

丛枝菌根真菌伴生细菌的研究进展

龙良鲲^{1,3}, 姚 青², 艾云灿³, 朱红惠^{1,*}

(1. 广东省微生物研究所, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广州 510070; 2. 华南农业大学园艺学院, 广州 510642;
3. 中山大学生命科学院, 广州 510275)

摘要:在丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)的孢子、菌丝的表面或内部栖息着细菌,称之为AMF伴生细菌。AMF伴生细菌种类多样、分布广泛,生态位点包括孢子壁的表面或内部、细胞质、菌丝、孢子果等。其可能的生物学意义包括影响AMF孢子萌发、菌丝生长、菌根形成等过程。由于伴生细菌与AMF联系紧密,其对AMF和土壤微生物生态学具有重要的意义。国际上在该领域的研究已有30多年的历史,就其研究进展进行综述。

关键词:丛枝菌根真菌;孢子;伴生细菌;生态

文章编号:1000-0933(2007)12-5345-07 中图分类号:Q938.1 文献标识码:A

Advance in researches on bacteria associated with arbuscular mycorrhizal fungi

LONG Liang-Kun^{1,3}, YAO Qing², AI Yun-Can³, ZHU Hong-Hui^{1,*}

1 Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangzhou 510070, China

2 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

3 College of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(12): 5345 ~ 5351.

Abstract: Diverse bacteria colonize on the surface of or inside the spores and/or hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). These bacteria are termed AMF-associated bacteria in literature. AMF-associated bacteria are abundant in species and they distribute widely. The niches of AMF-associated bacteria include the surface and the interior of spore wall, the cytoplasm, the hyphae, the sporocarps etc. The possible biological implications of AMF-associated bacteria involve in some processes such as affecting spore germination, hyphae growth, and the colonization of roots by AMF. Due to the close relationship between AMF and their associated bacteria, they are of great importance in the fields of AMF and soil microbe ecology. Researches on AMF-associated bacteria have been over 30 years world-wide, and the progresses achieved therein are reviewed in this paper.

Key Words: arbuscular mycorrhizal fungi; spore; associated bacteria; ecology

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)是一类与植物根系共生的土壤真菌。最新的分类系统将其单独划分为球囊霉门(Glomeromycota),共有10个属,已报道近200种,它们可侵染80%以上的陆生植物^[1]。AMF能与植物根系形成互惠互利的共生体(菌根),一方面AMF帮助植株从根系以外更远的区域吸收

基金项目:广东省基金研究团队资助项目(E05202480)

收稿日期:2006-09-28; 修订日期:2007-01-23

作者简介:龙良鲲(1978~),男,湖北人,博士生,主要从事AM真菌生物学与微生态学研究。E-mail:llk8341@yahoo.com.cn

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail:zhuhonghui66@yahoo.com.cn

Foundation item: The project was financially supported by Natural Science Foundation of Guangdong Province(No. E05202480)

Received date: 2006-09-28; **Accepted date:** 2007-01-23

Biography: LONG Liang-Kun, Ph. D. candidate, mainly engaged in AM fungal biology and micro-ecology. E-mail:llk8341@yahoo.com.cn

磷、铜、锌等矿质营养、协助宿主抵抗外来生物(病原菌等)和非生物(干旱、贫瘠、重金属等)胁迫,另一方面它本身则要利用植物提供的碳水化合物来完成自身的生命活动^[2,3]。AMF 终年栖息于土壤之中,必然与多种土壤微生物形成了紧密的联系。人们已发现 AMF 与根际促生细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)、固氮菌等之间存在着积极的协同作用^[4,5]。同时,在 AMF 的菌体(孢子、菌丝等)上及细胞内部也发现有大量的细菌、放线菌、甚至真菌类微生物存在,其中以细菌和放线菌数量最多^[6~9]。生态位上,这类微生物有别于普通的土壤微生物,其与 AMF 联系紧密,相互之间可能具有某种特定的互作。目前对这类微生物没有一个明确的描述性概念。文献中,常以 SAB(spore-associated bacteria)描述 AMF 孢子上栖息的细菌^[9,10],而细胞质中存在的细菌称为内生细菌(endobacteria)^[11,12]。由于这些细菌与 AMF 酷似一种伙伴关系,本文以“AMF 伴生细菌”一词描述那些定殖于 AMF 孢子、菌丝表面和细胞内部,并与 AMF 有紧密联系的细菌类群。20 世纪 70 年代至今,国外一些研究机构逐步对 AMF 伴生细菌开展了研究,涉及到种群生态和生物学效应等方面。本文就 AMF 伴生细菌相关研究进展作一综述,以促进我国在该研究领域的发展。

