

研究报告

丛枝菌根真菌响应桉树茄科雷尔氏菌侵染进程基因的筛选与鉴定

黄迪, 毛健辉, 王正木, 张健朗, 霍春宇, 谢贤安, 陈祖静*

华南农业大学林学与风景园林学院 广东省森林植物种质创新与利用重点实验室, 广东 广州 510642

黄迪, 毛健辉, 王正木, 张健朗, 霍春宇, 谢贤安, 陈祖静. 丛枝菌根真菌响应桉树茄科雷尔氏菌侵染进程基因的筛选与鉴定[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 815-831.

HUANG Di, MAO Jianhui, WANG Zhengmu, ZHANG Jianlang, HUO Chunyu, XIE Xian'an, CHEN Zujing. Screening and identification of AMF genes in *Eucalyptus grandis* during the infection course of *Ralstonia solanacearum*[J]. Microbiology China, 2023, 50(2): 815-831.

摘要: 【背景】桉树(*Eucalyptus*)青枯病危害严重, 丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)与桉树共生影响桉树对青枯病的抗性, 而 AMF 响应桉树青枯菌侵染的机制仍不清楚。【目的】探索 AMF 响应桉树茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)的侵染机制。【方法】以非菌根化和异形根孢囊霉(*Rhizophagus irregularis*)菌根化巨桉(*Eucalyptus grandis*)分别受茄科雷尔氏菌侵染 0、24、48 和 96 h 接种后(hour post-inoculated, hpi)的根系组织为研究对象, 基于转录组测序筛选和鉴定菌根化巨桉根系中异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染的基因信息。【结果】与对应非菌根化桉树受茄科雷尔氏菌侵染的时间点相比, 菌根化桉树中异形根孢囊霉响应青枯菌侵染显著差异表达基因为 3 382–5 989 个, 随青枯侵染时间进程的增加, 异形根孢囊霉特异性响应茄科雷尔氏菌侵染差异表达基因数量逐渐增多。茄科雷尔氏菌侵染 24 hpi 时, 异形根孢囊霉显著富集共生体生长、孢子形成和凋亡信号通路、铁载体等相关基因; 茄科雷尔氏菌侵染 48 hpi 时, 异形根孢囊霉主要提高自身跨膜运输的能力, 促进自身钾、氮等养分吸收与交换等; 茄科雷尔氏菌侵染 96 hpi 时, 异形根孢囊霉主要调控氧化还原反应和黄酮类等抗菌物质合成。【结论】菌根化桉树中 AMF 主要调控其生长加强生态位和营养(如氮、钾、铁)竞争、分泌抗菌物质、激活防御反应以响应青枯菌的侵染, 所鉴定的相关基因信息为研究 AMF-桉树-青枯菌互作机制提供一定的资源和参考。

关键词: 桉树; 丛枝菌根真菌; 青枯菌; RNA-Seq

资助项目: 国家自然科学基金(31800541); 广东省基础与应用基础研究基金(2021A1515010561)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31800541) and the Guangdong Provincial Basic and Applied Basic Research Foundation (2021A1515010561).

*Corresponding author. E-mail: zujingchen@scau.edu.cn

Received: 2022-10-18; Accepted: 2022-12-13; Published online: 2023-01-02

Screening and identification of AMF genes in *Eucalyptus grandis* during the infection course of *Ralstonia solanacearum*

HUANG Di, MAO Jianhui, WANG Zhengmu, ZHANG Jianlang, HUO Chunyu, XIE Xian'an, CHEN Zujing*

Guangdong Key Laboratory for Innovative Development and Utilization of Forest Plant Germplasm, College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China

Abstract: [Background] Bacterial wilt is a serious disease attacking *Eucalyptus*. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) affect the resistance of *Eucalyptus* to bacterial wilt, the mechanism of which remains unclear. [Objective] To explore the responding mechanism of AMF of *Eucalyptus grandis* during the infection course of *Ralstonia solanacearum*. [Methods] In this study, the non-mycorrhizal root tissue and the *Rhizophagus irregularis*-colonized root tissue of *E. grandis* were sampled at the time points of 0, 24, 48, and 96 hour post inoculation (hpi) of *R. solanacearum*. The genes involved in the response of *R. irregularis* in *E. grandis* roots to *R. solanacearum* infection were screened and identified by transcriptome sequencing. [Results] Compared with the non-mycorrhizal root tissue, *R. irregularis* showed 3 382–5 989 differentially expressed genes at different time points of *E. grandis* infection by *R. solanacearum*. The number of specifically differentially expressed genes of *R. irregularis* in response to *R. solanacearum* infection gradually increased over the infection time. *R. irregularis* significantly enriched the genes involved in AMF symbiont growth, sporulation, and apoptosis signaling pathways and siderophores at 24 hpi. At 48 hpi, *R. irregularis* mainly improved the transmembrane transport and promoted the absorption and exchange of nutrients such as potassium and nitrogen. At 96 hpi, *R. irregularis* mainly regulated the redox reaction and the synthesis of antibacterial substances such as flavonoids. [Conclusion] The AMF of *E. grandis* mainly regulate the plant growth, enhance the niche and nutrient (such as nitrogen, potassium, and iron) competition, secrete antimicrobial substances, and activate the defense response to *R. solanacearum* infection. The identified genes provide resources and references for further deciphering the mechanism of AMF-*Eucalyptus*-*R. solanacearum* interaction.

Keywords: *Eucalyptus grandis*; arbuscular mycorrhizal fungi; *Ralstonia solanacearum*; RNA-Seq

青枯病是由茄科雷尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*, 简称青枯菌)引起的一种毁灭性土传病害, 危害 450 多种植物如番茄(*Solanum lycopersicum*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)、辣椒(*Capsicum annuum*)和马铃薯(*Solanum tuberosum*)等农作物和桉树、桑树(*Morus alba*)、木樨榄(*Olea europaea*)和麻黄(*Ephedra sinica*)等, 造成

植物减产 15%–100%甚至绝收^[1]。作为世界上最具破坏性的细菌性病害之一, 青枯病在我国发病严重, 已有 30 多个省(自治区、直辖市)报道了青枯病的发生, 仅在广东省每年发病面积就超过 2×10^5 hm², 经济损失约 40 亿元^[2-3]。青枯菌从植物根系伤口、侧根或根尖侵入, 定殖在植物导管组织中, 其致病机制复杂含有 6 种分

泌系统, 遗传特性复杂多样, 目前已完成全基因组测序的青枯菌就超过 90 株^[1,4]。青枯菌致病力强、小种多样性高、环境适应性强, 能在贫瘠的土壤和水中长期存活, 防治非常困难^[1,4-5]。青枯菌侵染受其自身特性(如基因、行为和代谢产物)、土壤非生物(如矿质元素、根系分泌物)和生物因子(如线虫、细菌、真菌、噬菌体)等影响^[1,6]。近年来, 以化学防控、物理防控和改变栽培方式的方法防治青枯病的效果不理想, 培育抗病品种植物虽然是目前较有效的防控措施, 但青枯菌菌株变异速度快, 导致部分品种的抗性减弱甚至丧失, 仍缺乏一种高效防控青枯病的方法^[7-8]。以土壤有益微生物如细菌(黄杆菌、芽孢杆菌和荧光假单胞菌)、噬菌体、真菌(如哈茨木霉和菌根真菌)等的生物防治方法占青枯病防控相关研究的 50%以上, 是未来防控青枯菌的重要方向之一^[7-9]。

菌根真菌与植物形成互利共生的关系, 丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)是四大菌根类型中最主要的一种(占 72%), 能与地球上约 80%陆生植物根系形成“丛枝菌根”共生体, 促进寄主植物生长, 提高植物对非生物和生物胁迫的抗逆性, 是植物可持续生产的重要绿色资源^[10-11]。相关研究主要集中在 AMF 与植物之间养分、水分、碳和糖获取与交换, 以及其影响寄主抗逆性等方面^[12-13]。当 AMF、植物和病原菌三者互动时, AMF 影响植物生长的同时也影响病原菌侵染, 而 AMF 响应病原菌的机制仍不清楚^[14]。目前, 利用 AMF 防控青枯菌的研究大多是在番茄等农作物中, AMF 防控青枯病在多年生林木中的应用非常少^[15-16]。

近年来, 桉树青枯病发生严重, 80%以上的桉树品种易感染青枯病, 在我国华南严重区域的发病率达 90%, 严重威胁着桉树产业的健康发展^[17]。田间调查表明 AMF 菌根化对桉树

