利用根系分泌物“哭求”帮助-受胁迫植物从土壤中招募益生菌的适应性机制

作者：Stephen A Rolfe1,2, Joseph Grifﬁths2 and Jurriaan Ton1,2

作者单位：

1 Plant Production and Protection (P3), Institute for Sustainable Food, The University of Sheffield, S10 2TN, UK

2 Department of Animal and Plant Sciences, The University of Sheffield, S10 2TN, UK

摘要：

植物利用免疫学方式和生态学方式抵抗生物胁迫。最近的证据表明植物通过改变根系代谢物招募益生菌来应对生物胁迫。这种所谓的“哭求帮助”假说为之前研究的土壤对植物病害的反馈响应提供了合理的机制解释，比如连茬种植全部染病的小麦能够产生抗病土壤。这里我们将这个假说分成不同时期进行阐述，并列举不同的证据。我们综述植物免疫响应如何改变根系分泌化合物，以及这种改变对微生物群体的活性有何影响，以及植物如何响应这些细菌活性的变化。最后我们综述了这种相互作用的生态学意义，和之后在未来农业上作物保护的转化利用前景。

引言

土壤是农作物产量的至关重要的资源来源。过去几十年农业技术进步取得了令人惊讶的进步，而大多数这些创新都基于农业农业化合物和育种技术。相比而言，尽管充分的证据表明其在植物保护上的作用，土壤在作为作物改良上的功能还是被忽视了。土壤抑制植物病菌是土壤健康的通性，这种功能是由土壤中或根系中微生物决定的。而轮作、保护性耕作、土壤有机质改良能够增加这种土壤健康，这种作法对农民来说在经济往往不可行。然而，连续种植单一作物的高强度农业系统中仍然可以产生土壤抑菌活性。一个经典案例是完全消除病菌，在这个案例中，连续在充满致病性小麦全蚀病真菌Gaeumannomyces graminis pv. tritici 的土壤里连续种植小麦能够减少病菌，进而逐渐减少发病小麦数量。还有足够的例子证明增加暴漏在病菌中时间能够使土壤产生抑菌活性。这些现象指向一个假说：接触病菌或草食动物的植物能够利用一种策略—主动筛选或募集抑菌土壤中的微生物组—来对抗病菌或昆虫。这种适应性策略不仅使正在遭受攻击的植物受益，也能使下一茬植物获益，这就是为什么这种反馈响应有时候称为“抗病遗产”或“土壤记忆”效应的原因。类似于植物和节肢动物之间的地上多年生相互作用，启动这种长期适应的机制包含在“呼救”假说中。这一概念在一项开创性的研究后，在根际研究群体中获得了显著的吸引力，该研究发现，在长期种植受立枯病侵染的甜菜后，抑制性土壤的微生物群落结构发生了变化。在随后的几年里，许多其他的研究证实了在抑制疾病的土壤中抑制疾病的微生物的富集。此外，有大量的证据支持根系分泌物化学对植物健康促进微生物群的组装是必要的。然而，在下面的“寻求帮助”模型预测的连续阶段中仍然存在着知识差距。在本文中，我们将评估这一过程的每个阶段的证据，然后我们将讨论这一长期植物适应策略的生态相关性和转化机会。

第一阶段：根系对地下和地上的攻击者的免疫反应

在植物所有器官中，根系接触的微生物最多最杂。在这方面，根系的免疫反应不同于地上部免疫反应就不足为奇了。根系对微生物相关分子模式（MAMP）的响应的详细研究揭示出抗病相关基因的表达在空间上受到限制于某些细胞类型，这些细胞类型随着所接触到的MAMP不同而变化【14，15】。根系和地上部免疫学上的不同可能原因在于根系缺少光合作用所需叶绿体，叶绿体能够产生高浓度的增强抗病的活性氧和氮物质。而且，即使染病根系能够积累水杨酸，水杨酸的起始合成也是在叶绿体中，说明韧皮部介导从地上部到根系的水杨酸及其衍生物的转运。利用rRNA的扩增测序实验所获得的水杨酸依赖的和茉莉酸依赖的免疫反应产生了根际活化的信号的间接证据，说明外源施加激素或该激素通路基因突变体能够影响根系微生物组【20，21】。此外，对地上部昆虫和防御诱导物质的系统性免疫反应改变根系与地下微生物的相互作用依赖于水杨酸的方式【22，23】。在接下来的部分，我们会综述免疫响应如何影响根系分泌物，并积累根系活性代谢物及衍生物。