1 伴生细菌的存在状况

1.1 孢子伴生

AMF 孢子上存在细菌的现象已广为人们所证实。借助扫描和透射电镜,发现在 *Glomus caledonius*、*Glomus clarum*、*Glomus geosporum*、*Glomus constrictum* 等的孢壁上定殖着多种细菌,它们有的黏附在外层孢壁的表面,有的则包埋在外层或次外层孢壁中,而内层孢壁则少见细菌的存在^[13~15]。AMF 孢子壁由高分子聚合物,如几丁质等组成^[16],这些成分是某些细菌的营养来源。时常观察到一些 AMF 孢子的外层孢壁在后期会消失、或在孢壁表面形成小的穿孔,这可能是其伴生细菌作用的结果^[15]。在 AMF 孢子的表面消毒试验中,也常会遇到消毒难以彻底的情况,这极可能是由于包埋在孢子壁中的细菌受到孢壁的物理保护,而免受消毒剂攻击的缘故^[14]。

目前,国外已针对 AMF 孢子伴生细菌的种群分布进行了一些研究。Mayo 等研究发现 *Pseudomonas* sp.、*Corynebacterium* sp. 是 *Glomus versiforme* 孢子上的常见菌群^[10]。而 *Paenibacillus* sp. 与 *Glomus intraradices* 或 *Glomus mosseae* 有着紧密的联系^[17~21]。孢子伴生细菌与 AMF 之间可能具有一定的选择性适应。Xavier 等人以脂肪酸甲脂(FAME)分析技术,发现未经表面消毒处理的 *G. clarum* 孢子上存在 *Bacillus* spp.、*Pseudomonas* spp.、*Burkholderia* spp.、*Flavobacterium* sp. 等多种类群的细菌;而将孢子表面消毒后,分离到的菌株全是革兰氏阳性菌,且 80%~92% 的菌株是 *Bacillus* spp.^[9]。由于消毒剂会对细菌进行选择性的杀伤,而培养条件又对各种细菌的获得具有极大的偏差,传统的分离培养技术对伴生细菌种群的认识十分有限。Roesti 等首次以 PCR-DGGE 技术分析认为,*G. geosporum* 和 *G. constrictum* 的孢子伴生细菌种群组成受真菌菌种差异的影响更大,而受宿主植物差异的影响较小。进一步对代表性条带进行序列分析,发现其主要为 *Cellvibrio* spp.、*Chondromyces* spp.、*Flexibacter* spp.、*Lysobacter* spp. 和 *pseudomonas* spp.^[15]。这些菌群共同特征是,它们通常可降解蛋白质、纤维素、几丁质等生物大分子,这可能与它们栖息的孢壁环境有关^[15]。细菌只有适应 AMF 的生命活动规律,才能与其保持稳定的伴生关系。不同 AMF 的形态结构、生理代谢、环境适应性(pH 等)各异,伴生细菌与 AMF 之间具有怎样的生态适应性,需要进行系统的研究。

此外,在一些 AMF(如 *G. mosseae*)的孢子果上也报道有细菌类群存在^[22],但相关的研究还不多见。

1.2 菌丝伴生

自然环境下,AMF 孢子萌发并定殖宿主后,会在宿主根际形成庞大的菌丝网络结构。由于这些菌丝能分泌多种化学物质,如球囊霉素(Glomalin)^[23]、有机酸等^[24],使得其周围的微环境(pH、营养元素等)发生改变,随之出现特定的生态位点,即菌丝际(hyphosphere)^[25]。菌丝际已成为某些细菌类群栖息的场所。植物在接种 AMF 后,其 PGPR 群落会发生结构或数量上的变化^[25,26],这与菌丝际的存在是分不开的。另有研究发现,菌丝际的细菌种群组成与植物根际存在明显的差别,有些细菌种群成为菌丝际所特有^[25]。

