

植物激素在豆科植物根瘤形成和发育过程中的调控作用

刘 薇^{1,2},赵振芳^{1,2},冯永君²,吴存祥¹

(1. 中国农业科学院 作物科学研究所,北京 100081;2. 北京理工大学 生命学院,北京 100081)

摘 要:豆科植物能够利用与根瘤菌形成的共生系统高效地固定氮素养分。根瘤形成过程包括表皮细胞中侵染线形成和皮层细胞根瘤原基形成2个阶段。豆科植物根瘤的形成和发育存在严格的调控机制,综述了多种激素正向(如细胞分裂素、生长素、赤霉素等)或负向(乙烯、逆境激素等)或协同调控根瘤的形成和发育的研究进展。并提出对激素调控结瘤机制的深入研究,将有助于提高豆科作物的产量,减缓氮肥过度使用造成的环境问题。

关键词:植物激素;豆科植物;结瘤;协同调控

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2013)02-0262-05

Regulation of Plant Hormones on the Formation and Development of Legumes Root Nodules

LIU Wei^{1,2}, ZHAO Zhen-fang^{1,2}, FENG Yong-jun², WU Cun-xiang¹

(1. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; 2. School of Life Sciences, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: Legumes have evolved symbiotic interactions with rhizobial bacteria to efficiently fix nitrogen nutrient. The formation of a nitrogen-fixing nodule involves two developmental processes: infection thread initiation in epidermal cells and nodule primordia formation in the cortex. Legumes develop a strict mechanism to regulate nodulation. The researches of several plant hormones have been reported positively (cytokinins, auxin, gibberellins, etc.) or negatively (ethylene, stress hormones, etc.) or co-ordinated regulate the formation and development of nodulation were summarized. It put forward that profounder researches on the mechanism of nodule regulation would contribute to the improvement of legumes production and the reducement of environmental problems caused by overusing of nitrogen fertilizers.

Key words: Plant hormones; Legumes; Nodulation; Coordinate regulation

豆科植物根系能够与根瘤菌形成互利互补的共生系统,即共生结瘤固氮体系^[1-3]。宿主植物和根瘤菌的正确识别是形成根瘤的先决条件。被根瘤菌侵染后的宿主植物分泌黄酮类化合物(flavonoids)至根际,诱导根瘤菌合成并释放结瘤因子(nod factor)至植物根系^[4-5]。结瘤因子作为返还给植物的信号分子,直接刺激植物中的受体蛋白(nod factor receptors, NFRs),引起植物根部的表皮细胞应答和皮层细胞应答。

在根系表皮,结瘤因子引起宿主植物的根毛卷曲,细菌从表皮弯曲部分侵入根毛细胞,形成胞内侵染线并逐渐伸长进入皮层细胞^[6]。结瘤因子信号传导途径如Ca²⁺信号传导途径通过结瘤信号传导通路因子(nodulation signaling pathway factor)NSP1/2和乙烯应答结合因子(ethylene-responsive binding factors)ERFs,起始结瘤蛋白(nodule inception)NIN等转录调控因子激活某些早期结瘤素基

因的表达以促进侵染的起始^[7]。同时,豆科植物根系存在一种可以从表皮转移到皮层的信号,这个信号分子尚未确定,但很有可能是细胞分裂素,细胞分裂素受体CRE1感受该信号后,引起其下游一系列转录因子NSP1/2、ERN、NIN基因的表达,从而进一步引起某些位于皮层细胞的早期结瘤素基因(如ENOD40)的表达^[8-10],促进皮层细胞的分裂形成根瘤原基。当在表皮形成的侵染线延伸至皮层的根瘤原基时,根瘤菌被释放进入根瘤原基细胞,分化成可以固氮的类菌体,类菌体与根瘤原基形成共生器(symbiosome)并逐渐发育成根瘤。