青枯菌具有一定的防控效果, 了解 AMF 如何响应桉树青枯菌的侵染, 对利用 AMF 防控桉树青枯病的措施有重要的意义^[18]。因此, 本研究以异形根孢囊霉(*Rhizophagus irregularis*)、茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)、巨桉(*Eucalyptus grandis*)三者之间不同的互作体系为研究对象, 鉴定筛选菌根化巨桉幼苗根系中 AMF 响应青枯菌侵染进程关键基因信息, 以期研究 AMF 响应林木病原菌提供一定的候选基因资源, 也为利用 AMF 防控林木青枯病提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试巨桉(*Eucalyptus grandis*)种子购于广东省中国林业科学研究院热带林业研究所。栽培基质为体积比 3:1 的灭菌沙子和蛭石。选择颗粒饱满、大小均匀一致的巨桉种子培育桉树苗, 巨桉种子用 1%的 HgCl₂ 溶液浸泡消毒萌发后移栽至花盆(长、宽和高分别为 9、9 和 8 cm)中, 后放入人工气候箱中培养, 定期浇改良低磷 Long-Ashton (LA)营养液^[19], 磷水平为 30 μmol/L NaH₂PO₄。

供试丛枝菌根真菌异形根孢囊霉(*Rhizophagus irregularis*, DAOM 197198)由华南农业大学林学与风景园林学院菌根生物学团队惠赠, 菌剂为含有孢子、菌丝、白车轴草(*Trifolium repens* L.)根段和沙的混合物。

供试茄科雷尔氏菌茄科雷尔(*Ralstonia solanacearum*)菌株采自广东省英德市林场 3-4 年生桉树青枯病发病植株, 分离、纯化和鉴定后获得桉树青枯菌毒力菌株。YD 菌株使用水解酪蛋白培养基(casein hydrolysate medium) (葡萄糖 5.0 g/L, 蛋白胨 10.0 g/L, 水解酪蛋白 1.0 g/L, pH 7.0)中 30 °C 培养, 制成 1×10⁸ CFU/mL 菌液备用。

提取 RNA 试剂盒、反转录酶 Invitrogen

SuperScript™ II Reverse Transcriptase, Invitrogen 公司。生物分析仪, Agilent 公司; 分光光度计, Wilmington 公司。

1.2 方法

1.2.1 AMF-桉树-茄科雷尔氏菌互作体系的构建及样品采集

选择生长比较一致的巨桉幼苗进行非菌根化(none mycorrhizal, Nm)和异形根孢囊霉菌根化处理。其中, 非菌根化处理为巨桉不接种异形根孢囊霉; 菌根化处理为巨桉接种异形根孢囊霉, 每盆的异形根孢囊霉接种量约为 1 500 个孢子接种异形根孢囊霉菌剂 90 d 后, 用 WGA488 染色后在荧光显微镜下观察菌根侵染情况。以非菌根化巨桉幼苗为对照, 对异形根孢囊霉菌根化巨桉幼苗侵染青枯菌, 每盆浇灌 20 mL 的 1×10^8 CFU/mL 青枯菌悬浮液, 并放入人工气候箱内进行培养, 共构建巨桉、AMF、青枯菌三者之间不同的互作体系如表 1 所示。于青枯菌侵染 0、24、48 和 96 h 接种后(hour post-inoculated, hpi)的 4 个时间点分别采集非菌根化和菌根化处理的巨桉根系组织样品, 液氮冷冻后 -80 °C 冰箱保存备用。每个处理设置 3 次生物学重复, 每个重复 3 株巨桉植株。

1.2.2 青枯菌侵染菌根化桉树根系的转录组测序

分别对非菌根化与异形根孢囊霉菌根化的巨桉根系组织受青枯菌侵染后 4 个不同时间点的 8 个样品抽提总 RNA, 通过分光光度计与生物分析仪检测总 RNA 质量, 利用反转录酶合成

cDNA, 送至杭州联川生物技术股份有限公司进行 cDNA 文库建库, 利用 Illumina NovaSeq™ 6000 对 cDNA 文库进行转录组测序。

1.2.3 菌根化巨桉根系响应茄科雷尔氏菌侵染的 AMF 差异基因鉴定及关键基因的表达分析

对下机原始数据进行质控, 以 NCBI 中异形根孢囊霉菌基因组数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/18237?genome_assembly_id=361963)为参考基因组, 使用 HISAT2 version 2.0.4、String Tie version 1.3.4、gff compare version 0.9.8 等 R 包对基因或转录本进行组装、检测以及注释。转录本差异倍数(fold change, FC) >2 倍或 $FC < 0.5$ 倍且 $P < 0.05$ 定义为差异表达, 并用基因本体论^[20] (gene ontology)、京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)进行注释分析^[21]。

1.3 数据分析

数据采用 Pearson 方法分析, 并利用联川生物在线分析 lc-bio.cn 平台进行分析和数据可视化。

2 结果与分析

2.1 异形根孢囊霉在巨桉根系中的侵染进程

与未接种菌根真菌巨桉幼苗根系相比(图 1A), 异形根孢囊霉接种巨桉幼苗根系后, AMF 孢子萌发产生菌丝定殖于根系组织, 逐渐在根内形成丛枝(图 1B)和泡囊结构, 之后丛枝开始降解(图 1C), 表明异形根孢囊霉能在桉树幼苗根系定殖, 二者形成良好的共生关系。

表 1 试验设计与处理

Table 1 Experimental design and treatments

菌根处理 Mycorrhizal treatment	非菌根化(不接种异形根孢囊霉) non-mycorrhizal (not inoculation with <i>R. irregularis</i>)				菌根化(接种异形根孢囊霉) Mycorrhizal (inoculation with <i>R. irregularis</i>)			
侵染青枯菌后时间 Time after <i>R. solanacearum</i> infection (h)	0	24	48	96	0	24	48	96
代号 Code	N_N	N_R_24	N_R_48	N_R_96	M_N	M_R_24	M_R_48	M_R_96

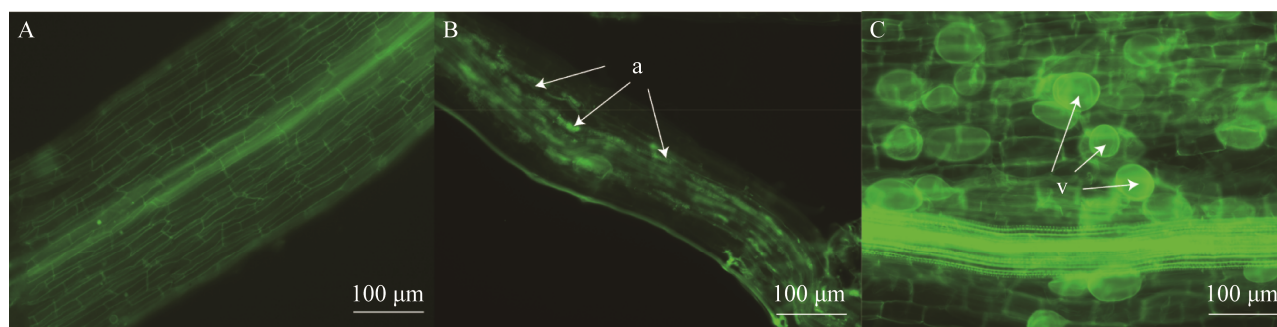


图 1 异形根孢囊霉在巨桉幼苗根系定殖 白色箭头为菌根共生结构. a: 丛枝; v: 泡囊. A: 未接种异形根孢囊霉的巨桉根系. B: 异形根孢囊霉在巨桉根系中形成丛枝. C: 异形根孢囊霉在巨桉根系中形成泡囊

Figure 1 *Rhizophagus irregularis* colonized in roots of *Eucalyptus grandis* seedlings. The white arrow refers to the mycorrhizal symbiosis structure. a: Arbuscule; v: Vesicle. A: Root of *E. grandis* not inoculation with *R. irregularis*. B: *R. irregularis* formed arbuscular in the roots of *E. grandis*. C: *R. irregularis* fovesicles in the roots of *E. grandis*.