国外已开始深入研究菌丝际的 AMF 伴生细菌。Artursson 等通过溴脱氧尿苷技术从土壤捕获到一株

Bacillus cereus VA1,并以荧光蛋白基因(*gfp*)标记技术直接观察到其 *G. dussii* 菌丝紧密联系在一起^[27]。Toljander 等研究认为细菌对 AMF 菌丝的黏附能力是它们相互作用的首要前提。他们以 5 种基因标记的土壤细菌的研究发现 *Bacillus cereus* 和 *Paenibacillus peoriae* 具有最好的黏附能力,这种黏附能力不仅与菌丝的活性有关,还受 AMF 菌种的影响^[21]。

AMF 菌丝与细菌的伴生不是随机的,而在于两者长期的相互选择,最终形成特有的互惠关系^[26]。不同 AMF 的菌丝分泌物性状不同,这也使得与之伴生的细菌种群有所差别。

1.3 细胞质内生

早在 1970 年, Mosse 首次观察到在 *Acaulospora laevis* 的细胞质中存在微小生物体,称之为 BLO(Bacterium-like organelles)^[28]。之后,在 *Gigaspora margarita*、*G. mosseae*、*Glomus* sp. 的研究中又有类似的报道^[13,29,30]。意大利的 Bonfante 研究小组对 *G. margarita* BEG34 的细胞质内生细菌作了系统的研究。通过荧光染色和电镜技术,发现这些细菌分布于孢子、萌发的菌丝及根内菌丝的细胞质中,其菌体为杆状,具有典型的革兰氏阴性菌细胞壁特征,且在每个孢子中的活体数量达 2.5×10^5 CFU^[11]。由于对这些细菌的人工培养未获得成功,起初的 16S rDNA 序列分析将其鉴定为 *Burkholderia* sp.^[11],进一步的系统进化分析发现,这些细菌代表了一个新的细菌分类单元,并给出一个新的分类名称“*Candidatus Glomeribacter Gigasporarum*”^[31]。深入的研究发现,该细菌的基因组大小约 1.4 Mb,其中包括 750 kb 的染色体基因和一个 600 ~ 650 kb 的质粒,是 β -proteobacterium 中基因组最小的类群^[32]。而且这些内生细菌可以随 AMF 的繁殖、传代而延续,推测其可能是宿主 AMF 细胞的组成成分之一^[12,33]。研究还发现,这类细菌广泛存在于 Gigasporaceae 的多个类群中,如 *Scutellospora persica*、*Scutellospora castanea*,但在 *Gigaspora rosea* 中没有发现其踪迹^[12]。AMF 存在细胞质内生细菌是一个重要的生态现象,而且具有一定的普遍性。这类细菌与植物种子传播的内生菌具有一定的相似性,可能在 AMF 的生命过程中担负着重要的功能。目前仅针对个别 AMF 菌株作了内生细菌的研究,原因可能由于这些内生细菌至今未能实现人工培养,研究起来较为困难。

另有人应用 PCR 扩增、透射电镜及扫描电镜等技术研究发现,从外界分离到的一些人类或动物的致病菌 *Burkholderia* spp. 可以成功侵染 *Gigaspora decipiens* 的孢子,并存在于其菌体表面和细胞质中。其中 *B. vietnamiensis* 对 *G. decipiens* 孢子的侵染率为 12%,受侵染孢子中的菌体数量达 1.5×10^6 CFU,*B. pseudomallei* 的侵染率为 7%,菌体数量达 5.5×10^5 CFU/孢子^[34]。这些细菌与 AMF 具有怎样的相互作用还不清楚^[34]。外界细菌能够侵染到 AMF 的细胞内,则 AMF 细胞质中存在的特定内生细菌应该起源于土壤中。这需要进一步的实验数据验证。

2 伴生细菌的生物学效应

AMF 存在多样性的伴生细菌,这些细菌与 AMF 不会是简单的随机结合,两者之间应具有特定的互作。AMF 能直接为细菌提供赖以生存的环境、或作为其传播、扩散的工具等^[35],细菌也会对 AMF 起到各种生物学效应。Garbaye 首先将对菌根真菌具有正效应的细菌类群称之为 MHB(Mycorrhiza helper bacteria)^[36]。之后,许多研究发现不少 AMF 伴生细菌可归入 MHB 的范畴。

