

植物与内生真菌互作的生理与分子机制研究进展

袁志林^{1,2}, 章初龙^{1,*}, 林福呈^{1,*}

(1. 浙江大学生物技术研究所, 杭州 310029; 2. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 富阳 311400)

摘要:在自然生态系统中,植物组织可作为许多微生物定居的生态位。内生真菌普遍存在于植物组织内,与宿主建立复杂的相互作用(互惠、拮抗和中性之间的相互转化),并且存在不同的传播方式(垂直和水平传播)。内生真菌通过多样化途径来增强植物体的营养生理和抗性机能。但这种生理功能的实现有赖于双方精细的调控机制,表明宿主和真菌双方都进化形成特有的分子调控机制来维持这种互惠共生关系。环境因子(如气候、土壤性质等)、宿主种类和生理状态、真菌基因型的变化都将改变互作结果。此外,菌根真菌和真菌病毒等也可能普遍参与植物-内生真菌共生体,形成三重互作体系,最终影响宿主的表型。研究试图从形态、生理和分子水平阐述内生真菌与植物互作的基础。

关键词:内生真菌;植物;互作机制

文章编号:1000-0933(2008)09-4430-10 中图分类号:Q143,Q948 文献标识码:A

Recent advances on physiological and molecular basis of fungal endophyte-plant interactions

YUAN Zhi-Lin^{1,2}, ZHANG Chu-Long^{1,*}, LIN Fu-Cheng^{1,*}

1 Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang Province, 310008, China

2 Institute of subtropical forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang, Zhejiang Province 310029, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(9): 4430 ~ 4439.

Abstract: In natural ecosystems, plants constitute suitable habitats and niches for the colonization of a diversity of microorganisms. Endophytic fungi, living in the inner of healthy plant tissues ubiquitously, exhibit complex interactions with their hosts (a continuum of mutualism, antagonism and neutralism) and different transmission modes (horizontal or vertical). Plant nutrient acquisition and stress tolerance may be strengthened by the fungal symbiont. However, a successful plant-fungal endophyte interaction requires the fine tuning of antagonistic interactions, which implies the evolution of unique self-regulating mechanisms on both sides to maintain a mutualistic interaction. Host species, fungal genotype and environmental factors such as climate and soil properties as well as the nutritional status of the plant will ultimately determine the outcome of the interaction. Additionally, ternary interactions with mycorrhizal fungi and mycoviruses may also be important components participating in the plant-endophyte association and, thus, influence the host phenotype. In this review, we attempt to outline the interactive mechanisms of plant-fungal endophyte associations on a morphological, physiological and molecular level.

Key Words: endophytic fungi; host plant; interactive mechanisms

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30600002)

收稿日期:2008-02-27; 修订日期:2008-05-23

作者简介:袁志林(1979~),男,苏州人,博士生,从事植物-共生真菌基础理论与应用研究. E-mail: zhi_lin_yuan@hotmail.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fuchenglin@zju.edu.cn; clzhang@zju.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30600002)

Received date: 2008-02-27; **Accepted date:** 2008-05-23

Biography: YUAN Zhi-Lin, Ph. D. cadidate, mainly engaged in plant-fungal endophytes interactions. E-mail: zhi_lin_yuan@hotmail.com

植物与周围环境生物的互作是一种普遍现象,其中植物-微生物的相互作用是重要形式之一。在叶围(phylosphere)和根围(rhizosphere)区域,植物体时刻与众多的有害、有益和中性微生物同生存,并产生直接或间接的接触。在长期的协同进化过程中,植物对微生物的侵染已经形成一种适应性的机制,既能够识别来自微生物的信号分子并作出相应的生理反应,包括亲和性的互作(compatible interactions)和非亲和性的互作(incompatible interactions)。植物为了适应复杂的生态环境,进化成很多形式的植物-微生物共生体系统。¹³C 同位素标记技术显示根系组织中存在相当复杂的植物-真菌、植物-细菌共生体,对提高植物抗性和促进养分吸收起重要作用^[1]。现有的一些结果表明,植物与真菌的相互关系可能更为古老,化石证据证实了早在 4 亿多年前就已经存在植物与真菌的共生体,而且这种共生关系在植物由水生演化到陆生过程中扮演了重要角色^[2]。在自然界中植物与真菌的非致病性的共生关系(nonpathogenic symbiosis)具有普遍性,而致病性的亲和互作只是个例^[3]。因此研究植物-共生真菌的相互关系有助于更好阐明真菌在自然界的生态功能。有两类共生真菌能够侵染并定植在植物组织中,其中菌根真菌(mycorrhizal fungi)只与植物根系建立互惠关系,在根部组织中能形成特定的功能性结构,如 AM 菌根中存在丛枝和泡囊、外生菌根中可形成菌套(mantle)和哈帝氏网(Hartig net)等,涉及土壤-真菌-植物根系 3 个界面;而内生真菌(endophytic fungi)普遍存在于植物的地上和地下部分,且只存在植物组织-真菌的互作界面^[4],侵染根系的内生真菌也不形成明显的结构特征。从已积累的研究结果看,内生真菌-植物共生体可能远比菌根共生体复杂。植物-内生真菌共生体是继豆科植物-根瘤共生体、菌根共生体后发现的植物与微生物共生关系的又一种表现形式,业已成为国际研究热点。但从研究历史、深度看,与病原真菌、菌根真菌比较,内生真菌的工作才处于基础探索阶段。在近 10a 中,在植物内生真菌的研究领域已经取得了很大的进步,从传统的分离培养、类群分析和分类鉴定逐渐过渡到从形态、生理和分子水平阐明互作机理。本文针对这几个方面的问题加以详细叙述和评论。

1 内生真菌定义及不同类型的生物学特性比较

有关内生真菌的定义,国际上一直存有争议,现在普遍接受的是 Petrini 提出的概念^[5],即生活史的一部分能侵染并定植在植物组织器官中,宿主无明显感染症状的一类真菌。绝大部分属于子囊菌和半知菌,担子菌和卵菌作为植物的内生菌也有报道^[6,7]。一般将内生真菌分为两个类群,即禾草内生真菌(grass endophytes or balansiaceous endophytes)和非禾草内生真菌(non-grass endophytes)。它们之间的区别见表 1^[8,38]。