2.2 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染进程转录组数据总览

非菌根化与菌根化巨桉受青枯菌侵染进程的根系组织中异形根孢囊霉的有效序列为 36 838 206–52 195 230 条, 与青枯菌侵染对应时间点的非菌根化处理相比, 菌根化巨桉幼苗根系中异形根孢囊霉基因响应茄科雷尔氏菌侵染后各时间点的基因数量有明显差异。菌根化巨桉根系异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染共同的基因有 766 个, 特异性表达的异形根孢囊霉基因共有 1 395 个(图 2A)。其中, 与茄科雷尔氏菌侵染 0 hpi 的菌根化处理比, 受茄科雷尔氏菌侵染 24、48、96 hpi 的菌根化巨桉幼苗根系中异形根孢囊霉特异性表达的基因分别为 232、130 和 402 个, 说明青枯菌侵染后异形根孢囊霉在 24 hpi 时快速响应, 特异性响应的基因数量先减少后增加, 在 96 hpi 时最多。

与非菌根化受青枯菌侵染的对应时间点相比, 菌根化处理的巨桉根系中异形根孢囊霉响应青枯菌侵染 0、24、48 和 96 hpi 分别有 5 989、

2 912、4 043 和 3 382 个异形根孢囊霉基因显著上调(图 2B)。随着茄科雷尔氏菌侵染时间进程的增加, 异形根孢囊霉响应青枯菌基因的数量逐渐增加, 且显著下调的基因数目多于显著上调的数量(图 2B)。与青枯菌侵染 0 hpi 菌根化处理比, 青枯菌侵染 24、48 和 96 hpi 的菌根化巨桉幼苗根系中异形根孢囊霉显著差异表达的基因数量分别为 486、983、1 169 条, 其显著上调的分别为 162、445 和 410 条, 显著下调的分别为 324、538 和 759 条。与青枯菌侵染 24 hpi 相比, 异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染 48 hpi 和 96 hpi 中显著上调和下调的基因数量分别为 273 条和 263 条、154 条和 211 条。与茄科雷尔氏菌侵染 48 hpi 相比, 异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染 96 hpi 显著上调和下调的基因数量分别为 289 条和 548 条。表明随着茄科雷尔氏菌侵染时间进程的增加, 菌根化巨桉幼苗根系中异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌的差异表达基因数量逐渐增加, 且与茄科雷尔氏菌侵染 0 hpi 相比主要为下调基因数量的增加。

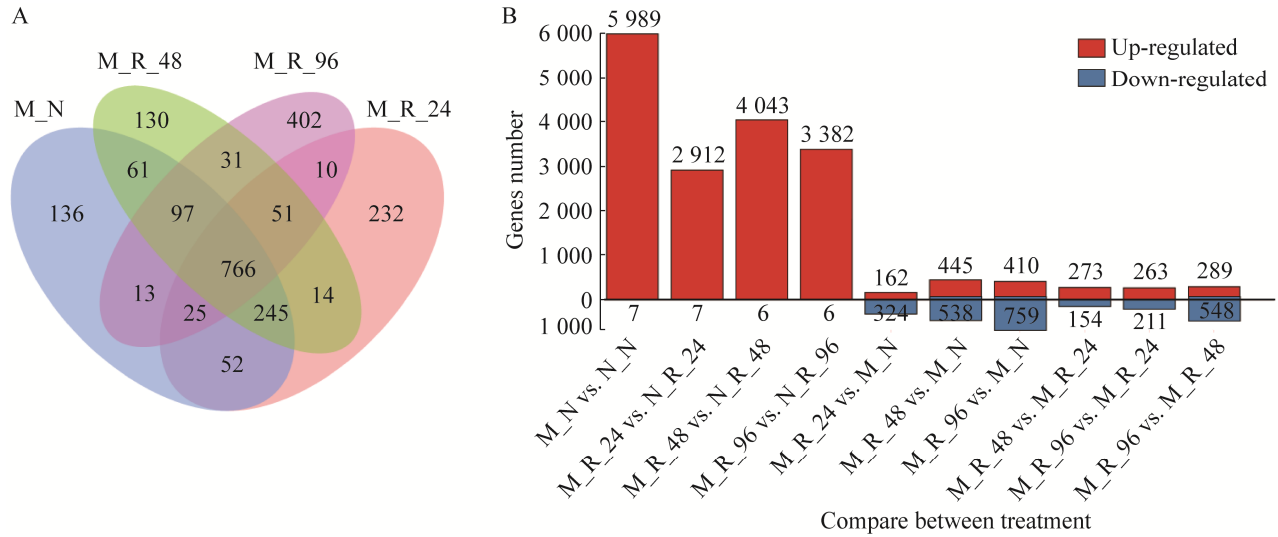


图2 巨桉根系 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染进程表达的基因数量 N_N:非菌根化巨桉幼苗侵染 0 hpi; M_N: 菌根化巨桉幼苗侵染 0 hpi; M_R_24: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 24 hpi; M_R_48: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 48 hpi; M_R_96: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 96 hpi

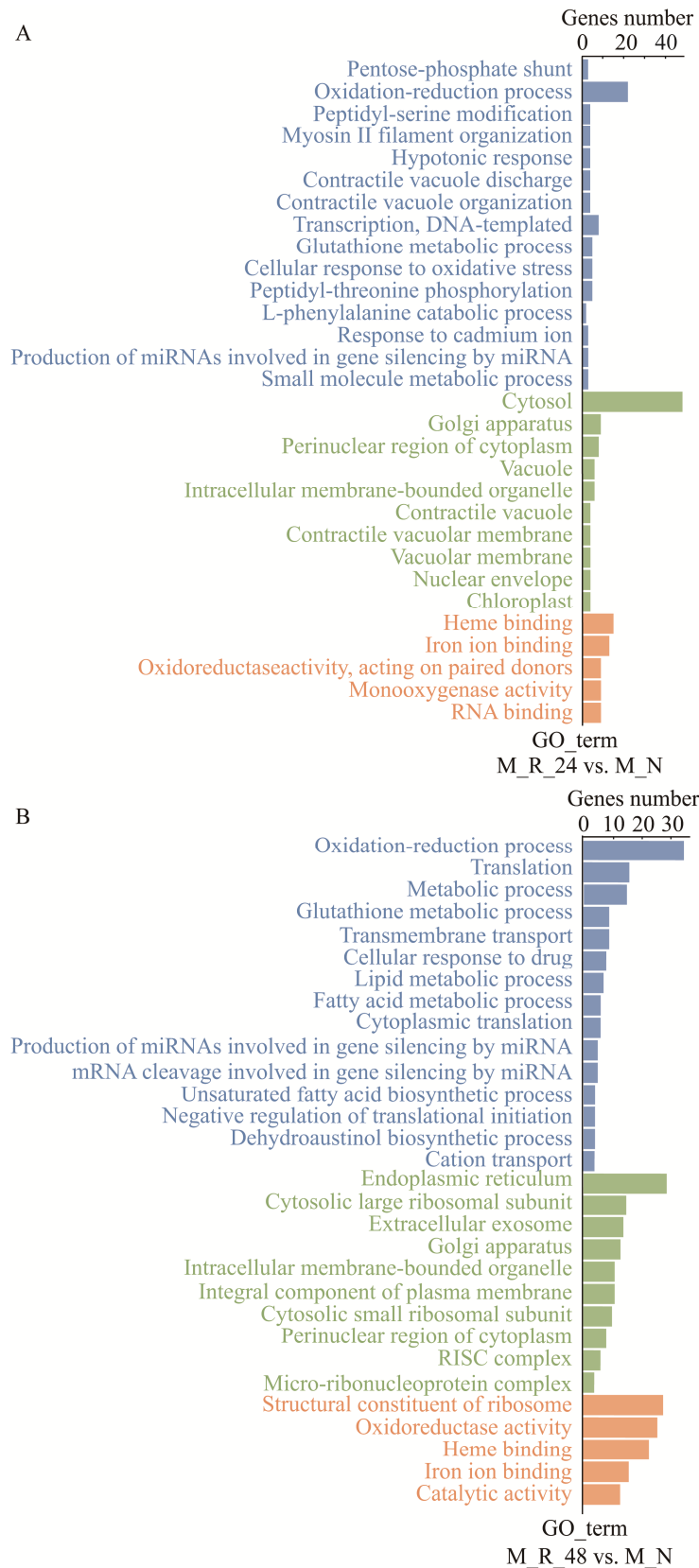
Figure 2 Number of genes expressed in AMF response to *Rhizophagus solanacearum* infection in *Eucalyptus grandis* roots. N_N: Non-mycorrhizal *E. grandis* seedlings infection with *R. solanacearum* at 0 hpi; M_N: Mycorrhizal *E. grandis* seedlings infection with *R. solanacearum* at 0 hpi; M_R_24: Mycorrhizal *E. grandis* seedlings infection with *R. solanacearum* at 24 hpi; M_R_48: Mycorrhizal *E. grandis* seedlings infection with *R. solanacearum* at 48 hpi; M_R_96: Mycorrhizal *E. grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 96 hpi.

