

专论与综述

菌根增强植物抗病性机理的研究进展*

唐明娟 郭顺星

(中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所 北京 100094)

摘要: 菌根通过刺激或增加寄主植物产生次生代谢物,如抗生素,植保素,酚类化合物,苯丙烷类代谢酶系,木质素,抑制物,过氧化物酶,水解酶等,提高寄主植物的抗病和抗逆能力。就近年来菌根增强植物抗病性的机理进行综述。

关键词: 菌根,抗病机理,次生代谢物

中图分类号: Q9468 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)06-0446-04

菌根是植物营养根与菌根菌形成的一种联合体,二者生活在一种高度平衡的互惠互利的环境中。一方面菌根菌从寄主植物获得碳水化合物,另一方面菌根菌提高植物对矿质营养的吸收。植物在生长发育过程中经常遇到一些干旱、盐碱、极端温度等非生物逆境和病原物、动物、杂草等生物逆境。植物遭受病原物侵染后,轻者生长发育受阻,重则导致死亡。在长期进化过程中,植物自身能抵抗一些病原物的侵染,具有一定抗病性。但这种抗病性有一定局限。当植物与某些真菌形成共生关系后,菌根菌刺激或增加植物产生次生代谢物,从而提高植物的抗病和抗逆能力。本文就此方面进行综述。

1 菌根刺激寄主植物产生次生代谢物质

1.1 抗生素 抗生素是抗生菌产生的次生代谢产物,主要对细菌和真菌具有抑制和杀伤作用。其作用机理是干扰真菌、细菌的主要生物合成途径,阻滞细胞内的大分子如蛋白、酶、核酸或细胞结构物质,从而导致细胞死亡。阻滞一个生化反应可能附带导致抑制其它反应,所以一种抗生素可能抑制几个生化反应。抗生素对细胞所起作用包括抑制细胞壁形成,破坏或钝化细胞质膜,影响蛋白生物合成和核酸代谢,影响嘌呤生物合成以及影响铁代谢。许多菌根真菌在纯培养过程中都能产生抗生素。云杉白桩菇产生穿孔菌块素,穿孔菌块素是一种聚乙炔化合物,对樟疫霉有抗生作用,当其浓度达到 $0.05\sim 0.07\mu\text{g/L}$ 时,就可以抑制樟疫霉卵孢子的萌发;浓度达到 $2\mu\text{g/L}$ 时,就可以杀死樟疫霉的卵孢子。

1.2 植保素 植保素是植物受生物或非生物因素侵袭后在体内合成并积累的低分子量的抗菌性物质,其产生的速度和积累量与植物抗病性有关。病原菌侵入后以侵染点为中心形成组织坏死斑,使病原菌的生长受抑制,从而阻止病斑扩大。在未侵染的细胞中形成植保素阻碍病原菌继续扩展。分离鉴定的第一个植保素是豌豆素,由 Cruickshank 等人从豌豆未成熟的豆荚中分离。至今已在 17 种植物中发现并鉴定了 300 多种植保素。1992 年 Dixon 等实验表明苜蓿受到逆境或病原攻击时,苜蓿素丙二酰糖苷转变为植保素苜蓿素。因此菌根菌侵染使结合积累物增加,从而提供前体,而前体能以活性糖苷配基的形式快速代谢。Harrison 等^[1]报道了 *Glomus. versiforme* 接种 *Medicago truncatula* 7~13d 时根中植保素苜蓿素含量增加。

1.3 酚类化合物 在菌根反应中研究了细胞壁的酚,它们在加强细胞壁和防止病原侵入时起作用。1984 年 Krishna 和 Bagyaraj 报道了 *G. fasciculatum* 增加 *Arachis hypogaea* 根中总酚浓度。1989 年 Codighola 等报道 *G. versiforme* 接种 *Allium porrum* 和 *Ginkgo biloba* 时根细胞壁酚含量的增加。

菌根菌诱导的黄酮类、异黄酮类、植保素等分子反映了普遍的黄酮类/异黄酮类的诱导,其中某些分子如

*国家自然科学基金资助项目 (No.39970018)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund(No.39970018)