2.1 孢子萌发

自然条件下,AMF 孢子的萌发受到生物和非生物因子的影响,伴生细菌可能是其中重要的因子之一^[24]。一些经表面消毒的 AMF 孢子常不能萌发或萌发缓慢,而在加入某些细菌(或其培养滤液)后,就能够促进其萌发^[10,37]。同时,有些细菌只有当与孢子接触后才会起到促进萌发的作用^[9]。孢子上存活的细菌很可能对孢子的萌发起到关键的作用。目前,这些细菌的作用机制并不十分清楚,推测其可能是产生一些降解酶、氨基酸或挥发性物质起到了促进作用^[10,24]。另外,通过电镜已观察到一些 AMF 孢壁中包埋的细菌能够侵蚀、降解孢壁,使得其坚硬的外层孢壁在后期缺失,或形成小孔^[15]。这也可能是其促进孢子萌发的机制之一^[15]。同时,也发现一些伴生细菌对 AMF 孢子萌发并无明显影响、或表现为抑制作用^[9]。细菌对 AMF 孢子萌发的影响主要以各种平板共培养的方法进行测定^[9,38],而试验中的各种影响因素与自然状态下相距甚远,因此难

以与实际情况一致的试验结果。如何以更接近自然环境的研究方法,更真实的反映伴生细菌对 AMF 孢子的生物学意义,值得探索。

2.2 菌丝生长

土壤中,AMF 菌丝的延伸范围广泛,能够作为某些细菌的传输工具^[35],细菌也能对菌丝的生长起到积极的影响。在平板共培养的条件下,*Paenibacillus validus* 能促进 *G. intraradices* 菌丝的生长^[18]。类似的试验表明,*Brevibacillus brevis* 能明显促进 *G. mosseae* 的菌丝生长量的增加,在重金属镉存在的情况下,其促进效应更为显著^[39]。也有相反的事例,菌丝际专一性的 *Alcaligenes eutrophus* 的存在却减少了 AMF 的菌丝量^[26]。

细菌对 AMF 菌丝生长影响的内在机制可能是降解一些 AMF 的抑制性物质,或产生氨基酸、吲哚乙酸 (IAA)、及 CO₂ 等^[2,20]。另外,细菌与 AMF 之间可能也存在营养或空间的竞争而相互制约。AMF 菌丝具有重要的生态学意义,如能获得针对菌丝的各种 MHB,必将为 AMF 的应用起到重要的推动作用。

2.3 促进产孢

在脱离宿主植物的条件下,AMF 的菌丝可以独自生长一段时间,但几乎不能产生新的孢子。Hildebrandt 等的研究使得这一难题有所突破。他们在 *G. intraradices* 孢子的萌发试验中分离到一株 *P. validus*。在缺少根组织时,用这种细菌与 *G. intraradices* 相距 1.5cm 共培养,发现该菌能促进菌丝生长,4~6 周后观察到在密集分布的卷曲菌丝结构处有产生孢子的迹象,但新孢子形成过程缓慢。9 个月后,新孢子大小能达母孢子的 70%,且这些新孢子可以萌发并再次感染宿主^[18,19]。目前,他们对这一奇妙现象的内在机制已做了一些研究^[19],虽然还未得出满意的结论,但这一发现可能标志着人们在朝着实现 AMF 不依赖宿主植物而完成生命周期的方向迈出了重要的一步。

2.4 定殖宿主

一些细菌与 AMF 联合接种植物后,菌根侵染率会有明显的提高^[40,41]。早在 1962 年,Mosse 就分离到 AMF 孢子伴生菌 *Pseudomonas* sp., 并发现其能帮助 AMF 侵染宿主^[24]。Budi 等在接种 *G. mosseae* 的双色高粱 (*Sorghum bicolor*) 菌根分离到的 *Paenibacillus* sp., 其也能促进菌根的形成^[17]。Barea 等发现能产生抗真菌物质 2,4 二乙酰基间苯三酚 (DAPG) 的根际菌 *Pseudomonas* sp. F113 对 *G. mosseae* 不产生负面影响,而且其可以促进 *G. mosseae* 菌丝生长及对番茄的定殖^[38]。虽然 F113 是从根际土分离到的,但通过扫描电镜和共聚焦显微技术发现其能黏附于 *G. mosseae* 孢子果的表面,而很少黏附于孢子壁表面^[38]。AMF 成功侵染宿主需要穿透植物细胞壁,细菌是否在这一过程中起到特殊的作用。伴生细菌促进 AMF 定殖宿主的内在机制需要进一步的解释。