2.3 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染差异基因的基因本体论 (gene ontology, GO) 特征

与菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 0 hpi 相比, 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 24、48 和 96 hpi 根系中异形根孢囊霉差异表达基因分别显著富集了 161、116、134 条 GO 信息(图 3)。异形根孢囊霉响应青枯菌侵染 24 hpi 显著富集 82 条生物过程、57 条分子功能和 22 条细胞组分组成, 主要参与低渗反应、谷胱甘肽分解代谢过程、氧稳态、细胞对氧化应激的反应等; 青枯菌侵染主要影响异形根孢囊霉生长、子囊孢子形成的调节、凋亡信号通路的正向调控等相关基因的表达。此外, 显著富集的异形根孢

囊霉基因大多数与铁离子结合、谷胱甘肽转移酶活性、氧化还原酶活性-作用于配对供体、单加氧酶活性、谷胱甘肽脱氢酶活性、过氧化物酶活性等分子功能相关, 主要分布在细胞质核周区、伸缩泡、收缩液泡膜、液泡和胞质溶胶(图 3A)。

与茄科雷尔氏菌侵染 0 hpi 菌根化处理相比, 异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染 48 hpi 显著富集的基因主要参与氧化还原、翻译、谷胱甘肽和脂质代谢、跨膜运输、细胞壁大分子分解代谢等过程, 涉及核糖体的结构成分、氧化还原酶、谷胱甘肽转移酶、丝氨酸型内肽酶、小 RNA 结合、氧化还原酶等功能, 主要分布在细胞外分泌体、胞内膜界细胞器、核小体、细胞质核周区和 Myb 复合体上(图 3B)。异形根孢



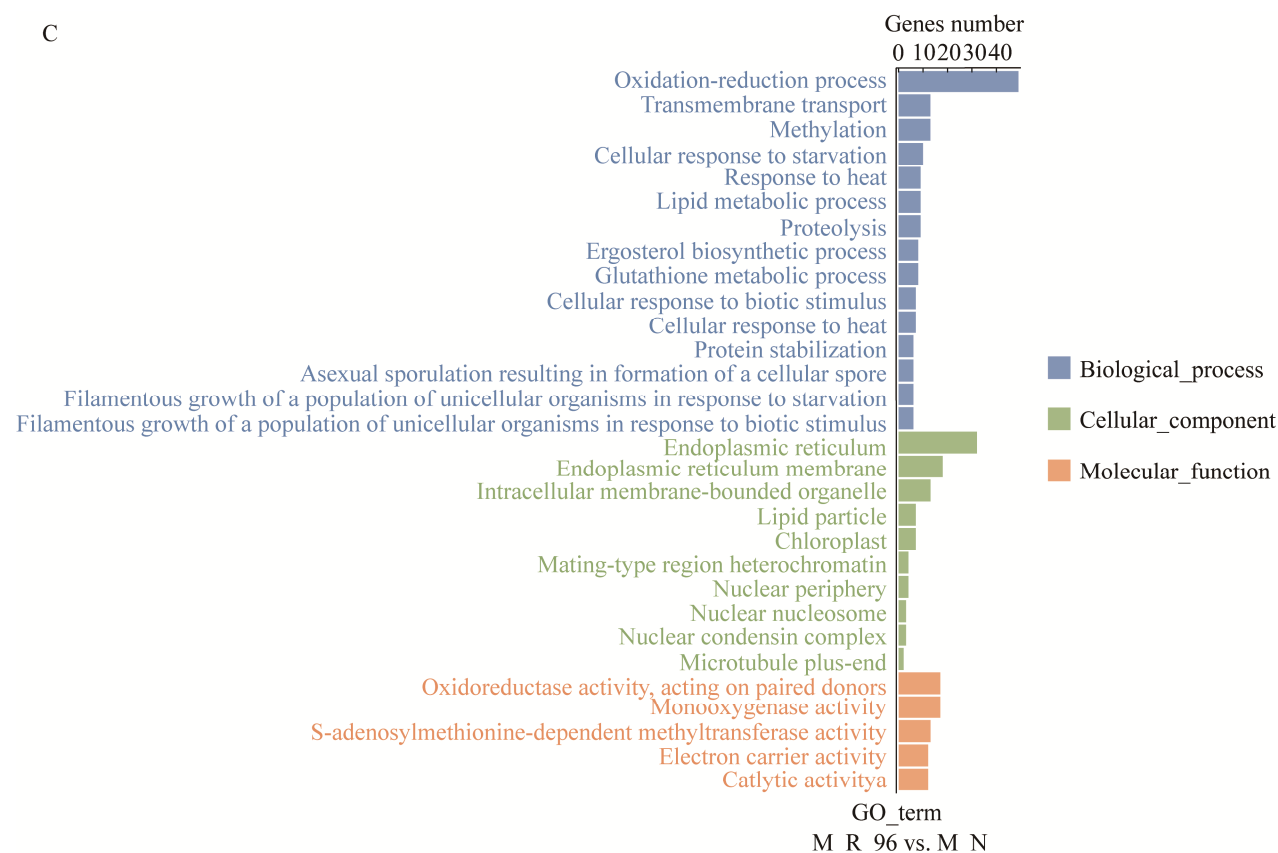


图3 菌根化巨桉根系 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染 24、48 和 96 hpi 基因 GO 分析 M_N: 菌根化巨桉幼苗; M_R_24: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 24 hpi; M_R_48: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 48 hpi; M_R_96: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 96 hpi

Figure 3 GO analysis of AMF genes responded to the *Rhizophagus solanacearum* infection at 24, 48 and 96 hpi in *Eucalyptus grandis* roots. M_N: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 0 hpi; M_R_24: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 24 hpi; M_R_48: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 48 hpi; M_R_96: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 96 hpi.

囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染 96 hpi 显著富集参与氧化还原、麦角甾醇生物合成、去除超氧自由基、谷胱甘肽代谢、黄酮类生物合成的正向调控、氮利用、细胞壁大分子和肽聚糖分解代谢等过程, 涉及氧化还原酶活性、铁离子结合、乙酸跨膜转运蛋白、氧化还原酶、单加氧酶、谷胱甘肽转移酶和类固醇羟化酶等功能(图 3C)。

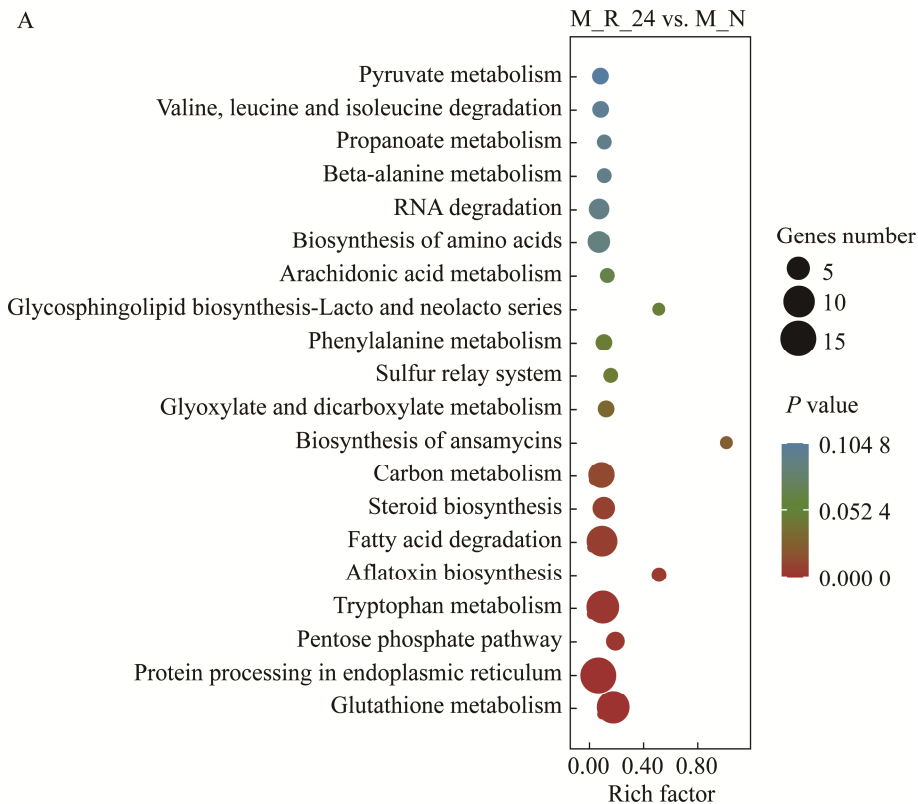
菌根化巨桉根系异形根孢囊霉响应青枯菌侵染进程显著表达参与谷胱甘肽转移酶、氧化还原、铁离子结合、黄酮类、子囊孢子形成等过程的基因, 显著富集细胞外泌体、内质网、内质网膜、核小体等组分。说明异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染 24 hpi 时可能主要调控异形根孢囊霉的生长, 激活抗氧化酶等以调节自身氧平衡稳态; 茄科雷尔氏菌侵染 48 hpi 时异

