



专论与综述

外生菌根真菌与内生细菌共生互作的研究进展

葛伟 董醇波 张芝元 韩燕峰* 梁宗琦

贵州大学生命科学学院生态系 真菌资源研究所 贵州 贵阳 550025

摘要: 外生菌根真菌能与很多高等植物共生, 广泛存在于自然界, 在促进植物生长和养分吸收、增强宿主抗逆性及维持森林生态系统稳定等方面发挥着重要作用。除与寄主植物密切联系外, 外生菌根真菌, 在其生命周期中与细菌群落进行物理和代谢相互作用常形成共生关系。这些细菌对外生菌根真菌菌丝生长、生物量增加及子实体的形成具有积极影响。本文阐述了外生菌根真菌与内生细菌共生现象的发现、共生关系的建立、内生细菌促进外生菌根真菌生长和发育及宿主与微生物组的研究方法等, 以期更好地巩固外生菌根真菌的生物学及生态学等基础性知识, 并利用细菌与真菌的相互作用为可食用外生菌根真菌的生物防治、菌肥研究、人工驯化及栽培提供思路。

关键词: 共生功能体, 细菌-真菌互作, 子实体形成, 挥发性有机化合物, 研究方法

Symbiotic interaction between ectomycorrhizal fungi and endobacteria: a review

GE Wei DONG Chunbo ZHANG Zhiyuan HAN Yanfeng* LIANG Zongqi

Institute of Fungus Resources, Department of Ecology, College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China

Abstract: Ectomycorrhizal fungi (ECMF) often form symbiotic relationships with many higher plants, and widely exist in nature. They play an important role in promoting the growth and nutrient absorption of plant, enhancing the stress resistance of the host and maintaining the stability of the ecosystem in forest. In addition to being closely related to host plants, ECMF often establish the symbiotic relationship with endobacteria, and interact physically and metabolically with bacterial communities during their life cycle. These bacteria had positive effects for ECMF on the growth of mycelia, increase of biomass and the formation of fruiting bodies. The article summarized the discovery of symbiosis, establishment of the symbiotic relationship, the promotion of growth, development of ECMF promoted by endobacteria, and the research methods of ECMF and endobacteria. In order to better consolidate the

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (32060011); Key Areas of Research and Development Program of Guangdong Province (2018B020205003); “Hundred” Talent Projects of Guizhou Province (Qian Ke He [2020]6005); Construction Program of Biology First-Class Discipline in Guizhou (GNYL[2017]009)

*Corresponding author: E-mail: swallow1128@126.com

Received: 15-12-2020; **Accepted:** 24-01-2021; **Published online:** 26-03-2021

基金项目: 国家自然科学基金(32060011); 广东省重点领域研发计划(2018B020205003); 贵州省高层次创新型人才培养项目([2020]6005); 贵州省生物学一流学科建设项目(GNYL[2017]009)

*通信作者: E-mail: swallow1128@126.com

收稿日期: 2020-12-15; **接受日期:** 2021-01-24; **网络首发日期:** 2021-03-26

basic knowledge of biology and ecology of ECMF, and utilize the bacterial-fungal interactions to provide ideas for the biological control of edible ECMF, study of bacterial fertilizer, artificial domestication and cultivation.

Keywords: holobionts, bacterial-fungal interactions, formation of the fruiting bodies, volatile organic compounds, research methods

共生(Symbiosis)一词最早起源于希腊,代表“共同生活”,并于1622年首次载入人类语言学中^[1]。关于“共生”一词的定义和正确使用,历史上许多生物学家和生态学家一直存在不同的看法和争议。目前普遍接受的是Douglas等对共生的定义,即共生是包含互利共生、偏利共生和寄生的共生连续体^[2]。在陆地生态系统中,菌根是最常见的共生形式之一,全球超过80%的植物通过与各种类别的真菌发生互作,建立共生关系形成菌根,如外生菌根(Ectmycorrhiza, ECM)^[3-5]。这类与植物共生形成外生菌根的真菌,统称为外生菌根真菌(Ectomycorrhizal Fungi, ECMF),其包括大部分担子菌门(Basidiomycota)、子囊菌门(Ascomycota),少部分为接合菌门(Zygomycota),它们主要与一些松科(Pineaceae)、柏科(Cupressaceae)及杨柳科(Salicaceae)等植物根系形成有菌套、哈氏网和根外菌丝等特殊结构的ECM^[5]。ECMF不仅具有较高的食用、药用和经济价值^[6],而且在植物的生长发育、营养吸收^[7]、抗病害^[8]及生态系统的物质循环和土壤修复^[9]等方面发挥着重要作用。

20世纪80年代末, Margulis等^[10]为更好地研究共生,创建了“Holobiont”(共生功能体,共生体)一词,用以描述共生中参与者的集合体。随着测序技术的高速发展,目前对共生功能体有了更新的认识,即指一个宿主及其所有相关微生物组成的集合整体^[11]。值得关注的是,Partida-Martínez^[12]提出,真菌可以被认为是共生功能体,即可理解为宿主+微生物内共生体(Microbial Endosymbionts)。例如,研究人员发现,植物可与大多数担子菌门(Basidiomycota)、子囊菌门

(Ascomycota)及少数接合菌门(Zygomycota)的真菌共生,形成ECM,并在ECM上形成产孢结构,即子实体,而子实体下部的菌索与外围土壤中的细菌等微生物又再次建立了新的共生功能体,即“菌圈”(Mycosphere)^[5,13-14]。这种从空间尺度形成“嵌套模式(Nested Pattern)”的复杂共生形式^[15]以及ECMF相关微生物群的比较分析较少^[16],无疑增加了ECMF与细菌共生互作的研究难度。例如在鸡油菌(*Cantharellus cibarius* Fr.)分离和纯培养过程中分离到不同属的细菌,它们的迅速繁殖导致接种块变质,增加了纯培养的难度^[17],并且研究人员认为这些细菌对鸡油菌菌丝体的生长和发展皆有抑制。从共生的定义来说,生物栖息地是具有一定特性的生态位,这表明与真菌共同生活的这类细菌有别于普通的土壤细菌,它们与真菌之间可能存在某种特定的互作,共同发挥着各种生态功能。其中一些细菌生活在真菌营养菌丝或繁殖结构中,主要定殖于菌丝细胞质或孢子细胞质内,称为内生细菌(Endobacteria, EB)^[18-19]。国外学者通常以“Associated”一词形容菌根真菌的相关细菌^[20-21],而国内学者则以“伴生细菌”进行概述^[17,21],并用该词语描述定殖于菌根真菌孢子、菌丝体表面和细胞内部的细菌^[21],这导致在定义这类细菌时仍然存在着不明确的描述。鉴于大多数可培养细菌是在消毒并去除子实体表面,通过分离子实体内部组织块的实验中获得,并且其在子实体细胞内外的位置大多暂未描述^[22-23]。此外,细菌-真菌互作(Bacterial-Fungal Interactions, BFIs)这一新兴的研究领域,作为陆地生态系统微生物群落网络的重要组成部分正在不断发展^[24]。细菌与真菌通过对抗、合作、协同、共栖及共生