收稿日期:1999-12-10,修回日期:2000-03-25

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

coumestrol, 7, 4'-二羟基异黄酮, 7-羟基-4'-甲氧基异黄酮, 涉及豆科和根瘤菌之间的信号, 尤其是作为 Nod 基因诱导子和根瘤菌的化学诱导剂^[2]。植物酚类, 尤其是黄酮类和异黄酮类, 是最广泛的次生代谢产物, 它们涉及到植物与微生物相互作用。对这些分子, 研究最多的生物功能之一是它们的抗微生物活性, 如植保素在植物防卫机制反应中起重要作用。酚类物质还涉及植物生理的其它方面, 包括紫外线保护, 色素组成, 细胞壁组成, 信号或调节植物与微生物相互关系。许多报道表明菌根在提高植物保护或土传病原抗性方面的有益作用^[1]。植物根中酚代谢物的增加就是这种生防的机制之一。

菌根发育的几个步骤可用来解释与酚化合物相关内容: ①菌根菌与根的初接触触发非特异的防卫机制; ②特异地活性抑制植物生长素合成; ③VA 菌根丛枝老化时, 由于丛枝的裂解导致植物生长素的触发和真菌细胞壁成分的释放。同一菌根同一种酚代谢的机制随菌根发育的阶段而变化, 可能是不同实验室不同实验观察到结论不一致的原因之一。

1.4 苯丙烷类代谢酶系 在苯丙烷类代谢途径中关键酶为苯丙氨酸解氨酶 (PAL), 肉桂酸-4-羟化酶 (CA4H) 和 4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4CL)。其代谢途径如图^[4] (图 1)。在菌根反应中研究最多的是苯丙烷类代谢途径中的苯丙氨酸解氨酶 (PAL)。菌根共生中, mRNA 编码的 PAL 水平和苯丙烷类生物合成的其它主要酶已做过研究, 发现在 *G. versiforme* 侵染 *M. truncatula* 根时 PAL 转录水平增加^[1], 在菜豆和芹菜根内 PAL 和苯基

苯乙烯酮合成酶 (CHS) 转录不受内生真菌侵染影响^[3]。而用 *G. versiforme* 接种 *M. truncatula* 根时 CHS 转录水平却增加^[1]。CHS 是类黄酮 / 异类黄酮途径的第一个酶, 接着是苯基苯乙烯酮异构酶 (CHI)。转录水平的分析确证了这些结论。

用 *G. versiforme* 接种 *M. truncatula* 根, 原位杂交定位苯丙烷类 / 类黄酮代谢酶的转录积累时, 发现 PAL 和 CHS 转录定位在 VA 菌根含丛枝的细胞, 而异类黄酮还原酶 (IFR) 转录相对高的水平定位在 VA 菌根非丛枝的皮层细胞^[1]。这些结论说明在细胞水平上, 菌根菌刺激有两种不同信号途径, 一是诱导 PAL 和 CHS, 另一条是抑制 IFR。

1.5 木质素 木质素是由许多苯基丙烷单体聚合在一起的交联分子, 在细胞壁上常与纤维素及其它糖类联结在一起, 沉积在壁上形成木栓化, 阻止病原菌蔓延。Grandmaison 等^[6]报道了 *G. intraradices* 或 *G. versiforme* 接种 *A. cepa* 根时细胞壁的酚酸 4-羟基-3-甲氧基桂酸和香豆酸增加。Maier 在 1995 年发现菌根菌 *G. intraradices* 诱导 4 种禾谷类作物 (小麦、大麦、黑麦、燕麦) 根中可溶性类萜糖苷的产生。这样菌根菌诱导植物改变它们根内酚类化合物含量, 如植保素、异类黄酮及它们的结合形式和细胞壁的酚酸。这些酚类物质的积累就是观察到的最普遍的影响。从上可知, 木质素是酚类化合物的聚合物, 其生物合成途径是苯丙烷类代谢途径。PAL 活性的升高和香豆酸及阿魏酸含量的升高, 均能导致木质素含量增加。木质素使寄主植物细胞壁木质化, 阻止病原菌侵染的机理为: (1) 木质素增加了细胞壁抗病菌穿透压力; (2) 由于病原菌不能分泌分解木质素的酶类, 木质化增强了抗酶溶解作用; (3) 木质化限制了病原菌的酶类和毒素从病原菌扩散到寄主体内, 同时限制了水和营养物从寄主扩散到病原菌, 阻断了病原菌的营养获得途径; (4) 木质素的低分子量酚类前体及多聚作用产生的游离基可以钝化病原菌的膜、酶和毒素。