豆科植物在与根瘤菌的共生互作过程中,能够从共生体系中获得化合态的氮素维持生命活动,因此植物必须调控自身的防御机制,从而不排斥根瘤菌的侵入。但结瘤过程对植物本身来说是一个高度耗能的过程,根瘤形成后的共生固氮过程同样需要消耗大量的碳源和能源。研究显示,大豆光合作

收稿日期:2013-01-13
基金项目:国家自然科学基金(30871464,31271636);农业部现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-04)。
第一作者简介:刘薇(1987-),女,在读硕士,主要从事大豆发育生物学研究。E-mail: hnaulw@126.com。
通讯作者:吴存祥(1969-),男,博士,研究员,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: wucunxiang@caas.cn。
冯永君(1973-),男,博士,教授,主要从事植物内生菌研究。E-mail: fengyj@bit.edu.cn。

用产生的 16% 的碳水化合物被根瘤消耗,每固定 1 g 氮,需氧化 15 ~ 20 g 碳水化合物^[11]。为了解决这个典型的“源-库”矛盾,豆科植物在长期进化过程中形成了复杂严格的调控机制,其中最为重要的是植物激素的调节作用。植物激素对高等植物本身的生长发育意义重大,而根瘤发育的很多阶段实际上与植物的生长发育过程相同,例如细胞分裂与分化、维管束的发育、根瘤对外界信号的应答等,因此豆科植物可以利用其内源激素如与生长相关的激素和逆境激素实现对结瘤的调控。

1 激素对根瘤形成和发育的正向调控

目前已发现多种植物激素参与豆科植物结瘤过程的正向调控,如细胞分裂素(cytokinins)、生长素(auxin)和赤霉素(gibberellins)等。

1.1 细胞分裂素(cytokinins)对结瘤的影响

在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,细胞分裂素阻止中柱鞘细胞完成其细胞周期,阻碍侧根的形成^[12],在豆科植物中也是如此。苜蓿(*Medicago sativa*)中细胞分裂素受体 *CRE1* 基因突变后促进了侧根的形成^[13]。近年越来越多的研究表明,细胞分裂素对皮层细胞的分裂以及根瘤原基的形成起正向调控作用。Cooper 等将一个携带有异戊烯基转移酶 *IPT* 基因(细胞分裂素生物合成的关键酶基因)的广谱宿主载体转入不能引发结瘤的突变根瘤菌中,将其侵染苜蓿后形成了类似根瘤的结构^[14],这一发现为细胞分裂素参与结瘤过程提供了最早的证据。Lohar 等将拟南芥中细胞分裂素的下游调节因子 *ARR5* 基因的启动子与 *GUS* 报告基因融合转入百脉根(*Lotus corniculatus*),发现 *GUS* 在位于皮层的根瘤原基细胞中表达;且发现细胞分裂素氧化酶 *CKX* 基因的过量表达抑制了百脉根根瘤的形成^[13]。*HMGR1* (3-羟基-3-甲戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 1 基因)是细胞分裂素前体类异戊二烯合成的关键酶基因,将其沉默后苜蓿根部的结瘤数目明显减少^[15]。

Gonzalez-Rizzo 等将苜蓿中的细胞分裂素受体 *MtCRE1* 基因沉默后结瘤受到明显的抑制^[16]。百脉根中的组氨酸激活酶 *LHK1* 是细胞分裂素的受体酶,将其基因突变后,阻碍了根瘤原基的形成,但并不影响侵染线的形成^[17]。反过来,*LHK1* 过量表达的突变株 *snf2* 在没有根瘤菌侵染的条件下能够自发结瘤^[8]。因此,细胞分裂素的主要作用在于调控根瘤器官在皮层中的形成,而并不参与在表皮发生的细菌侵染线形成过程的调控。

