

转 *Lj-POLLUX* 和 *Lj-NFR1-NFR5* 基因的水稻对 AM 真菌侵染的影响*

刘平 林会 赵斌[†]

(华中农业大学农业微生物学国家重点实验室, 武汉 430070)

COLONIZATION OF AM FUNGI ON TRANSGENIC *Lj -POLLUX* AND *Lj-NFR1-NFR5* RICE

Liu Ping Lin Hui Zhao Bin[†]

(State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

关键词 共生信号; 转基因水稻; 菌根真菌
中图分类号 Q93 文献标识码 A

丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhiza, AM) 真菌是一种古老的植物共生真菌, 与植物约有 4 亿多年的共生史^[1-2], 能与 80% 以上的陆生植物形成共生体—丛枝菌根。它能促进宿主植物吸收土壤中矿质元素, 增加植物的抗逆性, 提高作物产量, 调节宿主的代谢活动, 促进植物生长, 改善作物品质等^[3-4]。

尽管目前的研究对组成共生信号通路的了解取得了较大的进展, 但仍主要局限在对豆科植物的研究中。大量的研究表明结瘤因子诱导信号途径与由 AM 真菌所分泌的信号分子诱导途径是部分共享的, 它们能够彼此感知结瘤因子和菌根形成因子的存在, 从而在 AM 真菌-豆科植物-根瘤菌共生体形成期间能够相互协调, 产生协同促进作用。但结瘤因子和菌根形成因子在植物根部有着不同的受体, 启动不同的信号转导途径^[5], 当信号传递到共生受体样激酶 SYMRK (SYMRK: Symbiosis Receptor-like Kinase) 后, 在其下游有着共同的信号转导途径。在模式豆科植物百脉根 (*Lotus japonicus*) 中该共生信号途径依次为: 结瘤因子受体激酶 (Nod Factor Receptor) NFR1 和 NFR5^[6]、共生受体样激酶 DMI2 (SYMRK)、离子信号通道蛋白 DMI1^[7] (Does

Not Make Infections1 包括 CASTOR 和 POLLUX)、核孔蛋白 NUP85 和 NUP133、依赖钙和钙调素激酶 DMI3 (CCaMK: Ca/calmodulin-dependent protein kinase) 和 DMI3 作用蛋白 IPD3 (CYCLOPS)。

水稻 (*Oryza sativa*) 作为世界半数以上人口的主食, 是最主要的粮食作物之一。氮是其最重要的生长限制因子, 也是实现单位面积水稻高产的重要因素。有研究表明, 我国水稻生产中氮肥用量较世界其他水稻主要生产国高出约 75%, 但利用率很低^[8]。大量氮素的损失导致了一系列环境问题, 鉴于化肥应用的种种弊端, 研制能够与根瘤菌共生固氮并符合农业可持续发展要求的水稻新品种则显得十分必要。水稻如果能够与根瘤菌共生固氮, 则化肥的使用量将会减少, 一系列的农业环境问题将得到解决, 但是目前这方面研究报道甚少。研究表明, 水稻也能够与菌根真菌形成共生体, 而菌根真菌与根瘤菌共享部分信号通路, 来源于百脉根的固氮共生相关基因 *POLLUX* 和 *NFR1-NFR5* 转入水稻后, 可能会对菌根真菌的侵染产生影响。本试验研究了转基因水稻 (分别含有 *Lj-POLLUX*, *Lj-NFR1-NFR5*) 与野生型水稻对菌根真菌侵染 (附着胞、内生菌丝等) 的差异; 同时运用半定量及定量 PCR 的

* 国家转基因重大专项课题 (2009ZX08009-116B) 资助

[†] 通讯作者, E-mail: binzhao@mail.hzau.edu.cn

作者简介: 刘平 (1986—), 女, 山东菏泽人, 硕士, 主要研究菌根分子生态学。E-mail: lp1986124@163.com

收稿日期: 2012-03-11; 收到修改稿日期: 2012-04-27

方法重点检测了转基因水稻和野生型水稻中能被菌根所诱导表达 *AM1* 和 *AM3* 基因在转录水平上的差异,结果为创建能与根瘤菌共生的水稻新品种,最终为实现菌根-水稻-根瘤菌三者共生奠定基础,对现代农业具有十分重要的意义。