形根孢囊霉抗氧化能力增强。青枯菌侵染 96 hpi 时, 异形根孢囊霉进一步促进氧化还原反应清除多余活性氧, 促进自身和寄主的存活, 还可能通过促进黄酮类生物合成过程的正向调控, 生成抗性物质黄酮类物质。其次, 异形根孢囊霉调控铁离子结合相关反应, 与青枯菌竞争铁元素, 促进生长和提高抗性以抑制茄科雷尔氏菌生长。此外, 细胞壁结构的变化可能在异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染巨桉中具有重要作用。总之, AMF 可能通过提高氧化还原反应、铁离子结合、黄酮类抗性物质等提高其在寄主巨桉幼苗根系上的定殖, 调控寄主活性氧含量并激活其防御反应, 抑制茄科雷尔氏菌的生长。

2.4 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染差异基因的 KEGG 特征

与茄科雷尔氏菌侵染 0 hpi 菌根化巨桉根

系相比, 茄科雷尔氏菌侵染 24、48 和 96 hpi 的菌根化巨桉根系中异形根孢囊霉分别富集了 78、106 和 99 个 KEGG 通路, 其中 13、20 和 27 个差异显著(图 4)。显著富集的异形根孢囊霉涉及的通路随茄科雷尔氏菌侵染时间的增加而增加, 表明青枯菌入侵明显影响了异形根孢囊霉基因的表达。青枯菌侵染 24 hpi, 菌根化巨桉幼苗中异形根孢囊霉显著富集谷胱甘肽代谢、内质网中的蛋白质加工、戊糖磷酸、类固醇生物合成等通路(图 4A); 青枯菌侵染 48 hpi 时, 异形根孢囊霉显著富集核糖体、谷胱甘肽代谢、不饱和脂肪酸的生物合成、类固醇生物合成、丙酮酸代谢等通路(图 4B); 青枯菌侵染 96 hpi 时, 异形根孢囊霉显著富集类固醇生物合成、色氨酸代谢、脂肪酸代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、丙酮酸代谢、蛋白质分泌、谷胱甘肽代谢等通路(图 4C)。随着茄科雷尔氏菌侵染时间进程



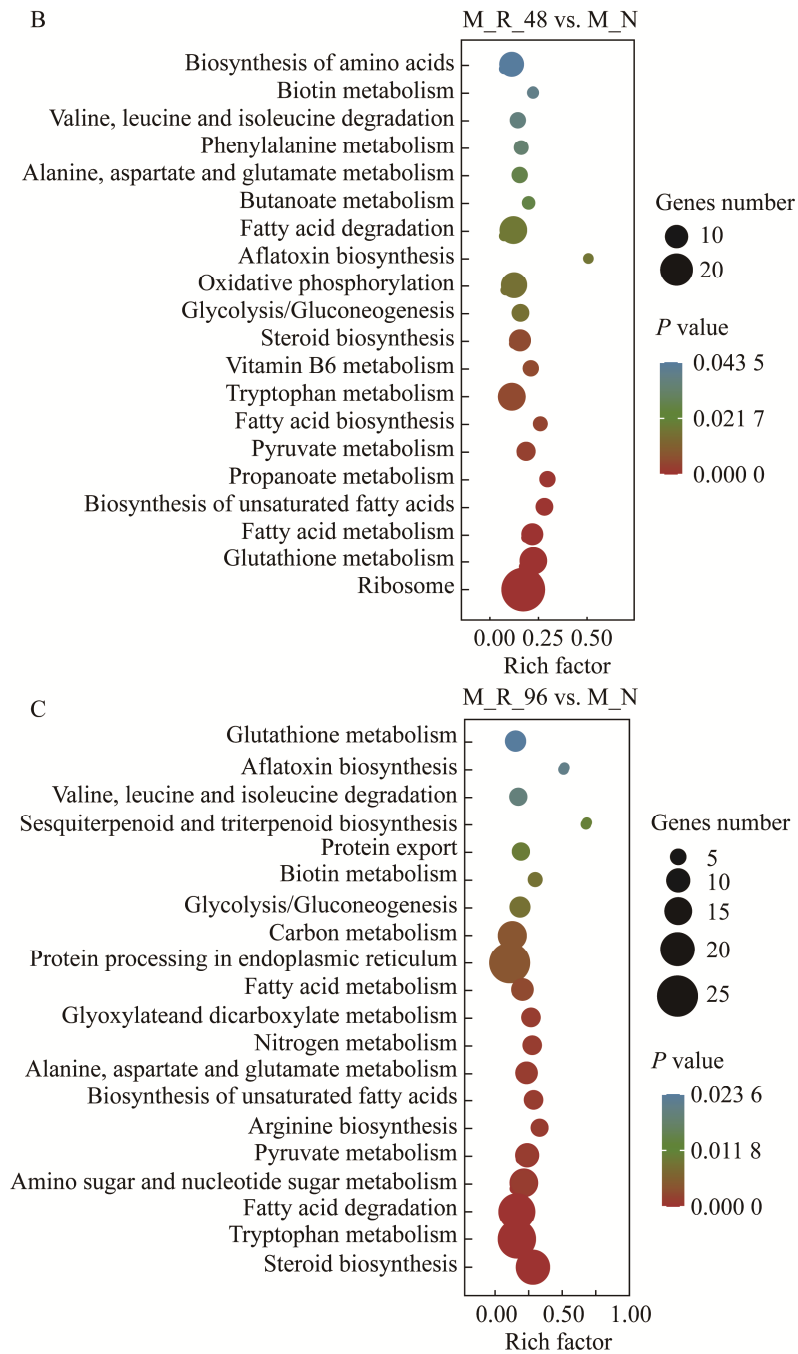


图 4 菌根化巨桉幼苗中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染 24、48 和 96 hpi 基因的 KEGG 分析 M_N: 菌根化巨桉幼苗; M_R_24: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 24 hpi; M_R_48: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 48 hpi; M_R_96: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 96 hpi

Figure 4 KEGG pathway of AMF responded to *Rhizophagus solanacearum* infection at 24, 48 and 96 hpi in mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings. M_N: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 0 hpi; M_R_24: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 24 hpi; M_R_48: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 48 hpi; M_R_96: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 96 hpi.

的增加, 菌根化巨桉幼苗根系异形根孢囊霉显著富集的通路数量逐渐增加, 与谷胱甘肽、黄曲霉毒素、类固醇、色氨酸、脂肪酸合成代谢相关基因显著富集。说明茄科雷尔氏菌的入侵后异形根孢囊霉可能大量表达蛋白质、不饱和脂肪酸和酶活性相关的基因, 促进异形根孢囊霉代谢; 在侵染 96 hpi 时改变异形根孢囊霉糖稳态, 调控氧化还原反应、酶活性、蛋白质表达等生物过程, 以响应茄科雷尔氏菌的侵染。

2.5 菌根化巨桉根系响应茄科雷尔氏菌感染 AMF 的关键基因及其表达特征

2.5.1 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染生长相关基因

菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染进程显著富集 16 条与异形根孢囊霉生

长相关基因的 GO 信息, 共 53 个基因与 AMF 孢子发育、菌丝发育、有丝分裂等相关, 共生体在寄主生长相关的子囊壁相关(7 个)、菌丝细胞壁(7 个)和无性孢子形成细胞孢子(6 个)基因, 说明青枯菌入侵可能影响异形根孢囊霉的生长(表 2)。青枯菌入侵后, 异形根孢囊霉可能调控分生孢子发育、菌丝发育、细胞壁发育、有丝分裂等过程促进其自身生长、延伸和发育, 以占据更多的生态位以抑制茄科雷尔氏菌的入侵。

2.5.2 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染营养相关基因

菌根化巨桉根系中异形根孢囊霉响应青枯菌侵染主要与氮营养吸收代谢相关(表 3)。其中, 谷氨酰胺合成酶等响应氮饥饿、氮代谢与利用的基因显著差异表达, 青枯菌入侵桉树根