表 1 禾草内生真菌和非禾草内生真菌生物学特性比较^[8,38]

Table 1 Comparison of characteristics of two groups of endophytic fungi in plants^[8,38]

禾草内生真菌 Endophytes of grass hosts	非禾草内生真菌 Endophytes of nongrass hosts
种类较少,主要是麦角菌科的子囊真菌 Few fungal species, Clavicipitaceae	绝大多数子囊菌、半知菌和和少数的卵菌、担子菌 Many species, taxonomically diverse
侵染宿主组织面积广,胞间定殖 Extensive colonization of grass leaves and sheath, intercellular	主要以局部组织的定殖侵染为主,胞内或胞间生存 Restricted colonization of plant tissues, intracellular or intercellular
与宿主是“组成性互惠关系”,对宿主的增益作用明显 “Constitutive mutualism”	与宿主是“诱导性互惠关系”,多因素影响互作结果 “Induced mutualism” or “conditional mutualism”, many factors determining the outcome of the association
系统性种子垂直传播,但 <i>Epichloë</i> 也可水平传播 Vertically transmitted via seeds	非系统性孢子水平传播,极少数可垂直传播 Horizontally transmitted via spores from plants to plants

2 内生真菌侵染宿主的形态学、生理学机制及双方各自的生理反应

与菌根真菌和病原真菌相似,内生真菌的侵染过程也经历一系列复杂过程,包括孢子与亲和性宿主的识别、活化、黏附表面基质、萌发直到侵染组织内部^[9]。在侵染早期,双方各自均释放信息素类似物并被彼此识别,由此在代谢水平上做出相应的调整。在丛枝菌根和外生菌根研究中发现,气生菌丝具有对宿主植物根系定位的能力,在真菌和根系非直接物理接触前就开始了信号的交流^[10,11]。已经证明根系分泌物中的倍半萜类、黄酮类物质充当了信号分子,促进孢子萌发^[12]。在内生真菌与宿主互作中也发现有类似现象,通过建立体外共培养技术(*in vitro* dual culture system),观察内生真菌与无菌苗(或愈伤组织)共培养时各自的生理反

应,研究表明内生真菌菌丝对宿主的某些化学物质具有趋化性(chemotaxis),且生长良好;而在非宿主组织中并无此现象,表明如果在内生真菌-宿主互作中存在明显的趋化信号,该内生真菌并非仅仅是随机性侵染体(incidental opportunists),而是在进化过程中已经形成对宿主的适应机制^[13]。

另一方面内生真菌的成功侵染也必须穿透宿主的机械屏障并克服其防御反应。现已发现内生真菌产生的胞外酶系统也相当丰富,如纤维素酶(cellulases)、漆酶(laccase)、木聚糖酶(xylanase)、蛋白质酶(protease)等^[14],在侵染初期破坏植物角质层和皮层细胞的细胞壁,利于菌丝进入组织内部。与菌根真菌相似,植物对于这类共生真菌的侵染所引发的防御反应程度较弱^[15],推测一方面内生真菌携带的低毒力因子、菌丝分泌某些糖蛋白或细胞壁组成的改变,从而削弱宿主对其强烈的识别能力^[8]。最近发现在拟南芥根部细胞内质网中存在一种 β -葡萄糖苷酶(PYK10),能限制内生真菌印度梨形孢(*Piriformospora indica*)的侵入,从而削弱宿主产生的防御反应^[16]。

植物组成型次生代谢产物如皂角苷(saponin)、精油(essential oils)等是一种进化形成的抵抗外界病原物的机制。某些病原真菌为了成功侵染产生相应的策略,分泌解毒酶(detoxification enzyme),能分解利用次生代谢产物,克服宿主的防御系统^[17,18]。内生真菌也有类似的机制,而且内生真菌对次生代谢产物的生物转化能力在一定程度也定了决定其宿主的范围^[19~21]。

侵染组织后,为了行使特定的生物学功能,互作双方在形态、生理和分子水平均发生着深刻的变化,从而建立稳定有效的共生体。由于绝大多数内生真菌在细胞间隙繁殖生存的,因此质外体空间(apoplastic space)是两者信号物质、营养交换的主要场所。对*P. indica*-大麦共生体系的生理与分子机制研究发现:菌株侵染根系后能削弱根部细胞*HvBI-1*基因的表达,*HvBI-1*基因的过表达反能限制菌丝的侵染强度。*HvBI-1*基因在真核生物中很保守,能抑制细胞程序性死亡,这表明菌丝在宿主体内的生长和繁殖需要植物组织细胞一定程度的死亡^[22],最终两者达到平衡状态。但在侵染过程中,真菌在识别新的环境(如在宿主胞外体空间存在的碳水化合物等)中所发生的一系列生物学行为和反应机制,到目前为止涉及很少。有研究者利用激光共聚焦技术观察了GFP标记的哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)菌株侵染番茄根系时菌丝形态水平的变化,结果发现共培养2d后菌丝顶端呈现酵母状的乳突型细胞,推测这种特异性的形态变化有助于双方营养的交换^[23]。在植物-病原真菌互作研究中,已经发现菌丝的程序性死亡(programmed cell death)或自噬(autophagy)对于其成功侵染组织是必需的^[24,25]。研究内生真菌不同侵染时期的基因差异表达,有助于了解其互作的关键调控因子以及分析比较不同植物-真菌相互关系的异同^[26]。

3 内生真菌改变植物生理代谢并增强宿主抗逆性的现象和机制分析

过去的研究往往只关注菌根真菌对植物个体、种群和群落结构的影响,而忽视了内生真菌的生理生态功能。自发现禾草地上部分内生真菌*Epichloë/Neotyphodium*在增强宿主生物量、抗逆方面具有独特作用,科学家普遍认为植物体进化形成不同类型的真菌共生体对其生存起着关键作用。随着研究的深入,对于水平传播内生真菌的生物学特性也逐渐涉及,尤其在探讨根系内生真菌增强宿主生理功能的机制方面尤为活跃。研究内生真菌自身的生物学特性及其对植物初级代谢和次级代谢的调节有助于我们更好地阐明植物受益的机理。