根瘤形成过程中细胞分裂素和结瘤因子信号

通路的结合是目前比较热门的研究。细胞分裂素对结瘤因子的感知引起转录因子 *NIN* 基因的表达^[16-17]。当苜蓿中的细胞分裂素受体 *MtCRE1* 基因和细胞分裂素合成酶 *LJhi1* 基因发生突变后,*NIN* 的表达被完全阻断^[10],而在细胞分裂素受体酶 *LHK1* 基因过量表达的百脉根突变株 *snf2* 中,*NIN* 的表达量上升^[8]。另外,突变株 *snf2* 还能使结瘤因子受体缺陷株 *nfr1*、*nfr5* 重新恢复结瘤能力。但是,*snf2* 不能回救 *NIN* 和 *NSP2* 缺陷株的结瘤能力。因此,推测细胞分裂素作为一种信号分子,在受到上游 NFRs 调控的同时又调控着下游 *NIN* 和 *NSP2* 的转录^[8]。

1.2 生长素(auxin)对结瘤的影响

生长素的准确定位、运输和积累在植物的器官形成过程中起着非常重要的作用^[18-19]。Hirsch 等发现生长素转运抑制剂使苜蓿在没有根瘤菌侵染的情况下形成类似根瘤的组织,并促进了苜蓿早期结瘤素(如 *ENOD40*)基因的表达^[20]。*GH3* 是受生长素诱导表达的基因,Mathesius 等和 Pacios-Bras 等将 *GH3* 的启动子与报告基因 *GUS* 融合后分别导入白苜蓿草(*Trifolium repens* L.)和百脉根中,发现 *GUS* 在早期的根瘤原基中有较高水平的表达,随着根瘤原基的分化,其表达逐渐减弱,最后仅在根瘤的分生组织和维管束中检测到其表达^[21-22]。另外,Pii 等发现,被含有生长素生物合成酶基因的根瘤菌侵染过的豆科植物能产生较多数目的根瘤^[23]。综上可知,生长素在根瘤原基处的局部积累是根瘤形成的先决条件。

Peer 等发现类黄酮合成受到抑制的拟南芥突变株根部生长素的上行运输能力强于野生型拟南芥^[24]。Taylor 等向拟南芥外源添加类黄酮完全阻碍了生长素的运输^[25],表明在根瘤形成早期,植物由于根瘤菌侵染而产生的类黄酮能够调节豆科植物根部生长素的局部运输。查尔酮合成酶和异黄酮合成酶基因的表达产物是类黄酮合成中的关键酶,将其基因沉默后豆科植物的结瘤受到显著的抑制^[26]。可见,根瘤菌侵染豆科植物根系后,根部合成的类黄酮对生长素极性运输的抑制作用以及根瘤启动位点生长素的积累导致了根瘤原基处细胞的分化。

1.3 赤霉素(gibberellins)对结瘤的影响

早期有研究表明赤霉素能够促进豆科植物结瘤,赤霉素信号途径受损的豌豆(*Pisum sativum*)突变株的根部结瘤过程受到抑制,外源加入赤霉素时,结瘤数目又恢复正常^[27]。Lieven 等在细菌侵入前 2 d 外源加入赤霉素合成抑制剂,完全阻断了田

菁 (*Sesbania rostrata*) 根瘤的形成,但外源加入赤霉素时情况会有所缓和^[28],说明赤霉素与细菌侵入有关。Dober 等和 Lievens 等分别发现赤霉素和 GA20 氧化酶基因在芸扁豆 (*Phaseolus lunatus* L.) 和田菁的根瘤、细菌侵染线和前感染区中有较强表达^[28-29]。可见,赤霉素能够同时调控细菌侵染过程和根瘤原基形成过程。

近年有研究表明,在百脉根结瘤过程中,赤霉素抑制了根瘤的发育,赤霉素信号途径的正调控因子 *LjSLEEPY1* 基因的过量表达显著减少了百脉根的结瘤数目;外源施加赤霉素抑制了在表皮发生的根毛卷曲现象,并且抑制了 *NSP2* 和 *NIN* 的表达^[30]。这与在豌豆、田菁等植物中的作用恰恰相反,对于这种相互矛盾的结论尚无明确的解释,但可能是由于不同豆科植物的结瘤过程存在进化上的不同造成的。