表 2 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染生长相关基因

Table 2 AMF growth-related genes in mycorrhizal *Eucalyptus grandis* root in responded to *Rhizophagus solanacearum* infection

GO_ID	GO 条目 GO_Term	基因数 Genes number	P value
GO: 0070793	分生孢子发育的调控 Regulation of conidiophore development	1	0.03
GO: 0044117	共生体在寄主中的生长 Growth of symbiont in host	1	0.03
GO: 0035371	微管加端 Microtubule plus-end	2	0.01
GO: 0030476	子囊壁相关 Ascospore wall assembly	7	0.01
GO: 0030446	菌丝细胞壁 Hyphal cell wall	7	0.01
GO: 0030042	肌动蛋白丝解聚 Actin filament depolymerization	2	0.02
GO: 0043936	无性孢子形成细胞孢子 Asexual sporulation resulting in formation of a cellular spore	6	0.03
GO: 0007076	有丝分裂染色体凝聚 Mitotic chromosome condensation	3	0.03
GO: 0007064	有丝分裂姐妹染色单体凝聚 Mitotic sister chromatid cohesion	3	0.03
GO: 0000079	细胞周期蛋白依赖性蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性的调节 Regulation of cyclin-dependent protein serine/Threonine kinase activity	3	0.03
GO: 0010971	有丝分裂细胞周期 G2/M 转换的正调控 Positive regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle	3	0.03
GO: 0008574	ATP 依赖性微管运动活动, 正端导向 ATP-dependent microtubule motor activity, plus-end-directed	2	0.04
GO: 0010569	通过同源重组调控双链断裂修复 Regulation of double-strand break repair via homologous recombination	2	0.04
GO: 0051567	组蛋白 H3-K9 甲基化 Histone H3-K9 methylation	2	0.04
GO: 0043581	菌丝体发育 Mycelium development	8	0.05
GO: 2001235	凋亡信号通路的正向调控 Positive regulation of apoptotic signaling pathway	1	0.03

表3 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染氮和钾营养相关基因

Table 3 AMF genes relation with nitrogen and potassium nutrition in responded to *Rhizophagus solanacearum* infection in *Eucalyptus grandis* roots

类型	GO_ID	GO 条目	基因数	P
Type		GO_Term	Genes number	value
氮相关基因的表达 Expression of nitrogen related genes	GO: 0006995	响应氮饥饿 Response to nitrogen starvation	2	0.03
	GO: 0051171	氮化合物代谢过程的调控	1	0.08
		Regulation of nitrogen compound metabolic process		
	GO: 0019740	氮利用 Nitrogen utilization	1	0.13
	GO: 0006807	氮化合物代谢过程 Nitrogen compound metabolic process	1	0.24
	GO: 0015079	钾离子跨膜转运蛋白活性	2	0.01
		Potassium ion transmembrane transporter activity		
	GO: 0071805	钾离子跨膜转运 Potassium ion transmembrane transport	2	0.01
	GO: 1901379	钾离子跨膜转运的调节	1	0.03
		Regulation of potassium ion transmembrane transport		
钾相关基因的表达 Expression of potassium related genes	GO: 0034705	钾通道复合物 Potassium channel complex	1	0.03
	GO: 1901016	钾离子跨膜转运蛋白活性的调节	1	0.03
		Regulation of potassium ion transmembrane transporter activity		
	GO: 0005391	钠:钾交换 ATP 酶活性	1	0.08
		Sodium:potassium-exchanging ATPase activity		
	GO: 0010107	钾离子转运 Potassium ion import	1	0.11
	GO: 0015459	钾通道调节剂活性 Potassium channel regulator activity	1	0.11
	GO: 0030007	细胞钾离子稳态 Cellular potassium ion homeostasis	1	0.15
GO: 0005249	电压门控钾通道活性 Voltage-gated potassium channel activity	1	0.15	
GO: 0015386	钾: 质子逆向转运体活性 Potassium: proton antiporter activity	1	0.32	
GO: 0005251	延迟调节钾通道活性 Delayed rectifier potassium channel activity	1	0.41	

系后其繁殖需要营养,可能异形根孢囊霉调控氮相关基因与青枯菌竞争根系中的氮源。菌根化处理异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染筛选到 12 条与钾离子扩膜运输、钾离子交换等 GO 信息,其中 5 条显著差异表达(表 3)。显著差异表达基因主要涉及钾离子扩膜运输和钾离子运输,可能异形根孢囊霉通过调控自身的钾离子转运,促进自身生长的同时与茄科雷尔氏菌竞争抢夺养分资源。

异形根孢囊霉响应茄科雷尔氏菌侵染显著富集了 15 条与铁离子相关的 GO 信息(表 4),主要与铁离子结合、铁掺入金属硫簇、高亲和力铁离子跨膜转运相关,其中有 13 个基因与铁离子结合相关,调控异形根孢囊霉对铁离子的吸收、转运与利用。受青枯菌侵染后,异形根

孢囊霉可能通过调控铁载体相关基因表达,合成分泌铁载体增加异形根孢囊霉细胞膜上的铁载体数目,一方面可能促进铁的氧化还原能力,使更多的 Fe^{3+} 转化为 Fe^{2+} ,为桉树捕获铁离子,增加桉树铁吸收;另一方面,异形根孢囊霉可能通过与茄科雷尔氏菌竞争微量元素,以抑制茄科雷尔氏菌的侵染和增殖。

2.5.3 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染的抗性相关基因

青枯菌侵染后,异形根孢囊霉可能调控桉树根系信号传导(免疫或共生),激活寄主防御反应。菌根化巨桉根系中异形根孢囊霉响应青枯菌侵染的抗性关键基因主要有几丁质合酶 3 (chitinase 3, *RiCHS3*)、几丁质合酶 2 (*RiCHS2*)、烟酸转运蛋白(*RiTnalp*)、类枯草菌素蛋白酶

表 4 菌根化巨桉根系中 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染铁相关基因

Table 4 AMF in mycorrhizal *Eucalyptus grandis* roots related to iron-related genes responded to *Rhizophagus solanacearum* infection

GO_ID	GO 条目 GO_Term	基因数 Genes number	P value
GO: 0005506	铁离子结合 Iron ion binding	13	0.00
GO: 0018283	铁掺入金属硫簇 Iron incorporation into metallo-sulfur cluster	1	0.03
GO: 0006827	高亲和力铁离子跨膜转运 High-affinity iron ion transmembrane transport	1	0.05
GO: 0033573	高亲和力铁渗透复合物 High-affinity iron permease complex	1	0.08
GO: 0010106	细胞对铁离子饥饿的反应 Cellular response to iron ion starvation	1	0.08
GO: 0033215	通过还原和运输同化铁 Iron assimilation by reduction and transport	1	0.08
GO: 0006826	铁离子转运 Iron ion transport	1	0.08
GO: 0015093	亚铁跨膜转运蛋白活性 Ferrous iron transmembrane transporter activity	1	0.11
GO: 0008198	亚铁结合 Ferrous iron binding	1	0.13
GO: 0051537	2 铁, 2 硫簇结合 2 iron, 2 sulfur cluster binding	1	0.18
GO: 0005381	铁离子跨膜转运蛋白活性 Iron ion transmembrane transporter activity	1	0.22
GO: 0006879	细胞铁离子稳态 Cellular iron ion homeostasis	1	0.24
GO: 0051536	铁硫簇结合 Iron-sulfur cluster binding	1	0.29
GO: 0016226	铁硫簇组装 Iron-sulfur cluster assembly	1	0.34
GO: 0051539	4 铁, 4 硫簇结合 4 iron, 4 sulfur cluster binding	1	0.43

钙调蛋白 1 (*RiCam1p-2*)、谷胱甘肽过氧化物酶 (*RiUre2p*)、细胞色素 b5 (*RiCyb5p*)、硫氧还蛋白二硫化物还原酶 (*RiTRR1*)、细胞色素 b2 (*RiCyb2p*)、GDL 基序肽相关自由基成熟酶 (*RiGdl1p*)、钙调蛋白 1 (*RiCam1p-1*)、超氧化物歧化酶 1 (*RiSOD1*)、硫氧还蛋白 TRX1 (*RiTrx1p*)、角鲨烯单加氧酶 (*RiERGI*)、磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (*RiGND2*) 基因, 而且随青枯菌侵染时间的增加转录水平表达逐渐降低(图 5)。随着茄科雷尔氏菌入侵时间增加, 茄科雷尔氏菌侵染对菌根化巨桉根系的异形根孢囊霉关键基因二羧酸转运蛋白 (*RiDit2p*)、碱性氨基酸转运体 (*RiVba5p*)、吡哆醇 4-脱氢酶 (*RiPLR1*) 的转录水平显著上调表达(图 5)。说明 AMF 在茄科雷尔氏菌侵染前期, 有较高抗氧化活性相关基因表达, 可能通过迅速激活桉树免疫防御反应来提高其防御茄科雷尔氏菌的能力。