等类型的互作对彼此的生物学产生重要影响^[25]。这为研究 ECMF 与细菌互作提供了新视角。因此, 本文以“内生细菌”一词来描述那些定殖于 ECMF 孢子、菌丝体和子实体组织内部且与 ECMF 密不可分的细菌类群, 并就真菌-细菌共生体发现、ECMF 与内生细菌构建的共生模式、ECMF-相关微生物组对菌根真菌生长发育的影响, 以及实验中容易忽略的挥发性有机化合物(Volatile Organic Compounds, VOCs)介导微生物组内成员间的互作等进行探讨, 以期利用 BFIs 的已有研究成果, 为可食用 ECMF 的人工栽培及栽培提供科学依据和新的视角。

1 真菌-细菌共生体的发现

共生在促进真菌的进化和多样性方面发挥着不可或缺的作用^[12]。大多数真菌与其相关微生物组(如细菌)的复杂群落建立共生关系, 而这些微生物对真菌的生长、发育、健康及功能起着关键作用^[21]。真菌与细菌共生现象首次被发现是在内囊霉属(*Endogone* Link)真菌的研究案例中。1970 年, Mosse^[26]在研究内囊霉属时, 发现其孢子细胞质中存在一种无外膜包被, 能独立分裂增殖, 并且对宿主真菌无明显影响的类细菌生物。随后, 研究人员在菌根真菌菌丝体内也观察到类似现象, 并将其命名为“类细菌细胞器”^[19]。随着研究方法的不断提升, 这些类细菌细胞器才被明确定义为 EB^[27], 并逐渐成为新的研究热点。在 ECMF 中, 被报道与 EB 共生的第一个例子是担子菌中的双色蜡蘑(*Laccaria bicolor* S238N)。经鉴定, 其 EB 为类芽孢杆菌(*Paenibacillus*), 通过特定 16S rRNA 基因导向寡核苷酸探针和荧光原位杂交(Fluorescence *in situ* Hybridization, FISH)分析, 清楚揭示其生存于菌丝体内部^[28]。随着自然环境的日益变化, 真菌与细菌共生体仍在不断地进化和更新, 但这些 EB 在 ECMF 中如何建立共生模式及其互作的机制, 仍然需要进一步加强研究。

2 外生菌根真菌与内生细菌的共生模式

2.1 外生菌根真菌选择特定细菌构建共生模式

ECMF 通常会根据共生功能或生境要求从周围土壤中进行细菌群落的选择, 土壤细菌与其子实体生长中的短期接触也能直接或间接地促进子实体 EB 群落的组成^[22,29]。例如, Benucci 等^[30]通过比较 4 种块菌的细菌群落也得出了类似的结论, 即不同地区的块菌中都包含慢生根瘤菌等细菌, 而且块菌及其分布区域有助于招募特定菌群和增加子实体 EB 的多样性。Pent 等^[22]在研究鸡油菌等 ECMF 的细菌群落时发现, 根瘤菌(*Rhizobium*)和噬甲壳菌(*Chitinophaga*)几乎在所有的鸡油菌子实体中成为了特定菌属, 并推断这些特定菌属对鸡油菌的“青睐”与宿主鸡油菌的功能需求有着密不可分的关系, 但尚需进一步的实验证明。对于自身无法完成解磷或解磷能力薄弱的 ECMF, 一些研究已表明, ECMF 可能会选择一些特定细菌, 如伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia*)迁移定殖于菌丝体或子实体内, 帮助其有效摄取磷养分^[31-32]。当然, 也有报道称, 伯克霍尔德氏菌科(*Burkholderiaceae*)中的一些细菌由于对酸性条件敏感, 可能受酸性环境胁迫而迁移定殖于适合其生长的子实体内^[31]。此外, 研究人员还发现, 在真菌子实体地下菌丝束周围的土壤常形成碳质化合物的主要储集区, 导致细菌群落发生变化, 尤其是以假单胞菌(*Pseudomonas*)为主的细菌群落对真菌子实体有明显的倾向性选择^[33-34]。ECMF 根据生态功能或生境要求选择特定细菌定殖其体内, 为共生关系的建立和维持奠定了基础。然而目前对于这些特定物种在多大程度上和通过何种互作机制影响 ECMF 微生物群落等问题, 仍然需要不断深入探索。

2.2 细菌根据自身生存空间定殖外生菌根真菌形成共生模式

细菌在面对巨大的生存压力或是恶劣的环境条件时, 会选择性地定殖于适合自身生长的 ECMF

中, 形成新的共生关系^[31]。近年来, ECMF 中黑孢块菌(*Tuber melanosporum*)的研究较为广泛, 其子实体包含了一个多样化的微生物群落。细菌在黑孢块菌形成的早期阶段就开始定殖于子实体, 其特定的群落组成与土壤细菌极为类似^[29]。其中, 在研究中最为常见的是以慢生根瘤菌科(*Bradyrhizobiaceae*)组成的核心微生物, 不仅在黑孢块菌中占主导地位, 也在双色蜡蘑中存在^[29,35]。与其他细菌门相比, 慢生根瘤菌科的核心微生物存在着某种适应或竞争机制, 或者黑孢块菌和双色蜡蘑为其创造了竞争优势, 使这些细菌能根据自身生存空间的需求而定殖于 ECMF 中, 形成共生体。此外, Hildebrandt 等^[36]在子实体 EB 的分离实验中验证了内生优势菌在自然环境中会迅速占据子实体提供的生态位, 并抑制其他细菌或病原体的进入。这类细菌通过扩展生态位的方式与 ECMF 共生, 形成共生功能体, 不仅解决了自身生存空间和生存压力的问题, 也促进了宿主 ECMF 的生长、发育、进化及多样性。

2.3 外生菌根真菌与细菌的代谢交叉喂养构建共生模式

微生物间的代谢交叉喂养为细菌定殖于 ECMF 提供了极大的便利。所有微生物细胞都能释放出几十个或更多代谢物, 统称为“外代谢物”, 其中, 一些成分在其他生物的可利用资源, 但同时也影响着该生物产生不同的代谢反应^[37]。ECMF 和 EB 间存在的代谢交叉喂养使双方都从中受益。一方面, EB 从宿主真菌中获得营养物质维持自身生长; 另一方面, EB 也能分泌一些促进 ECMF 生长的代谢物^[38]。例如, 一些 EB 会分泌柠檬酸和苹果酸, 这 2 种有机酸会被双色蜡蘑(*L. bicolor* S238N)利用, 促进其菌丝体和子实体生长^[39]。与此同时, ECMF 能产生有机酸或糖, 影响 EB 群落的组成和生长。双色蜡蘑菌丝体内会分泌海藻糖, 利用这种代谢物化学吸引荧光假单胞菌(*P. fluorescens*)聚集并定殖于其菌丝体和子实体中, 促进双色蜡蘑生长周期中的生理代谢, 维持

其生长和发育^[40]。此外, Rangel-Castro 等^[41]用 ¹³C-NMR 分析了含有鸡油菌菌丝体的生长培养基成分, 发现海藻糖和甘露醇大量渗出, 阐释大量 EB 能够长时间在宿主真菌内定殖而不损害其菌丝生长, 两者可能形成了互利共生的现象。这些由真菌或细菌分泌产生的代谢产物, 在微生物间形成了多途径交叉喂养分配网络, 不仅增加微生物群的总生物量, 同时也促进微生物群的招募, 并不断增强微生物群系统发育和功能多样性类群的稳定性与持久性^[42]。

