

深色有隔内生真菌提高宿主植物抗逆性的研究进展

邓勋¹, 宋小双¹, 尹大川², 崔文峰³, 宋瑞清^{4*} (1. 黑龙江省森林保护研究所, 黑龙江哈尔滨 150040; 2. 沈阳农业大学林学院, 辽宁沈阳 110000; 3. 黑龙江省林业科学院, 黑龙江哈尔滨 150040; 4. 东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要 深色有隔内生真菌(DSE)是植物根际重要的益生菌,与宿主植物互作形成共生体,对宿主植物具有促生抗逆作用。深色有隔内生真菌(DSE)提高植物的抗逆性包括提高植物对干旱以及重金属污染等逆境胁迫的抗性、诱导植物产生系统抗性、抵御病原菌生物胁迫等。对这些方面的研究进展进行探讨,以期对益生菌与宿主植物互作机制研究提供理论依据和参考。

关键词 深色有隔内生真菌; 抗逆性; 抗病性

中图分类号 S432.4⁴ **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)31-010-02

Research Advances in Improving Host Plant Resistance by Dark Septate Endophytes

DENG Xun¹, SONG Xiao-shuang¹, YIN Da-chuan², SONG Rui-qing^{4*} et al (1. Forestry Protection Institute of Heilongjiang Forestry Academy, Harbin, Heilongjiang 150040; 2. College of Forestry, Shenyang Agriculture University, Shenyang, Liaoning 110000; 3. Institute of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract Dark septate endophyte(DSE) fungus are main rhizosphere beneficial microorganisms groups of plant, and play an important role in growth promote and stress resistance to host. This paper discusses the research advances in DSE improving the plant to adversity stress such as drought and heavy metal pollution resistance, induced host systemic resistance etc., so as to provide a theoretical foundation and an important basis of interaction mechanisms of rhizosphere beneficial microorganisms and host.

Key words Dark septate endophyte(DSE); Stress resistance; Disease resistance

深色有隔内生真菌(Dark septate endophytes, DSE)是植物内生真菌的主要类群。其主要特征是菌丝颜色较深,具有明显隔膜,定殖于健康植物根的表皮、皮层甚至维管束组织的细胞内或细胞间隙,形成共生体,而不引起植物病变^[1-2]。1998年 Jumpponen 等^[3]正式提出 DSE 的概念,将具有该类特征的根部内生真菌定义为 DSE。DSE 分布范围包含不同的生境:从沿海滩涂到内陆高原山地,从热带、温带到低原地区及南北极地区^[4]。在针叶树中,主要的深色有隔内生真菌种类是子囊菌(Ascomycetes)中的 *Phialocephala fortinii* s. l. - *Acephala applanata* species complex (PAC)类群集合^[5]。PAC 分布在北半球从极地到热带地区,在针叶树的根系中占据主导地位^[6]。DSE 可以与 ECM 和 AM 在植物根系同时存在。在高山、极地、低 pH 土壤等逆境和极端环境中,DSE 可以取代菌根真菌^[7]。DSE 在不同生境植物中的定殖。表明它们很少或没有宿主特异性。据 Jumpponen 和 Trappe^[8]的统计,DSE 宿主范围涵盖 114 科 320 属的近 600 种植物,在菌根植物和莎草科、十字花科、藜科等传统非菌根植物的根中均发现 DSE 定殖。至今为止,越来越多的研究表明大多数植物都能被 DSE 定殖。DSE 定殖的寄主非特异性也为其潜在的广泛应用价值提供良好的基础。