内生真菌赋予植物优良生长性状的特点与菌根真菌类似,如促进植物营养生长、光合作用增强、增加生物量(产量)并提高在逆境中的生存能力^[27~29]。担子菌*P. indica*能分泌生长素如吲哚乙酸促进植物生长^[30],内生镰刀菌通过抑制植物体内的乙烯信号途径来提高植物生长活力^[31]。内生真菌还能通过活化硝酸还原酶、分泌铁载体和磷酸酶等形式促进植物养分吸收,从而更利于植物生长(图1)^[32~36]。有些真菌还能分泌多糖类黏液物质,并在根表面形成菌膜(biofilm),协同植物抗旱^[37]。Carroll归纳总结了内生真菌互利共生的5种特性:(1)该内生真菌在特定的宿主植物中普遍存在,地理分布较广,植物不表现任何明显的病症;(2)该真菌能垂直传播或水平传播的效率很高;(3)内生真菌在整株植物组织均能生长定殖,如果只在某一器官中生长,则该组织器官感染内生真菌的强度比较高;(4)内生真菌能分泌毒性或抗生物质;(5)该内生真菌在分类单位上与病原物拮抗菌很接近^[38]。因此通过常规的菌株分离、鉴定工作,并结合上述原则,可以筛选出具有

特定生物学功能的内生真菌。从热带兰科植物根系中分离出内生真菌,其中有两个菌株 *Trichoderma chlorosporum* 和 *Clonostachys rosea*,在分类单位上均属于生防菌株,接种试验表明这些菌株能显著提高无菌苗移栽成活率和生物量。

植物育种专家通过现代分子生物学技术已经初步阐明植物体存在一些抗逆基因来参与逆境调节,但至少有很多的工作表明植物体的某些抗性特征与内生真菌的存在有关。甚至有专家预测这种内生真菌生物技术可能与传统的抗逆育种和转基因培育技术并驾齐驱^[39]。无论是垂直传播内生真菌还是水平传播内生真菌都能增强在生物(病原物)和非生物胁迫(热、盐胁迫等)中的生存能力。内生真菌协同植物适应极端环境有3种假说:①适应性生态位共生(habitat-adapted symbiosis),既一种胁迫环境下植物的内生真菌不能使另一种逆境条件下的植物受益,只能增强原胁迫环境下植物的生理功能;如耐盐植物内生真菌对热胁迫植物无生物学效应;农作物抗病内生真菌对植物耐盐无贡献等。这种植物通过共生真菌的功能来实现抗逆是一种基于基因组间的表观遗传学作用机制(intergenomic epigenetics)。②共生体调节(symbiotic modulation),植物、内生真菌双方由于受到周围微环境变化的选择压力,具有选择性地改变另一方的能力。这可能是一种跳

跃式的协同进化方式,使共生体快速适应环境胁迫。③共生体生活方式的转换(symbiotic lifestyle switching),某些所谓的“病原真菌”,如一些炭疽菌属真菌(*Colletotrichum* spp.),在一种植物中表现致病,而在另一宿主中却表现互惠共生;病原真菌的单基因突变引起其生活方式的转变,由致病性向互利共生性转化^[40~45]。但这些假说几乎都基于对现象或通过接种实验来证明,深层次的机理挖掘却很少。在非生物逆境中(如盐胁迫),受内生真菌侵染的植物能更快识别周围的逆境,而且可能通过增强植物组织脯氨酸(proline)的生物合成来消除活性氧的积累^[3]。最近有研究者发现一种根际真菌 *Paraphaeosphaeria quadrisepitata* 能分泌一种能抑制植物热激蛋白 HSP90 活力的活性物质,从而提高植物的耐热程度,是否在内生真菌-植物互作体系中也存在类似的作用机制值得深入探讨^[46]。

目前对于内生真菌的抗病机制的认识还处于起步阶段,但不外乎以下几种途径:(1)分泌抗生物质;(2)生态位竞争;(3)重寄生作用;(4)诱导植物抗性^[47,48]。如禾草内生真菌在离体(*in vitro*)或活体(*in planta*, *in vivo*)条件下均能产生一系列生物碱类物质,能有效抗虫;非禾草内生真菌增强植物抗虫能力的发现是源于对虫生真菌的(entomopathogenic fungi)生态功能的重新认识,某些感染病原虫体的真菌在植物组织中具有内生性特点,对虫体具有很强的抗性。研究最透彻的虫生真菌是 *Beauveria bassiana*,能够与玉米、棕榈、咖啡树和罂粟等共生。*B. bassiana* 能分泌多种代谢产物如 bassianin, beauvericin, bassianolide, beauveriolide 等,对病原虫体均产生毒害作用^[49]。

植物体对病原物的抗性有两种不同的机制,即系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)和诱导型系统抗病性(induced systemic resistance, ISR)。SAR 反应主要受到病原菌、生防真菌或一些化合物诱导产生,显著特征是水杨酸、茉莉酸和乙烯等物质参与,并伴有病程相关蛋白(pathogenesis-related proteins, PR)如几

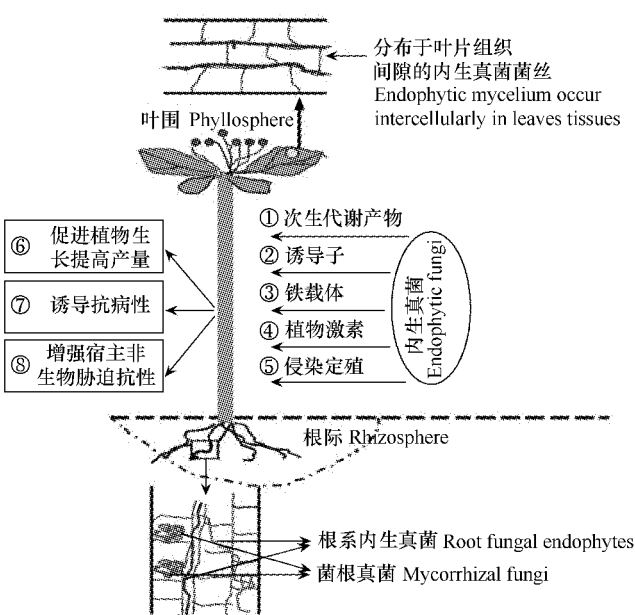


图1 植物地上和地下部分组织真菌共生体及可能的生理功能^[32~36]

Fig. 1 Fungal symbionts occurring in aboveground and belowground plant tissues and possible functions they played

