

深色有隔内生真菌对土壤镉赋存形态和 龙葵富集镉的影响

任晋彤, 赵金莉

(河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002)

摘要: 为探索深色有隔内生真菌 (Dark septate endophytes, DSE) 影响富集植物累积重金属镉的作用机制, 通过土壤培养和盆栽试验, 研究了接种 DSE 对土壤镉赋存形态和龙葵 (*Solanum nigrum*) 积累镉特性的影响。结果表明, 接种 DSE 后土壤中交换态 Cd 和铁锰氧化态 Cd 含量显著降低, 而碳酸盐结合态、有机结合态和残渣态 Cd 含量显著增加 ($P < 0.05$); Cd^{2+} 胁迫下, DSE 菌株 NBC8-7 能在龙葵根内良好定殖, 增加了龙葵生物量; 与未接种 DSE 处理相比, 不同浓度 Cd^{2+} (5、10、15 mg/kg) 处理下龙葵地上部 Cd 含量分别提高了 37.26%、18.99% 和 22.54%, 地下部 Cd 含量分别降低了 5.19%、5.23% 和 2.82%; 富集系数减小值在 0.04 ~ 0.09 范围内, 转运系数增幅在 0.18 ~ 1.14 范围内。综上, 接种 DSE 使土壤重金属 Cd 由活性较强形态向稳态转化; 镉胁迫下, DSE 与富集植物龙葵形成联合修复体系, 显示了 DSE 对龙葵修复镉污染土壤的强化效应。

关键词: 深色有隔内生真菌; Cd; 赋存形态; 龙葵; 富集系数; 转运系数

中图分类号: S154.3

开放科学 (资源服务) 标志码 (OSID):

文献标识码: A



Effects of dark septate endophytes on cadmium transformation in soil and accumulation by *Solanum nigrum*

REN Jintong, ZHAO Jinli

(College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract: To explore the mechanism of dark septate endophytes (DSE) affecting the accumulation of heavy metal cadmium (Cd) in accumulator plants, the paper mainly discussed the effects of DSE on cadmium (Cd) transformation in soil and the accumulation of heavy metal cadmium in *Solanum nigrum* by soil incubation and pot experiments. The results showed that the contents of the exchangeable fraction and Fe-Mn oxides fraction of Cd significantly decreased, while the contents of carbonates fraction, organic fraction and residual fraction of Cd significantly increased after DSE inoculation ($P < 0.05$). Under the stress of Cd^{2+} , strain NBC8-7 colonized well in the roots of *Solanum nigrum*. Compared with the treatment without DSE inoculation, the Cd contents in aboveground of *Solanum nigrum* plants under different application rates of Cd^{2+} at 5 mg/kg, 10 mg/kg, and 15 mg/kg increased by 37.26%, 18.99% and 22.54%, respectively, however, the Cd contents in underground decreased by 5.19%, 5.23% and 2.82%, respectively. The bioaccumulation factor decreased in the range of 0.04-0.09, and the translocation factor increased by 0.18-1.14. In conclusion, the heavy metal Cd in soil was transformed from a highly active form to a stable state by DSE inoculation. Under the stress of cadmium, the combination of DSE and the heavy metal

收稿日期: 2019-03-06

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (C2017201044); 河北省生物学强势特色学科项目.

第一作者: 任晋彤 (1995-), 河北邯郸人, 硕士研究生, 主要从事植物与微生物共生关系研究. E-mail: 874338574@qq.com

通信作者: 赵金莉 (1973-), 河北景县人, 教授, 主要从事菌根生物工程和土壤生态学研究. E-mail: plant@hbu.edu.cn

本刊网址: <http://hauxb.hebau.edu.cn:8080/CN/volumn/home.shtml>

enrichment plant showed that DSE had a significant effect on the remediation of soils contaminated by cadmium.

Keywords: dark septate endophytes; Cd; transformation; *Solanum nigrum*; bioaccumulation factor; translocation factor

镉是常见的土壤重金属污染元素之一，联合国环境规划署已把镉列为全球性意义危害化学物质之首。据 2014 年环保部公布的《全国土壤污染状况调查公报》显示，全国区域内重金属在土壤中的含量普遍增加，其中镉（Cd）的污染点位超标率达 7.0%^[1-2]。镉在土壤中移动性差、不易被微生物降解，常以多种形态赋存，并且其迁移能力、生物有效性和毒性都与形态有密切关系^[3]。因此，治理土壤重金属镉污染尤其重要。