1 促进宿主对矿物质和有机质养分的吸收

Jumpponen 等^[8]使用 *Phialocephala fortinii* 接种黑松(*Pinus contorta*),发现当有 N 养分补充时,可再提高宿主生物量 50%。同样,*Vulpia ciliate* 接种 DSE 真菌 *Harpophora radiceo-*

la 后,促进其分蘖,并且增加根系长度、生物量以及植物中 N、P 的含量^[9]。Rebecca 等^[10]设计了无机氮(Casein hydrolysate)和有机氮(Ammonium sulphate)2 种条件,对 *Deschampsia antarctica* 进行 DSE 接种,发现与对照相比,在无机氮条件下植物生长没有明显差异,在有机氮条件下 DSE 可以明显提高宿主的生物量和茎叶中 N 和 P 的含量,证明 DSE 促进宿主吸收利用有机养分。在低温环境中,N 素通常以有机形态存在,在极地南奥克尼群岛上 *Deschampsia antarctica* 根际的 N 素营养含量比例是无机氮盐的 5~7 倍,而其根部菌根菌很少,占主导地位的是 DSE 真菌,推断 DSE 可以促进宿主利用有机养分。DSE 真菌可以分泌出多种胞外水解酶,包括纤维素酶、漆酶、淀粉酶、脂酶、果胶酶、木聚糖酶、蛋白水解酶、酪氨酸酶和多酚氧化酶。多种水解酶的存在保证其对各种形态营养元素的利用^[7]。在对番茄接种 DSE 后,生物量提高了 10%~20%,同时产量有所提高^[11]。最近研究表明,DSE 不但可以促进植物的生长,而且通过与宿主植物互作,对药用植物雪莲(*Saussurea involucrata*)的有效成分——芦丁碱含量也有提高作用^[12]。

2 深色有隔内生真菌提高宿主植物的抗逆性

植物形成菌根后可提高宿主的抗逆性,而 DSE 在相对极端环境中的普遍存在及其对此类环境的适应得到了大多数研究结果的支持。同时,由于 DSE 对逆境环境的耐受性更强,它在重金属污染土壤中的生物修复作用成为近年研究的热点问题。Barrow^[13]指出,DSE 从植物根部延伸出的黏质菌丝可以帮助植物在干旱环境中维持水分和营养的运输。真菌细胞壁中的黑色素可增强细胞壁的机械强度,赋予细胞抗热、抗辐射的能力,在宿主植物抗逆性增强中起一定的作用^[14]。DSE 在宿主的逆境耐受中所起的作用依赖于宿主植物的整体适应性和 DSE 在宿主生长或营养方面提供的有益促进。接种 DSE 后,宿主的热耐受性提高。Grass seed-

基金项目 国家自然科学基金项目(31200484,31170597);国家“十二五”科技攻关项目专题(2012BAD19B0801);黑龙江省森工总局项目(SGZJY2010014,SGZJY2012016)。

作者简介 邓勋(1978-),男,辽宁凤城人,研究员,博士,从事菌物开发利用及林木病害可持续控制方面的研究。*通讯作者,教授,博士,从事菌物开发利用及食用菌遗传育种方面的研究。

收稿日期 2015-09-22

lings 可以耐受 50 °C 的高温 3 d, 而对照很快萎蔫死亡, 在 65 °C 高温间歇处理 10 d 条件下, 宿主依然可以存活。DSE 在宿主植物根部形成的微菌核和菌丝结构在提高宿主耐旱和耐热能力上发挥重要的作用。离体测试表明, DSE 对重金属如铅、铬等均有良好的耐受性, 如柱孢顶囊壳 (*Gaeumannomyces cylindrosporus*) 在铅胁迫条件下菌丝卷曲, 黑色素下降, SOD 和 CAT 活性增强, 同时对铅有较强的吸附能力^[15]; 嗜鱼外瓶霉 (*Exophiala pisciphila*) 在铬胁迫条件下菌丝生长速度、抗氧化清除能力和抗氧化酶均与铬离子浓度变化显著相关^[16]。进一步通过 RNA-seq 测序技术, 发现在铬胁迫条件下, DSE 应激表达功能基因包括金属离子结合和转运蛋白、有机酸代谢和转运、抗氧化清除蛋白等。上述功能蛋白的上调表达保证了 DSE 正常生理活动的进行^[17]。在与宿主植物的互作过程中, DSE 同样表现出提高宿主植物抗重金属离子胁迫的作用。在不同浓度 Pb 胁迫下接种柱孢顶囊壳 (*G. cylindrosporus*) 于玉米, 苗高、地茎、生物量和根系活力都明显高于对照, 高浓度 Pb 胁迫效果更明显, 同时接种柱孢顶囊壳后玉米对 Pb 的吸收量明显增加, 接种柱孢顶囊壳使得更多的 Pb 积累在植物根部, 缓解 Pb 对植物的毒害作用^[18]。接种 DSE 的玉米在铬离子胁迫试验中与对照相比也表现出较强的抗逆性^[19]。

