

研究报告

镉对一株深色有隔内生真菌生长、矿质营养与草酸分泌的影响

王康杨¹, 吴炯¹, 何永美¹, 湛方栋^{*1}, 李涛², 赵之伟²

1 云南农业大学资源与环境学院, 云南 昆明 650201

2 云南大学省部共建云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 云南 昆明 650091

王康杨, 吴炯, 何永美, 湛方栋, 李涛, 赵之伟. 镉对一株深色有隔内生真菌生长、矿质营养与草酸分泌的影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(9): 3581-3590

Wang Kangyang, Wu Jiong, He Yongmei, Zhan Fangdong, Li Tao, Zhao Zhiwei. Effects of cadmium on the growth, mineral nutrition and oxalic acid secretion of a dark septate endophyte[J]. Microbiology China, 2022, 49(9): 3581-3590

摘要:【背景】深色有隔内生真菌(dark septate endophyte, DSE)广泛定殖于镉(Cd)污染生境的植物根系, 具有增强植物镉耐性的重要生态功能, 但人们关于 DSE 对镉胁迫的生理响应的了解有限。

【目的】研究一株 DSE 嗜鱼外瓶霉(*Exophiala pisciphila*)对镉胁迫的矿质营养与低分子量有机酸分泌的响应。【方法】采用液体培养法, 研究不同浓度(0、25、50、100、200、400 mg/L)镉胁迫对 DSE 菌丝生长、矿质元素(氮、磷、钾、硫、镁、铁、钙)与镉含量、草酸分泌的影响。【结果】随着镉胁迫浓度增加, 菌丝生物量显著下降, 降幅为 22.8%–90.6%, 菌丝的氮、钾和铁含量分别减少 26.0%–52.8%、53.8%–92.9%和 12.8%–34.3%, 而磷、镁和钙含量分别增加 15.4%–111.4%、20.4%–31.4%和 35.1%–62.5%, 硫含量在 100 mg/L 镉胁迫时增加 25.1%。镉胁迫还导致培养液 pH 值下降, 草酸浓度及单位菌丝草酸分泌量显著增加。相关分析发现, 菌丝镉含量与硫呈显著负相关($P<0.05$), 与菌丝钾含量呈极显著负相关($P<0.01$), 与草酸分泌量呈极显著正相关($P<0.01$)。

【结论】镉胁迫显著抑制 DSE 的生长, 改变矿质元素的吸收, 促进草酸分泌。

关键词: 深色有隔内生真菌; 生物量; 矿质元素; 草酸; 镉耐性

基金项目: 国家自然科学基金(41877130); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才培养项目(2018HB043)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (41877130); Young and Middle-Aged Academic and Technology Leader Reserve Talents Training Project of Yunnan Province (2018HB043)

*Corresponding author: E-mail: zfd97@ynau.edu.cn

Received: 2022-01-27; Accepted: 2022-04-23; Published online: 2022-05-25

Effects of cadmium on the growth, mineral nutrition and oxalic acid secretion of a dark septate endophyte

WANG Kangyang¹, WU Jiong¹, HE Yongmei¹, ZHAN Fangdong^{*1}, LI Tao², ZHAO Zhiwei²

1 College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan, China

2 State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan, China

Abstract: [Background] Dark septate endophyte (DSE) widely colonize plant roots in cadmium-contaminated habitats, and can enhance host plants' uptake of mineral nutrients and cadmium tolerance. [Objective] The response of DSE *Exophiala pisciphila* to mineral nutrient and low molecular weight organic acid secretion was studied. [Methods] Liquid culture method was used to explore the effects of different concentrations (0, 25, 50, 100, 200, 400 mg/L) of cadmium on DSE mycelial growth, mineral elements (nitrogen, phosphorus, potassium, sulfur, magnesium, iron, calcium) and cadmium content and oxalic acid secretion. [Results] With the increase of cadmium concentration, the mycelium biomass dropped by 22.8%–90.6%, and the content of nitrogen, potassium and iron in mycelia decreased by 26.0%–52.8%, 53.8%–92.9% and 12.8%–34.3%, respectively. The phosphorus, magnesium and calcium content increased by 15.4%–111.4%, 20.4%–31.4% and 35.1%–62.5%, respectively, and the sulfur content increased by 25.1% under 100 mg/L cadmium. Cadmium stress also caused a decrease in the pH value of the culture medium, and the oxalic acid concentration and the oxalic acid secretion per unit mycelium elevated remarkably. Correlation analysis showed that the cadmium content in mycelia was negatively correlated with that of sulfur and potassium ($P<0.05$, $P<0.01$), while positively correlated with oxalic acid secretion ($P<0.01$). [Conclusion] Cadmium stress can significantly inhibit the growth of DSE, change its absorption of mineral elements, and promote the secretion of oxalic acid.