1 材料与方 法

1.1 供试土壤

盆栽试验供试土壤采自华中农业大学实验基地的水稻田。土壤自然风干粉碎后过 2 mm 筛网,再将河沙洗净晒干后与土 3:1(v/v)混合均匀。土壤及河沙 121℃ 高压蒸汽灭菌 1 h,间歇灭菌 3 次。参照鲍士旦^[9]所述方法,测得土壤样品基本理化性质为:有机质 21.7 g kg⁻¹,碱解氮 121.0 mg kg⁻¹,有效磷 4.92 mg kg⁻¹,全磷 355 mg kg⁻¹,速效钾 101.8 mg kg⁻¹,pH 6.82。

1.2 供试植物及实验菌种

供试植物为野生型日本晴水稻,及分别转入百脉根 *NFR1—NFR5*、百脉根 *POLLUX* 的转基因水稻(本实验室根瘤菌分子生物学室分室提供)。本试验中所用引物由上海生物工程有限公司合成,试验中所使用的引物见表 1。

供试菌种为 *Glomus intraradices*,原始菌种由北京农林科学院提供,以此作为原始接种剂进行扩繁,将 AM 真菌侵染紫云英 12 个月的混合物作为接种剂,其中含有被感染的植物根段、AM 真菌菌丝、孢子和盆栽土壤混合物。

表 1 实验中所使用的引物列表

| 引物名称 | 引物序列(5'-3') |
|----------------|-------------------------------|
| <i>CP2F</i> | AGC TCT CCT AGA TCT GTG CTG |
| <i>CP2R</i> | GCG ATA TCA TAG AAC GAG CGA C |
| <i>AM1F</i> | CTTCTACCACGCCAACCTG |
| <i>AM1R</i> | GAACTCCATCTCCACACG |
| <i>AM3F</i> | GTT ACG TGG TGG TGG AGG AT |
| <i>AM3R</i> | GTC GAG GCA GAC CCA CTG |
| <i>polluxF</i> | AGT TAT GTT ATG AGA GAT GG |
| <i>polluxR</i> | TCA ATC GCC TGA AGC AAT T |
| <i>NFR1F</i> | GCT ACA AAT AAC TTT AGC TTG |
| <i>NFR1R</i> | TTA TCT CAG AGA CAG TAA AT |
| <i>NFR5F</i> | CGC AGA AAG AAG GCT CTG |
| <i>NFR5R</i> | TTA ACG TGC AGT AAT GGA |

1.3 盆栽试验设计

在盆栽钵的下层装入砂土混合物至 70 % 的高度,按总体积 15% 的量平铺一层 AM 真菌接种剂,再覆盖一层砂土混合物,栽种经过表面消毒及催芽 5 d 的水稻苗,每盆 6 株。盆栽试验设计 WT(野生型)水稻 + AM、转 *NFR1—NFR5* 水稻 + AM、转 *POLLUX* 水稻 + AM 和对照(加等量灭菌的接种剂)4 个处理,每个处理 4 盆重复。前两周每隔一天浇一次水,此后每天浇水保持每个盆钵中土壤湿润且没有水分溢出,1/2 含磷量的 Hoagland 营养液每周浇一次。植物在光照培养箱中培养,每日光照 14 h,昼夜温度为 28℃/22℃。

1.4 转基因水稻的筛选

取水稻苗的新鲜叶片,用 CTAB 法抽提其基因组总 DNA,从 DNA 水平上扩增转入的目的基因 *POLLUX* 和 *NFR1—NFR5*。于接种后 7、10 和 14 d,抽提植物的 RNA,RNA 抽提采用 RNA-Solv Reagent (omega),操作按照说明书进行。cDNA 的获得采用 TAKARA 反转录试剂,操作按照说明书进行。