① Secondary metabolites; ② Elicitors; ③ Siderophores; ④ Phytohormones; ⑤ Infection and colonization; ⑥ Promoting host growth and yield; ⑦ Induced disease resistance; ⑧ Conferring host resistance to abiotic stress^[32~36]

丁质酶、葡聚糖酶和多酚氧化酶等的积累,而 ISR 反应并没有 PR 蛋白的积累^[50]。早前人们对于植物根圈促生细菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)引起植物诱导型系统抗病性有深入的认识。近期的研究也表明内生真菌也能诱导植物体产生相似的抗性反应^[51~53],如菌丝分泌的某些小分子蛋白或代谢产物能够作为诱导子引发植物抗性^[54~56];植物组织内的谷胱甘肽-抗坏血酸代谢途径(glutathione-ascorbate pathway)被激活,从而增强了细胞抗氧化能力^[28]。但内生真菌诱导植物抗性可能有其独特性和复杂性的一面,*P. indica* 和 *Sebacina vermifera* 接种烟草的试验表明,这两种内生真菌均能有效促进植物生长,但同时伴随着对烟草天蛾(*Manduca sexta*)抗性能力的下降,结果证明了内生真菌的侵染导致植物体内一种防御蛋白活力的降低-胰蛋白酶抑制剂(trypsin proteinase inhibitors, TPI)^[57]。在镰刀属内生真菌(*Fusarium solani*)也发现类似的现象,*F. solani* 接种番茄对病原尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)的抗性是依赖乙烯合成途径的^[52],但 *S. vermifera* 促进烟草生长却是通过抑制乙烯信号转导来实现的^[31]。有趣的是,将 *P. indica* 接种大麦后却显现出多重有益效应,能同时抗病、耐盐和提高产量^[28],这项研究结果对传统的观点:“植物抗病、增产不可兼得”提出了挑战。这些有趣的现象提示:在不同基因型的植物-内生真菌互作中所产生的表型可能会发生变化,而且不同的功能性内生真菌进化程度可能存在差别,有些是潜在的病原菌,而有些则是“真正内生菌”(true endophytes)^[8]。

很多报道表明 PGPR 微生物如假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)细菌和菌根真菌对根部土传病害的病原菌都具有良好的防治效果,但对植物地上部分病原物的防治能力有一定的局限性^[28],除非这些微生物能诱导植物系统获得抗性;而内生真菌能稳定存在于植物的整个组织器官中,受到植物体本身机械组织的保护,因此对土传、气传病原物的抗性持久有效。虽然大多数内生真菌增强植物抗病性的报道还多局限于室内盆栽试验,是否在田间试验中也有类似的功效是值得关心的问题。鉴于木本植物内生真菌种群多样性,植物体的抗性反应可能得益于诸多内生真菌发挥生理功能的总和,因此考虑优势内生真菌之间的协同作用可能使植物受益更明显^[58]。

从大量的研究结果看,植物不同组织器官富含的内生真菌对植物的贡献能力也有差异,这对筛选功能性菌株具有一定的指导意义。根系和叶片组织是植物体受外界生物和非生物因子胁迫最大的部位,因此根系和叶片内生真菌对于保护植物组织免受伤害起着尤为重要的作用。归纳目前的研究结果并加以分析可以看出,内生真菌对植物各组织器官生理效应的影响能力有以下趋势:根系 > 叶片 > 茎。植物体根围区域是一个能量和物质交换异常活跃的区域,植物和土壤微生物相互影响,而且根系被认为是一个动态的“碳库(carbon sink)”,营养物质充足,是众多微生物相互竞争的部位^[8]。因此在这种复杂的环境中植物的生存策略之一就是容纳了与之互惠共生的内生真菌;而且根系内生真菌的侵染程度较地上部分要强(extensive or systemic colonization),而叶片内生真菌多以局部侵染为主(locally limited colonization)。红色不育真菌(SRF, sterile red fungus)和暗色有隔内生菌(DSEs, dark septate endophytes)是根系非菌根共生真菌的典型代表^[59,60],某些 DSEs 甚至能形成类似菌根的侵染结构,国外已经有很多综述文章对这两类真菌的生理生态功能加以评论,虽然存在相矛盾的观点,但不容置疑的是这种在植物根系普遍存在的真菌群体必然扮演着特殊的角色^[61,62],如 *Phialocephala* sp. 能降解根部老化和木栓化的细胞,从而有利于减少植物体能量的耗损^[63]。需要指出的是,某些土壤习居菌如一些木霉属(*Trichoderma* spp.)真菌、镰刀属真菌(*Fusarium* spp.),也能侵染根系皮层细胞成为无毒“机会性”内生真菌,发挥着与其作为生防菌株类似的功能^[50, 64]。可见要严格区分内生真菌和土壤真菌是有一定难度的,长期的选择进化改变了真菌的生活方式。

4 内生真菌-植物互作体系中的重要分子元件及调控机制

当前关于豆科植物菌根共生体和根瘤共生体建立过程中的信号转导研究比较透彻,揭示出植物与微生物形成共生关系具有很大的保守性。研究证实至少有 3 个植物信号元件参与其中,分别是受体样激酶(DMI2)、离子通道(DMI1)、依赖钙调蛋白的激酶(DMI3)^[65]。此外还发现其他重要功能蛋白,如植物质体蛋白和某些核孔蛋白对于真菌和细菌进入根系形成共生关系也至关重要。研究发现日本百脉根(*Lotus japonicus*)中存在两种同源的质体蛋白基因(CASTOR 和 POLLUX)和编码一种核孔蛋白的基因 NUP85,主要调节质体与胞液

之间的离子流量并激活 Ca^{2+} 信号,被认为是植物与微生物形成内共生体所必需的保守元件^[66,67]。但至今还很少报道有关内生真菌共生体中信号分子的化学本质和维持这种互惠关系的必备元件。在拟南芥突变体 Pii-2 根部细胞质膜中分离到两个富含亮氨酸重复体(LRR)的蛋白质: At1g13230 和 At5g16590。其中 At1g13230 含有一个内质网滞留信号, At5g16590 是一种非依赖磷酸化的信号转导中的受体蛋白,参与识别 *P. indica* 的侵染。这两种蛋白对于 *P. indica* 发挥生理功能至关重要^[68];但拟南芥的 DMI-1 突变体却未影响与 *P. indica* 的互惠关系,这可能说明植物体已经进化形成多种重要蛋白分子以此来响应不同的微生物类群。