Keywords: dark septate endophytes (DSE); biomass; mineral nutrients; oxalic acid; cadmium tolerance

随着露天金属矿区的过度开采, 土壤重金属污染问题已然成为全世界亟待解决的环境问题之一^[1]。镉(Cd)是毒性最强的重金属之一, 影响生物体的生长发育^[2]。国内外研究发现, 深色有隔内生真菌(dark septate endophytes, DSE)具有较强的镉耐性, 通常是指定殖于植物根内, 在根细胞间隙和细胞内形成颜色较深、有横隔的菌丝及微菌核结构的内生真菌^[3]。DSE 广泛分布于全球所有的生态系统中, 特别是在重金属严重污染的生态环境中, 植物普遍定殖着 DSE^[4]。定殖于植物根系的 DSE, 会通过改善

宿主植物矿质营养、根系低分子量有机酸的分泌等作用, 提高植物对重金属的耐性, 具有重要的生态功能^[5]。然而, 人们有关 DSE 自身对重金属胁迫生理响应的了解有限。

重金属胁迫条件下, 真菌自身的矿质元素和低分子量有机酸分泌作用^[6], 在适应重金属胁迫中起着重要作用。其中, 重金属离子与矿质元素之间的协同或拮抗作用会影响生物体矿质元素的吸收^[7-9]。例如, Cu 胁迫下导致 4 种外生真菌菌丝氮积累显著下降^[10]。重金属胁迫还影响真菌菌丝胞外低分子量有机酸的分泌。低分

子量有机酸(low molecular weight organic acid, LMWOA)是含有一个或多个羧基的化合物, 易与金属发生络合或螯合作用^[11], 从而改变重金属的生物利用度, 对于真菌耐受重金属具有重要作用^[12-13]。例如, 浓度为 0–160 mg/L 的镉胁迫会促进津田弯孢(*Curvularia tsudae*) C12 真菌菌丝分泌柠檬酸、苹果酸、乙酸和琥珀酸, 而且随着镉浓度的增加, 促进作用越明显^[14]。

然而, DSE 对镉胁迫的矿质营养与低分子有机酸分泌如何响应尚不清楚。因此, 本研究采用从云南会泽铅锌矿区分离的 DSE 菌株嗜鱼外瓶霉(*Exophiala pisciphila*) ACCC 32496 为供试材料开展液体培养试验, 研究不同浓度镉胁迫对嗜鱼外瓶霉菌丝生长、草酸分泌与矿质元素(氮、磷、钾、硫、镁、铁、钙)的影响, 明确矿质元素与草酸对该菌株镉耐性的影响, 以期今后研究真菌草酸、矿质元素与重金属相互作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

DSE 真菌嗜鱼外瓶霉(*Exophiala pisciphila* ACCC 32496)从云南会泽铅锌矿区自然生长的密序野古草 [*Arundinella bengalensis* (Spreng.) Druce] 根上分离得到, 现保存于中国农业微生物菌种保藏管理中心(菌株编号为 ACCC 32496)。实验中, 菌种采用 PDA 培养基 4 °C 保存, 每 2 个月转接菌种。

1.2 实验设计

将 100 mL 的 MMN 培养基^[15]分装入 250 mL 的三角瓶, 设置 6 个镉浓度水平(100 mL 的 MMN 培养基分别加入 0、0.25、0.50、1.00、2.00 和 4.00 mL 的 10.00 mg/mL 的 Cd^{2+} 母液($CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$), 使培养液 Cd^{2+} 浓度为 0、25、50、100、200 和 400 mg/L, 每个镉浓度水平设置 4 个生物学重

复。121 °C 灭菌 30 min 后, 分别在 MMN 培养基中接入一片直径为 6 mm 的 DSE 菌块, 再转入 28 °C、120 r/min 恒温摇床连续培养 7 d。

1.3 指标测定

将 1.2 节培养 7 d 后的培养液抽滤去除, 得到菌丝鲜样, 于 70–75 °C 烘干 48 h, 得到菌丝干重。参照《土壤农化分析》的方法^[16], 称取 0.2 g 烘干的菌丝, 采用 $H_2SO_4-H_2O_2$ 消解菌丝, 所得到的菌丝消解液过滤后, 用蒸馏水定容于 50 mL 容量瓶, 分别采用凯氏法测定消解液氮浓度、钼锑抗比色法测定磷浓度, 并使用火焰光度计法测定钾浓度, 进而计算氮、磷和钾含量。

称取 0.2 g 烘干的菌丝, 采用 HNO_3-HClO_4 消解菌丝, 所得到的菌丝消解液用定性滤纸过滤后, 用蒸馏水定容于 50 mL 容量瓶, 采用火焰原子吸收法测定消解液钙、镁和铁的浓度, 硫酸钡比浊法测定消解液硫的浓度, 进而计算菌丝钙、镁、铁和硫的含量。

称取 0.2 g 烘干的菌丝体放入 250 mL 的三角瓶中, 加入 7 mL 的浓 HNO_3 , 盖上漏斗, 放在电热板上加热消解样品, 消解后期加入 1–2 mL 高氯酸, 消解到冒白烟, 消解液呈白色或淡黄色为止, 所得消解液过滤后, 用蒸馏水定容于 50 mL 容量瓶, 采用火焰原子吸收光度法测定 Cd 浓度。