Aiking 最先提出了利用微生物功能治理土壤重金属污染的方法^[4]。微生物可以通过自身的吸附、代谢作用或转化重金属离子的化学形态以减轻重金属对土壤中植物的危害^[5]。但微生物的生长极易受环境条件的影响^[6]，直接利用微生物去除土壤重金属的难度大，单一微生物修复技术的应用范围受到限制^[7]。深色有隔内生真菌（Dark Septate Endophytic Fungi, DSE）是一类定殖于植物根内的种类组成和生态学功能多样的小型内生真菌，广泛分布于各种受胁迫的生态系统中。张燕^[8]、刁玉华^[9]、班宜辉^[10]等学者从不同胁迫生境分离筛选出多株重金属耐性 DSE 菌株。研究表明，DSE 可以提高宿主植物的抗

逆性^[11]。目前，有关 DSE 与植物的共生及重金属抗性机制的研究大多围绕纯培养研究 DSE 耐性机理及其与植物的共生效应开展^[12-14]，而接种 DSE 进行土培试验研究其对土壤重金属赋存形态的影响尚未见报道。

为此，本研究以分离自白洋淀植物牛鞭草根系的 Cd 抗性 DSE 菌株 NBC8-7 为试材进行土培和盆栽试验，探讨接种 DSE 对土壤 Cd 赋存形态和富集植物累积 Cd 的影响，以期揭示 DSE 增强植物重金属抗性机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤采自河北省保定市东郊区农田。土壤基本理化性质见表 1。

供试菌株为分离自白洋淀植物牛鞭草根系的 Cd 抗性 DSE 菌株 NBC8-7 (*Curvularia clavata*)。参照谢玲等^[15]的方法制备 NBC8-7 菌液备用。

供试植物为龙葵 (*Solanum nigrum*)，龙葵种子由北京市医科院药用植物研究所提供。

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the tested soils

Cd 背景值 / (mg · kg ⁻¹)	速效氮 / (mg · kg ⁻¹)	速效磷 / (mg · kg ⁻¹)	速效钾 / (mg · kg ⁻¹)	有机质 / (g · kg ⁻¹)	pH
Background Cd	Available nitrogen	Available phosphorus	Available potassium	Organic matter	
0.17	115.60	24.48	348.00	35.17	6.53

1.2 试验方法

1.2.1 土壤培养试验 供试土壤高压灭菌后放置 2 周，向土壤中分别喷洒 0、17.8、35.6、53.4 mL 0.01 mol/L 的 2(CdCl₂)·5(H₂O) 溶液 (0.45 μm 滤膜过滤)，使 Cd²⁺ 浓度分别达到 0 mg/kg (Cd0)、5 mg/kg (Cd1)、10 mg/kg (Cd2)、15 mg/kg (Cd3)，形成以 Cd 为单一污染源的污染土壤。把同一 Cd²⁺ 浓度的土壤分为 2 组，分别装入用高锰酸钾消毒处理过的花盆内 (2 kg / 盆)，采用称重法使含水量保持在田间最大持水量的 60%，室温下稳定 2 周。然后向其中一组土壤内加入 100 mL (即 50 mL/kg) 事先制备好的 NBC8-7 菌液 (DSE+Cd0、DSE+Cd1、

DSE+Cd2、DSE+Cd3 4 个处理)，另一组加入等量灭菌 NBC8-7 菌液 (Cd0、Cd1、Cd2、Cd3 4 个处理)，充分混合，覆盖保鲜膜 (其上用牙签扎数个小孔以通气)，在室温条件下进行培养，每处理 3 次重复。隔天用无菌水给土壤补水，使土壤含水量保持在田间最大持水量的 60%，培养 4 周后采集土壤样品进行测定。

1.2.2 盆栽试验 挑选大小一致饱满的龙葵种子经 18 g/L 稀 HCl 溶液室温浸泡 24 h^[16]，用无菌水冲洗 3 次，经 0.5%NaClO 消毒 20 min，无菌水冲洗干净，摆放于灭菌后的滤纸上，25℃暗培养 48 h。挑选萌发一致的龙葵种子，播种于上述培养 4 周后的

每盆土壤内, 待幼苗出土后, 每盆保留 3 株生长一致的幼苗。温室培养条件: 光照 16 h (28℃), 黑暗 8 h (20℃), 光照强度为 12 000 Lux。培养 4 周后, 收获龙葵地上部和地下部, 进行植物和土壤样品的测定。

