

植物菌根共生中的激素调控作用研究进展

阎波, 陈娟*, 郭顺星*

中国医学科学院, 北京协和医学院药用植物研究所, 北京100193

摘要: 菌根是土壤真菌与高等植物的根系形成的一种互惠共生体, 它是自然界最古老且普遍的生物共生现象之一, 在维持生态系统平衡中扮演着重要的角色。激素在植物生长发育乃至菌根共生过程中发挥重要作用。近年来, 大量的研究结果表明激素尤其是赤霉素(GAs)和脱落酸(ABA)是菌根共生过程中不可缺少的因子。本文总结了近5年来相关的文献, 综述了激素在菌根共生过程中的调控作用, 为进一步理解激素与菌根共生之间的关系提供参考。

关键词: 菌根; 赤霉素; 脱落酸; 互作机制

真菌是自然界中典型的异养生物, 植物是其主要的营养来源。地球上90%的有胚植物都能与真菌形成菌根共生关系(Smith和Read 2008)。通过这种共生关系, 真菌不仅从植物中获取生存必需的营养物质, 而且能促进植物的生长发育, 提高植物对环境胁迫的抵抗能力。因此, 植物与真菌共生对于维持自然生态系统的平衡和稳定有着重要作用。

无论是内生菌根还是外生菌根, 菌根共生关系形成的第一步便是真菌与宿主植物二者间的相互感知和识别; 随后, 真菌与宿主植物接触、侵入并在植物细胞内(内生菌根)或细胞间(外生菌根)定殖, 形成共生结构丛枝(arbuscules)、泡囊(丛枝菌根: arbuscular mycorrhiza, AM)或哈氏网(外生菌根), 进而在共生界面发生营养交换。大量的研究证明, 在AM共生关系形成的早期信号转导通路中, 共生型受体蛋白激酶(symbiosis receptor-like protein kinase, SYMRK)、离子通道(ion channel)蛋白和钙/钙调依赖性蛋白激酶(calcium and calmodulin-dependent protein kinase, CCaMK)协同调控真菌侵入宿主细胞, 在菌根真菌定殖的早期阶段发挥重要作用(朱先灿和宋凤斌2008)。在菌根共生信号转导过程中, 植物激素尤其是赤霉素(gibberellins, GAs)信号转导途径被证实在菌根早期共生中发挥至关重要的作用, 如GAs信号转导途径中的重要调节蛋白DELLA蛋白突变会导致水稻不能形成菌根(Yu等2014)。近年来, 关于激素在菌根共生体形成过程中的关键作用的研究取得了突破性的进展, 本文将从激素的种类、生物合成、信号转导及其与菌根共生的关系等几个方面来论述激素在菌根共生中的调控作用。

1 参与菌根形成的植物激素种类

植物激素是指植物体自身合成的痕量小分子有机化合物, 在其合成部位或运输到其他部位产生生理效应, 对植物的生长发育具有重要的调节作用。植物激素参与细胞的分裂、分化、生长、死亡等多个生理过程, 进而调控植物的形态、种子萌发、开花周期、叶片衰老、果实成熟等。植物内源激素平衡状况对植物生长发育意义重大, 菌根真菌促进植物生根、提高幼苗移栽成活率和抗旱性, 往往是因其改变了宿主内源激素的平衡状况和酶活性。菌根真菌侵染宿主植物根系并建立共生关系的过程中直接或诱导合成多种激素(Pieterse等2009): GAs、生长素(auxins)、细胞分裂素(cytokines, CTKs)、乙烯(ethylene)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、油菜素内酯(brassinosteroid, BR)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)、独脚金内酯(strigolactones, SLs)等。这些激素相互作用组成一个复杂的网络系统, 共同调控植物的生长发育。

1.1 生长素

生长素是最早被发现, 在植物的生长发育中最重要的一类生理活性物质。植物体内主要的生长素是吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA), 通常存在于植物的根尖、茎尖、嫩叶、正在发育的种子和果实等分裂和生长代谢旺盛的组织中, 其主要生理作用包括促进侧根和不定根的形成; 促进胚

收稿 2016-11-11 修订 2017-03-27

资助 国家自然科学基金(81573527和81573526)、药植所创新团队发展计划(PIRT1-IT1302)和中央公益性科研院所基本科研业务费专项(YZ-12-14)。

* 共同通讯作者(E-mail: kibchenjuan@126.com; sxguo-1986@163.com)。

芽鞘和茎的生长, 抑制根的生长, 维持顶端优势; 诱导单性结实, 植物的生根, 作为除草剂等。生长素应用在药用植物育苗上, 在适宜生长素浓度下, 外源施加IAA对3个铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)良种高位腋芽的萌发均有显著的效果, 并且利用生长素对铁皮石斛进行育苗, 不仅苗量大, 周期短, 操作便捷, 且所育种苗从外观以及内含物质上均完全符合《中国药典》的要求, 未发生变种现象(刘穗金等2013)。而生长素在植物体内的合成有着复杂的机制, 目前的研究显示IAA的生物合成有多条途径, 主要分为依赖色氨酸和非依赖色氨酸两条途径(Cohen等2003)。依据IAA合成过程中的主要中间产物, 依赖色氨酸的生物合成过程通常又划分为4条支路: 吲哚乙醛肟途径、色胺途径、吲哚乙酰胺途径和吲哚丙酮酸途径(Lehmann等2010); 而由于克隆到的非依赖色氨酸合成途径相关基因较少, 对该途径的认识尚不清楚。