3 深色有隔内生真菌提高植物的抗病性及诱导抗性机制

DSE 真菌可以在宿主根系定殖, 并且有效抑制土传病害的发生。目前相关研究文献不多, 其中 Narisawa 及其团队在利用 DSE 真菌控制白菜根部病害取得成功, 并且对菌剂的使用技术进行相关的研究。Narisawa 等^[20-21] 利用诱饵植物包括茄子、甜瓜、大麦和大白菜等在富集土壤中栽培, 从根中分离到 300 多株 DSE, 筛选出 2 株生防菌 *Phialocephala fortinii* C. J. K. Wang & H. E. Wilcox 和 *Heteroconium chaetospora* (Grove) M. B. Ellis。研究表明, 2 株菌在实验室和田间均能有效地防治由 *Plasmodiophora brassicae* Woronin 引起的大白菜根肿病和轮枝孢属真菌 (*Verticillium* spp.) 引起的大白菜轮枝孢黄萎病。通过显微结构观察, 发现 DSE 定殖后, 根部表皮和皮层的细胞壁变厚, 排列更加紧密。这也限制了病原菌的侵入。定殖于根系的 *Heteroconium chaetospora* (Grove) M. B. Ellis 还能诱使大白菜系统性抵抗, 并且减少细菌性叶斑病和链格孢属真菌 (*Alternaria* spp.) 引起的叶斑病的发生^[22], *H. chaetospora* (Grove) M. B. Ellis 并没有定殖到根部以外的其他组织、器官, 而是通过茉莉酸 (JA) 代谢和乙烯 (ET) 代谢完成其对宿主植物的抗性诱导。通过 *H. chaetospora* 与白菜根部互作共聚焦激光扫描显微观察, *H. Chaetospora* 定殖到根部皮层组织, 在病原菌诱导后内生菌诱导宿主植物茉莉酸代谢等抗性代谢基因、内源激素合成基因等上调表达, 进一步证明其具有诱导植物抗病的作用^[23]。Diana 等^[11] 将番茄接种 DSE 真菌 *Leptodontidium orchidicola*, 发现可以减少轮枝菌引起的番茄枯萎病的发生, 但是效果不明显。对 PAC 的生防价值也进行相关探讨。*Phialocephala subalpina* 的存在可以降低腐霉菌对云杉苗木的危害, 同时增加云杉苗木的生物量^[24]。部分 PAC 菌株可代谢出抑制病原菌生长的产物。

在 *Phialocephala europaea* 的代谢产物中分离得到的 sclerin, sclerolide, sclerotinin A 以及 sclerotinin B, 可以显著抑制病原菌生长^[25]。利用生态位的竞争作用, 低毒性的 PAC 菌株在控制高毒性、土壤病原菌方面也通过接种试验进行验证^[26]。DSE 的抗病机理还不十分清楚。目前认为 DSE 提高植物抗病能力的机理主要有 3 个方面: ① 竞争作用, 占领生态位, 减少病原菌等侵入的可能; ② 代谢抑菌物质, 对病原菌形成抗生作用; ③ 诱导植物产生系统抗性, 但是目前 DSE 在病害防治中的研究较少, 其中对其提高植物抗病能力的分子机理研究还处于起步阶段。转录组测序、RNAi 等技术的日益成熟为深入探讨 DSE 提高植物抗逆性的生理和分子机制提供良好的技术条件。