1.5 AM 真菌根段长度总侵染率的测定

接种移栽后 1、2、3、4、5 周取样,新鲜根段一部分放入 -80℃ 冰箱中贮存备用,另一部分用来检测根段长度总侵染率。用蒸馏水将根洗净,剪成约 1 cm 长,采用 Trouvelot 等^[10]描述的 Trypan blue (TB)染色法进行染色,随机挑取 30 条 1 cm 长的根段,每条根段观察 5 个点,于显微镜下观察菌根真菌各个结构出现的频率。

1.6 菌根真菌特异诱导水稻基因的表达

1.6.1 定量 PCR 检测诱导基因的转录 植物与菌根形成互惠共生体,共生期间引起植物体内共生基因的转录表达,植物基因的转录结果与其生理进程有一定的联系,因此可以用转录的基因作为菌根信号传递的识别工具。本实验中运用半定量 PCR 的方法检测了菌根特异诱导水稻基因 *AM1* 和 *AM3*^[11] 的表达。*AM1*,被认定为过氧化物酶,它产生的羟基自由基参与植物细胞生长,在没有酶作用的情况下使植物细胞壁松弛;*AM3*,编码了一个 98 个氨基酸的分泌蛋白,该蛋白含有能够结合结瘤因子中 N-乙酰葡萄糖胺(N-acetyl glucosamine)分子结构的 LysM 功能域,*AM1* 和 *AM3* 在水稻与菌根信号识别阶段就已经转录表达。

PCR 扩增反应体系(20 μl):10 × PCR buffer, 2 μl; dNTP (dATP、dCTP、dTTP 和 dGTP 浓度均为 2 mmol L⁻¹),2 μl;正反向引物(10 mmol mL⁻¹)各

0.8 μl ; 模板 DNA (10 ng), 1 μl ; Taq 聚合酶 (5 U μl^{-1}), 0.1 μl ; 加水至 20 μl 。

1.6.2 qPCR 检测诱导基因的转录 运用定量 PCR 的方法, 对基因 *AM1* 和 *AM3* 的转录量进行进一步精确的检测。荧光定量 PCR 采用 SYBR Green Realtime PCR Master Mix (TOYOBO CO, LTD) 试剂, 反应体系 (10 μl): 5 μl SYBR Green kit; 0.8 μmol 上、下游引物, DNA 模板和水共 3.4 μl 。反应在 ABI7300 荧光定量 PCR 仪进行, PCR 反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 40 个循环, 最后进行溶解曲线分析。

1.7 统计分析

所有试验数据均通过 SPSS19.0 软件进行差异性分析。

2 结果与分析

2.1 基因 Lj-POLLUX 和 Lj-NFR1-NFR5 的检测

POLLUX 的结构在水稻和百脉根中有很大的保守性^[12], *Os-POLLUX* 与其豆科植物对应部分的相似度可高达 85%^[13], 且 *Os-POLLUX* 在水稻的各个组织中均有表达, 因此本研究运用 Lj-POLLUX 的特异引物进行扩增, 野生型水稻扩增不出目的片段。*NFR1-NFR5* 在水稻中不存在这两个基因, 抽提水稻叶片总 DNA, 用 PCR 扩增插入目的基因 Lj-POLLUX、Lj-NFR1 和 Lj-NFR5 来确定转基因植株。在转基因的植株中, Lj-POLLUX 和 Lj-NFR1-NFR5 在水稻的根茎叶中均表达, 说明这两个基因确实在转基因水稻中存在(图 1)。

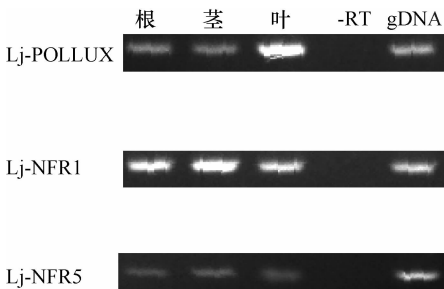


图 1 Lj-POLLUX 和 Lj-NFR1-NFR5 在水稻各组织中表达

2.2 AM 真菌根段长度侵染率

在 2、3、4 和 5 周的取样周期中, 对根段长度侵染率进行了检测(表 2)。AM 真菌对转基因水稻和野生型水稻侵染差异在第 2 周最明显(图 2), 与野生型相比, 转 Lj-NFR1-NFR5 和转 Lj-POLLUX 的水稻根样中, 菌根内部结构明显增加如附着胞、内生