2.5 其它

AMF 内生细菌未能实现人工培养,其生物学意义还难以确定。Bonfante 研究小组发现 *G. margarita* 的内生细菌 *Burkholderia* sp. 的一段遗传区域与 *E. coli* 的 Pst 操纵子的序列近似,因而推测其可能含有一种磷转运蛋白操纵子^[42];而且还发现其具有固氮作用的 *nif* 基因^[43]。因而,推测这种内生细菌对于 AMF 促进宿主植物吸收磷、氮等营养可能具有重要的意义^[42~45]。

此外,有些伴生细菌能与 AMF 联合改善植物的氮、磷营养^[35,41,46]、或协助 AMF 增加植物对重金属的耐受力^[39]。另一些细菌则可能协助 AMF 抵抗自身的有害微生物、或宿主植物的病原微生物,起到防病控病的作用^[17,35,38]。

3 展望

细菌能与多种真核生物呈附生或共生关系。人们通过对这些生态现象的认识,发现了一些有趣的生态规律,如附生细菌可以显著增强 *Stagonospora* (*Septoria*) *nodorum* 的致病力^[47]。细菌与 AMF 伴生是研究原核生物与真核生物互作的又一重要事例^[48,49]。目前,有关 AMF 的许多生物学规律和作用机制的认识并不完全,如能从伴生细菌的角度加以研究,可能会有意外的收获。

虽然 AMF 伴生细菌的研究从 20 世纪 70 年代就已开始,但对其认识还十分有限。目前,有待从种群生

态、生物学效应和分子作用机制上对其进行系统性和全面性的研究。该领域的研究难点可能在于 AMF 个体微小,又不能进行纯培养,取材较为不便。而且,细菌不仅黏附于 AMF 的表面,还存在于其细胞内,或包埋在细胞壁中,获得完全无菌的 AMF 个体十分困难。有关 AMF 伴生细菌的深入研究需要引入各种先进的技术手段,这需要大量的前期摸索工作。

AMF 伴生细菌是一个新兴的研究领域,存在着广阔的研究空间。目前,国外已认识到这一领域的研究价值,并积极运用各种技术手段对其进行逐步深入的探索^[15,50]。在我国,针对 AMF 伴生细菌的研究极少。彭生斌等和龙伟文等作了一些相关报道^[51,52],但未见后续深入研究。为促进我国丛枝菌根真菌和土壤微生物学研究的全面、快速发展,AMF 伴生细菌的研究不容忽视。

References:

- [1] Walker C, Schüßler A. Nomenclatural classifications and new taxa in the Glomeromycota. *Mycological Research*, 2004, 108: 981—982.
- [2] Koide R T, Mosse B. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*, 2004, 14:145—163.
- [3] Liu R J, Li X L. Arbuscular mycorrhizal fungi and their application. Beijing: Science Press, 2000. 1—198.
- [4] Requena N, Jimenez I, Toro M, *et al.* Interactions between plant-growth promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllus cytisoides*, a model legume for revegetation in mediterranean semi-arid ecosystems. *New Phytologist*, 1997, 136:667—677.
- [5] Amora-Lazcano E, Vazquez M M, Azcon R. Response of nitrogen-transforming microorganisms to arbuscular mycorrhizal fungi. *Biol Fertil Soils*, 1998, 27:65—70.
- [6] Lee P J, Koske R E. *Gigaspora gigantea*: parasitism of spores by fungi and actinomycetes. *Mycological Research*, 1994, 98:458—466.
- [7] Hijri M, Redecker D, Petetot JAM-C, *et al.* Identification and isolation of two ascomycete fungi from spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Scutellospora castanea*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(9):4567—4573.
- [8] Ames R N, Mihara K L, Bayne H G. Chitin-decomposing actinomycetes associated with a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus from a calcareous soil. *New Phytologist*, 1989, 111:67—71.
- [9] Xavier L J C, Germida J J. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35: 471—478.
- [10] Mayo K, Davis R E, Motta J. Stimulation of germination of spores of *Glomus versiforme* by spore-associated bacteria. *Mycologia*, 1986, 78:426—431.
- [11] Bianciotto V, Bandi C, Minerdi D, *et al.* An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(8):3005—3010.
- [12] Bianciotto V, Lumini E, Lanfranco L, *et al.* Detection and identification of bacterial endosymbionts in arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the family *Gigasporaceae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(10):4503—4509.
- [13] Macdonald R M, Chandler M R. Bacterium-like organelles in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus caledonius*. *New phytologist*, 1981, 89:241—246.
- [14] Walley F L, Germida J J. Failure to decontaminate *Glomus clarum* NT4 spores is due to spore wall-associated bacteria. *Mycorrhiza*, 1996, 6:43—49.
- [15] Roesti D, Ineichen K, Braissant O, *et al.* Bacteria associated with spores of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(11):6673—6679.
- [16] Bonfanto-Fasolo P, Faccio A, Perotto S, *et al.* Correlation between chitin distribution and cell wall morphology in the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Mycological Research*, 1990, 94:157—165.
- [17] Budi S W, Tuinen D V, Marlinotti G, *et al.* Isolation from the sorghum bicolor mycorrhizosphere of a bacterium compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(11):5148—5150.
- [18] Hildebrandt U, Janetta K, Bethe H. Towards growth of arbuscular mycorrhizal fungi independent of a plant host. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(4):1919—1924.
- [19] Hildebrandt U, Ouziad F, Marner F-O, *et al.* The bacterium *Paenibacillus validus* stimulates growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* up to the formation of fertile spores. *FEMS Microbiol letters*, 2006, 254(2):258—267.
- [20] Mansfeld-Giese K, Larsen J, Bodker L. Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*.

- FEMS Microbiology Ecology, 2002, 41(2):133—140.
- [21] Toljander J F, Artursson V, Paul L R, *et al.* Attachment of different soil bacteria to arbuscular mycorrhizal fungal extraradical hyphae is determined by hyphal vitality and fungal species. FEMS Microbiol Letters, 2006, 254(1):34—40.
- [22] Filippi C, Bagnoli G, Citernes A S, *et al.* Ultrastructural spatial distribution of bacteria associated with sporocarps of *Glomus mosseae*. Symbiosis, 1998, 24:1—12.
- [23] Gonzalez-Chavez M C, Carrillo-Gonzalez R, Wright S F, *et al.* The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. Environmental Pollution, 2004, 130(3):317—323.
- [24] Powell C L, Bagyaraj D J. VA mycorrhiza. CRC Press, USA, 1984. 35—223.
- [25] Andrade G, Mihara K L, Linderman R G, *et al.* Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. Plant and Soil, 1997, 192:71—79.
- [26] Andrade G, Linderman R G, Bethlenfalvay G J. Bacterial associations with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Plant and Soil, 1998, 202:79—87.
- [27] Artursson V, Jansson J K. Use of bromodeoxyuridine immunocapture to identify active bacteria associated with arbuscular mycorrhizal hyphae. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(10):6208—6215.
- [28] Mosse B. Honey-coloured sessile Endogone spores II. Changes in fine structure during spore development. Arch Mikrobiol, 1970, 74:129—145.
- [29] Meier R, Charvat I. Germination of *Glomus mosseae* spores: procedure and ultrastructural analysis. International Journal of Plant Sciences, 1992, 153(4):541—549.
- [30] Maia L C, Kimbrough J W. Ultrastructural studies of spores and hypha of a *Glomus* species. International Journal of Plant Sciences, 1998, 159(4):581—589.
- [31] Bianciotto V, Lumini E, Bonfante P, *et al.* *Candidatus Glomeribacter gigasporarum*, gen. nov., sp. nov., an endosymbiont of arbuscular mycorrhizal fungi. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, 53:121—124.
- [32] Jargeat P, Cosseau C, Ola'h B, *et al.* Isolation, free-living capacities, and genome structure of “*Candidatus Glomeribacter gigasporarum*”, the endocellular bacterium of the mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. Journal of Bacteriology, 2004, 186(20):6876—6884.
- [33] Bianciotto V, Genre A, Jargeat P, *et al.* Vertical transmission of endobacteria in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* through generation of vegetative spore. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(6):3600—3608.
- [34] Levy A, Chang B J, Abbott L K, *et al.* Invasion of spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora decipiens* by *Burkholderia* spp. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(10):6250—6256.
- [35] Johansson J F, Paul L R, Finlay R D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 48:1—13.
- [36] Garbaye J. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. New Phytologist, 1994, 128:197—210.
- [37] Daniels B A, Trapp J M. Factors affecting spore germination of vesicular- arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus epigeus*. Mycologia, 1980, 72:457—471.
- [38] Barea J M, Andrade G, Bianciotto V, *et al.* Impact on arbuscular mycorrhiza formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(6):2304—2307.
- [39] Vivas A, Barea J M, Azcon R. *Brevibacillus brevis* isolated from Cadmium- or Zinc-contaminated soils improves in vitro spore germination and growth of *Glomus mosseae* under high Cd or Zn concentrations. Microbial Ecology, 2005, 49:416—424.
- [40] Vivas A, Barea J M, Biro B, *et al.* Effectiveness of autochthonous bacterium and mycorrhizal fungus on Trifolium growth, symbiotic development and soil enzymatic activities in Zn contaminated soil. Journal of Applied Microbiology, 2006, 100:587—598.
- [41] Toro M, Azcon R, Barea J M. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability(³²P) and nutrient cycling. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(11):4408—4412.
- [42] Ruiz-Lozano J M, Bonfante P. Identification of a putative P-Transporter operon in the genome of a *Burkholderia* strain living inside the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. Journal of Bacteriology, 1999, 181(13):4106—4109.
- [43] Minerdi D, Fani R, Gallo R, *et al.* Nitrogen fixation genes in an endosymbiotic *Burkholderia* strain. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(2):725—732.
- [44] Ruiz-Lozano J M, Bonfante P. A *Burkholderia* strain living inside the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses the *vacB* gene, which is involved in host cell colonization by bacteria. Microbial Ecology, 2000, 39:137—144.
- [45] Ruiz-Lozano J M, Bonfante P. Intracellular *Burkholderia* strain has no negative effect on the symbiotic efficiency of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. Plant Growth Regulation, 2001, 34:347—352.