参考文献

- [1] PIERCEY M M, GRAHAM S W, CURRAH R S. Patterns of genetic variation in *Phialocephala fortinii* across a broad latitudinal transect in Canada [J]. Mycol Res, 2004, 108: 955 - 964.
- [2] JUMPPONEN A. Dark septate endophytes-are they mycorrhizal? [J]. Mycorrhiza, 2001, 11: 207 - 211.
- [3] JUMPPONEN A, TRAPPE J M. Dark septate endophytes: A review of facultative biotrophic root-colonizing fungi [J]. New Phytol, 1998, 140: 295 - 310.
- [4] 刘茂军, 张兴涛, 赵之伟. 深色有隔内生真菌 (DSE) 研究进展 [J]. 菌物学报, 2009, 28(6): 888 - 894.
- [5] GRUNIG C R, QUELOZ V, SIEBER T N, et al. Dark septate endophytes (DSE) of the *Phialocephala fortinii* s. l. - *Acephala applanata* species complex in tree roots: Classification, population biology, and ecology [J]. Botany, 2008, 86: 1355 - 1369.
- [6] ZHANG C, YIN L, DAI S. Diversity of root-associated fungal endophytes in *Rhododendron fortunei* in subtropical forests of China [J]. Mycorrhiza, 2009, 19: 417 - 423.
- [7] MANDYAM K, JUMPPONEN A. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi [J]. Studies in mycology, 2005, 53: 173 - 189.
- [8] JUMPPONEN A, MATTSON K G, TRAPPE J M. Mycorrhizal functioning of *Phialocephala fortinii* with *Pinus contorta* on glacier forefront soil: Interactions with soil nitrogen and organic matter [J]. Mycorrhiza, 1998, 7: 261 - 265.
- [9] NEWSHAM K K. *Phialophora graminicola*, a dark septate fungus, is a beneficial associate of the grass *Vulpia ciliata* ssp. *Ambigua* [J]. New phytologist, 1999, 144: 517 - 524.
- [10] UPSON R, READ D J, NEWSHAM K K. Nitrogen form influences the response of *Deschampsia antarctica* to dark septate root endophytes [J]. Mycorrhiza, 2009, 20: 1 - 11.
- [11] ANDRADE-LINARES D R, GROSCH R, RESTREPO S, et al. Effects of dark septate endophytes on tomato plant performance [J]. Mycorrhiza, 2011, 21: 413 - 422.
- [12] WU L Q, LV Y L, MENG Z X. The promoting role of an isolate of dark-septate fungus on its host plant *Saussurea involucreata* Kar. et Kir [J]. Mycorrhiza, 2010, 20: 127 - 135.
- [13] BARROW J R. Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands [J]. Mycorrhiza, 2003, 13(5): 239 - 247.
- [14] ADDY H D, PIERCEY M M, CURRAH R S. Microfungal endophytes in root [J]. Canadian journal of botany, 2005, 83: 1 - 13.
- [15] BAN Y, TANG M, CHEN H, et al. The response of dark septate endophytes (DSE) to heavy metals in pure culture [J]. PLoS ONE, 2012, 7(10): 47968.
- [16] ZHAN F, HE Y, LI T, et al. Tolerance and antioxidant response of a dark septate endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila*, to cadmium stress [J]. Bull environ contam toxicol, 2015, 94(1): 96 - 102.
- [17] ZHAO D, 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]. Microbiol Res, 2015, 170: 27 - 35.