参照《化验工作实用手册》的方法^[17], 在浓度为 0–400 mg/L 镉的 MMN 培养基中, 加入溴麝香草酚蓝指示液, 调节 MMN 固体培养基 pH 值, 使培养基呈蓝色。接种直径为 6 mm 的菌株菌块, 28 °C 倒置培养, 观察菌落周边培养基颜色的变化。液体培养 7 d 后, 采用电位计法测定培养液 pH 值。

将菌丝 4 °C、1 000 r/min 离心 10 min 过滤, 取 5 mL 过滤液用蒸馏水定容于 50 mL 容量瓶

中, 经过 0.25 μm 微孔过滤膜后立即测定。LMWOA 含量采用高效液相色谱仪测定, 测定条件为十八烷基硅烷键合硅胶(octadecylsilyl, ODS)反相柱, 进样量为 20 μL , 流动相用重蒸水配制的 3% $\text{CH}_3\text{OH}-\text{KH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液, pH 值为 2.8 (采用 H_3PO_4 调配), 流速为 0.8 mL/min , 在外检测波长为 214 nm。测定的标准酸为: 乙酸、草酸、柠檬酸、丁二酸、酒石酸和苹果酸。有机酸的测定采用外标法, 含量计算采用峰面积法。

1.4 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 软件计算平均值及标准差, 所有数据均采用 SPSS 22.0 作差异性检验分析和 Student-Newman-Keuls (SNK) 检验法检验数据在 0.05 水平上的显著性, 菌丝 Cd 含量与草酸分泌量和菌丝硫和钾含量数据以皮尔逊法(Pearson)进行数据相关性分析($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 并采用 Origin 9.1 进行数据绘图。

2 结果与分析

2.1 镉胁迫对 DSE 菌丝生长的影响

培养液中镉浓度显著影响嗜鱼外瓶霉菌丝生物量($P < 0.05$)。0、25、50、100、200、400 mg/L 镉胁迫下, 菌丝生物量分别为 0.30、0.27、0.23、0.15、0.11 和 0.02 g。与对照相比, 50、100、200 和 400 mg/L 镉胁迫导致菌丝生物量显著下降 22.8%、49.7%、64.1%和 90.6% (图 1)。

2.2 镉胁迫对 DSE 菌丝矿质养分与 Cd 含量的影响

如表 1 所示, 培养液中镉浓度显著影响嗜鱼外瓶霉菌丝氮、钾和磷含量($P < 0.05$)。随着培养液中镉浓度的增加, 菌丝氮和钾含量均显著下降, 菌丝氮和钾含量分别下降了 26.0%–52.8%和 53.8%–92.9%; 但 25 mg/L 镉胁迫导致菌丝磷含量显著增加, 增幅为 114.0%。

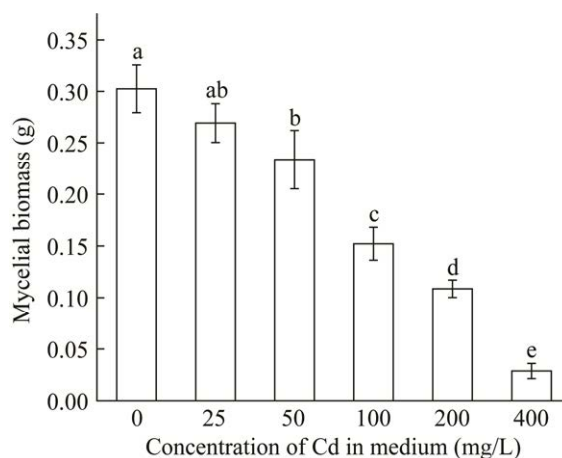


图 1 培养液不同镉浓度对嗜鱼外瓶霉菌丝生物量的影响 图中数据为 4 次重复的平均值 \pm 标准差, 不同小写字母表示处理与对照间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Figure 1 Effect of different cadmium concentrations in culture medium on mycelial biomass in *Exophiala pinisciphila* mycelium. The data in the figures is the mean \pm standard deviation of 4 replicates, with different lowercase letters indicating significant differences between the treatment and the control ($P < 0.05$). The same below.

表 1 不同浓度镉胁迫嗜鱼外瓶霉菌丝氮、磷和钾的含量

Table 1 Nitrogen, phosphorus and potassium content in mycelium of *Exophiala pinisciphila* under cadmium stress at different concentration

Cd 浓度	N 含量	P 含量	K 含量
Cd concentration	Content of N (mg/g)	Content of P (mg/g)	Content of K (mg/g)
(mg/L)			
0	28.70 \pm 1.85a	5.47 \pm 1.36b	12.00 \pm 2.13a
25	21.23 \pm 3.06b	11.55 \pm 0.46a	5.54 \pm 1.52b
50	15.63 \pm 4.13b	7.49 \pm 1.49b	3.10 \pm 0.32bc
100	16.10 \pm 0.40b	6.31 \pm 0.82b	1.64 \pm 0.88c
200	18.67 \pm 1.23b	7.21 \pm 0.67b	1.16 \pm 0.36c
400	13.53 \pm 1.63b	8.71 \pm 1.43ab	0.85 \pm 0.06c

注: 同一列中的不同小写字母表示处理组和对照组之间存在显著差异 ($P < 0.05$) 或极显著差异 ($P < 0.01$)。下同

Note: Different lowercase letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$) or an extremely significant difference ($P < 0.01$) between treatment and control. The same below.