3 讨论与结论

植物根系土壤微生物群落能及时响应青枯病的发生, 真菌与细菌之间存在密切的相互作用关系^[22-23]。菌根真菌能促进宿主植物从土壤中获取营养、水分和提高植物对抗逆境, 是防控青枯病非常重要的绿色资源^[7]。本研究中, 与对应非菌根化处理相比, 受青枯菌侵染后菌根化桉树根系中 AMF 大量特异性基因迅速响应, 受青枯菌侵染 96 hpi 时响应的基因数量最多, 说明 AMF 的生长代谢明显受青枯菌的影响, 二者之间存在相互作用。体外培养显示真菌对青枯菌的定殖数目有显著影响, 真菌-青枯菌之间的相互作用影响细菌的致病力、适应性和持久性^[23-24]。青枯菌主要从寄主根系伤口或次生根的根冠侵入根皮层细胞间隙和导管间隙, 定殖到木质部导管中, 堵塞水分和矿质营养的运输, 导致植株萎蔫发病甚至死亡^[4]。AMF

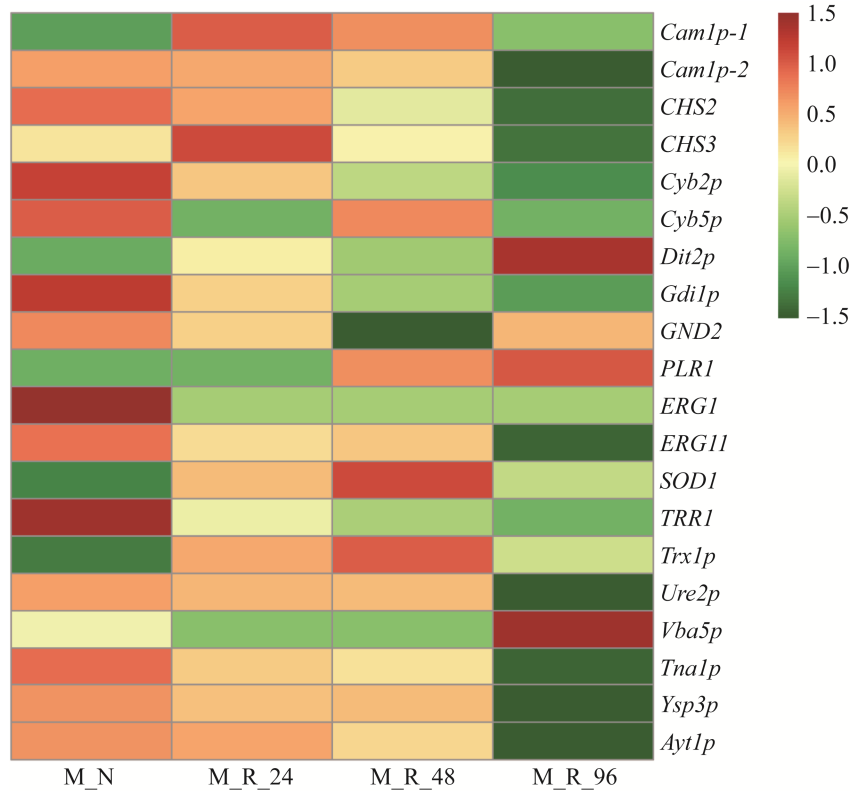


图5 菌根化巨桉根系 AMF 响应茄科雷尔氏菌侵染进程抗性相关基因的表达 M_N: 菌根化巨桉幼苗; M_R_24: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 24 hpi; M_R_48: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 48 hpi; M_R_96: 菌根化巨桉幼苗受青枯菌侵染 96 hpi

Figure 5 Expression of resistance related genes of AMF in mycorrhizal *Eucalyptus grandis* roots in responded to *Rhizophagus solanacearum* infection process. M_N: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 0 hpi; M_R_24: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 24 hpi; M_R_48: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 48 hpi; M_R_96: Mycorrhizal *Eucalyptus grandis* seedlings infection with *Rhizophagus solanacearum* at 96 hpi.

孢子萌发后与根系根尖和侧根表皮细胞接触, 穿过根部细胞外层, 在内皮层细胞中产生树状分子, 在根系形成“菌根”互惠共生体, 通过共生界面与宿主进行物质交换^[10]。本研究结果显示, 受青枯菌侵染后, 异形根孢囊霉生长发育、信号转导、氮和钾养分吸收代谢相关基因显著富集, 可能异形根孢囊霉与青枯菌竞争营养以抑制青枯菌的生长。AMF-桉树-青枯菌互作中根系组织作为青枯菌与菌根真菌共同的定殖场

所, 可能异形根孢囊霉促进自身在桉树根系组织中的生长发育^[13], 抢占根系生态位空间以影响青枯菌的入侵。研究表明, 丛枝菌根真菌诱导植物侧根的发育, 使宿主根系更加发达, 寄主根系的发育程度与青枯病抗性呈正相关^[6,25]。本研究中, 受青枯菌侵染后, 菌根化桉树根系中异形根孢囊霉可能调控氮、钾等基因增加与寄主之间的养分转运和交换, 促进寄主桉树生长健壮提高对青枯菌的抗性。受茄科雷尔氏菌侵染

后, 桉树根系中显著差异表达 AMF 共生相关的基因数量不多, 这与相关研究结果^[26]类似, 可能桉树菌根化后茄科雷尔氏菌的侵染对菌根共生关系的影响较小。

细菌、真菌与植物互作时铁载体具有重要的作用, 病原微生物通过分泌铁载体从宿主获取铁, 而宿主则减少铁的可用性以降低病原体的毒性, 缺 Fe 诱导的寄主的抗病途径, 铁感应与铁平衡调节是宿主防止病原物侵染和营养免疫的第一道防线之一^[27]。本研究中, 随着茄科雷尔氏菌入侵时间增加, 异形根孢囊霉铁载体(如 *RiDit2p* 等)、跨膜运输、转运蛋白和铁运输、酶活性等相关基因等显著上调表达, 可能 AMF 与青枯菌之间通过竞争铁载体以促进 AMF 生长并调节寄主抗性反应从而抑制青枯菌侵染。

AMF 能改善植物根围微生物组成和土壤环境, 如增加荧光假单胞菌等菌群和分泌抑菌物质以拮抗土壤中的病原菌^[1,5,8-9]。本研究中, AMF 响应青枯侵染时, 部分细胞色素如 P450 基因的表达上调, 这可能有助于适应根和土壤所需的各种代谢途径^[26]。被青枯菌侵染后, 异形根孢囊霉显著富集氧化还原反应和抑菌物质相关基因如谷胱甘肽转移酶、谷胱甘肽脱氢酶、氧化还原酶、过氧化物酶和黄酮类生物合成等基因, 说明菌根化桉树中异形根孢囊霉可能通过调控谷胱甘肽代谢等氧化还原反应和类黄酮等分泌抗菌物质, 直接作用于青枯菌致病力或改善根围环境, 以响应青枯菌的存活, 从而减少青枯菌在桉树根系组织中的定殖和数量。AMF 诱导寄主的菌根诱导抗性, 影响寄主抗性相关代谢过程如防御酶活性、病程相关蛋白等介导植物免疫防御反应, 使植物根系细胞壁木质化, 增厚植物细胞壁等提高寄主抵抗病原菌的能力^[1,28-29]。本研究结果显示, 异形根孢囊霉可能通过调控氧化还原反应以平衡活性氧自由