1.3 Cd 含量测定方法

1.3.1 土壤样品的测定 土样样品自然风干, 过 100 目筛。土壤镉赋存形态采用 Tessier 五步连续提取法^[17]浸提, 全镉采用 HF-HNO₃-HClO₄(1:4:1) 体系消化; 利用型号为 TAS-990 的原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)测定各形态 Cd 含量及 Cd 全量。

1.3.2 植物样品的测定 地下部用去离子水洗净, 滤纸吸干表面水分。将地上部和地下部分别装入信封并编号, 105℃ 烘箱内杀青 30 min 后, 65℃ 烘干至恒重。称重后, 将烘干的植物样品用小型万能粉碎机(QE-100)粉碎保存备用。植物样品采用 HNO₃-HClO₄(4:1) 体系消化, 利用原子吸收分光光度法测定 Cd 含量。

1.4 DSE 在龙葵根内的定殖检测

根样洗净后放入试管, 加入 10% KOH 溶液浸没根样, 于 90℃ 水浴锅中解离至根样透明, 充分冲洗后, 用 0.05% 酸性品红染色、乳酸甘油脱色后制片^[18], 在 OLYMPUS-BX53 生物显微镜下测定 DSE 定殖率^[19]。

1.5 数据处理及分析

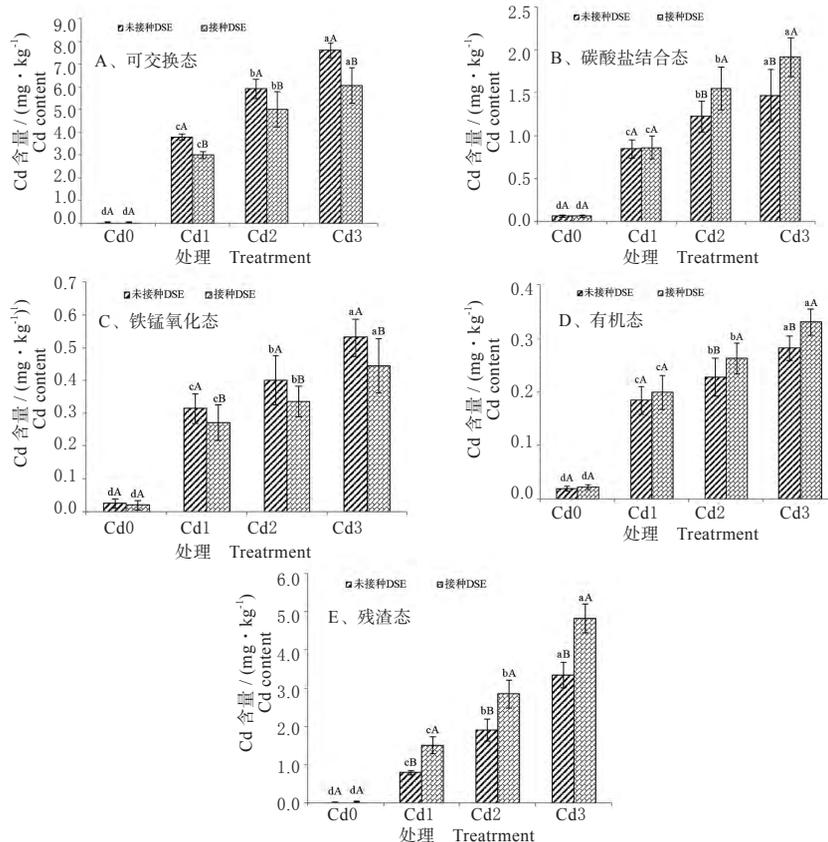
采用 Excel 2013 软件进行数据处理和图表绘制, 利用 SPSS 20.0 版软件进行显著性分析。

富集系数 = 植物根重金属含量 / 土壤重金属含量
转运系数 = 地上部重金属含量 / 地下部重金属含量^[20]。

2 结果与分析

2.1 接种 DSE 对土壤重金属 Cd 赋存形态的影响

在不同浓度 Cd²⁺ 胁迫下, 接种 DSE 后土壤中交换态 Cd 和铁锰氧化态 Cd 含量均显著降低, 而碳酸盐结合态、有机结合态和残渣态 Cd 含量显著增加($P < 0.05$) (图 1)。