与此对应的是,在内生真菌中也存在一些关键的酶基因来执行特定的功能,这是共生体双方相互适应的结果。Barry Scott 研究小组长期致力于禾草内生菌与宿主的相互关系,阐述了维持这种动态平衡的分子机制,内生真菌 *Nox* 基因可以通过调控胞间合成 ROS(活性氧)来控制菌丝在宿主中的生物量,从而建立互惠共生关系;*Nox* 的突变体菌株侵染牧草能导致植物严重感病坏死,而且菌丝在组织中生长杂乱无序^[69]。进一步的深入研究发现在 *E. festucae* 中的 *SakA* 基因编码一种 MAP 激酶,能调控 *Nox* 复合体的活性,*SakA*⁻ 突变体导致 ROS 增加^[70];此外在禾草内生真菌中还克隆到一个编码非核糖体多肽合成酶(nonribosomal peptide synthetase, NPS)的基因,该基因参与合成铁载体(siderophores),同样 NPS 基因的突变体导致不能正常合成铁载体,也导致植物的病变坏死,表明内生真菌分泌铁载体能力的缺失改变了共生体铁离子的动态平衡(iron homeostasis),引起转录水平的重调,最终导致其互惠性向拮抗性转化^[71]。

5 内生真菌对宿主表型的可塑性

绝大多数内生真菌发挥有益生理功能是在一定条件下实现的,与宿主是诱导型互惠关系。根据内生真菌起源于病原真菌这一观点, Schulz 和 Boyle 等提出了维持植物-内生真菌和谐共生的动态拮抗平衡假说(balance of antagonisms),既只有内生真菌携带的毒性因子和植物的防御反应处于相平衡状态,才能建立稳定有效的共生体,任何一方的失调就能打破这种平衡关系,导致内生真菌不能成功侵染宿主或使植物感病^[72]。诸多因素能够影响内生真菌-植物互作结果,其中宿主基因型和生理状态、真菌基因型、环境因子和土壤的营养水平是最主要的因素。如上所述, Freeman 等在 1993 就发现致病刺盘孢菌(*Collectotrichum* spp.)的一个单基因突变就能使其生活方式由致病性向互惠内共生性转变。后来证明这个单基因位点编码一种胞外丝氨酸蛋白酶。后来他们又发现,同一种病原菌,接种在不同植物产生的表型却不一样,有的致病,有的却表现互惠共生^[73]。特别是在水平传播内生真菌中,表现出了灵活的生活方式,在植物正常生理状态下呈现互惠共生(mutualism),而在宿主遭受逆境胁迫下有表现寄生性(parasitism);在当植物组织衰老死亡时,腐生(saprophytism)生活成为其主要方式^[74]。也许正是内生真菌所显现的表型可塑性(phenotypic plasticity)给研究带来了一定难度^[8]。

6 菌根真菌、内生真菌和植物三者之间的关联

以上讲述的均是单一的植物-内生真菌互作,但在自然界中,植物体却能够容纳丰富的微生物类群,因此在植物个体组织中也必然存在复杂的植物-微生物、微生物-微生物之间的相互作用。利用免培(culture independent)环境 PCR 方法,提取植株健康根系总基因组 DNA,通过真菌特异性引物扩增发现,根系中存在丰富多样的真菌集群,包括菌根真菌和内生真菌^[75,76]。所以在自然生态系统中,植物同时形成这两种共生现象应该十分普遍,研究菌根真菌、内生真菌与植物的双共生会更加真实反映植物的微生态系统^[77,78],同时探明植物是如何同时与不同的真菌建立共生体并从中找到平衡点将对实际应用有指导意义。至今仅有几篇报道涉及此研究内容,得出的结论也不尽相同。一种观点认为,内生真菌与菌根真菌对植物体表型影响具有正效应,内生真菌感染的牧草能提高丛枝菌根真菌的侵染率^[79]。另一种观点则认为,菌根真菌、内生真菌和植物三者之间的互作结果受土壤营养水平、感染内生真菌菌株类型的不同和植物种植方式(单作和混作)等因素的影响,而且一种共生真菌对另外一种真菌共生体的效应是非对称的,内生真菌的存在显著减少菌根真菌的侵染程度,而菌根真菌对内生真菌的行为却无明显影响^[80~82]。但对于内在的机制却很少探讨,推测两种真菌之间存在营养竞争或通过分泌次生代谢产物来相互抑制。

7 真菌病毒在内生真菌-植物互作过程中的可能角色

真菌病毒(mycoviruses)在自然界中普遍存在,能感染绝大多数真菌类群,且不产生明显的表型变化。在植物-病原真菌体系中,病毒侵染病原真菌能导致其致病力的下降,因此利用这种病毒诱导产生的低毒力(hypovirulence)特点来进行生物防治是一个新的思路^[83,84]。最近的研究发现真菌病毒同样能调整植物-内生真菌的共生体系。如果没有病毒(CThTV)的参与,内生真菌(*Cryphonectria protuberata*)不能增强宿主植物的热胁迫抗性^[85]。在黑麦草内生真菌*E. festucae*中也发现被一种双链RNA病毒(EtV1)感染,而且能持续稳定存在的,但对真菌的表型无明显变化^[86]。研究这种复杂的三重互惠共生体系(virus-fungus-plant interaction)的实质将是内生真菌研究领域的一个新增长点。

8 展望

植物-真菌的共生关系是一种古老的生物之间的互作形式,真菌的侵染使原始水生植物很快适应陆地营养贫瘠的土壤环境,这使我们有理由相信这种共生体很可能是其他植物-微生物相互关系的共同祖先。正如上面所述,某些豆科植物如蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)识别丛枝菌根真菌(AMF)、固氮菌所拥有的信号转导上游调控元件具有很大的保守性,其中有一个MtDMI3基因,编码一种依赖Ca²⁺的蛋白激酶(CCaMK),被认为是与微生物形成共生关系的必备元件^[87]。在非豆科植物中也同样发现了一个MtDMI3的同源物,在建立菌根共生体中发挥作用^[88]。另外,比较转录组学技术也揭示了水稻受AMF,稻瘟菌(*Magnaporthe grisea*)和病原镰刀菌(*F. moniliforme*)的侵染后,除了各自差异表达的基因外,相当一部分基因保守表达,具有很高的相似性^[89]。不论是病原菌还是有益菌,在侵染植物初期的行为特征是极为相似的。真菌在长期演化过程中,在进化上可能存在连续统一性(continuum),而且这种进化并非是静态的或单向的,可以沿着腐生菌-内生菌-菌根真菌进化;也能从菌根真菌-内生菌-腐生菌-病原菌进化^[8,90]。