表5 荣经县土地脆弱性响应指数变化

年份	ETI	EOI	年份	ETI	EOI
1996	0.878 4	1.885 0	2004	1.291 6	3.105 7
1997	0.870 5	1.965 8	2005	1.247 6	2.567 1
1998	0.911 3	2.042 3	2006	1.307 4	2.629 2
1999	1.084 7	2.255 9	2007	1.311 5	2.710 2
2000	1.093 6	2.320 5	2008	1.299 2	2.780 2
2001	1.141 8	2.831 1	2009	1.290 2	2.851 2
2002	1.183 6	2.899 1	2010	1.285 6	2.921 7
2003	1.233 6	2.992 4	2011	1.282 5	2.974 2

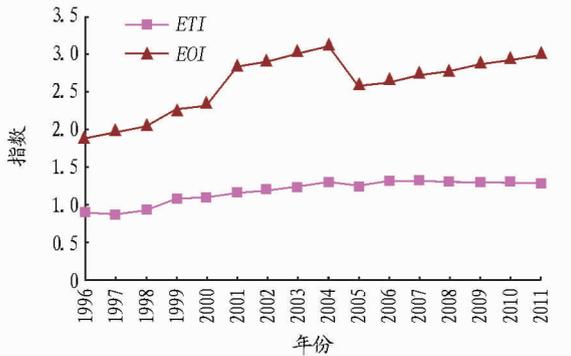


图2 荣经县土地系统脆弱性响应指数变化

年的稍不安全变为2011年的较不安全,EOI从1996年的稍富裕变为2011年的较富裕,表明荣经县经济取得明显发展,人们生活水平明显提高,但区域土地系统所承受的环境压力也越来越大,其经济发展依然有较强的资源依赖性,土地系统表现出一定的脆弱性,土地生态安全面临较严峻的挑战。

3 结语

利用生态足迹模型对荣经县1996~2011年的土地生态承载力变化进行分析。结果表明,荣经县生态赤字不断增大,土地系统脆弱性有进一步加剧的趋势。为缓解当地生态压力,提高可持续发展水平,建议采取以下措施:①控制人口数量,提高人口素质,减少资源消耗;②大力发展科学技术,提高单位面积生物生产性土地面积供给能力,同时提高资源利用率,降低生态足迹需求;③合理产业布局、土地规划,提高土地利用效率。

(上接第11页)

- [18] 班宜辉. 铅锌矿区深色有隔内生真菌提高植物耐Pb机制研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2013.
- [19] 张杰. 云南两个重金属矿区(暮乃、个旧)深色有隔内生真菌的研究[D]. 昆明:云南大学,2010.
- [20] NARISAWA K, HAMBLETON S, CURRAH R S. *Heteroconium chaetospora*, a dark septate root endophyte allied to the Herpotrichiellaceae (Chaetothiales) obtained from some forest soil samples in Canada using bait plants[J]. *Mycoscience*, 2007, 48(5): 274-281.
- [21] NARISAWA K, USUKI F, HASHIBA T. Control of verticillium yellows in Chinese cabbage by the dark septate endophytic fungus LiVB3[J]. *Phytopathology*, 2004, 94(5): 412-418.
- [22] SOICHIRO M, MIKIKO A, TOSHIKO A et al. Induced systemic resistance of Chinese cabbage to bacterial leaf spot and Alternaria leaf spot by the root endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora* [J]. *J Gen Plant*