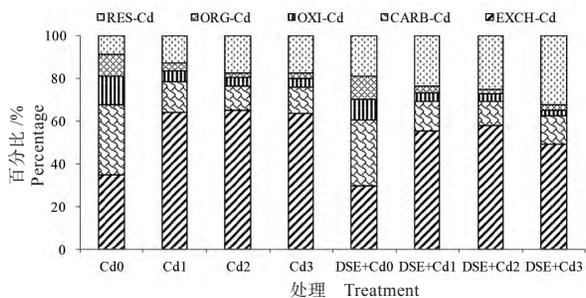
注: 小写字母分别表示接种 DSE 真菌和未接种 DSE 真菌处理下不同 Cd²⁺ 浓度胁迫间的差异显著性 ($P < 0.05$), 大写字母表示同一 Cd²⁺ 浓度胁迫下接种 DSE 和不接种 DSE 处理间的差异显著性 ($P < 0.05$), 下同。

图 1 接种 DSE 对土壤重金属 Cd 赋存形态含量的影响

Fig.1 Effects of DSE on soil Cd fractions

与未接种 DSE 处理相比, Cd²⁺ 浓度为 5、10、15 mg/kg 处理的交换态 Cd 含量分别降低了 20.74%、15.26% 和 20.21%, 铁锰氧化态 Cd 含量分别降低了 13.78%、16.05% 和 16.31%, 碳酸盐结合态 Cd 含量分别增加了 17.01%、26.83% 和 30.46%, 有机结合态 Cd 含量分别增加了 7.83%、15.10% 和 16.99%, 残渣态 Cd 含量分别增加了 90.50%、50.32% 和 44.46%。由此可见, 接种 DSE 能够促进土壤 Cd 由活性较强的交换态向稳定的碳酸盐结合态和残渣态转化。

由图 2 可见, 各处理土壤中可交换态、碳酸盐结合态和残渣态重金属 Cd 比例较高, 而有机结合态和铁锰氧化态占比较少。同一 Cd²⁺ 浓度下, 接种 DSE 与未接种 DSE 相比, 各形态比例有所变化。接种 DSE 后, 可交换态 Cd 百分比明显降低, 与此同时残渣态 Cd 占比显著增加, 而铁锰氧化态、碳酸盐结合态和有机结合态百分比基本没有变化。

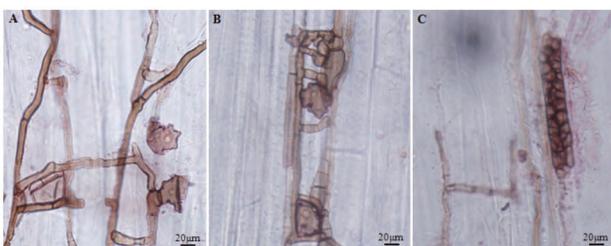


注: EXCH: 可交换态; CARB: 碳酸盐结合态; OXI: 铁锰氧化态; ORG: 有机结合态; RES: 残渣态。

图 2 接种 DSE 对土壤各形态 Cd 含量所占百分比的影响
Fig.2 The effects of DSE on the percentages of each Cd fraction in soil

2.2 DSE 菌株 NBC8-7 在龙葵根系中的定殖

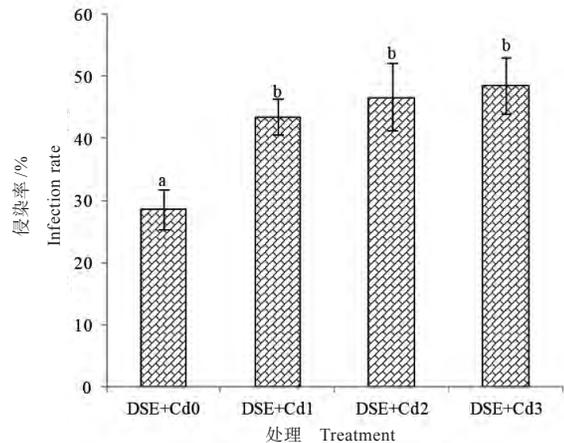
显微观察结果表明, 未接种 DSE 处理龙葵根内无 DSE 定殖, 而各接种处理菌株 NBC8-7 在龙葵根部均有定殖, 形成了典型的共生结构 (图 3), 并且随着 Cd²⁺ 浓度的增加 DSE 侵染率呈上升趋势, 与无 Cd²⁺ 胁迫处理相比达到显著差异 (P < 0.05), 而不同浓度 Cd²⁺ 处理间差异不显著 (图 4)。