随着基因组学、蛋白质组学和真菌分子生物学技术的日益成熟,除了禾草-内生真菌模式体系,应当建立起植物-水平传播内生菌研究系统,在自然界中水平传播内生菌更具普遍性。揭示并挖掘内生真菌的生理、生态功能定将丰富现代植物生理学、真菌学、微生物学和育种学等学科的内容,也必将在未来农林业可持续发展中发挥不可忽略的作用。

References:

- [1] Vandenkoornhuyse P, Mahe S, Ineson P, et al. Active root-inhabiting microbes identified by rapid incorporation of plant-derived carbon into RNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(43): 16970–16975.
- [2] Krings M, Taylor T N, Haas H, et al. Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. *New Phytologist*, 2007, 174(3): 648–657.
- [3] Rodriguez R, Redman R. Balancing the generation and elimination of reactive oxygen species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102(9): 3175–3176.
- [4] Faeth S H, Fagan W F. Fungal endophytes: common host plant symbionts but uncommon mutualists. *Integrative and Comparative Biology*, 2002, 42(2): 360–368.
- [5] Petrini O. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews J H and Hirano S S eds. *Microbial Ecology of Leaves*. New York: Springer-Verlag, 1991. 179–197.
- [6] Jacobson D J, Lefebvre S M, Ojerio, R S, et al. Persistent, systemic, asymptomatic infections of *Albugo candida*, an oomycete parasite, detected in three wild crucifer species. *Canadian Journal of Botany*, 1998, 76(5): 739–750.
- [7] Duckett J G, Russel A and Roberto L. Basidiomycetous endophytes in jungermannialean (leafy) liverworts have novel cytology and species specific host ranges: a cytological and experimental study. *Canadian Journal of Botany*, 2006, 84(7): 1075–1093.
- [8] Schulz B and Boyle C. The endophytic continuum. *Mycological Research*, 2005, 109(6): 661–686.
- [9] Toti L, Viret O, Chapela I H, et al. Differential attachment by conidia of the endophyte, *Discula umbrinella* (Berk. & Br.) Morelet, to host and non-host surfaces. *New Phytologist*, 1992, 121(3): 469–475.
- [10] Martin F, Duplessis S, Ditengou F, et al. Developmental cross talking in the ectomycorrhizal symbiosis: signals and communication genes. *New Phytologist*, 2001, 151(1): 145–154.
- [11] Harrison M J. Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Microbiology*, 2005, 59: 19–42.
- [12] Steinkellner S, Lendzemo V, Langer I, et al. Flavonoids and strigolactones in root exudates as signals in symbiotic and pathogenic plant-fungus

- interactions. *Molecules*, 2007, 12(7): 1290—1306.
- [13] Peters S, Draeger S, Aust H J, *et al.* Interactions in dual cultures of endophytic fungi with host and nonhost plant calli. *Mycologia*, 1998, 90(3): 360—367.
- [14] Petrini O, Sieber T N, Toti L, *et al.* Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins*, 1992, 1: 185—196.
- [15] Zhang N, Raftery M, Richardson K, *et al.* *Neotyphodium lolii* induces a limited host defence response by *Lolium perenne*. In: Popay A J and Thom E R eds. *Proceedings of the 6th International Symposium on Fungal Endophytes of Grasses*. New Zealand: New Zealand Grasslands Association, 2007. 199—202.
- [16] Sheramet I, Venus Y, Drezewiecki C, *et al.* PYK10, a β -glucosidase located in the endoplasmatic reticulum, is crucial for the beneficial interaction between *Arabidopsis thaliana* and the endophytic fungus *Piriformospora indica*. *The Plant Journal*, 2008, 54(3): 428—439.
- [17] Bouarab k, Melton R, Peart J, *et al.* A saponin-detoxifying enzyme mediates suppression of plant defences. *Nature*, 2002, 418(6900): 889—892.
- [18] Oka K, Okubo A, Kodama M, *et al.* Detoxification of α -tomatine by tomato pathogens *Alternaria alternata* tomato pathotype and *Corynespora cassiicola* and its role in infection. *Journal of General Plant Pathology*, 2006, 72(3): 152—158.
- [19] Amaral L S, Murgu M, Rodrigues-Fo E, *et al.* A saponin tolerant and glycoside producer xylariaceous fungus isolated from fruits of *Sapindus saponaria*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2008, 24(8): 1341—1348.
- [20] Zikmundová M, Drandarov K, Bigler L, *et al.* Biotransformation of 2-benzoxazolinone and 2-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one by endophytic fungi isolated from *Aphelandra tetragona*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(10): 4863—4870.
- [21] Knop M, Pacyna S, Voloshchuk N, *et al.* *Zea mays*: benzoxazolinone detoxification under sulfur deficiency conditions—a complex allelopathic alliance including endophytic *Fusarium verticillioides*. *Journal of Chemical Ecology*, 2007, 33(2): 225—237.
- [22] Deshmukh S, Hückelhoven R, Schäfer P, *et al.* The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(49): 18450—18457.
- [23] Chacón M R, Rodríguez-Galán O, Benítez T, *et al.* Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. *International Microbiology*, 2007, 10(1): 19—27.
- [24] Veneault-Fourrey C, Baroah M, Egan M, *et al.* Autophagic fungal cell death is necessary for infection by the rice blast fungus. *Science*, 2006, 312(5773): 580—583.
- [25] Galiana E, Rivière M, Pagnotta S, *et al.* Plant-induced cell death in the oomycete pathogen *Phytophthora parasitica*. *Cellular Microbiology*, 2005, 7(9): 1365—1378.
- [26] Bailey B A, Bae H, Strem M D, *et al.* Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four *Trichoderma* species. *Planta*, 2006, 224(6): 1449—1464.
- [27] Mucciarelli M, Scannerini S, Berteà C, *et al.* *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization. *New Phytologist*, 2003, 158(3): 579—591.
- [28] Waller F, Achatz B, Baltruschat H, *et al.* The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102(38): 13386—13391.
- [29] Obledo E N, Barragan-Barragan L B, Gutierrez-Gonzalez P, *et al.* Increased photosynthetic efficiency generated by fungal symbiosis in *Agave victoria-reginae*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2003, 74(3): 237—241.
- [30] Sirrenberg A, Göbel C, Grond S, *et al.* *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum*, 2007, 131(4): 581—589.
- [31] Barazani O, von Dahl C C, Baldwin I T. *Sebacina vermifera* promotes the growth and fitness of *Nicotiana attenuata* by inhibiting ethylene signaling. *Plant Physiology*, 2007, 144(2): 1223—1232.
- [32] Sherameti I, Shahollari B, Venus Y, *et al.* The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and *Arabidopsis* roots through a homeodomain transcription factor that binds to a conserved motif in their promoters. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(28): 26241—26247.
- [33] Gasoni L, de Gurfinkel B S. The endophyte *Cladorrhinum foecundissimum* in cotton roots; phosphorus uptake and host growth. *Mycological Research*, 1997, 101(7): 867—870.
- [34] Bartholdy B A, Berreck M, Haselwandter K. Hydroxamate siderophore synthesis by *Phialocephala fortinii*, a typical dark septate fungal root endophyte. *BioMetals*, 2001, 14(1): 33—42.
- [35] Malla R, Prasad R, Kumari R, *et al.* Phosphorus solubilizing symbiotic fungus: *Piriformospora indica*. *Endocytobiosis Cell Research*, 2004, 15(2): 579—600.
- [36] Maccheroni W Jr, Azevedo J L. Synthesis and secretion of phosphatases by endophytic isolates of *Colletotrichum musae* grown under conditions of nutritional starvation. *Journal of General Applied Microbiology*, 1998, 44(6): 381—387.
- [37] Barrow J R, Osuna P, Reyes-Vera I. Fungal genomes that influence basic physiological processes that enhance survival of black grama and fourwing