参考文献

- [1] 赵源,黄成敏,温军会. 土地系统脆弱性研究进展和展望[J]. *中国农业资源区划*, 2013, 34(5): 121-127.
- [2] 刘杰. 生态承载力研究方法述评[J]. *农业与科技*, 2008, 28(3): 32-34.
- [3] 郭秀锐,毛显强. 中国土地承载力计算方法研究综述[J]. *地球科学进展*, 2000, 15(6): 705-711.
- [4] 顾康康. 生态承载力的概念及其研究方法[J]. *生态环境学报*, 2012, 21(2): 389-396.
- [5] 夏军,王中根,左其享. 生态环境承载力的一种量化方法研究:以海河流域为例[J]. *自然资源学报*, 2004, 19(6): 786-794.
- [6] 王家骥,姚小红,李京荣,等. 黑河流域生态承载力估测[J]. *环境科学研究*, 2000, 13(2): 44-48.
- [7] 高吉喜. 可持续发展理论探索:生态承载力理论、方法与应用[M]. 北京:中国环境科学出版社,2001.
- [8] 孙东林,刘圣,姚成,等. 用能值分析理论修改生物承载力的计算方法:以苏北互米花草生态系统为例[J]. *南京大学学报(自然科学版)*, 2007, 43(5): 501-508.
- [9] 徐中民,张志强,程国栋,等. 中国1999年生态足迹计算与发展分析[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(2): 280-285.
- [10] 刘福刚. 基于生态足迹的鲁西北可持续发展评价研究:以德州市为例[J]. *资源开发与市场*, 2008, 24(6): 500-502.
- [11] 张晶,刘耀林,陈新民. 基于生态足迹的浙江省生态安全动态研究[J]. *水土保持通报*, 2008, 28(4): 186-190.
- [12] 何志丽,张建强,薛丹丹,等. 四川省可持续发展的生态足迹分析[J]. *贵州农业科学*, 2008, 36(1): 54-56.
- [13] 杨开忠,杨咏,陈洁. 生态足迹分析理论与方法[J]. *地球科学进展*, 2000, 15(6): 630-636.
- [14] 朱国锋,杨小梅,万国宁,等. 甘肃省2004年生态足迹计算与分析[J]. *甘肃联合大学学报(自然科学版)*, 2008, 22(5): 62-68.
- [15] 赵先贵,肖玲,马彩虹,等. 基于生态足迹的可持续评价指标体系的构建[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(6): 1202-1207.
- [16] 徐中民,程国栋,张志强. 生态足迹方法:可持续性定量研究的新方法:以张掖地区1995年的生态足迹计算为例[J]. *生态学报*, 2001, 21(9): 1484-1493.
- [17] 冯奇,吴胜军,蔡述明. 黄石市土地生态承载力分析[J]. *华中农业大学学报(社会科学版)*, 2006(1): 38-43.
- [18] 许月卿. 基于生态足迹的北京市土地生态承载力评价[J]. *资源科学*, 2007, 29(5): 37-42.
- [19] 何淑勤,郑子成. 雅安市生态足迹分析[J]. *中国水土保持*, 2005(8): 13-21.
- [20] 周陶,黄云,王成. 运用生态足迹法对可持续发展的分析:以乐山市五通桥区为例[J]. *西南农业大学学报(社会科学版)*, 2005, 3(2): 18-21.
- [21] 张玉玲,吴宜进. 基于生态足迹模型的湖北省可持续发展研究[J]. *资源环境与发展*, 2006(4): 42-47.
- [22] 赵秀勇,缪旭波,孙勤芳,等. 生态足迹分析法在生态持续发展定量研究中的应用:以南京市1998年的生态足迹计算为例[J]. *农村生态环境*, 2003, 19(2): 58-60.
- [23] LAHLALI R, MCGREGOR L, SONG T, et al. *Heteroconium chaetospora* induces resistance to clubroot via upregulation of host genes involved in jasmonic acid, ethylene, and auxin biosynthesis [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(4): 94144.
- [24] CHRISTOPH T, SIEBER T H. Do colonization by dark septate endophytes and elevated temperature affect pathogenicity of oomycetes? [J]. *FEMS microbiology ecology*, 2012, 82(1): 157-168.
- [25] TELLENBACH C. Inhibition of *Phytophthora* species by secondary metabolites produced by the dark septate endophyte *Phialocephala europaea* [J]. *Fungal ecology*, 2013, 6: 12-18.
- [26] IVO H, VANESSA R, SIEBER T N. Control of pathogenic PAC strains by non-pathogenic PAC strains in planta does not correlate with higher competitiveness of non-pathogenic PAC strains ex planta [J]. *Mycol Progress*, 2014, 13: 1241-1247.