如表 2 所示, 培养液中镉浓度显著影响嗜鱼外瓶霉菌丝硫、镁、钙和铁含量($P<0.05$)。其中, 随着培养液镉浓度的增加, 菌丝硫含量呈先增加后降低的趋势。浓度为 100 mg/L 的镉胁迫下, 菌丝硫含量显著增加 25.1%; 而浓度为 400 mg/L 镉胁迫下, 菌丝硫含量显著下降 26.1%; 与对照相比, 浓度为 50、100、200、400 mg/L 镉胁迫下, 菌丝镁和钙含量均显著增加, 分别增加了 20.4%、31.4%、23.8%、21.0% 和 55.9%、43.6%、35.1%、62.5%; 浓度为 50、100、200、400 mg/L 镉胁迫下, 菌丝铁含量显著下降, 降幅为 24.9%–34.3%。

如图 2 所示, 25、50、100、200 和 400 mg/L 镉胁迫下, 液体培养 7 d 嗜鱼外瓶霉菌丝中镉含量分别为 3.25、6.04、17.18、38.12 和 51.43 mg/g。

2.3 镉对嗜鱼外瓶霉菌丝产酸的影响

如图 3 所示, 采用酸碱指示剂指示平板培养基上嗜鱼外瓶霉生长过程中菌丝产酸的情况, 研究发现, 浓度为 400 mg/L 镉胁迫下, 嗜鱼外瓶霉菌落周围培养基由原先的蓝色转变为明显的黄色。由此可见, 镉胁迫条件下嗜鱼外瓶霉菌丝有明显的产酸行为。

如图 4 所示, 培养液中镉浓度显著影响嗜鱼外瓶霉菌丝培养液 pH 值($P<0.05$)。与对照相比, 50、100、200 和 400 mg/L 镉胁迫下, 菌丝

培养液 pH 值均显著下降, 降幅为 7.3%–24.7%。

由图 5 可知, 与对照相比, 浓度为 50、100、200 和 400 mg/L 镉胁迫下, 嗜鱼外瓶霉菌丝培养液草酸浓度显著增加 25.0%–62.5%; 菌丝草酸分泌量也显著增加。其中, 浓度为 400 mg/L 镉胁迫下, 菌丝草酸分泌量达到最大值 34.93 mg/g。

2.4 相关性分析

由相关性分析可得, 菌丝 Cd 含量与草酸分泌量呈极显著正相关($r=0.844$, $P<0.01$), 与菌丝硫含量呈显著负相关($r=-0.611$, $P<0.05$), 与菌丝钾含量呈极显著负相关($r=-0.692$, $P<0.01$)。

3 讨论与结论

微生物对矿质元素的吸收利用受各种因素的影响^[18], 这可能与生物体内离子通道和矿质元素之间的相互作用有关^[19]。矿质元素会影响细胞结构组分、物质营养代谢及相关物质的合成, 促进细胞形成更多能与重金属发生络合的活性基团, 缓解重金属对机体的伤害^[20-21]。一方面, 重金属胁迫导致真菌菌丝矿质元素含量变化。研究表明, 铝胁迫下, 5 种外生菌根真菌菌丝的钾含量显著增加, 而且高浓度铝胁迫会增加这 5 种外生菌根真菌菌丝内磷含量^[6]。过量汞胁迫导致外生菌根真菌(*Pisolithus tinctorius*) 715 菌丝钾含量下降, 而且随着汞浓度增加菌丝

表 2 不同浓度镉胁迫嗜鱼外瓶霉菌丝硫、镁、铁和钙的含量

Table 2 Sulfur, magnesium, iron and calcium content in mycelium of *Exophiala pinscipihila* under cadmium stress at different concentration

Cd 浓度	S 含量	Mg 含量	Fe 含量	Ca 含量
Cd concentration (mg/L)	Content of S (mg/g)	Content of Mg (mg/g)	Content of Fe (mg/g)	Content of Ca (mg/g)
0	4.45±0.29b	1.23±0.09b	1.04±0.03a	0.46±0.03c
25	4.69±0.34ab	1.22±0.04b	0.90±0.15ab	0.54±0.02bc
50	5.08±0.25ab	1.49±0.00a	0.68±0.02b	0.72±0.06a
100	5.57±0.30a	1.62±0.05a	0.76±0.02b	0.66±0.03ab
200	4.18±0.50bc	1.52±0.04a	0.74±0.03b	0.62±0.04ab
400	3.29±0.33c	1.49±0.15a	0.78±0.08b	0.75±0.08a

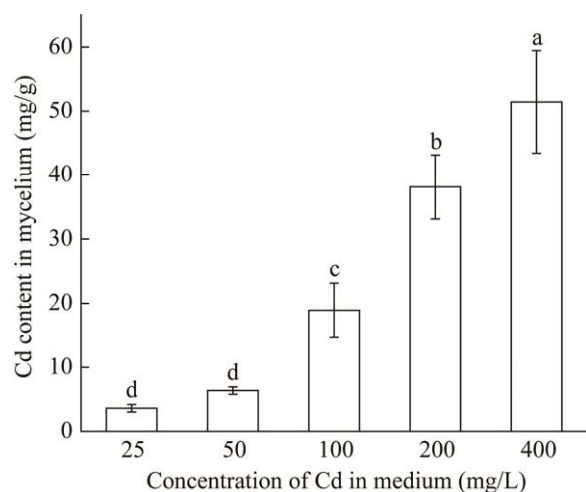


图 2 培养液不同镉浓度对嗜鱼外瓶霉菌丝中镉含量的影响

Figure 2 Effect of different cadmium concentrations in culture medium on cadmium content in *Exophiala pinscipihila* mycelium.