1.2 GAs

GAs广泛存在于植物、真菌和细菌中, 参与调控植物生长发育的各个阶段, 如种子萌发、茎的伸长、叶的生长、花果发育等。GAs在生物体内一般以游离和结合型两种形态存在, 分别被命名为 GA_1 ~ GA_n , 其中, 仅 GA_3 和 GA_4 具有生物活性, 常作为GAs的代表物。目前GAs的生物合成途径和信号转导途径已被人们知晓, GAs生物合成前体是牻牛儿基焦磷酸(geranylgeranyl diphosphate, GGDP), 从GGDP到合成具有生物活性的GAs共需3类酶的参与: 萜烯合成酶(terpene synthases, TPSs)、细胞色素P450单加氧酶(cytochrome P450 monooxygenases, P450s)和2-酮戊二酸依赖的双加氧酶(2-oxoglutarate-dependent dioxygenases, 2ODDs)(岳川等2012)。在植物中GAs生物合成共需要3个阶段: 在其合成第一阶段的古巴焦磷酸合酶(copalyl pyrophosphate synthase, CPS)基因是GAs生物合成途径正式开始的第一个关键酶基因, 若CPS发生完全突变, 植物不能产生任何GAs, 种子不能萌发; 第二个关键酶基因是对映-贝壳杉烯合酶(*ent*-kaurene synthase, KS); 编码对映-贝壳杉烯氧化酶(*ent*-kaurene oxidase, KO)和对映-贝壳杉烯酸氧化酶(*ent*-kaurenoic acid oxidase, KAO)的基因是GAs合成第二阶段的关键基因(张迎迎和何祖

华2010)。GA20氧化酶(GA 20-oxidase, GA20ox)和GA3氧化酶(GA 3-oxidases, GA3ox)则在GAs合成的第三阶段发挥重要作用, 最终合成具有生物活性的GAs分子(张迎迎和何祖华2010)。在接种AM真菌的番茄(*Solanum lycopersicum*)根中发现, 与GAs生物合成相关的基因上调表达; 并且, 与非共生的番茄根相比, GAs生物合成在番茄菌根中主要通过13-羟基化途径来完成(Martín-Rodríguez等2014)。

GAs信号转导通路主要包括受体、DELLA蛋白以及其他调控因子(李强等2014)。活性GAs分子与GAs受体(GID1)结合并感知GAs信号, 将信号传递至DELLA蛋白, DELLA蛋白对GAs信号转导起负调控作用, 消除DELLA蛋白的抑制作用有两条途径: 一是依赖于F-box蛋白的泛素-蛋白酶体途径; 二是不依赖于F-box蛋白, 形成稳定的GA-GID1-DELLA复合体来降低植物体内游离的DELLA蛋白含量(李强等2014)。

1.3 ABA

当植物受到生物或非生物胁迫时, ABA发挥重要的调节作用(Wimalasekera等2015)。ABA最经典的作用是在干旱胁迫下, 通过增加ABA的生物合成提高植物抵抗逆境的能力, 并且这种应答机制在维管植物、非维管植物和苔藓植物中普遍存在(Takezawa等2015)。在高等植物中, ABA的生物合成有两条途径: C_{15} 直接途径和 C_{40} 间接途径: C_{15} 直接途径的合成前体是甲瓦龙酸(mevalonic acid, MVA), 经 C_{15} 的法呢焦磷酸(farnesyl pyrophosphate, FPP)直接形成ABA; 而 C_{40} 间接途径通常为合成途径, 参与该途径的重要的酶有玉米黄质环氧化酶(zeaxanthin epoxidase, ZEP)、9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶(9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase, NCED)、醛氧化酶(aldehyde oxidase, AO)等(李长宁 2012)。

1.4 CTKs

CTKs是一类腺嘌呤衍生物, 其主要合成部位在根尖、茎端、发育中的果实、萌发的种子等。CTKs是调节植物生长和发育的重要信号分子, 包括胚胎发生、维管束发育、调节根伸长、侧根数量、根瘤形成等(Osugi和Sakakibara 2015)。CTKs的生物合成基本可分为tRNA途径和从头合成途

径;一般认为,高等植物的CTKs主要是从头直接合成的,生物合成最关键的一步是由重要的限速酶异戊烯基转移酶(isopentenyl transferase, IPT)催化的二甲基丙烯基二磷酸(dimethyl allyl diphosphate, DMAPP)与腺苷酸(adenosine monophosphate, AMP)发生缩合反应,并形成有活性的CTK——异戊烯基腺苷-5'-磷酸(isopentenyladenosine-5'-monophosphate, iPMP) (Taya等1978)。目前的研究认为,CTKs信号转导是通过磷酸基团在一个二元组分系统之间的系列传递而完成的,该过程被称之为“磷酸接力传递”(phosphorelay) (邓岩等2006)。CTKs可通过复杂的网络系统来调控植物的生长发育,但是如何实行特定的生理功能还有待研究。

1.5 乙烯

乙烯是一种特殊的气体类激素,调控植物生长发育多个过程,包括种子萌发、幼苗生长、开花、结实、成熟、衰老等。研究发现,当植物遭受逆境胁迫时可诱导植物体内乙烯含量的升高,并且在干旱条件下乙烯还可调节氮的固定,增加植物抗性(Larrainzar等2014)。因此,可以认为乙烯在植物的耐受性和抗性中发挥重要作用。地球上几乎所有的植物都能产生乙烯,乙烯的生物合成途径大致可以分为3个过程:首先,由甲硫氨酸在S-腺苷甲硫氨酸合成酶(S-adenosylmethionine synthetase, SAMS)催化下变成S-腺苷甲硫氨酸(SAM),然后SAM在ACC合酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase, ACS)的催化下产生氨基环丙烷羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)和5'-甲硫腺苷,最后ACC在ACC氧化酶(ACC oxidase, ACO)催化下产生乙烯(Bleecker和Kende 2000)。其中ACS是乙烯生物合成的关键酶和限速酶,对ACS基因家族特异性表达的调控可响应于多种内外源因素对乙烯生物合成的影响(Xu和Zhang 2015)。