菌丝和丛枝。与野生型水稻相比, 转 Lj-NFR1-NFR5 水稻侵染强度最大, 其附着胞、内生菌丝和根段长度总侵染率分别增加了 18.67%、18.73% 和 24.77%, 转 Lj-POLLUX 水稻也增加了 4.56%、4.75% 和 5.16%。综上所述野生型水稻附着胞的形成较转基因水稻推迟, 土壤中菌丝附在根部表皮细胞表面时, 其他两个处理已有附着胞和内生菌丝形成(图 2), 且有少量丛枝开始形成。3、4 周时, 与野生型相比, 转 Lj-NFR1-NFR5 和转 Lj-POLLUX 的水稻根样中, 菌根内部结构依然明显增加如内生菌丝、丛枝和泡囊。5 周时, 转基因水稻与野生型水稻的根均高度充满了菌根各种结构, 各个处理的根段长度侵染率均达到最大(表 2), 表明 AM 真菌是一个加速侵染的共生过程, AM 真菌的内部结构侵染率也均增加。但 5 周时在转基因水稻和野生型水稻之间, 菌根内部结构和根段长度总侵染率相差不大, 差异消失。

2.3 半定量 PCR 检测诱导基因的转录

在接种后 7、10 和 14 d 的取样周期中对基因 *AM1* 和 *AM3* 的转录量用半定量 PCR 进行了初步分析。在接种 7 d 根样中, 基因 *AM1* 和 *AM3* 表达量太低以至于无法检测到, 因为没有附着胞和内生菌丝的形成。而对于接种 10 d 的根样中, 转 *NFR1-NFR5* 的处理中基因 *AM1* 和 *AM3* 优先扩出条带, 在 *POLLUX* 和 WT 的处理中, 均没有目的条带扩出(图 3)。这表明与其他两个处理相比, 转 *NFR1-NFR5* 的水稻中菌根共生信号较其他两个处理强。在第 14 天的根样中, 与野生型相比转基因水稻均优先扩出基因 *AM1* 和 *AM3*, 且转入 *NFR1-NFR5* 的处理中条带依然很亮。可见转入的 *POLLUX* 和 *NFR1-NFR5* 基因在共生信号转导中可能发挥了作用, 但具体原因还有待进一步研究。

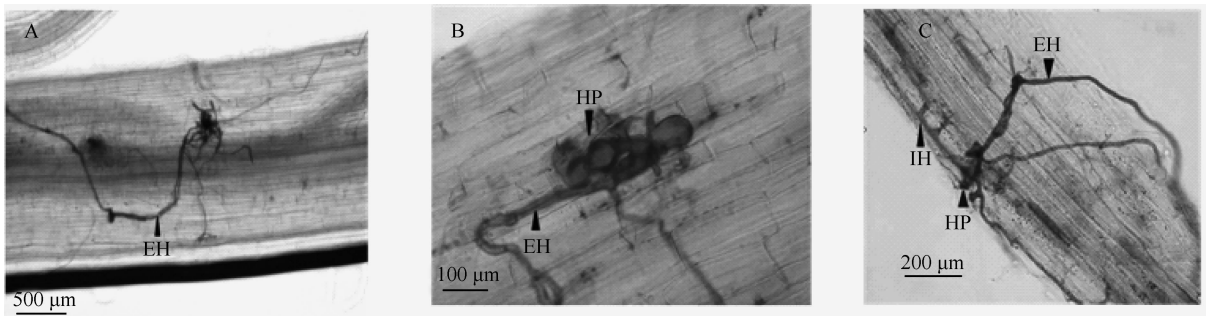
2.4 荧光定量 PCR 检测诱导基因的转录

本文研究的重点是菌根侵染前期的共生信号强度, 为了实验的准确性, 我们利用实时荧光定量 RT-PCR 方法对基因 *AM1* 和 *AM3* 的转录量做了进一步的分析, 其结果与半定量 PCR 一致。在第 10 天的取样中, 和其他两个处理相比, 转 *NFR1-NFR5* 根样中基因 *AM1* 和 *AM3* 转录量最强, 且其 *AM1* 的转录量较 WT 和 *POLLUX* 处理的水稻高出 5 倍, *AM3* 转录量较 WT 和 *POLLUX* 高出 20 多倍(图 4A)。从图 4 中还可以看出, 14 d 取样时, 转 Lj-NFR1-NFR5 和转 *POLLUX* 的水稻中基因 *AM1* 和 *AM3*