注: A: 菌丝; B: 正在形成的微菌核; C: 微菌核。

图 3 菌株 NBC8-7 在龙葵根部形成的共生结构

Fig.3 Symbiotic structures formed by strain NBC8-7 in roots of *Solanum nigrum*



注: 小写字母表示 P < 0.05 水平上差异显著。

图 4 DSE 在龙葵根部的定殖率

Fig.4 The colonization rate of DSE in roots of *Solanum nigrum*

2.3 Cd²⁺ 胁迫下接种 DSE 对龙葵生物量的影响

无论是否接种 DSE, 与无 Cd²⁺ 胁迫的对照相比, Cd²⁺ 胁迫显著抑制了龙葵的生长。但在同一 Cd²⁺ 浓度下, 与未接种 DSE 处理相比, 接种 DSE 菌株 NBC8-7 缓解了 Cd²⁺ 胁迫导致的抑制作用, 增加了龙葵地上部和地下部的生物量, 并且在 Cd²⁺ 浓度为 10 mg/kg 和 15 mg/kg 处理下都达到了显著差异 (P < 0.05) (图 5)。

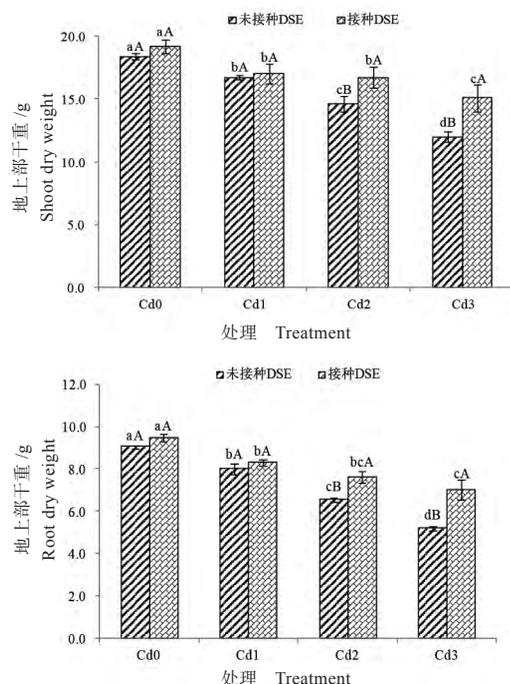


图 5 接种 DSE 对龙葵地上部和地下部干重的影响
Fig.5 Effects of DSE inoculation on shoot/root dry weight of *Solanum nigrum*

2.4 接种 DSE 对龙葵地上部和地下部 Cd 含量的影响

由图 6 可知, 随着 Cd^{2+} 浓度的增加龙葵地上部和地下部的 Cd 含量显著升高。在不同浓度 Cd^{2+} 处理下, 接种 DSE 均显著提高了龙葵地上部 Cd 含量, 而龙葵地下部 Cd 含量均有所下降。在 Cd^{2+} 浓度为 5、10、15 mg/kg 胁迫下, 与未接种 DSE 处理相比, 地上部 Cd 含量分别增加了 37.26%、18.99% 和 22.54%, 地下部 Cd 含量分别下降了 5.19%、5.23% 和 2.82%。

通过对龙葵转运系数和富集系数(表 2)的分析可知, 随着 Cd^{2+} 浓度的增加龙葵的转运系数和富集系数均呈现增加的趋势, 其中富集系数在不同 Cd^{2+} 浓度间差异达显著水平, 而转运系数差异不显著。在不同 Cd^{2+} 浓度胁迫下, 接种 DSE 均显著降低了龙葵的富集系数, 降幅在 0.04 ~ 0.09 范围内, 而转运系数均显著升高, 增幅在 0.18 ~ 1.14 范围内。