事实证明, 无论是 ECMF 根据共生功能或是生境要求选择了特定的细菌类群, 还是细菌由于自身营养物质需求或生态位扩展而定殖于 ECMF 中, 两者间形成的共生模式在适应环境变化中都显得更为出色。

3 内生细菌促进外生菌根真菌菌丝生长、子实体形成及氮源利用

在细菌与 ECMF 的共生互作中, 细菌可松散地与菌丝表面互作关联; 也可定殖于菌丝体和子实体内, 或表现出某些共生物种特异性, 以及一些潜在的代谢互补和生态功能(如固氮), 进而促进宿主真菌的菌丝生长、生物量的增加、子实体的形成, 以及通过固氮为宿主真菌提供氮源^[22,41,43]。与此同时, 真菌的菌丝体和子实体通过对其 EB 提供不同的碳源, 并保护其免受环境压力, 为 EB 创造了一个合适的栖息地^[44]。

3.1 内生细菌促进宿主真菌菌丝生长及生物量增加

EB 与宿主 ECMF 的共生互作促进真菌菌丝生长和生物量的增加。例如, 松茸(*Tricholoma matsutake*)的 EB 群落被证明是其菌丝生长和生物量增加的重要因素^[45]。以台中类芽孢杆菌(*P. taichungensis*)和葡萄球菌(*Staphylococcus*)为主的细菌群落, 在低碳条件下能强烈促进松茸菌丝平均径向生长增加 3 倍以上^[45]。Kataoka 等^[46-47]验证勒罗勒氏菌(*Ralstonia basilensis*)和枯草芽孢

杆菌(*Bacillus subtilis*)能分别促进点柄乳牛肝菌(*Suillus granulatus*)和土生空团菌(*Cenococcum geophilum*)菌丝生长和生物量的增加。盛江梅等^[48]发现蜡状芽孢杆菌(*B. cereus* HB12)对美味牛肝菌(*Boletus edulis*)菌丝生长及生物量增加有明显的促进效果。值得一提的是, 荧光假单胞菌(*P. fluorescens* BBc6R8)菌株不仅促进双色蜡蘑的菌丝生长, 对其基因表达也有一定的积极影响^[49]。EB 在促进宿主 ECMF 营养阶段菌丝体的生长及其生物量增加方面发挥着极为重要的作用。

3.2 内生细菌促进宿主真菌子实体形成

EB 与宿主 ECMF 共生互作对真菌子实体的形成也有影响。研究表明, ECMF 子实体的形成是一个在不同环境诱因的组合中被激活且高度复杂的发育过程, EB 在其子实体的形成中发挥着重要作用^[50]。例如, 松茸的 EB 群落也被证明是与松茸子实体形成的重要驱动力^[45]。此外, 也有研究表明, 鸡油菌中的 EB 优势类群包括假单胞菌、哈夫尼菌(*Hafnia*)、爱文氏菌(*Ewingella*)、寡氧单胞菌(*Stenotrophomonas*)和芽孢杆菌(*Bacillus*), 它们对鸡油菌的子实体形成有不同程度的积极作用^[51]。Bedini 等^[52]研究发现, 从波氏块菌(*T. borchii*)子实体中分离出的细菌能产生对植物病原真菌的生长有一定抑制作用的化合物, 减少 ECMF 所面临的竞争和生存压力, 有利于其子实体的形成。尽管不同 ECMF 子实体的形成所需条件不同, 而且其子实体的内生菌群存在差异, 但外生菌根真菌对这些不同内生菌群的选择, 无疑有利于其子实体的形成和发育, 其具体的促进机制仍需进一步探究。

3.3 外生菌根真菌利用细菌固氮功能进行生长

细菌与 ECMF 互作中, 真菌利用 EB 的固氮功能获取氮源。研究显示, 根瘤菌被发现大量定殖于鸡油菌子实体中^[22-23], 其固氮^[53]功能尤为出色。Rangel-Castro 等^[41]通过实验表明鸡油菌利用有机氮的能力有限, 需要借助 EB 中的固氮细菌帮助固氮, 以促进子实体的发育。Pent 等^[22-23]也研

究发现根瘤菌大量分布在鸡油菌子实体内, 但目前仍缺乏实验证明鸡油菌是否直接依靠根瘤菌进行固氮获取氮源。同样地, 在意大利白块菌(*T. magnatum*)的研究中, Barbieri 等^[35,53]首次发现在其子实体中存在慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium*), 推测其与 ECMF 的固氮功能相关。随后, Antony-Babu 等^[29]在研究不同生命阶段的黑孢块菌细菌群落时发现, 参与固氮功能的 *nifH* 基因并不存在于慢生根瘤菌中。尽管其他研究显示只有一小部分慢生根瘤菌含有参与固氮功能的 *nifH* 基因^[54], 但这并不排除其他 EB 或含有 *nifH* 基因的细菌参与黑孢块菌中的固氮过程。因此, 进一步分析将有利于破译黑孢块菌具有固氮功能的 EB 物种。

EB 在促进 ECMF 菌丝生长^[46-47]、生物量增加^[48]及固氮功能^[35,41,53]方面具有积极影响, 对更好地理解 EB 在 ECMF 的生长、发育及其子实体分化等方面的积极作用具有重要意义。

4 挥发性有机化合物介导细菌与真菌的相互作用

以往的研究表明, ECMF 子实体内共生微生物群落的构建受真菌分类、基因型、地理距离和一些非生物因素的影响^[22,30,55]。鉴于大多数微生物生活在化学物质传输受限的空间环境中, 它们之间的每一个个体通常不能均等地相互作用, 而是与其近邻类群发生最强烈的互作^[56-57]。此时, 挥发性有机化合物在细菌与真菌的互作中显得尤为重要, 但也容易被忽略。

以前人们对物种互作的信息传递中挥发性有机化合物功能的研究主要集中在植物和昆虫之间的相互作用^[58-59]。然而越来越多的研究表明, 微生物也能产生重要的挥发性有机化合物和大量不同类别的次级代谢产物^[58-60]。这些次级代谢物中有一些是可以扩散的分子, 如抗生素、类毒素或信号分子可在 BFIs 中发挥重要作用^[61]。然而截至目前关于真菌与细菌产生挥发性有机化合物的研

究大多是在营养丰富的实验条件下进行的, 与现实环境条件存在一定的差异^[59,62-63]。挥发性有机化合物是指小于 20 个碳原子的化合物, 具有低分子量(100–500 Da)、较高蒸气压、低沸点和亲脂性等特点^[64]。这些特点促进了存在于土壤和根际环境中的挥发性有机化合物通过充满气体和水的孔隙在地面和地下挥发与扩散^[65]。虽然可溶性代谢物通常是在短距离之内发生相互作用^[63], 但挥发性有机化合物被认为是可在复杂环境中进行远距离作用的信号传递分子, 大多数土壤微生物的挥发性有机化合物能在 20 min 内扩散到 12 cm 的距离之外^[58,66]。