表 2 AM 真菌根段长度侵染率

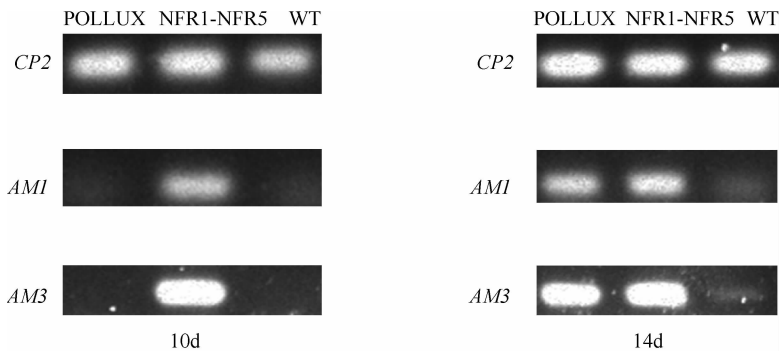
| 时间 | 处理 | 附着胞 (%) | 内生菌丝 (%) | 丛枝 (%) | 孢囊 (%) | 总侵染 (%) |
|-----|-----------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|
| 2 周 | WT | NDa | 0.810 ± 0.374a | NDa | ND | 0.813 ± 0.372a |
| | POLLUX | 4.56 ± 1.53a | 5.57 ± 1.32b | 0.682 ± 0.213a | ND | 5.98 ± 1.24b |
| | NFR1-NFR5 | 18.67 ± 13.51b | 19.55 ± 3.46c | 6.76 ± 1.73b | ND | 25.59 ± 4.76c |
| 3 周 | WT | 4.76 ± 0.27a | 13.79 ± 0.54a | NDa | ND | 15.58 ± 1.78a |
| | POLLUX | 7.21 ± 0.51a | 25.10 ± 8.48b | 7.58 ± 1.37b | ND | 33.71 ± 10.51b |
| | NFR1-NFR5 | 15.35 ± 3.31b | 29.73 ± 10.32b | 18.46 ± 5.91c | 3.57 ± 0.584 | 38.57 ± 12.61c |
| 4 周 | WT | 25.21 ± 5.21c | 36.97 ± 7.63a | 15.88 ± 1.61a | 7.93 ± 0.21a | 53.31 ± 7.52a |
| | POLLUX | 16.30 ± 0.85b | 43.52 ± 8.57b | 24.36 ± 2.32b | 10.51 ± 0.32a | 56.99 ± 6.31a |
| | NFR1-NFR5 | 4.52 ± 0.56a | 48.73 ± 9.63b | 34.32 ± 6.71c | 17.39 ± 1.68b | 61.53 ± 8.27b |
| 5 周 | WT | 6.53 ± 0.35a | 21.39 ± 3.78a | 44.78 ± 1.52a | 30.56 ± 4.69a | 70.48 ± 8.91a |
| | POLLUX | 7.32 ± 1.41a | 24.44 ± 7.83a | 42.05 ± 2.63a | 35.87 ± 5.63b | 69.89 ± 7.83a |
| | NFR1-NFR5 | 2.21 ± 0.18a | 25.94 ± 6.31a | 45.32 ± 5.74a | 35.61 ± 3.81b | 71.37 ± 7.82a |

注:表中数据为3次以上重复实验测得平均值 ± 标准偏差,同一列中字母不同表示该时段 $p < 0.05$ 水平差异显著,ND为未观察到。WT为野生型水稻,POLLUX为转入 Lj-POLLUX 的转基因水稻,NFR1-NFR5为转入 Lj-NFR1-NFR5 的转基因水稻