2 激素对根瘤形成和发育的负向调控

为了减轻结瘤过程对碳源的过度消耗,乙烯 (ethylene)、水杨酸 (salicylic acid)、茉莉酸 (jasmonic acid)、脱落酸 (abscissic acid) 等激素能够负向调控根瘤的形成。

2.1 乙烯 (Ethylene) 对结瘤的影响

Penmetsa 和 Cook 等发现苜蓿的 *EIN2* (乙烯信号传导通路中的重要调节因子) 基因突变株 *Mtsickle* 呈现超结瘤的表型,产生大量的侵染线,其根毛对结瘤因子的敏感性大大增强^[31-32]。Oldroyd 等发现对苜蓿外源施加乙烯或其前体物质氨基环丙烷羧酸均强烈抑制了根瘤的形成,但当乙烯信号通路或乙烯合成过程受到抑制时,植株的结瘤数目显著增加^[33]。另外,乙烯能够阻碍结瘤因子引起的钙离子峰的频率和周期,并且阻碍植物早期结瘤素 *ENODs* 基因的表达^[31,33],说明乙烯有可能通过影响结瘤因子的信号传导通路负向调控结瘤过程。

2.2 逆境激素 (stress hormones) 对结瘤的影响

越来越多的研究表明豆科植物的逆境激素如水杨酸 (salicylic acid, SA)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA)、脱落酸 (abscissic acid, ABA) 等同样参与到结瘤过程的调控网络中。

Stacey 等研究发现,将细菌中的水杨酸羟化酶 *nahG* 基因在豆科植物百脉根和苜蓿中异位表达降低了植株的内源水杨酸水平,从而增加了结瘤数目并且增强了根瘤菌的侵染能力;外源水杨酸不仅能够抑制结瘤相关基因的表达,还影响根瘤菌的生长^[34]。水杨酸是重要的抗病反应信号分子,在根瘤菌侵染过程中,其防御反应会增强,而这种反应又

是决定侵染的范围和最终结瘤数目的重要因素^[35-36],因此水杨酸的浓度水平影响了根瘤菌的定殖范围和能力。但是,在结瘤过程中水杨酸的防御信号系统的分子机制尚不明晰,需要展开更加深入和全面的研究。

茉莉酸能够通过影响钙离子峰和结瘤相关基因的表达阻碍结瘤。经茉莉酸处理的苜蓿根部基本不结瘤,并且两个结瘤因子响应的标志基因 *ENOD11* 和 *RIP1* 的表达被抑制,但茉莉酸对结瘤的影响会被乙烯合成抑制剂 AVG 干扰而减弱,并且外源茉莉酸对苜蓿乙烯信号传导通路中的重要调节因子 *EIN2* 突变株 *Mtsickle* 的结瘤过程影响很小^[37]。说明茉莉酸和乙烯在调节根瘤形成过程中存在着某种联系。Lorenzo 等在早期就已经证明某些基因例如 *ERF1* 和 *PDFs* 是茉莉酸和乙烯信号通路中的共同下游基因^[38]。

与茉莉酸相似,脱落酸同样通过干扰结瘤因子引起的钙离子峰来控制根瘤的数目^[39]。Ding 等还发现对脱落酸不敏感的苜蓿突变株的根部能够形成强固氮能力的根瘤,但是突变株 *Mtsickle* 并不能减弱脱落酸对结瘤过程的抑制作用,说明脱落酸和乙烯对根瘤的调控作用不存在协同性。而且脱落酸也能够抑制与结瘤相关基因的表达,Ding 发现脱落酸信号通路受阻导致表皮细胞中早期结瘤素基因 *ENOD11* 的过量表达,并且增加了结瘤水平^[39]。