2 菌根共生形成过程

菌根即土壤真菌与植物根系形成的互惠共生体,在生物界中广泛存在。根据参与共生的真菌和宿主植物种类及形成共生体的特点,菌根可分为AM、外生菌根、内外生菌根、浆果鹃类菌根、水晶兰类菌根、欧石楠类菌根、兰科菌根七种类型(Smith和Read 2008)。在整个生态系统中,

菌根作为最重要的互惠共生体,在调节植物生长发育、提高繁殖力、增强植物的抗病性、维持生态系统的稳定性等方面发挥着直接或间接的重要作用。

菌根真菌可以和大多数的高等植物建立共生关系,其中最为常见的是AM,其应用最广、研究最多。AM的形成需宿主植物根部与土壤中的菌根真菌进行一系列的信号识别、交换和转导过程,从而激活植物和菌根真菌某些基因的表达并调控植物生长发育各个过程。Kosuta等(2003)发现,在AM真菌侵染植物根部之前,AM真菌可产生一种信号分子如菌根形成因子(Myc factor),诱导宿主植物基因表达,并对寄主植物产生诱导性的反应。同时植物也会分泌一种植物激素——SLs诱导菌根真菌分枝,菌根真菌也会分泌脂质几丁寡糖促进两者菌根共生体的形成(尚赏等2011);AM真菌侵染宿主植物根系后,菌丝在皮层细胞间和细胞内延伸分化,形成典型的泡囊(vesicles)和丛枝结构。AM真菌主要通过根外菌丝从土壤中吸收多种矿质养分并转运给植物。

多数温带树木能够与土壤中的外生菌根真菌互惠共生形成独特的外生菌根,外生菌根是生态系统重要的组成部分,在生态系统演替、维持生态平衡和保护生物多样性方面同样有着不可替代的作用。外生菌根真菌可产生激素,如IAA、GAs、ABA、CTKs等(Morrison等2015)。

兰科(Orchidaceae)植物广泛分布在全球,包括许多名贵药材和花卉。兰科植物种子细小如尘,自然条件下萌发率极低,必须与合适的真菌建立共生关系才能萌发。兰科菌根是继AM和外生菌根之后的第三大菌根类型,目前,有关兰科菌根共生的研究主要集中在兰科菌根真菌多样性、分布、专一性的调查上。随着分子生物学的发展,近年来,兰科菌根共生的分子机理的研究也有陆续报道。

3 激素在菌根共生形成过程中的调控作用

植物激素在植物与微生物相互作用过程中扮演着重要角色。菌根真菌侵染宿主植物根系后,可通过影响宿主植物内源激素含量、改变其平衡状况来应对环境的变化。将番茄幼苗接种5种AM真菌,一段时间后,应用间接酶联免疫吸附分析法

(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定出番茄植株根和叶片内源激素IAA、GAs、ABA和玉米素核苷(zeatin riboside, ZR)的含量均有增加(于建新等2010)。但是,植物体激素含量的增加是AM真菌诱发植物产生的还是AM自身产生的,或者二者皆有,尚需结合分子生物学等技术来验证。以下分别论述几种重要激素在菌根形成过程中的调控作用。

3.1 GAs与菌根的形成

在AM菌丝分枝和定殖过程中GAs信号转导起到重要作用。当用低浓度的GAs处理宿主植物根部时,虽能形成丛枝状菌根但菌丝分枝和定殖程度受到一定的抑制,而高浓度的GAs处理减少菌丝进入宿主植物并且不能形成菌根结构(Takeda等2015)。因此,选择合适的GAs浓度范围对AM真菌侵入和定殖是非常关键的。GAs在AM真菌侵染过程中具多重作用:一方面,外源施加GAs抑制AM菌丝进入到宿主根部并且抑制菌丝侵入和丛枝形成相关基因的表达;另一方面抑制GAs生物合成或者抑制GAs信号转导都会影响宿主植物中AM的发育(Takeda等2015)。

GAs一直被认为是菌根共生关系建立的负调控因子(Floss等2013)。DELLA蛋白是GAs信号转导途径的阻遏物,其泛素化降解是GAs信号转导的关键(张迎迎和何祖华2010)。DELLA蛋白可调控蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*) (Floss等2013)、水稻(*Oryza sativa*) (Yu等2014)、豌豆(*Pisum sativum*) (Foo等2013)等植物菌根的形成。在粳稻(*O. sativa* ssp. *japonica*)品种‘中花11’根部接种AM真菌*Rhizophagus irregularis*后,分别用0.1、1、10和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的GA₃处理,发现在0.1和1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的GA₃条件下菌根真菌定殖严重受损,在10和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA₃条件下菌根真菌定殖完全受到抑制,这就意味着在植物与菌根共生关系的建立过程中GAs发挥负调控作用;实验进一步证明,在水稻AM形成过程中,SLR1(水稻中DELLA蛋白同源物)是连接GAs水平与AM真菌定殖的纽带,但GAs促进SLR1降解,这也解释了为什么GAs处理对AM形成负调控作用(Yu等2014)。Floss等(2013)认为,DELLA蛋白可以通过共生信号通路(symbiosis signaling pathway, SSP)来调控AM共生体的形成进而

调节植物的营养状况和生长发育。因此,从目前的研究可以确定,DELLA蛋白是AM形成的积极调控者,并且是AM形成多条信号通路的核心因子(Pimprikar等2016),但确切的机制仍有待研究。至于DELLA蛋白在外生菌根、兰科菌根等其他类型的菌根形成过程中的作用是否与AM形成有同样的作用尚不清楚。