1.6 抑制物质 当植物受到病原菌的侵染时, 很多植物细胞由于入侵菌丝的刺激, 产生了代谢反应, 分泌各种抑制剂。在植物发病期间, 植物组织内部经常发现有酚类、甙类和其它对病原菌有抑制作用的化合物。菌根真菌入侵植物根部时, 寄主根部的皮层也会产生一种生物化学和细胞学的反应。

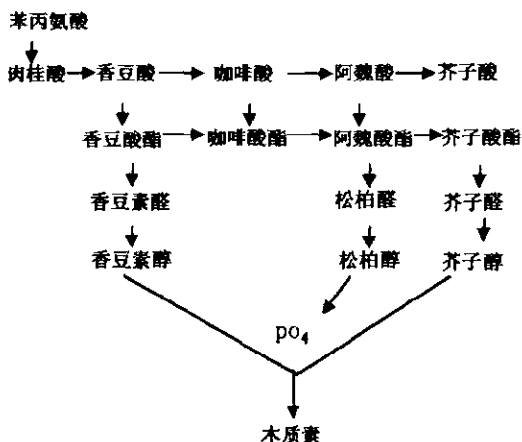


图1 木质素生物合成图例

1.7 过氧化物酶 过氧化物酶在酚类聚合成木质素时起重要作用。它的一个重要特性就是催化细胞壁酚类化合物氧化形成更疏水的聚合物如木质素。这强化了细胞壁,减少病原侵染可能性。Burke^[7]用 ERM 菌根菌 *Hymenoscyphus ericae*, 外生菌根菌 *Suillus variegatus* 和 *Pisolithus tinctorius* 生长在纤维二糖和葡萄糖,并用 ABTS 作为色原时见到胞外产生 H_2O_2 。根据 Fenton 反应, H_2O_2 与环境中水合或整合的 $Fe(II)$ 反应产生羟基自由基 HO^\cdot 。木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶运用 H_2O_2 产生反应中间物。在木质素过氧化物酶存在时,氧化芳香物质还原底物产生芳香阳离子自由基,在锰过氧化物酶存在时氧化锰(II)产生锰(III)。这些菌根菌产生的胞外 H_2O_2 ,在培养基或土壤中含 $Fe(II)$ 或锰(II)时就产生羟基自由基。而 H_2O_2 和羟基自由基均属于活性氧,活性氧具有以下功能:①杀死病原体或降低病原体活力;②直接引起过敏反应^[8];③促进细胞壁的木质化和细胞壁结构蛋白的聚合,形成最初的防卫屏障;④作为信号物质诱导植保素的合成^[9];⑤启动防御反应相关基因的表达^[8]。所以过氧化物酶是菌根提高寄主抗病的物质代谢基础。

1.8 水解酶 菌根菌产生的水解酶类在提高植物抗病性方面起重要作用,产生的水解酶主要是内蛋白水解酶和细胞壁水解酶。

内蛋白水解酶: 内蛋白水解酶是一类被病原强烈刺激产生的水解酶,直接水解病原蛋白,导致病原渐渐死亡,从而提高植物抗病。Slezacek^[10]是第一个报道在 AM 菌根共生中存在内蛋白水解酶活,并用蛋白阻断剂证明是胰蛋白酶和丝氨酸酶。他用 AM 菌根菌 *G. mosseae* 接种豌豆时发现菌根豌豆的内蛋白水解酶活比非菌根豌豆高 2 倍。内蛋白水解酶随着菌根共生的发育而增加,特别是菌根菌的丛枝中富含内蛋白水解酶。内蛋白水解酶也是菌根诱导的植物防卫反应之一。

细胞壁水解酶: 真菌的细胞壁主要由几丁质(*N*-乙酰氨基葡萄糖)和 β -1,3-葡聚糖组成。而侵染植物的病原菌中除细菌外绝大部分为真菌。菌根菌提高植物抗病性主要是提高寄主植物的细胞壁水解酶活性。细胞水解酶对植物抗病防卫反应十分重要,其种类颇多,目前研究较多的是几丁质酶(chs)和 β -1,3-葡聚糖酶。几丁质酶是降解几丁质的。尽管几丁质酶在高等