3 激素对根瘤发育的协同调控

在豆科植物中,各种激素协同调控根瘤的发育。例如,根瘤形成过程中,细胞分裂素会与其他激素如乙烯和生长素相互作用。乙烯信号传导通路中的重要调节因子基因 *EIN2* 和细胞分裂素受体基因 *CRE1* 双突变株与野生株相比根瘤数目明显减少,但多于单突变株 *CRE1*^[10]。*CRE1* 突变能够缓解基因 *EIN2* 突变株 *skl* 的超结瘤表型,因此细胞分裂素对根瘤数目的调节与乙烯的局部抑制信号途径相似。研究还发现,苜蓿中的细胞分裂素受体 *MtCRE1* 介导的细胞分裂素信号途径能够引起生长素转运蛋白 *MtPINs* 基因的表达,从而在根瘤原基初始阶段引起生长素的局部积累^[10]。结瘤因子和类黄酮通过阻碍生长素在分裂的中柱鞘细胞和皮层细胞中的极性运输,同样能够引起生长素的局部积累^[10,20,26]。对于结瘤因子或类黄酮是否通过调控细胞分裂素信号来调节生长素的积累仍不清楚,但是在根瘤原基分裂细胞中,由细胞分裂素引起的生长素局部积累对根瘤器官的形成至关重要。

脱落酸对细胞分裂素有拮抗作用,与细胞分裂

素作用相反,脱落酸促进侧根的形成而阻碍根瘤的形成^[40],例如野生型大豆韧皮部中脱落酸与细胞分裂素之比高于超结瘤突变株^[41]。另外,当苜蓿的脱落酸信号通路受到抑制时,根瘤数目增加,并且受细胞分裂素引起的仅在皮层表达的结瘤素基因*ENOD40*的表达量增强^[39]。因此,脱落酸不仅能够调节表皮应答中的结瘤因子信号通路,还能影响到皮层中的细胞分裂素信号通路。

生长素、细胞分裂素和脱落酸的相互合作、相互平衡决定了中柱鞘细胞和皮层细胞的命运,从而决定了到底是侧根的形成还是根瘤的形成。

4 总结与展望

为了保证豆科植物必需的固氮水平,同时又不至于过度消耗光合产物,结瘤过程必须受到宿主植物的严格调控,研究表明植物中的多种激素相互协调,共同调控豆科植物根瘤的形成。

由于细菌的侵染和根瘤原基的形成同时在不同的组织中发生,一定会有一种能够转移的信号来调控和协调这两个过程。这个能够转移的信号很可能是同时调控细菌侵染和根瘤原基形成过程的植物激素,即有双重功能的激素。更为重要的是,植物激素还是许多植物生理过程的调节因子,它们参与协同调节结瘤固氮和植物其他生理过程(如光合作用、开花结荚等)之关系,对于植物的健康生长意义重大。脱落酸和赤霉素既与表皮应答有关,又与皮层应答有关。二者在表皮应答中调控结瘤因子信号通路,在皮层应答中又能调节细胞分裂素信号通路,因此在生产上存在通过对脱落酸和赤霉素调节控制表皮和皮层结瘤过程的可能性。细胞分裂素作为一种重要的信号分子,虽然并未参与根瘤菌的侵染过程,但是其信号通路与结瘤因子信号通路密切相关,可能是联系表皮细胞应答和皮层细胞应答的纽带。对于这方面的分子机制研究尚不完整,仍需进行更加深入的挖掘。同时,乙烯等其他应激激素信号通路在结瘤过程早期调控钙离子峰的具体机制仍需全面分析。

随着研究的不断深入,将会有更多其他激素调控机制被发现,深刻理解激素对结瘤的调控机制并将其应用于实际,将对提高豆科作物产量、减缓由于氮肥过度使用造成的环境问题有着十分重要的意义。

参考文献

[1] Kouchi H, Imaizumi-Anraku H, Hayashi M, et al. How many peas

in a pod? Legume genes responsible for mutualistic symbioses underground [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2010, 51 (9): 1381-1397.

[2] Oldroyd G E D, Downie J A. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59: 519-546.

[3] Pedrosa A, Sandal N, Stougaard J, et al. Chromosomal map of the model legume *Lotus japonicus* [J]. *Genetics*, 2002, 161 (4): 1661-1672.