注: A.野生型水稻; B.转Lj-POLLUX水稻; C.转Lj-NFR1-NFR5水稻。EH, 外生菌丝; HP, 附着胞; IH, 内生菌丝

图 2 AM 真菌侵染 3 种水稻的 TB 染色图



注: 1) 水稻CYCLOPHILIN2 (CP2)作为看家基因; 2) POLLUX为转Lj-POLLUX水稻的cDNA, NFR1-NFR5为转Lj-NFR1-NFR5水稻的cDNA, WT为野生型水稻的cDNA。数据为3次重复实验所得结果。下同

图 3 半定量 PCR 检测 AM1 和 AM3 转录量分析结果

转录量较野生型增加很多(图 4B)。在两种转基因水稻中,转 Lj-NFR1-NFR5 的水稻中 AM1 和 AM3 的转录量较转 Lj-POLLUX 的水稻强,且在 10 d 时差异

最明显。该数据说明转基因的水稻共生信号强度较野生型的强,且转入 NFR1-NFR5 的处理较转 POLLUX 的效果明显。

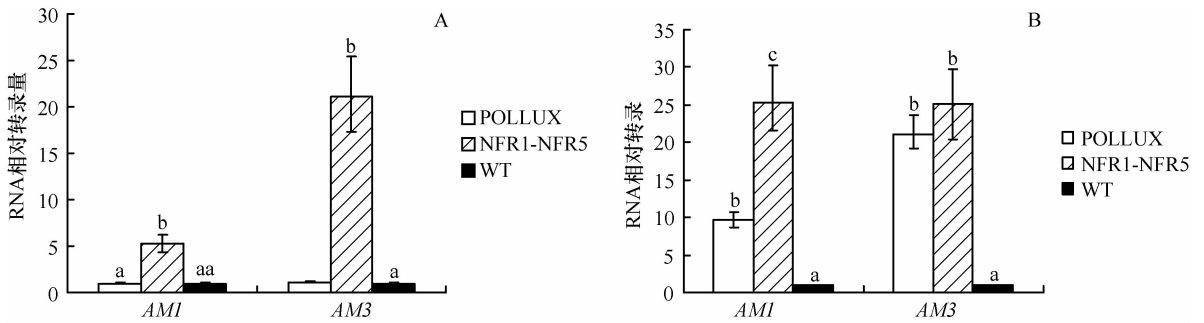


图4 qPCR检测AM1和AM3转录量分析结果

3 讨论

从本研究结果来看,两种转基因水稻在侵染前期均能促进AM真菌附着胞的形成和内生菌丝的生长,随着侵染时间的延长,转基因水稻与野生型水稻之间的侵染差异消失,两者均能达到高强度侵染。一个可能的解释是AM真菌在植物根部有较高的侵染率时,对植物根部进一步的侵染就会减少,以降低对共生体系中的植物碳源的消耗^[14];另一个替代的解释为在植物生长的后期,植物根系发达,其自身可以吸收足够的营养,而无需根外菌丝对营养的吸收,抑制了菌根对宿主植物的进一步侵染。

从侵染率上看,两种转基因水稻在侵染前期均能促进AM真菌附着胞的形成和内生菌丝的生长;菌根特异诱导的水稻基因AM1和AM3的转录量分析说明在侵染前期转基因水稻体内菌根共生的信号强度加强。本文从以上两个方面证实转基因水稻在侵染前期对AM真菌侵染的影响。分析者认为主要是因为转基因水稻和菌根真菌双方优先识别,菌根真菌提前穿刺进入转基因水稻根部,进而建立共生关系。本研究中将Lj-NFR1-NFR5转入水稻后,转基因的水稻优先被AM真菌侵染且侵染率较高。这可能是由于外界Lj-NFR1-NFR5基因转到水稻体内后,引起水稻体内菌根受体激酶的超表达,受体激酶细胞外的LysM结构域更加活跃,与Myc factors-LCOs结合率增加,导致复合体构象变化加快,从而与下游蛋白质相互作用的频率增高,依次将该加强信号传递至共生信号途径中,从而使转基因水稻优先识别菌根真菌的信号,进而最先建立共生关系。菌根真菌和根瘤菌侵染共享部分信号通路,Lj-NFR1-NFR5为根瘤因子受体激酶,位于根瘤菌侵染的信号通路的上游,识别和感知根瘤因子^[15]。本文中Lj-NFR1-NFR5转入水稻中后,在菌