- saltbush in arid southwestern rangelands. In: Sosebee, R. E., Wester, D. Britton, C. McArthur, E. D. Comp. 2005 Shrub Dynamics: Fire and Water: Proceedings, Aug. 10-13. Lubbock, TX, 2005.
- [38] Carroll G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology*, 1988, 69(1): 2–9.
- [39] Lucero M E, Barrow J R, Osuna P, *et al.* Enhancing native grass productivity by cocultivating with endophyte-laden calli. *Rangeland Ecology and Management*, 2008, 61(1): 124–130.
- [40] Rodriguez R J, Redman R S, Henson J M. The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 2004, 9(3): 261–272.
- [41] Rodriguez R J, Redman R S, Henson J M. Symbiotic lifestyle expression by fungal endophytes and the adaptation of plants to stress: unraveling the complexities of intimacy. In: Dighton J, Oudemans P and White J F eds. *Fungal community: Its organization and role in the ecosystem*. Taylor & Francis group, 2005. 683–695.
- [42] Rodriguez R J, Henson J M, Van Volkenburgh E, *et al.* Stress tolerance in plants *via* habitat-adapted symbiosis. *International Society for Microbial Ecology*, 2008, 1–13.
- [43] Redman R S, Ranson J C and Rodriguez R J. Conversion of the pathogenic fungus *Colletotrichum magna* to a nonpathogenic, endophytic mutualist by gene disruption. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1999, 12(11): 969–975.
- [44] Freeman S and Rodriguez R J. Genetic conversion of a fungal plant pathogen to a nonpathogenic, endophytic mutualist. *Science*, 1993, 260(5104): 75–78.
- [45] Redman R S, Sheehan K B, Stout R G, *et al.* Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, 2002, 298(5598): 1581.
- [46] McLellan C A, Turbyville T J, Wijeratne E M, *et al.* A rhizosphere fungus enhances *Arabidopsis* thermotolerance through production of an HSP90 inhibitor. *Plant Physiology*, 2007, 145(1): 174–182.
- [47] Giménez C, Cabrera R, Reina M, *et al.* Fungal endophytes and their role in plant protection. *Current Organic Chemistry*, 2007, 11(8), 707–720.
- [48] Redman R S, Freeman S, Clifton D R, *et al.* Biochemical analysis of plant protection afforded by a nonpathogenic endophytic mutant of *Colletotrichum magna*. *Plant Physiology*, 1999, 119(2): 795–804.
- [49] Vega F E, Posada F, Aime M C, *et al.* Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control*, 2008, 46(1): 72–82.
- [50] Harman G E, Howe C R, Viterbo A, *et al.* *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(1): 43–56.
- [51] Arnold A E, Mejía L C, Kylo D, *et al.* Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2003, 100(26): 15649–15654.
- [52] Kavroulakis N, Ntougias S, Zervakis G I, *et al.* Role of ethylene in the protection of tomato plants against soil-borne fungal pathogens conferred by an endophytic *Fusarium solani* strain. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(14): 3853–3864.
- [53] Li C J, Gao J H, Nan Z B. Interactions of *Neotyphodium gansuense*, *Achnatherum inebrians*, and plant-pathogenic fungi. *Mycological Research*, 2007, 111(10): 1220–1227.
- [54] Waller F, Mukherjee K, Deshmukh S D, *et al.* Systemic and local modulation of plant responses by *Piriformospora indica* and related *Sebacinales* species. *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165(1): 60–70.
- [55] Madi L, Katan J. *Penicillium janczewskii* and its metabolites, applied to leaves, elicit systemic acquired resistance to stem rot caused by *Rhizoctonia solani*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1998, 53(3): 163–175.
- [56] Djonovic S, Vargas W A, Kolomiets M V, *et al.* A proteinaceous elicitor Sm1 from the beneficial fungus *Trichoderma virens* is required for induced systemic resistance in Maize. *Plant Physiology*, 2007, 145(3): 875–889.
- [57] Barazani O, Benderoth M, Groten K, *et al.* *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* increase growth performance at the expense of herbivore resistance in *Nicotiana attenuata*. *Oecologia*, 2005, 146(2): 234–243.
- [58] Arnold A E. Fungal endophytes of tropical trees: methods and potential for biological control of fungal pathogens of cocoa. *Proceedings of the Research Methodology of Biocontrol of Plant Diseases Workshop*, San Jose: CATIE, 1999.
- [59] Mandyam K, Jumpponen A. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology*, 2005, 53: 173–189.
- [60] Sivasithamparan K. Root cortex-the final frontier for the biocontrol of root-rot with fungal antagonists: a case study on a sterile red fungus. *Annual Review of Phytopathology*, 1998, 36: 439–452.
- [61] Vohnik M, Lukancic S, Bahr E, *et al.* Inoculation of *Rhododendron* cv. Belle-Heller with two strains of *Phialocephala fortinii* in two different substrates. *Folia Geobotanica*, 2003, 38(2): 191–200.
- [62] Violi H A, Menge J A, Beaver R J. *Chaetomium elatum* (Kunze: Chaetomiaceae) as a root-colonizing fungus in avocado: is it a mutualist, cheater, commensalistic associate, or pathogen? *American Journal of Botany*, 2007, 94(4): 690–700.
- [63] Addy H D, Piercey M M, Currah R S. Microfungal endophytes in roots. *Canadian Journal Botany*, 2005, 83: 1–13.
- [64] Paparu P, Dubois T, Gold C S, *et al.* Improved colonization of east african highland *Musa* tissue culture plants by endophytic *Fusarium oxysporum*.