[4] Barnett M J, Fisher R F. Global gene expression in the rhizobial-legume symbiosis[J]. *Symbiosis (Rehovot)*, 2006, 42(1): 1-24.

[5] Perret X, Staehelin C, Broughton W J. Molecular basis of symbiotic promiscuity [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(1): 180-201.

[6] van de Velde W, Guerra J C, de Keyser A, et al. Aging in legume symbiosis. A molecular view on nodule senescence in *Medicago truncatula* [J]. *Plant Physiol*, 2006, 141(2): 711-720.

[7] Catoira R, Galera C, de Billy F, et al. Four genes of *Medicago truncatula* controlling components of a Nod factor transduction pathway [J]. *The Plant Cell Online*, 2000, 12(9): 1647-1665.

[8] Tirichine L, Sandal N, Madsen L H, et al. A gain-of-function mutation in a cytokinin receptor triggers spontaneous root nodule organogenesis [J]. *Science Signalling*, 2007, 315(5808): 104.

[9] Frugier F, Kosuta S, Murray J D, et al. Cytokinin: secret agent of symbiosis[J]. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(3): 115-120.

[10] Plet J, Wasson A, Ariel F, et al. MtCRE1 - dependent cytokinin signaling integrates bacterial and plant cues to coordinate symbiotic nodule organogenesis in *Medicago truncatula* [J]. *The Plant Journal*, 2011, 65(4): 622-633.

[11] 董钻. 大豆产量生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 192-194. (Dong Z. Soybean yield physiology[M]. Beijing: Agricultural Press, 2000: 192-194.)

[12] Laplace L, Benkova E, Casimiro I, et al. Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation [J]. *The Plant Cell Online*, 2007, 19(12): 3889-3900.

[13] Lohar D P, Schaff J E, Laskey J G, et al. Cytokinins play opposite roles in lateral root formation, and nematode and rhizobial symbioses [J]. *The Plant Journal*, 2004, 38(2): 203-214.

[14] Cooper J B, Long S R. Morphogenetic rescue of *Rhizobium meliloti* nodulation mutants by trans-zeatin secretion [J]. *The Plant Cell Online*, 1994, 6(2): 215-225.

[15] Kevei Z, Loughnon G, Mergaert P, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase1 interacts with NORK and is crucial for nodulation in *Medicago truncatula* [J]. *The Plant Cell Online*, 2007, 19(12): 3974-3989.

[16] Gonzalez-Rizzo Stahl S, Crespi M, Frugier F. The *Medicago truncatula* CRE1 cytokinin receptor regulates alateral root development and early symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti* [J]. *The Plant Cell Online*, 2006, 18(10): 2680-2693.

[17] Murray J D, Karas B J, Sato S, et al. A cytokinin perception mutant colonized by *Rhizobium* in the absence of nodule organogenesis [J]. *Science Signalling*, 2007, 315(5808): 101-104.

[18] Benjamins R, Scheres B. Auxin: the looping star in plant develop-

ment[J]. Plant Biology,2008,59:443-465.

[19] Benková E,Michniewicz M,Sauer M,et al. Local,efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation[J]. Cell,2003,115(5):591-602.

[20] Hirsch A M,Bhuvaneswari T V,Torrey J G ,et al. Early nodulin genes are induced in alfalfa root outgrowths elicited by auxin transport inhibitors[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,1989,86(4):1244-1248.

[21] Mathesius U,Bayliss C,Weinman J J,et al. Flavonoids synthesized in cortical cells during nodule initiation are early developmental markers in white clover[J]. Molecular Plant-microbe Interactions,1998,11(12):1223-1232.

[22] Pacios-Bras C,Schlaman H R M,Boot K,et al. Auxin distribution in *Lotus japonicus* during root nodule development[J]. Plant Molecular Biology,2003,52(6):1169-1180.

[23] Pii Y,Crimi M,Cremoneese G,et al. Auxin and nitric oxide control indeterminate nodule formation[J]. BMC Plant Biology,2007,7(1):21.