第二阶段：胁迫刺激改变根系分泌物中抗菌物剂和信息素

根系释放初级代谢物，例如碳水化合物、氨基酸、有机酸和膜脂肪酸，这为土壤中的微生物组提供能量和营养【24】。根系分泌物中这些物质的浓度及组成随各种生物胁迫而改变，并且对根际产生特殊信号作用。例如，拟南芥叶感染Pseudomonas syringae增加L-苹果酸分泌，从而在根系中增加诱导抗病的Bacillus subtilis共生【25】。在黄瓜中，局部根感染病原菌Fusarium oxysporum改变远端根系分泌物中89个主要初级代谢物的含量，其中增加色氨酸和减少棉籽糖含量与益生菌Bacillus amylo liquefaciens的共生相关【26】。然而，似乎不太可能是初级代谢产物单独导致了疾病抑制性根/土壤微生物的聚集。次生根代谢物似乎同样重要，即使不是更重要，因为它们通常是由生物胁迫诱导的，微生物代谢速度较慢，通常具有抗菌和/或信号活性。与之前综述一致的是，图2概述了控制病原菌诱导和草食动物诱导的具有抗菌和/或信号活性的次级代谢产物的主要生化途径。需要注意的是，根际化合物，而不是根系（渗出）化合物，负责塑造根系相关和土壤相关微生物。根际化合物是根系分泌物、他们的降解产物、微生物代谢土壤化合物的产物的总和。一项近期的研究发展出一种新的检测非无菌根际土壤化合物的方法，为鉴定非无菌根际土壤中信息素并于根际活性相关提供了有力的工具【30】。

MAMP处理的拟南芥根系提高了*CYP71A12* 和*MYB51*的表达【14】，控制色氨酸衍生的抗菌化合物的合成，例如植保素和吲哚酸硫苷。这种逆境响应代谢物往往具有抗菌和信号两种功能【31，32】，并且主要在根系中能检测到【14，33，34】。它们从抗病表达和/或受伤根系中渗出的增加可影响根相关微生物，这是最近被植保素所证实的【34】。与此相似地，寄生线虫增加番茄根系中独角金内酯的合成【35】。不管独角金内酯在植物免疫信号中的确切作用，独角金内酯的渗出能够通过刺激菌丝分枝和丛枝菌根真菌的感染而影响根系相关微生物组【37】。胁迫诱导的防御激素的根沉积也可能在形成土壤相关微生物和根相关微生物群方面发挥重要作用【38】。特别值得一提的是，水杨酸是普遍能够检测到的植物根系渗漏物质，并且能在土壤中保持一定浓度，足以诱导旁边的植株产生抗性【40】。由于水杨酸能够被根际细菌整合进铁螯合铁载体【39】，很可能积累水杨酸根际富集产生铁载体的根际细菌，有助于抑制疾病【41】。

与病原菌一样，食草动物也能诱导根际活性代谢产物的分泌。玉米根被黑麦草幼虫侵染引起倍半萜（E）-b-石竹烯（Ebc）的释放，从而招募土传致病线虫【42】。在Ebc缺陷品种中过表达Ebc揭示了Ebc促进生长并增加玉米对土传真菌病害Colletotrichum graminicola的敏感性【443，44】，说明Ebc可能对土壤微生物组具有更广泛的影响。在谷类作物中，食草动物的侵染和伤害会导致甲氧基-2H-1,4-苯并恶嗪-3（4H）-酮（DIMBOA）等苷元苯并恶嗪类化合物的积累增加【45】。最近的三项研究利用玉米突变体生产BX，以确定这些代谢物对根相关微生物和土壤相关微生物的影响程度【46，47，48】，都产生了显著作用。Hu等【46】研究结果表明，BX玉米处理的土壤诱导了对草食动物的JA依赖性抗性，这与6-甲氧基苯并恶唑啉-2-酮（MBOA）的存在和活性有关。因为DIMBOA是一个各类植物防御信号，Cotton等【47】调查了BX生物合成基因是否影响更多的根系代谢组。他们报道了bx1和bx2突变体对根系次级代谢物组成具有很大影响，说明BX在根系相关微生物上的影响部分取决于BX控制的根系渗透物质，而不是BX本身。代谢物丰度的差异和细菌类群间的相关性分析说明BX控制的根系代谢物，包括已知具有信号活性的化合物，如黄酮类化合物，在根际中的主导作用【47】。需要更多的研究来揭示在土壤中BX直接和间接的信号活性。生物胁迫是否增加DIMBOA的渗透和MBOA在土壤中累积？如果是的话，MBOA是否扮演一个逆境诱导的可在土壤中移动的信号，在系统性根系和相邻植株根系中改变根系渗透模式？最后，是否地上部的BX信号活性能够延伸到其他植物物种，例如小麦，提高BX作为调控信号从而驱动小麦全蚀病减少的可能性？

第三阶段：根系渗透物对根系相关和土壤相关微生物组的影响

The ‘cry-for-help’ hypothesis postulates that specific components of root exudates from stressed plants favour recruitment of beneficial microbes and constrain the development of pathogens.