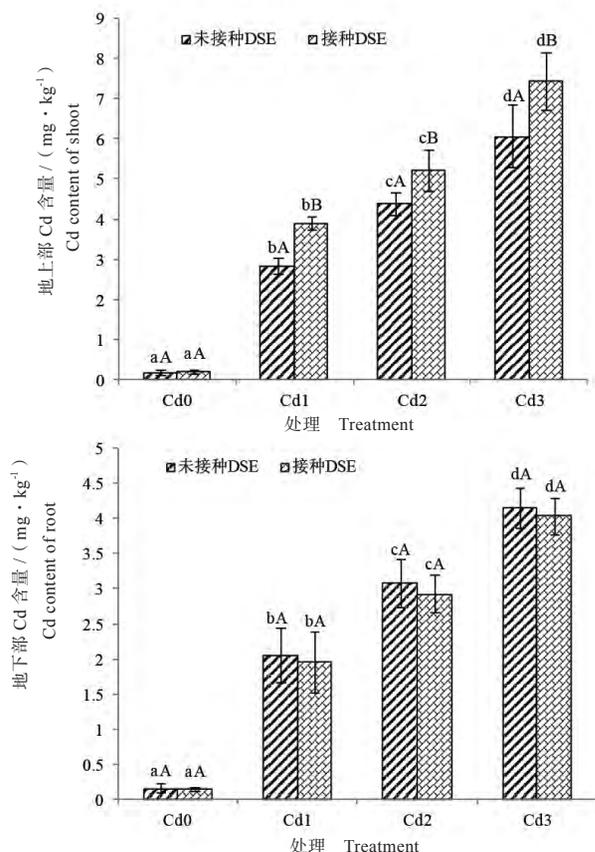


图 6 接种 DSE 对龙葵地上部和地下部 Cd 含量的影响

Fig.6 Effects of DSE inoculation on Cd content of shoot/root of *Solanum nigrum*

表 2 接种 DSE 对龙葵富集系数和转运系数的影响

Table 2 Effects of DSE inoculation on bioaccumulation and translocation factors of *Solanum nigrum*

处理	富集系数	转运系数
Treatments	Accumulation factors	Translocation factors
未接种 DSE	Cd0	1.08 ± 0.022 5aA
	Cd1	0.81 ± 0.100 5bA
	Cd2	0.92 ± 0.056 2cA
	Cd3	1.10 ± 0.100 9dA
接种 DSE	Cd0	1.37 ± 0.031 2aB
	Cd1	0.74 ± 0.027 2bB
	Cd2	0.83 ± 0.020 2cB
	Cd3	1.02 ± 0.043 0dB

3 讨论

本研究通过接种 DSE 进行土壤培养试验发现, 接种 DSE 后土壤可交换态和铁锰氧化态 Cd 含量增加, 而碳酸盐结合态 Cd、有机结合态 Cd 和残渣态 Cd 含量降低, 并且当土壤 Cd^{2+} 浓度 ≥ 10 mg/kg 时接种 DSE 对土壤重金属 Cd 赋存形态的影响均达到了显著水平 ($P < 0.05$)。说明接种 DSE 使土壤重金属 Cd 由活性较强的赋存形态向稳态转化, 从而降低重金属 Cd 的生物有效性。王风等^[21]通过分析土壤 pH 与土壤重金属 Cd 赋存形态的相关性发现, 土壤 pH 与交换态 Cd 和铁锰氧化物结合态 Cd 含量存在显著负相关, 与有机结合态 Cd 和残渣态 Cd 含量存在显著正相关关系。侯青叶等^[22]的研究认为, pH 的提高有利于土壤铁锰氧化态 Cd 含量的增加。在重金属镉胁迫下, DSE 应激表达有机酸代谢和转运、金属离子结合和转运蛋白、抗氧化清除蛋白等功能基因^[23-24]。土壤中的重金属 Cd 通过溶解、沉淀、凝聚、络合吸附等反应形成不同的赋存形态, 在此过程影响其赋存形态的关键因素是 pH 值。据此推测, 本研究结果可能是由于在重金属 Cd 胁迫下, 一方面 DSE 增强金属离子结合和转运蛋白的表达络合 Cd^{2+} ; 另一方面 DSE 有机酸代谢增强, 在菌丝表面产生更多能与 H^+ 结合的有机酸根 $-\text{COO}^-$, 从而使土壤 pH 值升高。土壤 pH 的升高使得土壤胶体颗粒表面的负电荷增加, 从而增强土壤对 Cd 的吸附, 并且也会促进 CdCO_3 与 $\text{Cd}(\text{OH})_2$ 沉淀的生成, 使土壤中的重金属 Cd 由活性较高的可交换态向活性较低的形态转化^[25-26]。在潮土中, 交换态 Cd 对 H_2O_2 酶活性抑制作用贡献最大, 有机结合态 Cd 对脲酶