[24] Peer W A,Bandyopadhyay A,Blakeslee J J,et al. Variation in expression and protein localization of the PIN family of auxin efflux facilitator proteins in flavonoid mutants with altered auxin transport in *Arabidopsis thaliana*[J]. The Plant Cell Online,2004,16(7):1898-1911.

[25] Taylor L P,Grotewold E. Flavonoids as developmental regulators[J]. Current Opinion in Plant Biology,2005,8(3):317-323.

[26] Wasson A P,Pellerone F I,Mathesius U. Silencing the flavonoid pathway in *Medicago truncatula* inhibits root nodule formation and prevents auxin transport regulation by rhizobia[J]. The Plant Cell Online,2006,18(7):1617-1629.

[27] Ferguson B J,Ross J J,Reid J B. Nodulation phenotypes of gibberellin and brassinosteroid mutants of pea[J]. Plant Physiology,2005,138(4):2396-2405.

[28] Lievens S,Goormachtig S,Den Herder J,et al. Gibberellins are involved in nodulation of *Sesbania rostrata*[J]. Plant Physiology,2005,139(3):1366-1379.

[29] Dobert R C,Rood S B,Blevins D G. Gibberellins and the legume-Rhizobium symbiosis I. Endogenous gibberellins of Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) stems and nodules[J]. Plant Physiology,1992,98(1):221-224.

[30] Maekawa T,Maekawa-Yoshikawa M,Takeda N,et al. Gibberellin controls the nodulation signaling pathway in *Lotus japonicus*[J]. The Plant Journal,2009,58(2):183-194.

[31] Penmetsa R V,Cook D R. A legume ethylene-insensitive mutant hyperinfected by its rhizobial symbiont[J]. Science,1997,275(5299):527-530.

[32] Varma Penmetsa R,Urbe P,Anderson J,et al. The *Medicago truncatula* ortholog of Arabidopsis EIN2,*sickle*, is a negative regulator of symbiotic and pathogenic microbial associations[J]. The Plant Journal,2008,55(4):580-595.

[33] Oldroyd G E D,Engstrom E M,Long S R. Ethylene inhibits the Nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula*[J]. The Plant Cell Online,2001,13(8):1835-1849.

[34] Stacey G,McAlvin C B,Kim S Y,et al. Effects of endogenous salicylic acid on nodulation in the model legumes *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula* [J]. Plant Physiology,2006,141(4):1473-1481.

[35] Mellor R B,Collinge D B. A simple model based on known plant defence reactions is sufficient to explain most aspects of nodulation[J]. Journal of Experimental Botany,1995,46(1):1-18.

[36] Santos R,Hérourat D,Sigaud S,et al. Oxidative burst in alfalfa-Sinorhizobium meliloti symbiotic interaction[J]. Molecular Plant-microbe Interactions,2001,14(1):86-89.

[37] Sun J,Cardoza V,Mitchell D M,et al. Crosstalk between jasmonic acid,ethylene and Nod factor signaling allows integration of diverse inputs for regulation of nodulation[J]. The Plant Journal,2006,46(6):961-970.

[38] Lorenzo O,Piqueras R,Sánchez-Serrano J J,et al. ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense[J]. The Plant Cell Online,2003,15(1):165-178.

[39] Ding Y,Kalo P,Yendrek C,et al. Absciscic acid coordinates Nod factor and cytokinin signaling during the regulation of nodulation in *Medicago truncatula*[J]. The Plant Cell Online,2008,20(10):2681-2695.

[40] Liang Y,Harris J M. Response of root branching to absciscic acid is correlated with nodule formation both in legumes and nonlegumes[J]. American Journal of Botany,2005,92(10):1675-1683.

[41] Caba J M,Centeno M L,Fernández B,et al. Inoculation and nitrate alter phytohormone levels in soybean roots; differences between a supernodulating mutant and the wild type[J]. Planta,2000,211(1):98-104.