在百脉根(*Lotus corniculatus*)根部接种AM真菌后,植物激素GAs在植株根部积累并作用于AM真菌,转录组分析显示,GAs生物合成基因(*GA20ox1*和*GA20ox2*)和代谢基因(*GA20ox1*)在根组织细胞中上调表达,进而提高细胞内GAs浓度并直接作用于AM菌丝发育;当外源施加活性GA₃和GA₃生物合成抑制剂(烯效唑)时,菌丝分枝减少,这意味着GA₃生物合成在AM发育过程中发挥重要作用(Takeda等2015)。因此,GAs不仅仅是AM真菌侵染的一个负调控因子,同时GAs信号转导对菌根共生应答和宿主植物根部菌丝定殖过程中发挥积极的调控作用。

3.2 ABA与菌根的形成

长期以来,ABA一直被当作逆境胁迫下的应激激素,其在AM或豆科(Fabaceae)根瘤上的重要作用常常被忽视。通过对模式植物番茄的研究表明,ABA是植物与微生物产生相互作用的关键介质,用外源ABA处理接种AM真菌的番茄植株,发现与无ABA处理的对照组相比,植株根部被AM真菌侵染的速度高10% (Stec等2016)。与GA类似,ABA同样存在浓度的双重效应,用低浓度ABA处理蒺藜苜蓿可促进植物根部AM真菌的定殖,高浓度下降低AM菌丝分枝数量(Charpentier等2014)。在干旱胁迫和恢复过程中,接种AM真菌的植物能够更好更快地调节植物体内的ABA水平(Aroca等2008)。一般情况下,ABA在AM真菌定殖过程中起正调节作用,而在豆科植物-根瘤菌共生系统(legume-rhizobia symbiosis, LRS)中表现为负调节;值得注意的是,AM和LRS具有一个共同的信号转导通路,这就意味着ABA对特定的共生信号通路有着不同的应答机制(Stec等2016)。

3.3 生长素与菌根的形成

生长素与菌根共生的关系主要在外生菌根的研究中有报道。外生菌根真菌与树的根部共生体

形成的早期阶段是伴随着侧根发育的。研究表明,在杨树(*Populus tremula*)与真菌双色蜡蘑(*Laccaria bicolor*)形成外生菌根的早期阶段,杨树的侧根数量明显增加,植物根尖生长素积累效果明显,实验进一步发现其作用机制包括依赖PtaPIN9的生长素再分配和基于PtaIAA的生长素信号转导通路,因此可以认为,菌根真菌诱导植物根尖生长素的积累进而促进侧根的形成(Felten等2009)。

植物GH3 (*Gretchen Hagen 3*)基因家族参与调节IAA的动态平衡,在植物生长发育和抗逆性方面具有重要作用(Chen等2013)。以番茄为例,6个GH3基因对外源IAA均可作出应答,并且其中3个基因在AM共生期间显著上调,表明菌根信号通路不是独立于生长素信号转导途径,而是菌根和生长素共同激活GH3基因进而调节植物生长发育进程(Liao等2014)。

3.4 乙烯与菌根的形成

乙烯对豆科根瘤形成有着复杂的调控机制。早期研究显示,乙烯对根瘤形成有抑制作用(Lee和LaRue 1992), Foo等(2016)运用乙烯不敏感突变体*ein2* (*ethylene-insensitive*)来研究豆科根瘤形成与乙烯间的关系,*ein2*突变消除了C末端结构域编码蛋白,乙烯信号转导途径的级联反应无法正常运行,导致豌豆乙烯不敏感突变体植株*ein2*与野生型相比结瘤的数量显著增加。然而在根瘤形成的早期乙烯对豆科根瘤形成有促进作用(Larrainzar等2015)。因此乙烯在根瘤形成过程中的作用还需更加清晰广泛的研究。

乙烯在菌根共生中的负调控作用已有报道(Foo等2013),在AM真菌侵染豌豆植株时,当乙烯水平高于基础水平,乙烯负调节菌根发育,因此乙烯发挥调控作用可能需要达到一个浓度的阈值(Foo等2016)。在番茄植株ABA缺失型突变体中,植株因无ABA的合成导致AM真菌不能顺利形成丛枝结构,但在无AM形成的区域发现大量乙烯聚集的现象(Martín-Rodríguez等2011),暗示了乙烯在AM形成中具负调控作用。然而,最近的研究发现乙烯对菌根形成的调控作用也有积极的一面,特别是植物在遭受生物或非生物胁迫时,乙烯在AM形成中发挥重要作用。磷是植物生长所需的大量营养元素之一,植物可通过共生途径(包括形成菌

根)获得无机磷,但在高磷胁迫下,植物菌根定殖程度会受到抑制(Balzergue等2010)。de los Santos等(2016)认为,乙烯可缓解高磷条件下对AM形成的抑制作用。因此,乙烯对菌根形成的调控作用还需进一步细致研究。

3.5 CTKs与菌根的形成

CTKs与菌根共生的研究不多,主要是与IAA或其他植物激素共同作用于菌根共生体的建立,研究显示,在形成菌根共生体的植物中,CTKs大量积累,这表明CTKs与菌根共生形成存在必然联系(Barker和Tagu 2000)。在养分亏缺胁迫下,IAA和CTKs共同响应于大豆(*Glycine max*)基因家族的表达(Li等2014)。