关于 ECMF 和 EB 产生的挥发性有机化合物在它们互作中的功能及其作用方面的研究仍比较有限。然而目前已有文献报道 EB 参与了 ECMF 挥发性有机化合物的合成, 在 ECMF 的生长发育、健康和繁殖方面发挥着不可替代的重要作用^[59,62-63,67]。块菌子实体因含有特殊的香气而广受欢迎, 但其子实体自身不能传播孢子, 只能依靠昆虫或哺乳动物进行携带或吞食完成传播^[62]。含硫挥发性有机化合物因其可作为哺乳动物的引诱剂, 有助于昆虫和哺乳动物感知, 在块菌香气中有着不可或缺的核心作用^[63]。已有研究表明, 块菌中的 EB 通过参与合成吸引哺乳动物的含硫挥发性有机化合物, 如噻吩衍生物(Thiophene Derivatives), 可以间接参与块菌孢子的传播, 从而在真菌的生命周期中发挥关键作用^[59,63]。当然, 块菌产生的挥发性有机化合物在抗菌等自卫机制中也尤为出色, 其抗菌作用也被归因于 EB^[67]。最近, Saidi 等^[68]在鸡油菌菌丝体培养实验中分离到 6 株能产生芳香性气味的 EB, 并表明其参与了鸡油菌子实体芳香性气味合成过程。

真菌和细菌共同产生的一些挥发性有机化合物或许是它们互动的介质^[69]。真菌子实体自身及 EB 产生挥发物的化学特性在塑造共生关联中的作用仍然鲜为人知, 但至少明确的是, EB 在参与

ECMF 挥发性有机化合物合成、保卫 ECMF 正常生长的同时, ECMF 也为 EB 的生存提供了理想而稳定的栖息地。

5 宿主及其内生微生物组的研究方法

5.1 网络模型构建研究微生物组

微生物组间的相互作用不仅发生在直接的微生物群落, 也发生在微生物与其宿主之间, 它们已被证明在宿主的生长、发育、新陈代谢、体内平衡和免疫等方面发挥着关键作用^[70-71]。随着网络模型的飞速发展, 微生物组间互作关系的研究得以更好地进行。目前关于构建网络模型较为流行的方法之一就是基于使用相关系数, 如皮尔逊积差相关系数(Pearson's Product-Moment Correlation Coefficient)或斯皮尔曼的非参数秩相关系数(Spearman's Nonparametric Rank Correlation Coefficient), 检测 OTU 间的显著相互作用^[72], 构建相应的网络模型, 对微生物间的关联进行可视化分析。此类网络模型已成功应用于人类肠道微生物组^[72]和土壤微生物组^[73]。例如, Arumugam 等^[72]将网络推理分析成功运用于研究人类肠道微生物群落。McGeachie 等^[74]收集 58 名婴儿的肠道微生物数据, 通过构建动态贝叶斯网络进行可视化分析。Barberán 等^[73]利用网络模型构建方法分析了土壤微生物间的关联。微生物间通过代谢物进行互作的过程也可用网络模型进行构建分析, 在基因组数据中对代谢途径进行注释可获得代谢网络, 并添加 Feist 等拟定的生化数据进行完善^[75], 但目前将此方法运用于分析 ECMF-EB 共生体的研究较为匮乏。网络模型的构建或将有助于分析 ECMF 中复杂 EB 菌群的群落结构、多样性及其功能, 更有利于理解 EB 菌群与宿主的关系及其互作机制, 尤其便于推测或揭示无法培养和无法直接观察发现的 ECMF 与 EB 中的共生关系。

5.2 实验室培养方法的改进促进外生菌根真菌与内生细菌的研究

微生物实验室的传统分离方法已为许多微生

物学和微生物生态学提供了基础知识。此方法不仅简化了生态系统,而且便于识别、追踪和破译微生物种群动态及其分子信号。尽管如此,ECMF 及 EB 的分离仍然面临着巨大的挑战,自然环境条件的模拟尚未完全实现。为保证鸡油菌等 ECMF 菌丝体的分离成功率及其正常生长,培养基成分的制定、添加及改进对其可培养性有着不可或缺的影响。例如, Fries^[76]通过加入酒石酸铵、氯化钠、七水硫酸镁等化学成分配制培养基,并在 Danell 等^[77-78]的改进下,成功分离到鸡油菌等 ECMF 菌丝体。与此同时, Fries^[76]在研究红蜡蘑(*L. laccata*)、毒蝇鹅膏菌(*Amanita muscaria*)和褐疣柄牛肝菌(*Leccinum scabrum*)等 5 种 ECMF 孢子萌发的实验中发现,同时加入活性炭和红酵母菌(*Rhodotorula*)能激发 ECMF 的孢子萌发,形成菌丝体。Nylund 等^[79]在琼脂培养基上补充了几种抗生素,抗生素将真菌与共生细菌隔开 17–53 d 后,成功获得了纯化后的鸡油菌菌丝体。此外,共培养实验的尝试,为更好地研究 ECMF 及 EB 的互作提供了思路。研究表明,鸡油菌菌丝体的纯培养过程中,研究人员使用了多种抗生素抑制污染接种块的 EB,得到的纯菌丝也存在生长速率慢、易老化和死亡等特点^[77-78]。然而, Saidi 等^[68]将鸡油菌接种块放置在 4 种培养基表面生长,发现菌丝体与 EB 共同生长,这种共生模式的建立对维持鸡油菌菌丝体生长有着促进作用。这些研究结果对改进鸡油菌等 ECMF 的培养方法提供了重要依据。研究人员今后应着眼于运用新培养方法鉴定和培养 ECMF 菌丝体及其密切相关的 EB,并尽可能多地增加共培养实验。同时设计和生产复杂的培养基,专门开发广泛的真菌细菌关联物^[80],为更好地研究 ECMF 与 EB 的共生互作提供便利。

5.3 微生物组学方法探究宿主及其微生物群落结构

微生物组(Microbiome)主要指定殖于特定生物生态位的微生物,包括它们的基因组含量和代

谢产物^[81]。现在普遍认为宿主与其微生物群紧密相关,微生物群的生态系统失衡将严重影响宿主^[81]。目前研究宿主相关微生物组的方法主要有以高通量测序技术为检测手段的 16S rRNA 基因序列(古细菌和细菌)或 18S rRNA 基因序列(真核生物),其被确定为稳定的系统发育标记,用以定义样本中存在的物种谱系^[82]。近年来,随着高通量测序技术的不断提高、数据库的不断完善及成本的降低,微生物组学已被广泛用于研究植物的内生真菌或细菌,如刺槐^[83]和杜仲^[84-85]。对于与植物形成共生关系的 ECMF 及其内生微生物组的研究也受到了研究人员的重视,如 Pent 等^[22]使用可培养实验与高通量测序相结合的方法对鸡油菌和褪色红菇(*Russula decolorans*)等 ECMF 的 EB 群落进行了深入分析,发现土壤理化性质和真菌宿主类型影响 EB 群落的组成和结构。Antony-Babu 等^[29]通过高通量测序技术等组学方法结合分析了块菌中细菌群落的结构及功能,并发现这些细菌可能参与块菌的发育、成熟和香气产生等过程。

除基因组学方法外,转录组学在研究微生物从遗传基因到表达代谢等方面也得以发展。转录组学突破了保守标记基因的限制,能够进行基因组重组以获取新的物种信息,主要应用于代谢活性检测和代谢通路表达等研究方面^[86]。目前,已有研究利用转录组学分析 ECMF 子实体的诱导和发育过程及其基因组遗传信息^[87-88]。如左奎^[87]对砖红绒盖牛肝菌(*Xerocomus spadiceus*)无原基形成的菌丝体和有原基形成的菌丝体进行了转录组测序分析,通过差异基因表达分析确定可能参与子实体形成的候选基因,揭示了牛肝菌子实体原基形成的分子机制。刘棒^[88]对远东疣柄牛肝菌(*Leccinum extremiorientale*)和双色牛肝菌(*Boletus bicolor*)比较转录组学进行了分析。对于较为隐匿的 BFIs,利用代谢组学方法也可有效地解析,并鉴别分子互作的化学介质,更好地理解真菌和细菌共生功能体的形成过程^[89-90]。