根的侵染中发挥作用,暗示其可能识别菌根因子,也为菌根因子受体激酶是NFRs的直系同源物提供了一个间接证据。根瘤因子和菌根因子同为LCOs^[16],Lj-NFR1-NFR5在水稻体内若能识别菌根因子,则转Lj-NFR1-NFR5的水稻也能识别根瘤因子,本研究为水稻与根瘤菌共生固氮研究提供了一个实验依据。

宿主植物感知Nod factor和Myc factor的存在,引起宿主体内共生相关的一系列基因的表达,POLLUX基因位于信号通路中Ca²⁺上游。本文中百脉根POLLUX基因转入水稻中,转基因水稻第14天时AM1和AM3转录量较野生型分别高出6倍和9倍,可能是由于百脉根POLLUX基因在水稻体内超量表达,对K⁺的运输量加大,加快了补充瞬时钙流所引起的细胞核中电荷不平衡的速率,缩短体内共生信号传递的时间,侵染速度加快,进而导致侵染强度较野生型水稻增加,最终引起水稻体内共生相关基因的上调表达。本研究表明将Lj-POLLUX和Lj-NFR1-NFR5转入水稻中,对菌根的前期侵染起到了不同程度的促进作用,前期菌根信号强度加强。但其机制还不清楚,这将是下一步研究的内容。

参考文献

- [1] Remy W, Taylor T N, Hass H, et al. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91: 11 841—11 843
- [2] 曹玲,赵斌. AM真菌与紫云英Ri T-DNA转化根双重培养体系的建立. *土壤学报*, 2011, 48(1): 212—216
- [3] Smith S E, Read D J. *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press, 1997
- [4] Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6: 763—775
- [5] Wang B, Yeun L H, Xue J Y, et al. Presence of three mycorrhizal genes in the common ancestor of land plants suggests a key role of mycorrhizas in the colonization of land by plants. *New Phytologist*, 2010, 186: 514—525

- [6] Radutoiu S, Madsen L H, Madsen E B, et al. Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases. *Nature*, 2003, 425:585—592
- [7] Chen C, Fan C, Gao M, et al. Antiquity and function of *CAS-TOR* and *POLLUX*, the twin ion channel-encoding genes key to the evolution of root symbioses in plants. *Plant Physiology*, 2009, 149:306—317
- [8] 彭少兵,黄见良,钟旭华,等. 提高中国稻田氮肥利用率的研究策略. *中国农业科学*, 2002, 35(9):1 095—1 103
- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京:中国农业出版社, 2000
- [10] Trouvelot A, Kough J, Gianinazzi-Pearson V. Evaluation of VAM infection levels in root systems. Research for estimation methods having a functional significance//Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S. *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae*. Paris: INRA, 1986:217—221
- [11] Gutjahr C, Banba M, Croset V, et al. Arbuscular mycorrhiza—Specific signaling in rice transcends the common symbiosis signaling pathway. *The Plant Cell*, 2008, 20: 2 989—3 005
- [12] Banba M, Gutjahr C, Miyao A, et al. Divergence of evolutionary ways among common sym genes: *CASTOR* and *CCaMK* show functional conservation between two symbiosis systems and constitute the root of a common signaling pathway. *Plant Cell Physiology*, 2008, 49(11): 1 659—1 671
- [13] Imaizumi-Anraku H, Takeda N, Charpentier M, et al. Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots. *Nature*, 2005, 433: 527—531
- [14] Requena N, Breuninger M. The old arbuscular mycorrhizal symbiosis in the light of the molecular era//Esser K, Luttge U, Benschlag W. *Progress in botany*. Berlin: Heidelberg, 2004: 323—356
- [15] Limpens E, Franken C, Smit P, et al. LysM domain receptor kinases regulating rhizobial nod factor-induced infection. *Science*, 2003, 302: 630—633
- [16] Maillet F, Poinso V, André O, et al. Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature*, 2011, 469: 58—63

(责任编辑:卢 萍)