3.6 其他激素与菌根的形成

SLs能促进独脚金属(*Striga*)和列当属(*Orobanchaceae*)根寄生植物种子萌发。在菌根真菌与植物根部接触时,引导菌丝趋向宿主方向延伸菌丝,进而形成分枝的物质称为“分枝因子(branching factor)” (Parniske 2008), Akiyama等(2005)认为,植物激素SLs是“分枝因子”的一种。SLs作为一类新的与植物生长相关的激素近年来受到越来越多的关注:一方面被认为是寄生植物识别宿主植物的信号分子,并有助于AM真菌与植物的共生;另一方面,SLs参与多个植物生理过程,如对植物生长的调节和对非生物胁迫的响应,但是SLs在植物中产量很低并且在纯化过程中不稳定,因此生产SLs类似物对植物菌根共生的建立很重要(Zwanenburg等2016)。

BR是一种天然植物激素,又称芸薹素内酯,可以促进番茄和水稻菌根的发育(Bitterlich等2014)。在转基因番茄植物中,BR能够通过蔗糖转运者SISUT2抑制蔗糖发挥作用从而影响菌根真菌的定殖(Bitterlich等2014)。在干旱等条件下,植物通过增加体内BR含量、促进菌根共生的建立来适应环境胁迫,提高根部的耐受性(Ruiz-Lozano等2015)。

研究表明,在有菌根真菌定殖的植物根中参与JA生物合成的酶基因表达增强,如在藜蒺苜蓿根中,催化JA生物合成的关键酶——丙二烯氧化物环化酶(allene-oxide cyclase, AOC)的基因表达增加;当抑制藜蒺苜蓿根部AOC基因的表达时,根中JA

水平显著降低, 导致植物根部AM真菌定殖明显延迟, 形成丛枝数量降低, 意味着JA在菌根共生体建立过程中发挥关键作用(Isayenkov等2005)。在双色蜡蘑与杨树形成的外生菌根中, 由外生菌根真菌编码的效应器蛋白MiSSP7是菌根形成过程中必不可少的, 而PtJAZ6蛋白是JA在杨树基因调控中的负调节者, 真菌双色蜡蘑通过MISSP7和PtJAZ6相互作用来促进外生菌根共生体形成(Plett等2014), 意味着JA与外生菌根形成有紧密联系。番茄植株接种AM真菌*Glomus fasciculatum*后, 可诱导该植株对叶面病原体链格孢菌属(*Alternaria*)的系统抗性, 同时为了验证JA在这种菌根诱导的抗性中的作用, Nair等(2014)测定了脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)和茉莉酮酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)活性及含量, 结果显示, 与不接种菌根真菌的对照组相比, 有AM真菌定殖的植物中有更高的LOX活性和MeJA含量; 当用JA生物合成抑制剂水杨酰羟肟酸(salicylhydroxamic acid, SHAM)处理植物, 结果导致对照组和AM真菌定殖的植物中的MeJA含量均降低50%, 并且与植物链格孢菌属的易感性增加相关, 表明JA在AM真菌诱导的对病原体的抗性表达中具有关键作用。

3.7 植物激素间互作对菌根共生的影响

由于各种激素间存在协同与拮抗作用, 因此, 激素对于菌根共生的建立也有着复杂的机制, 并且各激素间处于一种动态平衡状态, 共同调节植物体的正常生长发育。如在豆科根瘤形成过程中, 根瘤菌感染植物根部并在内皮层中形成结瘤原基时IAA和CTKs的协同调控作用是非常关键的(Miri等2015)。GAs缺失突变体 na 表现为结瘤减少, 这种结果可以被乙烯合成抑制剂恢复(Ferguson等2011), 并且在根瘤共生体形成过程中GAs生物合成通路可被乙烯调节(Larrainzar等2015), 多种激素间互作关系在根瘤形成过程中还需要进一步研究。在番茄AM共生体的研究中发现, ABA可能通过调节GAs的水平来控制AM的发育, 并且ABA/GAs的动态平衡对共生体的发育有重要意义(Martín-Rodríguez等2016)。

在根瘤形成过程中, BR可能是通过乙烯水平的变化刺激根瘤起始发育; 植物体内GAs和BR的水平影响乙烯的水平, 进而影响结瘤的数量, 但在

AM上目前还没有充分的证据说明GAs或者BR与乙烯之间的互作关系(Foo等2016)。在双色蜡蘑与杨树根部形成的外生菌根中, 乙烯和JA相互作用抑制根系菌根真菌定殖, 共同作为负调控因子调节外生菌根的形成(Plett等2014)。

4 总结

综上所述, 植物激素在菌根共生体的形成过程中有着重要的作用, 是菌根真菌侵染、定殖于植物体并形成菌根所必需的。菌根共生关系的建立与植物激素间的关系虽已经取得实质性的研究进展, 但是有关激素在菌根共生过程中更具体的作用机制还有待研究和阐释, 具体表现在:

(1)目前对激素的研究多集中于植物的地上部分, 而激素在植物根部、种子萌发中的作用及与宿主植物相互作用关系还不是很清楚, 其作用机制是否与植物地上部分相似等更确切的机制有待研究。

(2)已有的研究对GAs、ABA、生长素等几种主要的植物激素在植物菌根共生中的作用有了很好阐释, 但其作用机制分析多是集中在真菌定殖对宿主植物内源激素水平的影响上, 而对真菌自身所产生的激素在共生过程中所起到的作用研究甚少。困难主要来源于没有合适的方法来标记和测量共生过程中宿主植物体内激素的累积是否包含真菌产生的部分。虽然激素在菌根中的作用起着不可忽视的作用, 但在菌根共生过程中, 激素的产生究竟是直接产生、诱导产生、原位产生还是真菌的运输作用, 这些细节还不清楚。因此, 今后有必要开展菌根共生体在不同发育阶段激素含量的变化及与宿主表型变化间的关系的研究。