基, 同时介导寄主水杨酸等信号转导途径激活寄主防御反应, 以提高寄主抗青枯菌的能力。本研究仅初步筛选和鉴定异形根孢囊霉响应桉树茄科雷尔氏菌侵染的相关基因信息, 相关关键基因的功能及其作用机制还有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] 马超, 杨欣润, 江高飞, 张勇, 周开胜, 韦中. 病原青枯菌土壤存活的影响因素研究进展[J]. 土壤学报, 2021, 58(6): 1359-1367.
MA C, YANG XR, JIANG GF, ZHANG Y, ZHOU KS, WEI Z. Research progresses on key factors affecting survival of *Ralstonia solanacearum* in soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(6): 1359-1367 (in Chinese).
- [2] JIANG GF, WEI Z, XU J, CHEN HL, ZHANG Y, SHE XM, MACHO AP, DING W, LIAO BS. Bacterial wilt in China: history, current status, and future perspectives[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1549.
- [3] SONG SH, YIN WF, SUN XY, CUI BB, HUANG L, LI P, YANG L, ZHOU JN, DENG YY. Anthranilic acid from *Ralstonia solanacearum* plays dual roles in intraspecies signalling and inter-kingdom communication[J]. The ISME Journal, 2020, 14(9): 2248-2260.
- [4] LOWE-POWER TM, KHOKHANI D, ALLEN C. How *Ralstonia solanacearum* exploits and thrives in the flowing plant xylem environment[J]. Trends in Microbiology, 2018, 26(11): 929-942.
- [5] 潘晓英, 张振臣, 袁清华, 李集勤, 马柱文, 陈俊标, 黄振瑞. 植物抗青枯病的分子机制研究进展[J]. 植物生理学报, 2022, 58(4): 607-621.
PAN XY, ZHANG ZC, YUAN QH, LI JQ, MA ZW, CHEN JB, HUANG ZR. Research advances on molecular mechanisms of resistance to bacterial wilt in plants[J]. Plant Physiology Journal, 2022, 58(4): 607-621 (in Chinese).
- [6] XUE H, LOZANO-DURÁN, MACHO AP. Insights into the root invasion by the plant pathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum*[J]. Plants (Basel, Switzerland), 2020, 9(4): 516.
- [7] YULIAR, NION YA, TOYOTA K. Recent trends in control methods for bacterial wilt diseases caused by *Ralstonia solanacearum*[J]. Microbes and Environments, 2015, 30(1): 1-11.

- [8] WANG XF, WEI Z, YANG KM, WANG JN, JOUSSET A, XU YC, SHEN QR, FRIMAN VP. Phage combination therapies for bacterial wilt disease in tomato[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(12): 1513-1520.
- [9] KWAK MJ, KONG HG, CHOI K, KWON SK, SONG JY, LEE J, LEE PA, CHOI SY, SEO M, LEE HJ, JUNG EJ, PARK H, ROY N, KIM H, LEE MM, RUBIN EM, LEE SW, KIM JF. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato[J]. *Nature Biotechnology*, 2018; 36: 1100-1109.
- [10] GENRE A, LANFRANCO L, PEROTTO S, BONFANTE P. Unique and common traits in mycorrhizal symbioses[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 649-660.
- [11] 王海希, 郝志鹏, 张莘, 谢伟, 陈保冬. 丛枝菌根真菌防治尖孢镰孢枯萎病的效应、机制及其应用研究进展[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(7): 2819-2837.
- WANG HX, HAO ZP, ZHANG X, XIE W, CHEN BD. Effect, mechanisms and application of arbuscular mycorrhizal fungi for biological control of *Fusarium oxysporum*-caused wilt: a review[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(7): 2819-2837 (in Chinese).
- [12] KAKOURIDIS A, HAGEN JA, KAN MP, MAMBELLI S, FELDMAN LJ, HERMAN DJ, WEBER PK, PETT-RIDGE J, FIRESTONE MK. Routes to roots: direct evidence of water transport by arbuscular mycorrhizal fungi to host plants[J]. *The New Phytologist*, 2022, 236(1): 210-221.
- [13] CHIU CH, ROSZAK P, ORVOŠOVÁ M, PASZKOWSKI U. Arbuscular mycorrhizal fungi induce lateral root development in angiosperms via a conserved set of MAMP receptors[J]. *Current Biology: CB*, 2022, 32(20): 4428-4437.e3.
- [14] ECK JL, KYTÖVIITA MM, LAINE AL. Arbuscular mycorrhizal fungi influence host infection during epidemics in a wild plant pathosystem[J]. *The New Phytologist*, 2022, 236(5): 1922-1935.
- [15] CHAVE M, CROZILHAC P, DEBERDT P, PLOUZNIOFF K, DECLERCK S. *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833 transiently reduces tomato bacterial wilt incidence caused by *Ralstonia solanacearum* under *in vitro* conditions[J]. *Mycorrhiza*, 2017, 27(7): 719-723.
- [16] TAHAT M, SIJAM K, OTHMAN R. Ultrastructural changes of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) root colonized by *Glomus mosseae* and *Ralstonia solanacearum*[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(25): 6681-6686.
- [17] FERREIRA MA, MAFIA RG, ALFENAS AC. *Ralstonia solanacearum* decreases volumetric growth of trees and yield of kraft cellulose of *Eucalyptus* spp.[J]. *Forest Pathology*, 2018, 48(1): e12376.
- [18] 弓明钦, 陈羽, 王凤珍. AM 菌根化的两种桉树苗对青枯病的抗性研究[J]. *林业科学研究*, 2004, 17(4): 441-446.
- GONG MQ, CHEN Y, WANG FZ. Resistance of the AM fungus *Eucalyptus* seedlings against *Pseudomonas solanacearum*[J]. *Forest Research*, 2004, 17(4): 441-446 (in Chinese).
- [19] NGO HTT, WATTS-WILLIAMS SJ, CAVAGNARO TR. Mycorrhizal growth and phosphorus responses of tomato differ with source but not application rate of phosphorus fertilisers[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 166: 104089.
- [20] ASHBURNER M, BALL CA, BLAKE JA, BOTSTEIN D, BUTLER H, CHERRY JM, DAVIS AP, DOLINSKI K, DWIGHT SS, EPPIG JT, HARRIS MA, HILL DP, ISSEL-TARVER L, KASARSKIS A, LEWIS S, MATESE JC, RICHARDSON JE, RINGWALD M, RUBIN GM, SHERLOCK G. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium[J]. *Nature Genetics*, 2000, 25(1): 25-29.
- [21] KANEHISA M, ARAKI M, GOTO S, HATTORI M, HIRAKAWA M, ITOH M, KATAYAMA T, KAWASHIMA S, OKUDA S, TOKIMATSU T, YAMANISHI Y. KEGG for linking genomes to life and the environment[J]. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36 (database issue): D480-D484.
- [22] GU YA, BANERJEE S, DINI-ANDREOTE F, XU YC, SHEN QR, JOUSSET A, WEI Z. Small changes in rhizosphere microbiome composition predict disease outcomes earlier than pathogen density variations[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(10): 2448-2456.
- [23] VENKATESH N, GRECO C, DROTT MT, KOSS MJ, LUDWIKOSKI I, KELLER NM, KELLER NP. Bacterial hitchhikers derive benefits from fungal housing[J]. *Current Biology: CB*, 2022, 32(7): 1523-1533.e6.
- [24] GU SH, WEI Z, SHAO ZY, FRIMAN VP, CAO KH, YANG TJ, KRAMER J, WANG XF, LI M, MEI XL, XU YC, SHEN QR, KÜMMERLI R, JOUSSET A. Competition for iron drives phytopathogen control by natural rhizosphere microbiomes[J]. *Nature Microbiology*,

- 2020, 5(8): 1002-1010.
- [25] ZHAO CZ, WANG HJ, LU Y, HU JX, QU L, LI ZQ, WANG DD, HE YZ, VALLS M, COLL NS, CHEN Q, LU HB. Deep sequencing reveals early reprogramming of *Arabidopsis* root transcriptomes upon *Ralstonia solanacearum* infection[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 2019, 32(7): 813-827.
- [26] HANDA Y, NISHIDE H, TAKEDA N, SUZUKI Y, KAWAGUCHI M, SAITO K. RNA-seq transcriptional profiling of an arbuscular mycorrhiza provides insights into regulated and coordinated gene expression in lotus japonicus and *Rhizophagus irregularis*[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2015, 56(8): 1490-1511.
- [27] PLATRE MP, SATBHAI SB, BRENT L, GLEASON MF, CAO M, GRISON M, GLAVIER M, ZHANG L, GAILLOCHET C, GOESCHL C, GIOVANNETTI M, ENUGUTTI B, NEVEU J, von RETH M, ALCÁZAR R, PARKER JE, VERT G, BAYER E, BUSCH W. The receptor kinase SRF₃ coordinates iron-level and flagellin dependent defense and growth responses in plants[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 4445.
- [28] CAMERON DD, NEAL AL, van WEES SCM, TON J. Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts?[J]. *Trends in Plant Science*, 2013, 18(10): 539-545.
- [29] GALLOU A, DECLERCK S, CRANENBROUCK S. Transcriptional regulation of defence genes and involvement of the WRKY transcription factor in arbuscular mycorrhizal potato root colonization[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2012, 12(1): 183-198.