微生物组学方法的进步、多种组学方法的结合分析以及相应生物信息学技术的辅助揭示了很多出人意料的微生物事件,进一步确定微生物互作过程背后的遗传或分子机制^[91-92],使我们能够逐渐了解这些宿主真菌与其微生物组的生态学功能和进化及它们之间的互作机制,其已成为研究各种共生体中微生物群落的重要工具。

6 展望

近年来,对 BFIs 的研究越来越多,尤其是细菌定植于菌根真菌菌丝及其子实体内,揭开了微生物生态学研究的一个新篇章。随着新研究理论的提出与新技术的不断开发,BFIs 的研究内容与深度逐渐增加,对微生物相互作用下的化学和遗传机制的持续探索,可为操纵和管理微生物群落提供新的工具。未来的研究重点主要有 4 点。

6.1 多途径的综合方法进行真菌-细菌互作研究

在这种不断变化的环境中,不同理论与方法的结合揭示了许多微生物事件的本质,并使我们能够逐渐了解这些微生物的生态学功能和进化及它们之间的相互作用机制。它们之间的联系比之前观察到的更为普遍,但目前对这些独特的共生功能体的深入研究方兴未艾。最近, Gorter 等^[93]提出了驱动微生物群落组成的时间尺度过程,即一个多物种群落间互作进化的概念模型。Castledine 等^[94]通过讨论群落间的联合或混合,提供了微生物互作的另一种观点。他们都强调了考虑生态和进化过程互作的必要性。然而,由于共生物种间的微观规模,其关联间的复杂性质仍未得到探索。因此,除了必须创建及谨慎地检验各种概念、假说和理论之外,也要善于综合应用各种方法进行研究分析。如:对原位微生物群落进行宏基因组分析,用以发现群落组成中存在 BFIs 的共生模式;在实验室操纵管控微生物群落,观察并确定它们互作的过程;转录组学和代谢组学方法识别互作过程中的遗传和分子机制。这些研究成果可大大促进 ECMF 与其相关微生物的研究,

并提高我们对 BFIs 的深入认识和理解^[95-96]。

6.2 细菌促进真菌子实体形成实验模型的建立

虽然 ECMF 的研究已有不少文献,但它们大多集中在提取物抗菌性物质的筛选及药用价值的开发上,而对于可食用 ECMF 与其 EB 的互作研究相对匮乏。最近, Carrasco 等^[97]强调了在 ECMF 等可食用大型真菌种植周期的不同阶段加入相关细菌,实时探究这些细菌对 ECMF 的动态影响,为科研实验室和研发结构在设计子实体诱导、分化和发育及改进栽培方法方面提供了科学依据。左奎^[87]利用改良 PDA 培养基的实验方法获得了砖红绒盖牛肝菌(*Xerocomus spadiceus*)菌丝体,并在试管中成功诱导其子实体原基实现分化。曹旻等^[98]和刘静等^[99]发现在暗褐网柄牛肝菌(*Phlebopus portentosus*)的瓶栽实验模型中,子实体原基的形成取决于是否覆土,因为覆土中的芽孢杆菌属等细菌在抵抗杂菌污染和促进菌丝生长及子实体形成中有着积极影响。鉴于 ECMF 的纯菌丝分离困难,未来对鸡油菌与块菌等 ECMF 中细菌群落的组成和动态及产生挥发性有机化合物的种类和功能的研究可建立原位分析实验,或通过一些新型实验模型和研究技术来模拟创建接近于适合微生物生存的真实生境,对不明 EB 进行标记及挥发性有机化合物进行鉴定,使用分子标记来监测 EB 的空间分布和基因表达,应用功能成像技术研究挥发性有机化合物对目标微生物生长和发育的影响,并分析 ECMF 与 EB 的特异性选择及互作机制,是探讨可食用 ECMF 子实体形成的趋势之一。

6.3 不同学科交叉探索真菌-细菌互作机理

随着现代分子技术、成像功能、原位培养和生物信息技术等方法的突飞猛进,ECMF 与 EB 共生互作下的诸多问题亟待阐明:(1) ECMF 与 EB 如何建立并维持共生体系;(2) EB 通过何种互作机制影响 ECMF 的生长、发育和健康;(3) 微生物共生体如何相互扶持,共同适应快速变化的环

境, 以及未来的进化趋势。伴随着这些问题的提出, 不同学科交叉学习在探索微生物未知问题中尤为重要, 正如发现 BFIs 的生态学实验室可与微生物遗传学或化学实验室合作, 共同探讨细菌的特异性选择、宿主遗传及挥发性有机化合物介导的相互作用机制; 在理清 BFIs 机制的前提下, 可与微生物生态学或宏基因组学实验配合, 模拟自然环境下的互作机制。BFIs 机理的阐明将使其更为广泛地应用于农业、园艺、林业、环境保护、食品加工、生物技术和医疗等方面。

6.4 促进外生菌根真菌子实体形成的内生细菌种质资源库的建立

鉴于环境细菌的很大一部分尚未分离、鉴定和培养, 截至目前, 分离的细菌只能代表 ECMF 中 EB 群落的一小部分。利用非培养技术包括组学方法研究 ECMF 的 EB 群落, 理解丰富的菌种资源、遗传资源及生理活性物质资源。除此之外, 实验室应利用新技术加强模拟可培养 EB 的生存环境, 提高 EB 的菌株多样性, 同时筛选促进子实体形成的 EB, 并对其形态特征和生理活性进行记录, 建立细菌种质资源库, 探讨其对 ECMF 适应性和形态特征的影响, 是提高可食用 ECMF 产量和质量等生态问题的关键之一, 同时也为可食用 ECMF 的微生物多样性和人工栽培注入新活力。