(3)激素调控植物生长发育是通过一个复杂的网络系统, 各种激素间有交互作用。激素发挥作用同时受环境条件的影响。研究表明, 菌根共生与根瘤共生都有一套公共的共生信号转导途径。因此, 如若详细阐释激素在菌根共生中的作用, 必须将激素自身的生物合成和信号转导途径与菌根共生信号转导途径结合起来, 两条途径交互影响发生作用, 最终导致菌根共生体的形成并发挥其促进植物生长发育、种子萌发等作用。

(4)迄今为止, 随着“组学”技术的发展, 研究人员已经鉴定了很多与激素合成或菌根共生相关的基因或蛋白, 并逐渐地验证了其功能。但是仍然

有很多未被了解的植物激素和小的信号分子参与调控植物与菌根共生关系的建立,更多的共生相关基因与激素生物合成或信号转导通路相关基因间的联系有待进一步研究。

(5)目前激素在菌根共生体系中作用的研究多集中在AM和外生菌根中,对兰科菌根中激素的调控作用研究较少,且主要集中在根器官与真菌间的共生关系及激素在菌根共生过程中对植物生长发育的影响上,而菌根真菌在种子萌发过程中具体的作用和机制还不甚清楚,尤其像兰科植物种子细小如尘,自然条件下需要和真菌共生才能萌发的情况。因此激素在兰科植物种子共生萌发中的作用机制方面的研究需要加强。通过对激素与菌根的进一步研究,对保护珍稀濒危药用植物,特别是兰科药用植物资源的开发、利用有重要意义。

5 展望

在整个生态系统中菌根占据着重要地位,因其极高的经济和生态价值受到人们越来越多的关注,尤其是几乎所有的兰科植物须与菌根真菌共生才能完成其生活史,研究激素对兰科植物菌根形成的调控作用,有着极高的应用价值。近几年来关于菌根的研究在分子水平上有了较大的突破,一些植物信号物质与菌根共生相关的基因逐渐被认知,但这也许只是冰山一角,未来关于菌根与植物信号物质之间更微妙的生物学规律和调控方式等待我们去探索。随着拟南芥、水稻、烟草(*Nicotiana tabacum*)等模式植物基因组测序的完成,植物基因组学进入后基因组学、蛋白质组学时代,通过筛选激素相关基因并运用基因敲除等技术验证基因功能,为激素在植物菌根共生形成机制的研究奠定基础。目前关于激素与菌根形成机制的研究主要集中在AM上,进一步可研究这些植物激素在兰科菌根、外生菌根等中是否具有和AM相似的效果,从理论上证明激素对菌根的形成关系的影响是否具有普遍性及调控途径是否相同,同时为激素在菌根共生体系的建立并运用于生产实践提供理论参考。

参考文献

Akiyama K, Matsuzaki K, Hayashi H (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435 (7043): 824–827

- Aroca R, Vernieri P, Ruiz-Lozano JM (2008). Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. *J Exp Bot*, 59 (8): 2029–2041
- Balzerque C, Puech-Pagès V, Bécard G, Rochange SF (2010). The regulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate in pea involves early and systemic signalling events. *J Exp Bot*, 62 (3): 1049–1060
- Barker SJ, Tagu D (2000). The roles of auxins and cytokinins in mycorrhizal symbioses. *J Plant Growth Regul*, 19 (2): 144–154
- Bitterlich M, Krügel U, Boldt-Burisch, Franken P, Kühn C (2014). Interaction of brassinosteroid functions and sucrose transporter SISUT2 regulate the formation of arbuscular mycorrhiza. *Plant Signal Behav*, 9: e970426
- Bleecker AB, Kende H (2000). Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Cell Dev Biol*, 16 (16): 1–18
- Charpentier M, Sun J, Wen J, Mysore KS, Oldroyd GED (2014). Abscisic acid promotion of arbuscular mycorrhizal colonization requires a component of the PROTEIN PHOSPHATASE 2A complex. *Plant Physiol*, 166: 2077–2090
- Chen Y, Shen H, Wang M, Li Q, He Z (2013). Salicyloyl-aspartate synthesized by the acetyl-amido synthetase GH3.5 is a potential activator of plant immunity in *Arabidopsis*. *Acta Biochim Biophys Sin*, 45 (10): 827–836
- Cohen JD, Slovin JP, Hendrickson AM (2003). Two genetically discrete pathways convert tryptophan to auxin: more redundancy in auxin biosynthesis. *Trends Plant Sci*, 8 (5): 197–199
- de los Santos RT, Rosales NM, Ocampo JA, García-Garrido JM (2016). Ethylene alleviates the suppressive effect of phosphate on arbuscular mycorrhiza formation. *J Plant Growth Regul*, 35 (3): 1–7
- Deng Y, Wang X, Yang S, Zuo J (2006). New insights into cytokinins: metabolism, signal transduction, cross talks and potentials in agricultural applications. *Chin Bull Bot*, 23 (5): 478–498 (in Chinese with English abstract) [邓岩, 王兴春, 杨淑华, 左建儒 (2006). 细胞分裂素: 代谢、信号转导、交叉反应与农艺性状改良. *植物学通报*, 23 (5): 478–498]
- Felten J, Kohler A, Morin E, Bhalerao RP, Palme K, Martin F, Ditegou FA, Legué V (2009). The ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* stimulates lateral root formation in Poplar and *Arabidopsis* through auxin transport and signaling. *Plant Physiol*, 151 (4): 1991–2005
- Ferguson BJ, Foo E, Ross JJ, Reid JB (2011). Relationship between gibberellin, ethylene and nodulation in *Pisum sativum*. *New Phytol*, 189: 829–842
- Floss DS, Levy JG, Lévesque-Tremblay V, Pumplin N, Harrison MJ (2013). DELLA proteins regulate arbuscule formation in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (51): 5025–5034
- Foo E, McAdam EL, Weller JL, Reid JB (2016). Interactions between ethylene, gibberellins, and brassinosteroids in the development of rhizobial and mycorrhizal symbioses of pea. *J Exp Bot*, 67 (8): 2413–2424
- Foo E, Ross JJ, Jones WT, Reid JB (2013). Plant hormones in arbuscular mycorrhizal symbioses: an emerging role for gibberellins.