- Journal of Crop Improvement, 2006, 16: 81–95.
- [65] Parniske M. Molecular genetics of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7(4): 414–421.
- [66] Imaizumi-Anraku H, Takeda N, Charpentier M, *et al.* Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots. *Nature*, 2005, 433(7025): 527–531.
- [67] Saito K, Yoshikawa M, Yano K, *et al.* NUCLEOPORIN85 is required for calcium spiking, fungal and bacterial symbioses, and seed production in *Lotus japonicus*. *Plant Cell*, 2007, 19(2): 610–624.
- [68] Shahollari B, Vadassery J, Varma A, *et al.* A leucine-rich repeat protein is required for growth promotion and enhanced seed production mediated by the endophytic fungus *Piriformospora indica* in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 2007, 50(1): 1–13.
- [69] Tanaka A, Christensen M J, Takemoto D, *et al.* Reactive oxygen species play a role in regulating a fungus-perennial ryegrass mutualistic interaction. *Plant Cell*, 2006, 18(4): 1052–1066.
- [70] Eaton C J, Jourdain I, Foster S J, *et al.* Functional analysis of a fungal endophyte stress-activated MAP kinase. *Current Genetics*, 2008, 53(3): 163–174.
- [71] Johnson L. Iron and siderophores in fungal host interactions. *Mycological Research*, 2008, 112(2): 170–183.
- [72] Schulz B, Rommert A K, Dammann U, *et al.* The endophyte-host interaction: a balanced antagonism? *Mycological Research*, 1999, 103(10): 1275–1283.
- [73] Redman R S, Dunigan D D, Rodriguez R J. Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader? *New Phytologist*, 2001, 151(3): 705–716.
- [74] Wang Z, Binder M, Schoch CL, *et al.* Evolution of helotialean fungi (Leotiomycetes, Pezizomycotina): a nuclear rDNA phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 41(2): 295–312.
- [75] Vandenkoornhuyse P, Baldauf SL, Leyval C, *et al.* Extensive fungal diversity in plant roots. *Science*, 2002, 295: 2051.
- [76] Porras-Alfaro A, Herrera J, Sinsabaugh RL, *et al.* A novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(9): 2805–2813.
- [77] Herre E A, Mejía L C, Kyllo D A, *et al.* Ecological implications of anti-pathogen effects of tropical fungal endophytes and mycorrhizae. *Ecology*, 2007, 88(3): 550–558.
- [78] Vicari M, Hatcher P E, Ayres P G. Combined effect of foliar and mycorrhizal endophytes on an insect herbivore. *Ecology*, 2002, 83(9): 2452–2464.
- [79] Novas M V, Cabral D and Godeas A M. Interaction between grass endophytes and mycorrhizas in *Bromus setifolius* from Patagonia, Argentina. *Symbiosis*, 2005, 40: 23–30.
- [80] Müller J. Artificial infection by endophytes affects growth and mycorrhizal colonisation of *Lolium perenne*. *Functional Plant Biology*, 2003, 30(4): 419–424.
- [81] Omacini M, Eggers T, Bonkowski M, *et al.* Leaf endophytes affect mycorrhizal status and growth of co-infected and neighbouring plants. *Functional Ecology*, 2006, 20(2): 226–232.
- [82] Mack K M, Rudgers J A. Balancing multiple mutualists: asymmetric interactions among plants, arbuscular mycorrhizal fungi, and fungal endophytes. *Oikos*, 2008, 117(2): 310–320.
- [83] Nuss D L. Hypovirulence mycoviruses at the fungal-plant interface. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(8): 632–642.
- [84] Varga J, Tóth B, Vágvolgyi C. Recent advances in mycovirus research. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2003, 50(1): 77–94.
- [85] Márquez L M, Redman R S, Rodriguez R J, *et al.* A virus in a fungus in a plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science*, 2007, 315(5811): 513–515.
- [86] Romo M, Leuchtmann A, García B, *et al.* A totivirus infecting the mutualistic fungal endophyte *Epichloë festucae*. *Virus Research*, 2007, 124(1–2): 38–43.
- [87] Lévy J, Bres C, Geurts R, *et al.* A putative Ca^{2+} and calmodulin-dependent protein kinase required for bacterial and fungal symbioses. *Science*, 2004, 303(5662): 1361–1364.
- [88] Chen C, Gao M, Liu J, *et al.* Fungal symbiosis in rice requires an ortholog of a legume common symbiosis gene encoding a Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase. *Plant Physiology*, 2007, 145(4): 1619–1628.
- [89] Güimil S, Chang HS, Zhu T, *et al.* Comparative transcriptomics of rice reveals an ancient pattern of response to microbial colonization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102(22): 8066–8070.
- [90] Hibbett D S, Gilbert L B, Donoghue M J. Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature*, 2000, 407(6803): 506–508.