“呼救帮助”假说认为，受胁迫植物根系分泌物的特定成分有利于有益微生物的吸收，并限制病原体的发育。这种根际重塑设计多种机制。渗出物可能包括微生物生长的基质，引起趋化反应和促进在根系中的定植，而抗菌化合物限制了易感微生物群落的发育。渗出液也可能与微生物群体感应系统（QSS）相互作用，或由群落成员加工后，引起微生物释放衍生代谢物。

例如上文提到过的，Liu等研究结果表明黄瓜局部根系感染*F. oxysporum*增加色氨酸渗透物、减少棉子糖渗透物【26】，结果导致益生菌B. amyloliquefaciens SQR9 (BaSQR9)的定植，减少病原菌定植，从而推动根际生物群落向植物有益的结合方向发展。他们还表明，BaSQR9的促生长活性是由色氨酸依赖的生长素产生所决定的，表明植物和细菌之间进一步的反馈回路。其他研究表明，有机酸是黄瓜、番茄、香蕉、西瓜和拟南芥招募植物促生根际细菌（PGPR）的重要信号。【25，50-53】。例如上文所综述的，BX是重要的抗菌代谢物【45，49】，Neal等【54】发现DIMBOA是植物益生菌Pseudomonas putida KT2440细菌的化学吸引物，激活细菌运动、QSS、降解含氮杂环分子的基因表达。这种对BX耐受性的选择也可能影响潜在的有害生物。Sanders等【55】报道称，在玉米中筛选富含BX用来抗镰刀菌，导致一种DIBOA的降解有毒产物可能会使玉米种子带有毒性。

对于许多微生物对根系分泌物代谢物的反应，细菌胁迫似乎是一个反复出现的主题。PGPR暴露于根系分泌物中，不仅激活与养分反应和运动有关的基因，而且还激活抗菌和抗真菌物质的产生、芳香化合物的降解和微生物胁迫响应【56，57，58】。因此，其中许多根系分泌物作为营养和补充因子，其他根系分泌物诱导微生物胁迫，导致植物有益的活性。例如，群体感应信号（QSS）一旦达到一定的种群密度，就会激活细菌的转录应激反应。鉴于QSS的普遍存在，植物进化成对QSS分子作出反应并操纵QSS反应并不奇怪【59】。甜罗勒被致病性铜绿假单胞菌PA01和PA14感染时释放迷迭香酸（RA）【60】。RA不仅在高浓度时对细菌有毒，而且还与反应调节因子RHlR结合触发早期QSS反应【61】。这种QSS系统普遍存在于包括PGPR在内的假单胞菌中，因此也可能调节PGPR反应，如生物膜的形成和抗菌作用。事实上，金黄色假单胞菌30-84菌株对全蚀病的保护作用是由QSS调节的吩嗪类抗生素产生的【62，63】。根际的细菌应激反应也可能是微生物竞争的间接结果。

For instance, saprotrophic fungi consume root exudates rapidly, which reduces nutrient availability to rhizobacteria that in turn triggers rhizobacterial production of antifungal compounds

例如，腐生真菌会迅速消耗根系分泌物，从而降低根细菌的养分利用率，进而引发根细菌产生抗真菌化合物【64】。

根际化学对土壤中有益微生物活性的影响是长期的。Yuan等人研究表明，5代拟南芥植株接种紫丁香DC3000（Pst）后，第6代植株出现病害抑制现象，这与土壤微生物群落的变化有关【65】。这项研究进一步表明感染能改变至少50种根系渗透物含量。混合化合物作为土壤补偿剂实验确认长链脂肪酸作为基础土壤信号，能够刺激微生物组介导的诱导系统抗性（ISR）。于此相似的，Hu等报道土壤反馈响应与土壤中MBOA积累量相关，诱导下一茬玉米中茉莉酸依赖的抗性【46】。Berendson等分离了3个在霜霉病感染的拟南芥生长的土壤中富集的微生物群落的成员，发现这个组合互相作用诱导下一代植物中生物膜合成和系统诱导抗性。值得注意的是，在这3个例子中，土壤微生物组的响应对宿主植物的有益的诱导系统抗性是至关重要的。

