–372
- 42 Mohd S, Shukla J, Kushwaha A S, et al. Endophytic fungi *Piriformospora indica* mediated protection of host from arsenic toxicity. *Front Microbiol*, 2017, 8: 754
- 43 Shahabivand S, Parvaneh A, Aliloo A A. Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2017, 145: 496–502
- 44 Swetha S, Padmavathi T. Study of acid phosphatase in solubilization of inorganic phosphates by *Piriformospora indica*. *Pol J Microbiol*, 2016, 65: 407–412
- 45 Abadi V A J M, Sepehri M. Effect of *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* on mitigation of zinc deficiency stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Symbiosis*, 2016, 69: 9–19
- 46 Wu J D. Growth promotion, stress tolerance and disease resistance in rice conferred by *Piriformospora indica* and the preliminary study of mechanisms (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Hangzhou: Zhejiang University, 2014 [吴金丹. 印度梨形孢诱导水稻促生、抗逆、抗病作用及其机理的初步研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2014]
- 47 Peng B. Effects of three endophytic fungi on tobacco growth, induced disease resistance and tolerance to heavy metal and their preliminary mechanisms (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Hangzhou: Zhejiang University, 2015 [彭兵. 三种内生真菌对烟草生长、诱导抗病性和抗重金属能力的影响及其机理的初步研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2015]
- 48 Rajak J, Bawaskar M, Rathod D, et al. Interaction of copper nanoparticles and an endophytic growth promoter *Piriformospora indica* with *Cajanus cajan*. *J Sci Food Agric*, 2017, 97: 4562–4570
- 49 Singhal U, Khanuja M, Prasad R, et al. Impact of synergistic association of ZnO-nanorods and symbiotic fungus *Piriformospora indica* DSM 11827 on *Brassica oleracea* var. botrytis (Broccoli). *Front Microbiol*, 2017, 8: 1909
- 50 Zhu P Y, Han B, Wang X Y, et al. Study on the remediation of cadmium pollution in soil by combination of *Medicago sativa* and *Piriformospora indica* (in Chinese). *Environ Sci Technol*, 2019, 42: 21–27 [主朋月, 韩冰, 王晓阳, 等. 印度梨形孢联合紫花苜蓿修复土壤镉污染研究. 环境科学与技术, 2019, 42: 21–27]

Roles of *Serendipita indica* in phytoremediation of heavy metal pollution

WANG XiaoHui¹, CHANG Wei² & SONG FuQiang^{1,2}

1 School of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, China;

2 Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Ecological Restoration and Resource Utilization for Cold Region, Harbin 150080, China

Heavy metal pollution has been a global concern. Among the measures to deal with it, plant-microorganism combined bioremediation has received much attention for its high efficiency and low cost. *Serendipita indica*, a kind of fungus, coexist with various plants, promoting the growth and improving stress tolerance of the host. This article systematically reviews the establishment process of symbiosis between *Serendipita indica* and plants, as well as the research progress on growth, photosynthesis, resistance physiological indicators, defense gene expression and response to heavy metal enrichment under heavy metal stress, and puts forward research prospects for the research status. It provides a theoretical reference for further understanding the remediation of heavy metal contaminated soil using *Serendipita indica* and plant symbiosis.

***Serendipita indica* (*Piriformospora indica*), symbiosis, heavy metal stress, bioremediation**

doi: [10.1360/SSV-2020-0101](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0101)