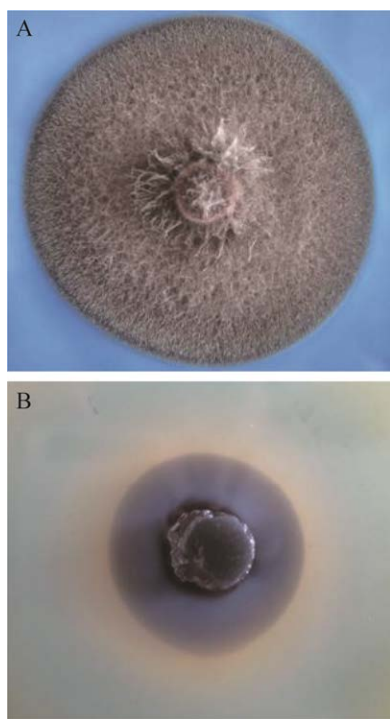


图 3 嗜鱼外瓶霉菌丝产酸情况 A: 无镉胁迫; B: 400 mg/L 镉胁迫

Figure 3 Acid produced by mycelium of *Exophiala pinscipihila*. A: No cadmium stress; B: 400 mg/L cadmium stress.

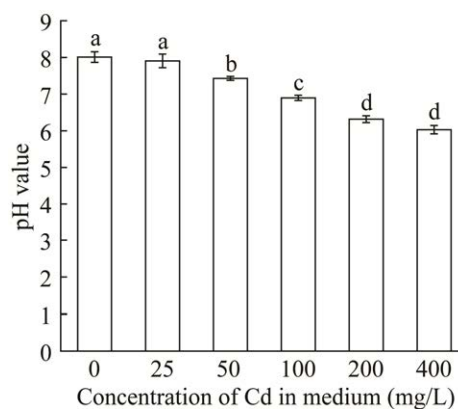


图 4 培养液不同镉浓度对嗜鱼外瓶霉菌丝培养液 pH 值的影响

Figure 4 Effects of cadmium stress on pH value of fluid medium culturing *Exophiala pinscipihila*.

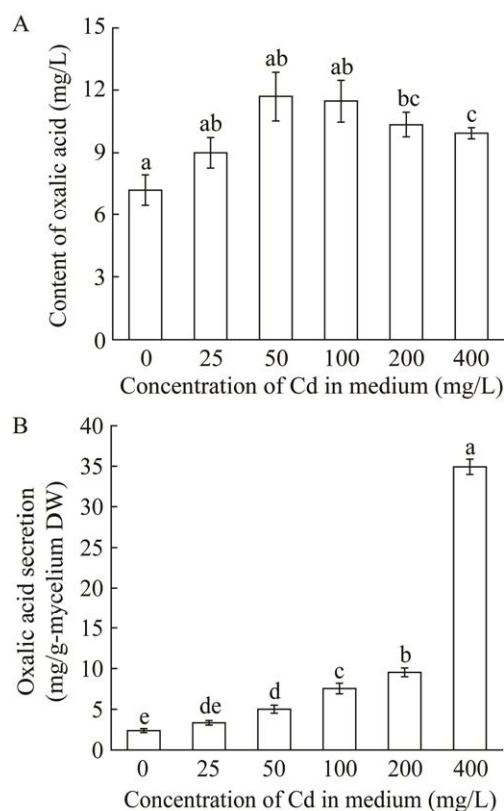


图 5 培养液不同镉浓度对嗜鱼外瓶霉菌丝草酸含量(A)和草酸分泌量(B)的影响

Figure 5 Effect of different cadmium concentrations in culture medium on oxalic acid content (A) and oxalic acid secretion (B) in *Exophiala pinscipihila* mycelium.

钾含量显著降低^[22]。随着镉浓度的增加, 姬松茸菌丝中钙和磷含量不断下降^[23]。另一方面, 矿质元素的施加可以缓解重金属对真菌的毒害作用^[24]。例如镉胁迫下, 外源添加适当的硫或氮会促进嗜鱼外瓶霉菌丝矿质元素的吸收, 缓解镉胁迫^[25-26]。