活性有较大抑制作用^[27]。

DSE 与植物共生能够提高宿主植物的抗逆性。Li 等^[28]通过研究不同重金属处理下 DSE (*Exophiala pisciphila*) 对玉米生长及吸收重金属的影响,发现 *E. pisciphila* 能够提高玉米的生物量,降低宿主植物对重金属的吸收,玉米吸收的重金属主要固持在根部从而减轻重金属的毒害作用;班宜辉^[10]的研究表明,接种柱孢顶囊壳 (*G. cylindrosporus*) 明显提高了玉米的生物量、苗高和根系活力,同时更多的 Pb 积累在植物根部,缓解 Pb 对植物的毒害作用。与上述研究结果不同,本研究发现,重金属镉胁迫下, DSE 菌株 NBC8-7 在龙葵根内形成良好的定殖结构,促进龙葵地上部和地下部的生物量;但接种 DSE 显著提高了龙葵地上部 Cd 含量,而龙葵地下部 Cd 含量均有所下降,并且转运系数均显著升高。根不仅是养分水分的吸收器官,而且可以感受土壤状况所产生的化学信号,并将这些信号传递到地上部,从而控制地上部器官的生理活动。重金属离子在植物根内积累会使根受到伤害,进而影响到植物体的生长发育。接种 DSE 菌株 NBC8-7 后增强了植物根部向地上部运输 Cd²⁺ 的能力,这可能也是 DSE 提高植物抗逆性的策略之一。同时也说明, DSE 增强植物抗重金属伤害的机制会因 DSE 和宿主植物种类不同而有所差异。因此,在利用 DSE—植物联合修复技术改善重金属污染土壤时,要根据宿主植物的生长特性、可利用部位及收获的便利性来选配适宜的植物种类和 DSE 菌剂。

4 结论

(1) 接种 DSE 使土壤重金属 Cd 由活性较强形态向稳态转化,交换态 Cd 和铁锰氧化态 Cd 含量显著降低,而碳酸盐结合态、有机结合态和残渣态 Cd 含量显著增加。

(2) Cd²⁺ 胁迫下, DSE 菌株 NBC8-7 促使重金属镉由富集植物龙葵根部向地上部转移,转运系数显著升高。

(3) Cd²⁺ 胁迫下, DSE 菌株 NBC8-7 与富集植物龙葵形成良好的共生体,增加了龙葵生物量。

参考文献:

[1] 环境保护部,国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报 [N]. (2 版), 中国国土资源报, 2014-04-18.

- [2] 王玉军,刘存,周东美,等. 客观地看待我国耕地土壤环境质量现状—关于《全国土壤污染状况调查公报》中的有关问题的讨论和建议 [J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(8):1465-1473.
- [3] 董世魁,赵晨,刘世梁,等. 水坝建设影响下澜沧江中游沉积物重金属形态分析及污染指数研究 [J]. 环境科学学报, 2016, 36(2): 466-474.
- [4] Aiking H, Govers H, van't Riet J. Detoxification of mercury, cadmium, and lead in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture [J]. Appl Environ Microbiol, 1985, 50(5): 1262-1267.
- [5] 张闻,陈贯虹,高永超,等. 石油和重金属污染土壤的微生物修复研究进展 [J]. 环境科学与技术, 2012, 35(S2): 174-181,205.
- [6] Tunali S, Akar T, Zcan A S, et al. Equilibrium and kinetics of biosorption of lead (II) from aqueous solutions by *Cephalosporium aphidicola* [J]. Separation and Purification Technology, 2006, 47(3): 105-112.
- [7] 李韵诗,冯冲凌,吴晓芙,等. 重金属污染土壤植物修复中的微生物功能研究进展 [J]. 生态学报, 2015, 35(20):6881-6890.
- [8] 张燕. 云南几种特殊生境中深色有隔内生真菌 (DSE) 研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2012.
- [9] 刁玉华. 深色有隔内生真菌 (DSE) 抗镉菌株的筛选及其抗性机理的初步研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2012.
- [10] 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.
- [11] Zhu L, Li T, Wang C, et al. The effects of dark septate endophyte (DSE) inoculation on tomato seedlings under Zn and Cd stress [J]. Environ Sci Pollut Res Int. 2018, 25(35):35232-35241.
- [12] Zhan F, He Y, Zu Y, et al. Characterization of melanin isolated from a dark septate endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila* [J]. World J Microb Biot, 2011, 27(10): 2483-2489.
- [13] 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):e47968. DOI:10.1371/journal.pone.0047968.
- [14] Wang J L, Liu G Y, Li T, et al. Unraveling the role of dark septate endophyte (DSE) colonizing maize (*Zea mays*) under cadmium stress: physiological, cytological and genic aspects [J]. Sci Rep, 2016, 6: 22028. DOI: 10.1038/srep22028 .
- [15] 谢玲,张雯龙,覃丽萍,等. 深色有隔内生真菌 (DSE) 引进菌株对铁皮石斛的接种效应 [J]. 南方农业学报, 2014, 45(6):1010-1014
- [16] 谢桂英,游秀峰,孙淑君,等. 龙葵种子休眠解除方法研究 [J]. 杂草科学, 2013, 31(1): 37-39
- [17] 李如忠,徐晶晶,姜艳敏,等. 铜陵市惠溪河滨岸带土