- Ann Bot, 111: 769–779
- Isayenkov S, Mrosk C, Stenzel I, Strack D, Hause B (2005). Suppression of allene oxide cyclase in hairy roots of *Medicago truncatula* reduces jasmonate levels and the degree of mycorrhization with *Glomus intraradices*. *Plant Physiol*, 139 (3): 1401–1410
- Kosuta S, Chabaud M, Lougnon G, Gough C, Dénarié J, Barker DG, Bécard G (2003). A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific *MtENOD11* expression in roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiol*, 131 (3): 952–962
- Larrainzar E, Molenaar JA, Wienkoop S, Gil-Quintana E, Alibert B, Limami AM, Arrese-Igor C, Gonzalez EM (2014). Drought stress provokes the down-regulation of methionine and ethylene biosynthesis pathways in *Medicago truncatula* roots and nodules. *Plant Cell Environ*, 37: 2051–2063
- Larrainzar E, Riely BK, Kim SC, Carrasquilla-Garcia N, Yu HJ, Hwang HJ, Oh M, Kim GB, Surendrarao AK, Chasman D, et al (2015). Deep sequencing of the *Medicago truncatula* root transcriptome reveals a massive and early interaction between nodulation factor and ethylene signals. *Plant Physiol*, 169 (1): 233–265
- Lee KH, LaRue TA (1992). Exogenous ethylene inhibits nodulation of *Pisum sativum* L. cv Sparkle. *Plant Physiol*, 100 (4): 1759–1763
- Li CN (2012). Mechanism of tolerance to drought in sugarcane plant improved by foliar abscisic acid under water stress [PhD thesis]. Nanning: Guangxi University (in Chinese with English abstract) [李长宁(2012). 水分胁迫下外源脱落酸提高甘蔗抗旱性的机理研究(博士论文). 南宁: 广西大学]
- Li Q, Wu JM, Liang He, Huang X, Qiu LH (2014). Gibberellins biosynthesis and signaling transduction pathway in higher plant. *Biotech Bull*, (10): 16–22 (in Chinese with English abstract) [李强, 吴建明, 梁和, 黄杏, 丘立杭(2014). 高等植物赤霉素生物合成及其信号转导途径. *生物技术通报*, (10): 16–22]
- Li X, Zhao J, Walk TC, Liao H (2014). Characterization of soybean β -expansin genes and their expression responses to symbiosis, nutrient deficiency, and hormone treatment. *Appl Microbiol Biot*, 98 (6): 2805–2817
- Liao D, Chen X, Chen A, Wang H, Liu J, Liu J, Gu M, Sun S, Xu G (2014). The characterization of six auxin-induced tomato GH3 genes uncovers a member, *SIGH3.4*, strongly responsive to arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Cell Physiol*, 56 (4): 674–687
- Liu SJ, Xu JH, Liu HY, Liu YD (2013). Research on application effect of growth hormone in *Dendrobium candidum* seedlings. *Mod Agr Sci Technol*, (8): 143–145 (in Chinese) [刘穗金, 许健红, 刘宏源, 刘远大(2013). 生长素在铁皮石斛育苗中的应用效果研究. *现代农业科技*, (8): 143–145]
- Martín-Rodríguez JA, Huertas R, Ho-Plágaro T, Ocampo JA, Turečková V, Tarkowská D, Ludwig-Müller J, García-Garrido JM (2016). Gibberellin–abscisic acid balances during arbuscular mycorrhiza formation in tomato. *Front Plant Sci*, 7: 1273
- Martín-Rodríguez JA, León-Morcillo R, Vierheilig H, Ocampo JA, Ludwig-Müller J, García-Garrido JM (2011). Ethylene-dependent/ethylene-independent ABA regulation of tomato plants colonized by arbuscular mycorrhiza fungi. *New Phytol*, 190: 193–205
- Martín-Rodríguez JA, Ocampo JA, Molinero-Rosales N, Tarkowská D, Ruíz-Rivero O, García-Garrido JM (2014). Role of gibberellins during arbuscular mycorrhizal formation in tomato: new insights revealed by endogenous quantification and genetic analysis of their metabolism in mycorrhizal roots. *Physiol Plant*, 154: 66–81
- Miri M, Janakirama P, Held M, Ross L, Szczygłowski K (2015). Into the root: how cytokinin controls rhizobial infection. *Trends Plant Sci*, 21: 178–186
- Morrison EN, Knowles S, Hayward A, Thorn RG, Saville B, Emery RJ (2015). Detection of phytohormones in temperate forest fungi predicts consistent abscisic acid production and a common pathway for cytokinin biosynthesis. *Mycologia*, 107 (2): 667–692
- Nair A, Kolet SP, Thulasiram HV, Bhargava S (2014). Systemic jasmonic acid modulation in mycorrhizal tomato plants and its role in induced resistance against *Alternaria alternata*. *Plant Biol*, 17 (3): 625–631
- Osugi A, Sakakibara H (2015). Q&A: how do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC Biol*, 13: 102
- Parniske M (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol*, 6 (10): 763–775
- Pieterse CMJ, Leon-Reyes A, Van der Ent S, Van Wees SCM (2009). Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat Chem Biol*, 5 (5): 308–316
- Pimprikar P, Carbonnel S, Paries M, Katzer K, Klingl V, Bohmer MJ, Karl L, Floss DS, Harrison MJ, Parniske M, et al (2016). A CcAMK-CYCLOPS-DELLA complex activates transcription of *RAM1* to regulate arbuscule branching. *Curr Biol*, 26 (8): 987–998
- Plett JM, Khachane A, Ouassou M, Sundberg B, Kohler A, Martin F (2014). Ethylene and jasmonic acid act as negative modulators during mutualistic symbiosis between *Laccaria bicolor*, and *Populus* roots. *New Phytol*, 202: 270–286
- Ruiz-Lozano JM, Aroca R, Molina S, Andreo-Jiménez B, Porcel R, Ruyter-Spira C (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant Cell Environ*, 39 (2): 441
- Shang S, Wang P, Chen CY (2011). Signal recognition and transduction in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol J*, 47 (4): 331–338 (in Chinese with English abstract) [尚赏, 王平, 陈彩艳(2011). 丛枝菌根形成过程及其信号转导途径. *植物生理学报*, 47 (4): 331–338]
- Smith SE, Read DJ (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. California: Academic Press
- Stec N, Banasiak J, Jasiński M (2016). Abscisic acid — an overlooked player in plant-microbe symbioses formation? *Acta Biochim Pol*, 63: 53–58
- Takeda N, Handa Y, Tsuzuki S, Kojima M, Sakakibara H, Kawaguchi M (2015). Gibberellins interfere with symbiosis signaling and gene expression and alter colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in *Lotus japonicus*. *Plant Physiol*, 167 (2): 545–557
- Takezawa D, Watanabe N, Ghosh T K, Saruhashi M, Suzuki A, Ishiyama K, Somemiya S, Kobayashi M, Sakata Y (2015). Epoxy-