就像植物对微生物信号的反应一样，微生物也对植物信号的反应，包括参与生物胁迫反应的植物生长调节剂。SA，JA和乙烯（ET）处理植物和土壤诱导根系分泌物和根际群落的变化，而植物JA信号突变减少与PGPR趋化相关或作为促生菌和根瘤菌生长底物的根系分泌物【20，38，67】。新出现的模式表明，植物与土壤/植物相关微生物之间存在着复杂的相互作用网络，这是由许多化学信号介导的，这些信号来自植物和微生物。Bruto等【68】试图鉴定变形菌门中PGPR细菌里起到植物益生功能的基因（PBFC）。有意思的是，没有一个这些基因是在所有的PGPR中共有的，相反很多在非PGPR细菌中也有。然而，PBFC基因的组合只在PGPR的特定分类亚群中发现，表明特定的分类与有益性状相关。因此有道理相信类似的，如果不是更大，PGPR对于根系分泌物的响应的复杂性，包含根系分泌物的信号和信号机制对微生物的招募和发育。

第四阶段：根系相关和土壤相关微生物组抑制昆虫和病菌的机制

抑菌土壤活性的机制是复杂的【2】。除了寄生和产生杀生化合物等直接机制外，有益的根际微生物通过竞争（微）养分和诱导ISR间接抑制土传攻击者。其中，系统性抗性提供了对于地下和地上攻击者的保护。许多关于ISR的机制的知识来自拟南芥和假单胞菌WCS417之间的相互作用。早期的研究表明，系统性抗性受SA独立的信号通路控制，该信号通路主要为远端的JA依赖和ET依赖的防御基因和细胞壁防御【70，71】。然而也有例外，在其他植物-微生物相互作用中，ISR通常遵循类似的信号特征【69】。这一共性可以解释为，ISR引起的微生物触发一种普遍的营养缺乏反应，导致ISR相关免疫途径的系统性上调。Castrillo等最近阐明拟南芥与根系细菌合成群落共培养诱导了一个磷饥饿响应，这个响应调控了系统性植物免疫，这些信号是受PHR1调控的【72】。有意思的是，PHR1之前被报道为控制系统性抗性相关的免疫途径，包含茉莉酸信号【73】并产生胼胝体诱导的硫代葡萄糖苷【74】。如果这个机制应用在其他植物物种中，ISR诱导的微生物群体所产生的磷饥饿响应能够导致独角金内酯的分泌增加，并招募内生真菌，例如丛枝菌根真菌，反过来会改变根系相关微生物群体【75，76】。此外，最近对拟南芥WCS417模型系统的研究发现，细菌诱导ISR调节转录因子MYB72和下游β-葡萄糖苷酶BGLU42导致缺铁反应，这与东莨菪碱的根系分泌增加有关【77】。这种铁动员代谢物对根相关微生物群有选择性的影响，包括对土传病原真菌的杀灭活性。Vogel等人最近的一项研究证实了特殊的东莨菪碱衍生物在通过氧化还原介导的机制调控拟南芥合成根生物群落形成中的重要性【78】。综上，这些研究揭示了根系与抑菌微生物的互作刺激了一系列信号事件，导致一系列抑病机制，包括ISR、生防真菌的招募、微营养竞争和抗菌作用。

结论：生态相关性和转化机会

有充分的证据支持呼救假说的各个组成部分。然而，反应的结果并不总是适应性的，而且可能伴随着生态权衡。植物在土壤中吸收有益植物的信号可能被寄生生物截获。例如，Eβc的释放增加了土壤真菌病毒C. graminicola的感染【44】，BXs的释放增加了病毒性真菌和西部玉米根虫的破坏性【55，79】，能够招募AMF的SLs分泌物被病原线虫和寄生杂草利用来定位宿主【80】。我们推测这些生态平衡是由土壤质量决定的。与生物多样性低的贫瘠土壤相比，微生物多样性高的健康土壤更有可能含有有益的根细菌网络【81】。一旦与有益微生物群的相互作用开始，随后的信号级联导致建立对双方都有利的化学和生物环境。在土壤因过度施肥、土壤压实或土壤倒转而失去生物多样性而无法提供快速响应的好处的情况下，求救的呼声更有可能被寄生微生物和节肢动物劫持。最新证据说明植物和微生物营养缺陷响应控制促进植物健康的微生物的形成【72，77】与现代农业中的经常过量施肥【82】是直接相悖的。此外，高施肥条件下人们筛选地上部产量导致植物物种产生未充分发育的根系，与土壤微生物组缺乏有效的交流【82】。虽然现在土壤微生物群的重要性越来越被农民和更广泛的农业技术部门所认识，但有必要对呼救假说的各个组成部分有一个更好的机械理解，以便可靠地利用保土土地管理、生物防治接种的好处，以及为促进土壤健康而选择的作物育种方案。