本实验中, 镉胁迫导致嗜鱼外瓶霉菌丝磷、镁含量增加, 这可能是因为磷、镁通过竞争性吸收机制及形成多聚磷酸盐、中磷酸盐等方式结合固定重金属, 降低重金属有效浓度, 减少金属离子的吸收^[27-28]。镉处理条件下, 菌丝硫含量增加, 其原因可能是因为大量硫进入细胞后, 低分子量硫醇(例如谷胱甘肽和半胱氨酸谷胱甘肽)改变机体的重金属耐受性, 从而减轻重金属的毒性^[29-30]。镉与钙存在交互作用, 菌丝钙含量随着镉浓度的增加而增加, 这可能是镉使聚磷酸盐含量增加, 聚磷酸盐易与钙离子结合, 从而使菌丝钙的含量增加^[31]。镉胁迫导致菌丝铁含量下降, 可能是镉能与铜和铁等二价阳离子发生置换反应, 从而降低游离金属离子的浓度, 减少镉的摄取^[32]。镉胁迫导致菌丝氮和钾含量下降, 其原因可能是氮和钾是微生物生长发育的必需元素之一, 镉抑制菌丝对氮和钾的吸收, 抑制真菌生长发育, 减少真菌与镉的接触表面积, 从而减少镉的吸收^[26]。

综上所述, 真菌菌丝矿质元素含量的改变可能是真菌降低或消除重金属胁迫的原因之一, 其作用机理可能是通过改变真菌菌丝聚磷酸盐含量、细胞膜透性和转运能力等方式来实现的。

真菌的重金属耐性与其菌丝分泌的低分子量有机酸的螯合作用有很大的关联^[33], 其螯合作用分为胞内螯合与胞外螯合。胞内螯合是指细胞内有机酸能与重金属结合, 形成重金属结晶或沉淀, 降低金属离子的活性, 从而减轻或

解除重金属毒害作用^[34-35]。胞外螯合是指真菌分泌的低分子量有机酸能结合过量的重金属元素, 降低重金属的可移动性^[36]。研究发现, 铅和铬胁迫下, 平菇(*Pleurotus ostreatus*)产生的草酸与重金属螯合, 从而降低可溶性重金属进入菌体的可能性^[37]。铝、砷、镉、铬、镍、铅胁迫下, 4株外生菌根真菌菌丝的甲酸、苹果酸和琥珀酸分泌显著增加, 并且低分子量有机酸的分泌量与真菌重金属的累积能力呈显著正相关^[38]。其中草酸是参与重金属的吸收、运输、累积和解毒等过程中常见的金属配体^[12], 能与重金属发生螯合作用, 减少或消除其生态毒性。

本实验研究了嗜鱼外瓶霉菌丝生长、草酸与矿质元素含量对镉胁迫的响应情况, 结果表明镉胁迫会抑制菌丝生长, 同时会显著增加矿质元素的含量和草酸分泌量, 从而缓解镉的胁迫。

培养基中的镉浓度与菌丝分泌的草酸含量显著相关, 随着镉浓度的增加, 菌丝分泌的草酸量也显著增加。其原因可能是由于草酸与镉的螯合作用将其转变为草酸镉结晶体, 使培养基中有机结合态的镉增加, 降低其游离态镉浓度^[39], 从而降低镉的生物有效性。另一方面, 可能是草酸与细胞膜中极性基团的交互作用改变了细胞膜的渗透性, 提高了跨膜运输量, 从而提高了细胞对重金属的吸附作用^[40-41], 缓解了镉毒性。

REFERENCES

- [1] 肖青青, 王宏镛, 赵宾, 叶志鸿. 云南个旧市郊农作物重金属污染现状及健康风险[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(2): 271-281
Xiao QQ, Wang HB, Zhao B, Ye ZH. Heavy metal pollution in crops growing in suburb of Gejiu City, Yunnan province, China: present situation and health risk[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(2): 271-281 (in Chinese)