REFERENCES

- [1] Richardson DHS. War in the world of lichens: parasitism and symbiosis as exemplified by lichens and lichenicolous fungi[J]. *Mycological Research*, 1999, 103(6): 641-650
- [2] Douglas AE, Smith DC. Are endosymbioses mutualistic?[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1989, 4(11): 350-352
- [3] Pohjanen J, Koskimäki JJ, Sutela S, Ardanov P, Suorsa M, Niemi K, Sarjala T, Häggman H, Pirttilä AM. Interaction with ectomycorrhizal fungi and endophytic *Methylobacterium* affects nutrient uptake and growth of pine seedlings *in vitro*[J]. *Tree Physiology*, 2014, 34(9): 993-1005
- [4] Brundrett MC. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis[J]. *Plant and Soil*, 2009, 320(1/2): 37-77
- [5] Harley JL, Smith SE. Mycorrhizal symbiosis[J]. *Quarterly Review of Biology*, 2008, 3(3): 273-281
- [6] Zhang CL, Yang FJ, Gui XM, Li XM, Bai CY. Research status and prospect of the *Cantharellus cibarius*[J]. *Tropical Agricultural Science & Technology*, 2010, 33(3): 35-39 (in Chinese)
张传利, 杨发军, 桂雪梅, 李兴明, 白成元. 鸡油菌研究概况与展望[J]. *热带农业科技*, 2010, 33(3): 35-39
- [7] Tong LH, Zhang HG, Yao X. Prospects of exploitation and utilization of ecto-mycorrhiza[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2008, 14(14): 86-89 (in Chinese)
佟丽华, 张红光, 姚鑫. 外生菌根真菌的作用与应用开发前景展望[J]. *安徽农学通报*, 2008, 14(14): 86-89
- [8] Deng X, Song XS, Yin DC, Song RQ. Effect of inoculating *Phialocephala fortinii* D575 and *Suillus luteus* N94 on the growth of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* and its resistant to damping-off[J]. *Forest Pest and Disease*, 2017, 36(1): 21-25 (in Chinese)
邓勋, 宋小双, 尹大川, 宋瑞清. 深色有隔内生真菌与褐环乳牛肝菌双接种对樟子松生长及抗立枯病的影响[J]. *中国森林病虫*, 2017, 36(1): 21-25
- [9] Chen MM, Chen BD, Xu Y, Tian HY, Deng H. Mycorrhizal fungi in bioremediation of petroleum-contaminated soil: a review[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28(6): 1171-1177 (in Chinese)
陈梅梅, 陈保冬, 许毓, 田慧颖, 邓皓. 菌根真菌对石油污染土壤修复作用的研究进展[J]. *生态学杂志*, 2009, 28(6): 1171-1177
- [10] Margulis L, Fester R. Bellagio conference and book. symbiosis as source of evolutionary innovation: speciation and morphogenesis. conference: June 25-30, 1989, bellagio conference center, Italy[J]. *Symbiosis: Philadelphia, Pa*, 1991, 11: 93-101
- [11] Scharnagl K. The scale of symbiosis[J]. *Symbiosis*, 2019, 78(1): 7-17
- [12] Partida-Martínez LP. The fungal holobiont: evidence from early diverging fungi[J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(8): 2919-2923
- [13] Van Elsas JD, Boersma FGH. A review of molecular methods to study the microbiota of soil and the mycosphere[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2011, 47(2): 77-87
- [14] Haq IU, Zhang MZ, Yang P, Van Elsas JD. The interactions of bacteria with fungi in soil[A]//*Advances in Applied Microbiology*[M]. Amsterdam: Elsevier, 2014: 185-215
- [15] Liang ZQ, Han YF, Liang JD, Chen WH, Zhang ZY, Dong CB, Shao QY, Ge W, Liu YX. From intracellular symbiosis to multiscale symbiosis: review and prospect[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(12): 2202-2217 (in Chinese)
梁宗琦, 韩燕峰, 梁建东, 陈万浩, 张芝元, 董醇波, 邵秋雨, 葛伟, 刘宇星. 从细胞内共生到多尺度共生: 回顾

- 与展望[J]. 菌物学报, 2020, 39(12): 2202-2217
- [16] Liu YP, Sun QB, Li J, Lian B. Bacterial diversity among the fruit bodies of ectomycorrhizal and saprophytic fungi and their corresponding hyphosphere soils[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 11672
- [17] Xin ZH. Isolation of *Cantherallus cibarius* by germination of spores[J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 1998, 17(3): 135-139 (in Chinese)
辛智海. 鸡油菌纯培养菌株的孢子分离[J]. 山地农业生物学报, 1998, 17(3): 135-139
- [18] Ohshima S, Sato Y, Fujimura R, Takashima Y, Hamada M, Nishizawa T, Narisawa K, Ohta H. *Mycoavidus cysteinexigens* gen. nov., sp. nov., an endohyphal bacterium isolated from a soil isolate of the fungus *Mortierella elongata*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(5): 2052-2057
- [19] Desirò A, Hao Z, Liber JA, Benucci GMN, Lowry D, Roberson R, Bonito G. *Mycoplasmata*—related endobacteria within Mortierellomycotina fungi: diversity, distribution and functional insights into their lifestyle[J]. The ISME Journal, 2018, 12(7): 1743-1757
- [20] Xavier LJC, Germida JJ. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(3): 471-478
- [21] Long LK, Yao Q, Ai YC, Zhu HH. Advance in researches on bacteria associated with arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(12): 5345-5351 (in Chinese)
龙良鲲, 姚青, 艾云灿, 朱红惠. 丛枝菌根真菌伴生细菌的研究进展[J]. 生态学报, 2007, 27(12): 5345-5351
- [22] Pent M, Põldmaa K, Bahram M. Bacterial communities in boreal forest mushrooms are shaped both by soil parameters and host identity[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 836
- [23] Pent M, Bahram M, Põldmaa K. Fruitbody chemistry underlies the structure of endofungal bacterial communities across fungal guilds and phylogenetic groups[J]. The ISME Journal, 2020, 14(8): 2131-2141
- [24] De Boer W. Upscaling of fungal-bacterial interactions: from the lab to the field[J]. Current Opinion in Microbiology, 2017, 37: 35-41
- [25] Frey-Klett P, Burlinson P, Deveau A, Barret M, Tarkka M, Sarniguet A. Bacterial-fungal interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2011, 75(4): 583-609
- [26] Mosse B. Honey-coloured, sessile *Endogone* spores: II. Changes in fine structure during spore development[J]. Archiv Für Mikrobiologie, 1970, 74(2): 129-145
- [27] Lackner G, Moebius N, Hertweck C. Endofungal bacterium controls its host by an hrp type III secretion system[J]. The ISME Journal, 2011, 5(2): 252-261
- [28] Bertaux J, Schmid M, Prevost-Boure NC, Churin JL, Hartmann A, Garbaye J, Frey-Klett P. *In situ* identification of intracellular bacteria related to *Paenibacillus* spp. in the mycelium of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(7): 4243-4248
- [29] Antony-Babu S, Deveau A, Van Nostrand JD, Zhou JZ, Le Tacon F, Robin C, Frey-Klett P, Uroz S. Black truffle-associated bacterial communities during the development and maturation of *Tuber melanosporum* ascocarps and putative functional roles[J]. Environmental Microbiology, 2014, 16(9): 2831-2847
- [30] Benucci GMN, Bonito GM. The truffle microbiome: species and geography effects on bacteria associated with fruiting bodies of *Hypogeous pezizales*[J]. Microbial Ecology, 2016, 72(1): 4-8
- [31] Nazir R, Zhang MZ, De Boer W, Van Elsas JD. The capacity to comigrate with *Lyophyllum* sp. strain *Karsten* through different soils is spread among several phylogenetic groups within the genus *Burkholderia*[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 50: 221-233
- [32] Fontaine L, Thiffault N, Paré D, Fortin JA, Piché Y. Phosphate-solubilizing bacteria isolated from ectomycorrhizal mycelium of *Picea glauca* are highly efficient at fluorapatite weathering[J]. Botany, 2016, 94(12): 1183-1193
- [33] Warmink JA, Nazir R, Corten B, Van Elsas JD. Hitchhikers on the fungal highway: the helper effect for bacterial migration via fungal hyphae[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(4): 760-765
- [34] Boersma FG, Warmink JA, Andreote FA, Van Elsas JD. Selection of *Sphingomonadaceae* at the base of *Laccaria proxima* and *Russula exalbicans* fruiting bodies[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(7): 1979-1989
- [35] Barbieri E, Bertini L, Rossi I, Ceccaroli P, Saltarelli R, Guidi C, Zambonelli A, Stocchi V. New evidence for bacterial diversity in the ascoma of the ectomycorrhizal fungus *Tuber borchii* Vittad[J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, 247(1): 23-35
- [36] Hildebrandt U, Janetta K, Bothe H. Towards growth of arbuscular mycorrhizal fungi independent of a plant host[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(4): 1919-1924
- [37] Silva LP, Northen TR. Exometabolomics and MSI: deconstructing how cells interact to transform their small molecule environment[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2015, 34: 209-216
- [38] Song RQ, Deng X, Song XS. Progress of researches on interaction mechanism between ectomycorrhizal fungi and mycorrhizal helper bacteria[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2016, 38(4): 379-384 (in Chinese)
宋瑞清, 邓勋, 宋小双. 菌根辅助细菌与外生菌根菌互作机制研究进展[J]. 吉林农业大学学报, 2016, 38(4): 379-384