- [46] Mamatha G, Bagyaraj D J, Jaganath S. Inoculation of field-established mulberry and papaya with arbuscular mycorrhizal fungi and a mycorrhiza helper bacterium. *Mycorrhiza*, 2002, 12:313—316.
- [47] Dewey F M, Wong Y L, Seery R, *et al.* Bacteria associated with *Stagonospora* (Septoria) *nodorum* increase pathogenicity of the fungus. *New Phytologist*, 1999, 144: 489—497.
- [48] Bianciotto V, Bonfante P. Arbuscular mycorrhiza fungi: a specialized niche for rhizospheric and endocellular bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 81:365—371.
- [49] Frey-klett P, Garbaye J. Mycorrhiza helper bacteria: a promising model for the genomic analysis of fungal-bacterial interactions. *New Phytologist*, 2005, 168:4—8.
- [50] Artursson V, Finlay R D, Jansson J K. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(1):1—10.
- [51] Peng S B, Sheng C Y. In vitro growth and sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus-*Glomus sinensis*. *Chinese Science Bulletin*, 1989, 34 (19):1508—1511.
- [52] Long W W, Wang P, Feng X M, *et al.* Interactions between *Pseudomonas fluorescens* X16L2 and arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Glomus mosseae* in the wheat rhizosphere. *Acta Pedologica Sinica*, 2000, 37(3):410—418.

参考文献:

- [3] 刘润进, 李晓林. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学出版社, 2000. 1~198.
- [51] 彭生斌, 沈崇尧. 丛枝菌根菌根真菌——中国球囊霉在离体条件下的生长和产孢. *科学通报*, 1989, 34(19):1508~1511.
- [52] 龙伟文, 王平, 冯新梅, 等. 荧光假单胞菌 *Pf. X16L2* 与丛枝状真菌 *Glomus mosseae* 在小麦根圈的相互关系. *土壤学报*, 2000, 37:410~418.