- carotenoid mediated synthesis of abscisic acid in *Physcomitrella patens* implicating conserved mechanisms for acclimation to hyperosmosis in embryophytes. *New Phytol*, 206: 209–219
- Taya Y, Tanaka Y, Nishimura S (1978). 5'-AMP is a direct precursor of cytokinin in *Dictyostelium discoideum*. *Nature*, 271 (5645): 545–547
- Wimalasekera R, Schaarschmidt F, Angelini R, Cona A, Tavladoraki P, Scherer GFE (2015). *POLYAMINE OXIDASE2* of *Arabidopsis* contributes to ABA mediated plant developmental processes. *Plant Physiol Biochem*, 96: 231–240
- Xu J, Zhang S (2015). Ethylene biosynthesis and regulation in plants. In: Wen CK (ed). *Ethylene in Plants*. Dordrecht: Springer, 1–25
- Yu JX, Li H, Guo SX, Li M (2010). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on endogenous hormone levels in tomato plants. *J Qingdao Agr Univ-Nat Sci*, 27 (2): 100–104 (in Chinese with English abstract) [于建新, 李辉, 郭绍霞, 李敏(2010). 丛枝菌根真菌对番茄植株内源激素含量的影响. *青岛农业大学学报(自然科学版)*, 27 (2): 100–104]
- Yu N, Luo D, Zhang X, Liu J, Wang W, Jin Y, Dong W, Liu J, Liu H, Yang W, et al (2014). A DELLA protein complex controls the arbuscular mycorrhizal symbiosis in plants. *Cell Res*, 24: 130–133
- Yue C, Zeng JM, Cao HL, Wang XC, Zang ZF (2012). Gibberellins metabolism and signaling pathway in higher plant. *Plant Physiol J*, 48 (2): 118–128 (in Chinese with English abstract) [岳川, 曾建明, 曹红利, 王新超, 章志芳(2012). 高等植物赤霉素代谢及其信号转导通路. *植物生理学报*, 48 (2): 118–128]
- Zhang YY, He ZH (2010). Gibberellin metabolism and signal transduction in higher plants. *Plant Physiol Commun*, 46 (7): 623–630 (in Chinese with English abstract) [张迎迎, 何祖华(2010). 高等植物赤霉素的代谢与信号转导. *植物生理学通讯*, 46 (7): 623–630]
- Zhu XC, Song FB (2008). Signaling and genes in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Life Sci Res*, 12 (2): 95–99 (in Chinese with English abstract) [朱先灿, 宋凤斌(2008). 丛枝菌根共生的信号转导及其相关基因. *生命科学研究*, 12 (2): 95–99]
- Zwanenburg B, Zeljković SĆ, Pospíšil T (2016). Synthesis of strigolactones, a strategic account. *Pest Manag Sci*, 72: 15–29

Advances in regulating effects of hormones in mycorrhizal symbiosis

YAN Bo, CHEN Juan*, GUO Shun-Xing*

Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: Mycorrhizal symbiosis is a process that soil fungi and plant roots form the mutualistic symbiosis, which is an ancient and widespread biological phenomenon. Mycorrhizal symbiosis plays an important role in maintaining the ecosystem balance. Most studies demonstrated that plant hormones, especially gibberellins (GAs) and abscisic acid (ABA) are necessary for establishing of mycorrhizal symbiosis. In the present study, we summarized recent literatures and reviewed the effects of the hormones on mycorrhizal symbiosis process. It would provide fundamental information for further understanding of the relationship between plant hormones and mycorrhizal symbiosis.

Key words: mycorrhiza; gibberellins; abscisic acid; interaction mechanism

Received 2016-11-11 Accepted 2017-03-27

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 81573527 and 81573526), Innovation Team Development Plan of the Institute of Medicinal Plant Development (Grant No. PIRTI-IT1302), and Special Fund for Basic Scientific Research Business of Central Public Research Institutes (Grant No. YZ-12-14).

*Co-corresponding authors (E-mail: kibchenjuan@126.com; sxguo1986@163.com).