- [39] Duponnois R, Garbaye J. Some mechanisms involved in growth stimulation of ectomycorrhizal fungi by bacteria[J]. Canadian Journal of Botany, 1990, 68(10): 2148-2152
- [40] Partida-Martinez LP, Hertweck C. Pathogenic fungus harbours endosymbiotic bacteria for toxin production[J]. Nature, 2005, 437(7060): 884-888
- [41] Rangel-Castro IJ, Danell E, Taylor AF. Use of different nitrogen sources by the edible ectomycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius*[J]. Mycorrhiza, 2002, 12(3): 131-137
- [42] Douglas AE. The microbial exometabolome: ecological resource and architect of microbial communities[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences, 2020, 375(1798): 20190250
- [43] Salvioli A, Ghignone S, Novero M, Navazio L, Venice F, Bagnaresi P, Bonfante P. Symbiosis with an endobacterium increases the fitness of a mycorrhizal fungus, raising its bioenergetic potential[J]. The ISME Journal, 2016, 10(1): 130-144
- [44] Schulz-Bohm K, Tyc O, De Boer W, Peereboom N, Debets F, Zaagman N, Janssens TKS, Garbeva P. Fungus-associated bacteriome in charge of their host behavior[J]. Fungal Genetics and Biology, 2017, 102: 38-48
- [45] Li Q, Li XL, Chen C, Li SH, Huang WL, Xiong C, Jin X, Zheng LY. Analysis of bacterial diversity and communities associated with *Tricholoma matsutake* fruiting bodies by barcoded pyrosequencing in Sichuan Province, southwest China[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 26(1): 89-98
- [46] Kataoka R, Taniguchi T, Futai K. Fungal selectivity of two mycorrhiza helper bacteria on five mycorrhizal fungi associated with *Pinus thunbergii*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(10): 1815-1819
- [47] Kataoka R, Futai K. A new mycorrhizal helper bacterium, *Ralstonia* species, in the ectomycorrhizal symbiosis between *Pinus thunbergii* and *Suillus granulatus*[J]. Biology and Fertility of Soils, 2009, 45(3): 315-320
- [48] Sheng JM, Wu XQ, Hou LL, Ying CX. Isolation and identification of a MHB strain from the rhizosphere soil of *Pinus thunbergii* inoculated with *Boletus edulis*[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2010, 16(5): 701-704 (in Chinese)
盛江梅, 吴小芹, 侯亮亮, 应晨希. 一株黑松-美味牛肝菌菌根辅助细菌的筛选及鉴定[J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(5): 701-704
- [49] Partida-Martinez LP, Monajembashi S, Greulich KO, Hertweck C. Endosymbiont-dependent host reproduction maintains bacterial-fungal mutualism[J]. Current Biology, 2007, 17(9): 773-777
- [50] Sakamoto Y. Influences of environmental factors on fruiting body induction, development and maturation in mushroom-forming fungi[J]. Fungal Biology Reviews, 2018, 32(4): 236-248
- [51] Kumari D, Reddy MS, Upadhyay RC. Diversity of cultivable bacteria associated with fruiting bodies of wild Himalayan *Cantharellus* spp.[J]. Annals of Microbiology, 2013, 63(3): 845-853
- [52] Bedini S, Bagnoli G, Sbrana C, Leporini C. Pseudomonads isolated from within fruit bodies of *Tuber borchii* are capable of producing biological control or phytostimulatory compounds in pure culture[J]. Symbiosis, 1999, 26(3): 223-236
- [53] Barbieri E, Ceccaroli P, Saltarelli R, Guidi C, Potenza L, Basaglia M, Fontana F, Baldan E, Casella S, Ryahi O, et al. New evidence for nitrogen fixation within the Italian white truffle *Tuber magnatum*[J]. Fungal Biology, 2010, 114(11/12): 936-942
- [54] Itakura M, Saeki K, Omori H, Yokoyama T, Kaneko T, Tabata S, Ohwada T, Tajima S, Uchiumi T, Honnma K, et al. Genomic comparison of *Bradyrhizobium japonicum* strains with different symbiotic nitrogen-fixing capabilities and other Bradyrhizobiaceae members[J]. The ISME Journal, 2009, 3(3): 326-339
- [55] Rinta-Kanto JM, Pehkonen K, Sinkko H, Tamminen MV, Timonen S. Archaea are prominent members of the prokaryotic communities colonizing common forest mushrooms[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2018, 64(10): 716-726
- [56] Bar-On YM, Milo R. Towards a quantitative view of the global ubiquity of biofilms[J]. Nature Reviews Microbiology, 2019, 17(4): 199-200
- [57] Dal Co A, Van Vliet S, Kiviet DJ, Schlegel S, Ackermann M. Short-range interactions govern the dynamics and functions of microbial communities[J]. Nature Ecology & Evolution, 2020, 4(3): 366-375
- [58] Schulz-Bohm K, Martín-Sánchez L, Garbeva P. Microbial volatiles: small molecules with an important role in intra- and inter-kingdom interactions[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2484
- [59] Splivallo R, Deveau A, Valdez N, Kirchhoff N, Frey-Klett P, Karlovsky P. Bacteria associated with truffle-fruiting bodies contribute to truffle aroma[J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(8): 2647-2660
- [60] Werner S, Polle A, Brinkmann N. Belowground communication: impacts of volatile organic compounds (VOCs) from soil fungi on other soil-inhabiting organisms[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(20): 8651-8665
- [61] Tyc, Song CX, Dickschat JS, Vos M, Garbeva P. The ecological role of volatile and soluble secondary metabolites produced by soil bacteria[J]. Trends in Microbiology, 2017, 25(4): 280-292
- [62] Schmidt R, De Jager V, Zühlke D, Wolff C, Bernhardt J, Cankar K, Beekwilder J, Van Ijcken W, Sleutels F, De Boer W, et al. Fungal volatile compounds induce production of the secondary metabolite Sodorifen in *Serratia plymuthica* PRI-2C[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 862
- [63] Splivallo R, Ottonello S, Mello A, Karlovsky P. Truffle

- volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis[J]. *The New Phytologist*, 2011, 189(3): 688-699
- [64] Caulier S, Nannan C, Gillis A, Licciardi F, Bragard C, Mahillon J. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 302
- [65] Vespermann A, Kai M, Piechulla B. Rhizobacterial volatiles affect the growth of fungi and *Arabidopsis thaliana*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(17): 5639-5641
- [66] Schulz-Bohm K, Gerards S, Hundscheid M, Melenhorst J, De Boer W, Garbeva P. Calling from distance: attraction of soil bacteria by plant root volatiles[J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(5): 1252-1262
- [67] Kanchiswamy CN, Malnoy M, Maffei ME. Bioprospecting bacterial and fungal volatiles for sustainable agriculture[J]. *Trends in Plant Science*, 2015, 20(4): 206-211
- [68] Saidi N, Deshaware S, Romdhane IB, Nadim M, Shamekh S. Endogenous starter bacteria associated to chanterelle mycelia enhance aroma, color and growth of mycelia[J]. *International Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2016, 3(9): 58-65
- [69] Hooper LV, Littman DR, MacPherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system[J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1268-1273
- [70] Thaïss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. The microbiome and innate immunity[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 65-74
- [71] Layeghifard M, Hwang DM, Guttman DS. Disentangling interactions in the microbiome: a network perspective[J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(3): 217-228
- [72] Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto JM, et al. Enterotypes of the human gut microbiome[J]. *Nature*, 2011, 473(7346): 174-180
- [73] Barberán A, Bates ST, Casamayor EO, Fierer N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 343-351
- [74] McGeachie MJ, Sordillo JE, Gibson T, Weinstock GM, Liu YY, Gold DR, Weiss ST, Litonjua A. Longitudinal prediction of the infant gut microbiome with dynamic Bayesian networks[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 20359
- [75] Feist AM, Herrgård MJ, Thiele I, Reed JL, Palsson BØ. Reconstruction of biochemical networks in microorganisms[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(2): 129-143
- [76] Fries N. Basidiospore germination in some mycorrhiza-forming hymenomycetes[J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1978, 70(3): 319-324
- [77] Danell E, Alström S, Ternström A. *Pseudomonas fluorescens* in association with fruit bodies of the ectomycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius*[J]. *Mycological Research*, 1993, 97(9): 1148-1152
- [78] Danell E. Formation and growth of the ectomycorrhiza of *Cantharellus cibarius*[J]. *Mycorrhiza*, 1994, 5(2): 89-97
- [79] Nylund JE, Unestam T. Structure and physiology of ectomycorrhizae[J]. *New Phytologist*, 1982, 91(1): 63-79
- [80] Hartman WH, Ye RZ, Horwath WR, Tringe SG. A genomic perspective on stoichiometric regulation of soil carbon cycling[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(12): 2652-2665
- [81] Chong J, Liu P, Zhou GY, Xia JG. Using MicrobiomeAnalyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data[J]. *Nature Protocols*, 2020, 15(3): 799-821
- [82] Pace NR. A molecular view of microbial diversity and the biosphere[J]. *Science*, 1997, 276(5313): 734-740
- [83] Zheng H, Zhang ZY, Han YF, Chen WH, Liang ZQ. Community composition and ecological functional structural analysis of the endophytic fungi in *Robinia pseudoacacia*[J]. *Mycosystema*, 2018, 37(2): 256-263 (in Chinese)
- 郑欢, 张芝元, 韩燕峰, 陈万浩, 梁宗琦. 刺槐内生真菌群落组成及其生态功能结构分析[J]. *菌物学报*, 2018, 37(2): 256-263
- [84] Yang J, Dong CB, Chen WH, Liang JD, Han YF, Liang ZQ. Community composition and ecological functional structural analysis of endophytic fungi in bark of *Eucommia ulmoides* in different areas[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, 44(6): 1126-1134 (in Chinese)
- 杨娟, 董醇波, 陈万浩, 梁建东, 韩燕峰, 梁宗琦. 不同地区杜仲树皮内生真菌群落组成及生态功能结构的差异分析[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(6): 1126-1134
- [85] Dong CB, Yao T, Zhang ZY, Chen WH, Liang JD, Han YF, Huang JZ, Deshmukh SK, Liang ZQ. Structure and function of bacterial microbiota in *Eucommia ulmoides* bark[J]. *Current Microbiology*, 2020, 77(11): 3623-3632
- [86] Maus I, Koeck DE, Cibis KG, Hahnke S, Kim YS, Langer T, Kreubel J, Erhard M, Bremges A, Off S, et al. Unraveling the microbiome of a thermophilic biogas plant by metagenome and metatranscriptome analysis complemented by characterization of bacterial and archaeal isolates[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2016, 9: 171
- [87] Zuo K. Cultivation and preliminary analysis of transcriptome differences with and without test-tube fruit body primordium on *Xerocomus spadiceus*[D]. Kunming: Master's Thesis of Yunnan University, 2016 (in Chinese)
- 左奎. 砖红绒盖牛肝菌子实体原基培养及原基有无的转录组差异初步分析[D]. 昆明: 云南大学硕士学位论文, 2016
- [88] Liu B. Comparative transcriptomics analysis of *Leccinum extremiorientale* and *Boletus bicolor*[D]. Kunming: Master's Thesis of Kunming University of Science and Technology, 2015 (in Chinese)
- 刘棒. 远东疣柄牛肝菌与双色牛肝菌比较转录组学研究[D]. 昆明: 昆明理工大学硕士学位论文, 2015

- [89] Okada BK, Seyedsayamdost MR. Antibiotic dialogues: induction of silent biosynthetic gene clusters by exogenous small molecules[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, 41(1): 19-33
- [90] Shank EA. Considering the lives of microbes in microbial communities[J]. mSystems, 2018, 3(2): e00155-e00117
- [91] Jumpstart Consortium Human Microbiome Project Data Generation Working Group. Evaluation of 16S rDNA-based community profiling for human microbiome research[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39315. DOI: 10.1371/journal.pone.0039315
- [92] Shokralla S, Spall JL, Gibson JF, Hajibabaei M. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research[J]. Molecular Ecology, 2012, 21(8): 1794-1805
- [93] Gorter FA, Manhart M, Ackermann M. Understanding the evolution of interspecies interactions in microbial communities[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences, 2020, 375(1798): 20190256
- [94] Castledine M, Sierocinski P, Padfield D, Buckling A. Community coalescence: an eco-evolutionary perspective[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences, 2020, 375(1798): 20190252
- [95] Berruti A, Lumini E, Balestrini R, Bianciotto V. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 1559
- [96] Cosetta CM, Wolfe BE. Causes and consequences of biotic interactions within microbiomes[J]. Current Opinion in Microbiology, 2019, 50: 35-41
- [97] Carrasco J, Preston GM. Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(3): 858-872
- [98] Cao Y, Ji KP, Liu J, Zhang CX, He MX, Wang WB. Effect of casing on fruiting of *Phlebopus portentosus* in bottle culture[J]. Acta Edulis Fungi, 2010, 17(3): 29-32,91 (in Chinese)
曹旻, 纪开萍, 刘静, 张春霞, 何明霞, 王文兵. 瓶栽条件下覆土方法对暗褐网柄牛肝菌子实体生长的影响[J]. 食用菌学报, 2010, 17(3): 29-32,91
- [99] Liu J, Wang WB, Ji KP, Zhang CX, He MX. Effect of bacteria in the casing soil for fruit of *Phlebopus portentosus*[J]. Microbiology China, 2012, 39(11): 1622-1628 (in Chinese)
刘静, 王文兵, 纪开萍, 张春霞, 何明霞. 覆土层中细菌对暗褐网柄牛肝菌子实体生长的影响[J]. 微生物学通报, 2012, 39(11): 1622-1628