- [2] Zhao DK, Li T, Shen M, Wang JL, Zhao ZW. 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
- [3] 赵之伟, 李涛. 重金属矿区深色有隔内生真菌资源及其生态学功能[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(7): 921-926
Zhao ZW, Li T. Dark septate endophytes and their ecological function in metal mining areas[J]. Scientia Sinica: Vitae, 2019, 49(7): 921-926 (in Chinese)
- [4] 代梦雪, 张光群, 范旭杪, 李博, 湛方栋, 何永美. 胁迫生境深色有隔内生真菌生态分布与功能研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(3): 722-729
Dai MX, Zhang GQ, Fan XM, Li B, Zhan FD, He YM. Research progress regarding the ecological distribution and function of dark septate endophytes in stressful environments[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(3): 722-729 (in Chinese)
- [5] 滕秋梅, 张中峰, 徐广平, 周龙武, 黄玉清, 曹彦强. 深色有隔内生真菌对镉胁迫下芦竹生长、光合和矿质营养的影响[J]. 生态学杂志, 2021, 40(6): 1723-1733
Teng QM, Zhang ZF, Xu GP, Zhou LW, Huang YQ, Cao YQ. Effects of dark septate endophyte on the growth, photosynthesis and mineral nutrition of *Arundo donax* under cadmium stress[J]. Chinese Journal of Ecology, 2021, 40(6): 1723-1733 (in Chinese)
- [6] 辜夕容, 黄建国. 铝对外生菌根真菌草酸分泌及磷、钾、铝吸收的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(2): 357-363
Gu XR, Huang JG. Effect of aluminum on growth, oxalate exudation, and uptake of aluminum, phosphorus and potassium by ectomycorrhizal fungi *in vitro*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(2): 357-363 (in Chinese)
- [7] Asea PEA, Kucey RMN, Stewart JWB. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1988, 20(4): 459-464
- [8] 黄益宗. 镉与磷、锌、铁、钙等元素的交互作用及其生态学效应[J]. 生态学杂志, 2004, 23(2): 92-97
Huang YZ. Interactions between cadmium and phosphorus, zinc, iron, calcium and their ecological effects[J]. Chinese Journal of Ecology, 2004, 23(2): 92-97 (in Chinese)
- [9] Brzóska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. Interactions between cadmium and zinc in the organism[J]. Food and Chemical Toxicology, 2001, 39(10): 967-980
- [10] 黄艺, 陶澍, 姜学艳, 刘晓蓉. 过量铜对 4 种外生菌根真菌的生长、碳氮和铜积累的影响[J]. 微生物学报, 2002, 42(6): 737-744
Huang Y, Tao S, Jiang XY, Liu XR. Influence of excessive copper on growth and accumulation of carbon and nitrogen in mycelia of four kinds of ectomycorrhizal fungi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2002, 42(6): 737-744 (in Chinese)
- [11] 陈燊, 洪涌, 何小三, 韩永明, 彭军, 朱静静, 肖清铁, 郑新宇, 林瑞余. 镉胁迫下紫苏低分子量有机酸及镉含量变化[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2018, 47(5): 593-599
Chen S, Hong Y, He XS, Han YM, Peng J, Zhu JJ, Xiao QT, Zheng XY, Lin RY. Changes of low molecular weight organic acids and cadmium in *Perilla frutescens* under cadmium stress[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2018, 47(5): 593-599 (in Chinese)
- [12] Najafi S, Jalali M. Effects of organic acids on cadmium and copper sorption and desorption by two calcareous soils[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2015, 187(9): 1-10
- [13] Montiel-Rozas MM, Madejón E, Madejón P. Effect of heavy metals and organic matter on root exudates (low molecular weight organic acids) of herbaceous species: an assessment in sand and soil conditions under different levels of contamination[J]. Environmental Pollution, 2016, 216: 273-281
- [14] 楚文卉, 谢清哲, 杨超, 冯欢, 褚洪龙, 豆青, 王海华, 王春燕. 1 株镉耐受真菌 C12 的鉴定及其镉耐受性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2017, 45(9): 71-80
Chu WH, Xie QZ, Yang C, Feng H, Chu HL, Dou Q, Wang HH, Wang CY. The identification and study on Cd tolerance of C12, a fungus which shows high tolerance to Cd[J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2017, 45(9): 71-80 (in Chinese)
- [15] 湛方栋, 何永美, 陈建军, 王吉秀. 微波消解-火焰原子吸收光谱法测定真菌菌丝 Cd 含量[J]. 分析试验室, 2010, 29(S1): 215-218
Zhan FD, He YM, Chen JJ, Wang JX. Determination of Cd content in fungal mycelia by microwave digestion and flame atomic absorption spectrometry[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2010, 29(S1): 215-218 (in Chinese)
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000