真菌中普遍存在,但至今尚未在植物中发现几丁质。菌根菌与植物共生后几丁质酶活明显升高。中国医科院药植所真菌室用菌根菌接种金线莲后几丁质酶活升高 2~6 倍。Mohr^[11]测定了菌根大豆几丁质酶活比非菌根大豆高 2 倍,而且受到病原侵染时菌根的根可累积防卫反应。Lanfranco^[12]运用 RT-PCR 技术证明至少有两种几丁质合成酶(chs1 和 chs3)在菌根定居时表达。 β -1,3-葡聚糖酶降解细胞壁的 β -1,3-葡聚糖组分。菌根化的植物中 β -1,3-葡聚糖酶活也明显高于非菌根化植物,其活性与几丁质酶一起升高。通过 β -1,3-葡聚糖酶作用使病原菌释放出 β -1,3-葡聚糖来源的诱导物,从而诱导与防卫相关的其它酶系如 PAL, CHS 等。

2 结束语

菌根能提高植物抗病性,不仅有激活抗性机制,而且也诱导对病原的耐性。在菌根植物茎内,不但植物激素浓度升高,而且游离甾醇的浓度和组成也大大改变。受 AM(即以以前的 VA 菌根)菌根菌侵染的根呼吸活动加强,DNA 甲基化程度降低,提高了基因活性。几乎植物各部分均受菌根影响,只是影响方式不同。AM 菌根植物对某些根部病原抗性更强,但对茎部病原和病毒敏感。AM 菌根根内形态(内胚层细胞壁木质化)和生化(抗真菌的几丁质酶)改变提高了对病原的抗性,而且共生引起植物体内发生生理生化变化。植物体内激素平衡的变化决定 AM 菌根对植物生长和健康的影响是由于菌根的调节功能,对病原的抗性依赖于防卫基因的活性和防卫反应可利用的能量。AM 菌根共生改变了植物细胞膜成分。AM 菌根植物茎内这些物质的改变也影响叶部活体营养病原的发育,因为这些病原通过吸器吸收寄主营养。菌根提高植物抗病性,一方面是同植物抗病相关的物质代谢加强,在体内加速木质化作用,形成一种结构屏障和化学屏障,使病原菌入侵受阻;另一方面迅速合成和积累对病原菌有害的物质如植保素和酚类化合物,同这些抗病的物质代谢相关酶系,特别是新诱导合成的苯丙烷类代谢相关酶。一些水解病原菌细胞壁的酶如几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶等活性也显著增高。这都因为共生后开启了同抗病表达相关的基因,增强了这些基因的表达速度和强度,快速合成了抗病物质,从而提高寄主植物抗病性。对于菌根真菌与寄主共生后增强植物抗病分子机理目前报道的还很少。以前有几个报道描述了菌根共生的发

育过程中防卫基因的差异表达^[1]。他们得出结论:防卫基因转录定位与丛枝的短暂特性是一致的。已克隆出的与AM菌根菌共生相关的植物防卫基因,在菌根形成后表达量均增加。

参 考 文 献

- [1] Harrison M J, Dixon R A. *Mol. Plant Microbe Interaction*, 1993, 6:643~654.
- [2] Sanchez F., Padilla J E, Perez H., Lara M. *Annu Rev. Plant Physiol.*, 1991, 42:507~528.
- [3] Calvet C, Pinochet J, Camprubi A, Fernandez C. *Mycorrhiza*, 1995, 5:253~258.
- [4] 余叔文等主编. 植物生理与分子生物学. 北京:科学出版社, 1998, 770~783.
- [5] Franken P, Gnadinger F. *Mol. Plant Microbe Interaction*, 1994, 7:612~620.

- [6] Grandmaison J, Olah G M, Vancalsteren M R, and Furlan V. *Mycorrhiza*, 1993, 3:155~164.
- [7] Burke RM, Cairney JWG. *New Phytol.* 1998, 139: 637~645.
- [8] Levine A, Tenhaken R, Dixon R et al. *Cell*, 1994, 79: 582~593.
- [9] Baker JC, Harmon GL, Glazener JA *et al.* *Plant Physiol.* 1995, 108:353~359.
- [10] Sleazack S, Dumas-Gaudot E, Rosendahl S *et al.* 1 *New Phytol.* 1999, 142:517~529.
- [11] Mohr Uwe, Jurg Lange, Thomas Boller *et al.* *New Phytol.* 1998, 138:589~598.
- [12] Lanfranco L, Vallino M, Bonfante P. *New Phytol.* 1999, 142:347~354.
- [13] Gianinazzi-Pearson V. *Plant Cell*, 1996, 8:1871~1883.