- 壤重金属形态分布及风险评估 [J]. 环境科学研究, 2013, 26(1):88-96.
- [18] Berch S M, Kendrick B. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of southern ontario ferns and fern-allies [J]. Mycologia, 1982, 74(5): 769-776.
- [19] Barrow J, Aaltonen R. Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and influence of host physiological activity [J]. Mycorrhiza, 2001, 11(4): 199-205.
- [20] 刘克, 和文祥, 张红, 等. 镉在小麦各部位的富集和转运及籽粒镉含量的预测模型 [J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(8):1441-1448.
- [21] 王凤, 王梦露, 许堃, 等. 生物炭施用对棕壤重金属镉赋存形态及油菜吸收镉的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(5):907-914.
- [22] 侯青叶, 杨忠芳, 杨晓燕, 等. 成都平原区水稻土成土剖面 Cd 形态分布特征及影响因素研究 [J]. 地学前缘, 2008, 15(5):36-46.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] Bolan N S, Adriano D C, Mani P A, et al. Immobilization and phytoavailability of cadmium in variable charge soils. II. Effect of lime addition [J]. Plant and Soil, 2003, 251(2):187-198.
- [26] 钟晓兰, 周生路, 李江涛, 等. 模拟酸雨对土壤重金属镉形态转化的影响 [J]. 土壤, 2009, 41(4):566-571.
- [27] 刘霞, 刘树庆, 王胜爱. 河北主要土壤中重金属镉、铅形态与土壤酶活性的关系 [J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(1):33-37, 60.
- [28] Li T, Liu M J, Zhang X T, et al. Improved tolerance of maize (*Zea mays* L.) to heavy metals by colonization of a dark septate endophyte (DSE) *Exophiala pisciphila* [J]. Sci Total Environ, 2011, 409(6): 1069-1074.

(编辑: 梁虹)

(上接第 54 页)

- 311-318.
- [17] Wang H, Ong T H, Ooi B C, et al. BLAST++ : A tool for blasting queries in batches [J]. Asia-Pacific Bioinformatics Conference on Bioinformatics, 2003, 19: 71-79.
- [18] Wang X, Shi X, Li Z, et al. Statistical inference of chromosomal homology based on gene colinearity and applications to *Arabidopsis* and rice [J]. BMC bioinformatics, 2006, 7: 447-450.
- [19] Ramsey J, Schemske D W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1998, 29: 467-501.
- [20] Edger P P, Smith R, McKain, M R, et al. Subgenome dominance in an interspecific hybrid, synthetic allopolyploid, and a 140-year-old naturally Established neo-allopolyploid monkeyflower [J]. The Plant Cell, 2017, 29: 2150-2167.
- [21] Tang H, W M R, Cheng F, et al. Altered patterns of fractionation and exon deletions in brassica rapa support a two-step model of paleohexploidy [J]. Genetics, 2012, 190: 1563-1574.
- [22] Chester M, Gallagher J P, Symonds V V. Extensive chromosomal variation in a recently formed natural allopolyploid species, *Tragopogon miscellus* (Asteraceae) [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences 2012, 109(4): 1176-1181.
- [23] Buggs R J, Chamala S, Wu W, et al. Rapid, repeated, and clustered loss of duplicate genes in allopolyploid plant populations of independent origin [J]. Current Biology, 2012, 22(3): 248-252.
- [24] Schnable J C, Freeling M, Lyons E. Genome-wide analysis of syntenic gene deletion in the grasses [J]. Genome Biology and Evolution, 2012, 4(3): 265-277.
- [25] Freeling M, Scanlon M J, Fowler J E. Fractionation and subfunctionalization following genome duplications: mechanisms that drive gene content and their consequences [J]. Current Opinion in Genetics & Development, 2015, 35: 110-118.
- [26] Wang X, Guo H, Wang J, et al. Comparative genomic deconvolution of the cotton genome revealed a decaploid ancestor and widespread chromosomal fractionation [J]. New Phytologist, 2016, 209(3): 1252-1263.
- [27] Wang J, Sun P, Li Y, et al. Hierarchically aligning 10 legume genomes establishes a family-level genomics platform [J]. Plant Physiology, 2017, 174(1): 284-300.

(编辑: 梁虹)