- Bao SD. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd ed. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [17] 张铁垣. 化验工作实用手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003
- Zhang TY. Practical Manual for Laboratory Work[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003 (in Chinese)
- [18] Fellbaum CR, Gachomo EW, Beesetty Y, Choudhari S, Strahan GD, Pfeiffer PE, Kiers ET, Bücking H. Carbon availability triggers fungal nitrogen uptake and transport in arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. PNAS, 2012, 109(7): 2666-2671
- [19] Thirkell TJ, Cameron DD, Hodge A. Resolving the 'nitrogen paradox' of arbuscular mycorrhizas: fertilization with organic matter brings considerable benefits for plant nutrition and growth[J]. Plant, Cell & Environment, 2016, 39(8): 1683-1690
- [20] Sasaki T, Araki R, Michihata T, Kozawa M, Tokuda K, Koyanagi T, Enomoto T. Removal of cadmium from fish sauce using chelate resin[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 375-381
- [21] 邓新, 温璐璐, 迟鑫姝. 镉对人体健康危害及防治研究进展[J]. 中国医疗前沿, 2010, 5(10): 4-5
- Deng X, Wen LL, Chi XS. Cadmium hazards to human health and the prevention and treatment research new[J]. National Medical Frontiers of China, 2010, 5(10): 4-5 (in Chinese)
- [22] 高翔, 黄建国. 重金属汞对外生菌根真菌钾吸收的影响[J]. 贵州农业科学, 2008, 36(2): 91-92, 96
- Gao X, Huang JG. Effects of different mercury stress on potassium absorption and biomass of ectomycorrhizal fungi[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2008, 36(2): 91-92, 96 (in Chinese)
- [23] 李三暑, 雷锦桂, 陈惠成. 镉、磷、钙在姬松茸细胞内的积累和分布特征及其交互作用[J]. 食用菌学报, 2001, 8(4): 24-27
- Li SS, Lei JG, Chen HC. Accumulation and distribution of cadmium, phosphorus and calcium and their interaction in *Agaricus blazei* cells[J]. Acta Edulis Fungi, 2001, 8(4): 24-27 (in Chinese)
- [24] 安志装, 王校常, 施卫明, 严蔚东, 曹志洪. 重金属与营养元素交互作用的植物生理效应[J]. 土壤与环境, 2002, 11(4): 392-396
- An ZZ, Wang XC, Shi WM, Yan WD, Cao ZH. Plant physiological responses to the interactions between heavy metal and nutrients[J]. Soil and Environmental Sciences, 2002, 11(4): 392-396 (in Chinese)
- [25] 张光群, 代梦雪, 杨竞, 王吉秀, 李明锐. 镉胁迫下硫素对嗜鱼外瓶霉生长、矿质元素与镉含量的影响[J]. 菌物研究, 2021, 19(2): 122-128
- Zhang GQ, Dai MX, Yang J, Wang JX, Li MR. Effects of sulfur on the growth, mineral elements and cadmium content of *Exophiala pisciphila* under cadmium stress[J]. Journal of Fungal Research, 2021, 19(2): 122-128 (in Chinese)
- [26] Zhang GQ, Su L, Li TG, Li MR, He YM, Qin L. Effects of nitrogen on mineral nutrients and cadmium accumulation in a strain of DSE mycelium under cadmium stress[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020, 446(3): 032082
- [27] Ryazanova L, Zvonarev A, Rusakova T, Dmitriev V, Kulakovskaya T. Manganese tolerance in yeasts involves polyphosphate, magnesium, and vacuolar alterations[J]. Folia Microbiologica, 2016, 61(4): 311-317
- [28] Zhan FD, He YM, Li T, Yang YY, Toor GS, Zhao ZW. Tolerance and antioxidant response of a dark septate endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila*, to cadmium stress[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2015, 94(1): 96-102
- [29] Adhikari S, Ghosh S, Azahar I, Adhikari A, Shaw AK, Konar S, Roy S, Hossain Z. Sulfate improves cadmium tolerance by limiting cadmium accumulation, modulation of sulfur metabolism and antioxidant defense system in maize[J]. Environmental and Experimental Botany, 2018, 153: 143-162
- [30] Bricker TJ, Pichtel J, Brown HJ, Simmons M. Phytoextraction of pb and cd from a superfund soil: effects of amendments and croppings[J]. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2001, 36(9): 1597-1610
- [31] 黄永恒, 姚青, 郭俊, 龙良鲲, 杨瑞恒, 朱红惠. 钙和钙离子通道阻断剂对丛枝菌根真菌吸收镉的影响[J]. 环境科学学报, 2010, 30(10): 2049-2057
- Huang YH, Yao Q, Guo J, Long LK, Yang RH, Zhu HH. Influence of calcium and calcium ion channel blockers on the uptake of cadmium by arbuscular mycorrhizal fungus[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2010, 30(10): 2049-2057 (in Chinese)
- [32] Pålsson AMB. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 1989, 47(3/4): 287-319
- [33] 冯欢, 豆青, 王海华, 杨超, 谢清哲, 刘莹, 王春燕. 2种外生菌根真菌的铅耐受性及相关机制[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(2): 188-196
- Feng H, Dou Q, Wang HH, Yang C, Xie QZ, Liu Y,

- Wang CY. Lead tolerance of two ectomycorrhizal fungi and related mechanisms[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32(2): 188-196 (in Chinese)
- [34] Hall JL. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(366): 1-11
- [35] Bothe H, Regvar M, Turnau K. Arbuscular Mycorrhiza, Heavy Metal, and Salt Tolerance[J]. Springer Berlin Heidelberg, 2010: 19: 87-111
- [36] 王发园, 林先贵. 丛枝菌根在植物修复重金属污染土壤中的作用[J]. 生态学报, 2007, 27(2): 793-801
Wang FY, Lin XG. Role of a buscular mycorrhizae in phytoremediation of heavy metal-contaminated soils[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(2): 793-801 (in Chinese)
- [37] Yang SQ, Sun XX, Shen YP, Chang C, Guo EH, La GX, Zhao Y, Li XZ. Tolerance and removal mechanisms of heavy metals by fungus *Pleurotus ostreatus* Haas[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2017, 228(4): 1-9
- [38] Ray P, Adholeya A. Correlation between organic acid exudation and metal uptake by ectomycorrhizal fungi grown on pond ash *in vitro*[J]. BioMetals, 2008, 22(2): 275-281
- [39] Zhang XH, Liu J, Wang DQ, Zhu YN, Hu C, Sun JJ. Bioaccumulation and chemical form of chromium in *Leersia hexandra* Swartz[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2008, 82(3): 358-362
- [40] Jin P, Zhu H, Wang L, Shan TM, Zheng YH. Oxalic acid alleviates chilling injury in peach fruit by regulating energy metabolism and fatty acid contents[J]. Food Chemistry, 2014, 161: 87-93
- [41] Li NJ, Zeng GM, Huang DL, Hu S, Feng CL, Zhao MH, Lai C, Huang C, Wei Z, Xie GX. Oxalate production at different initial Pb^{2+} concentrations and the influence of oxalate during solid-state fermentation of straw with *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(17): 8137-8142