

# 植物抗病分子机制研究进展<sup>\*</sup>

王晓萍<sup>1</sup>, 温玉琴<sup>2</sup>, 郭东林<sup>1</sup>, 徐淑红<sup>1</sup>, 李新玲<sup>1</sup>, 徐香玲<sup>1</sup>, 李集临<sup>1</sup>  
(哈尔滨师范大学生物学系, 哈尔滨 150080; 2 哈尔滨市17 中学, 哈尔滨 150001)

**摘要:** 植物中普遍存在的抗病机制有两种, 即过敏反应(HR)和系统获得性抗性(SAR)。抗病基因(R)是决定寄主植物对病原物的专化性识别并激发抗病反应的基因, 它与病原物无毒基因互补。

**关键词:** 植物; 抗病分子机制; 抗病基因

**中图分类号:** S 432.2      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1002-2767(2003)05-0032-03

## Advances on Mechanism of Plant Disease Resistance

WANG Xiao-ping, WEN Yu-qin, GUO Dong-lin, XU Shu-hong, LI Xin-ling, XU Xiang-ling, LI Ji-lin

(Biology Department of Harbin Normal University, Harbin 150080)

**Abstract:** There are two types of mechanism of plant disease resistance, hypersensitive response (HR) and systemic acquired resistance (SAR). Disease resistance genes are determinant for the host that recognize the pathogeny specifically and trigger the resistant response complementing to avirulence genes of pathogeny.

**Key words:** plant; molecular level mechanism of disease resistance; disease-resistant gene

### 1 植物的抗病分子机制

植物抗病性及其机制的研究一直是植物病理学和植物抗病育种中的热点问题。植物受到病原物侵染后, 最常见的表现方式是通过诱导产生过敏反应, 进而激发一系列防卫反应, 产生组织或全株抗性。植物中普遍存在的抗病分子机制有两种, 即过敏反应(hypersensitive response, HR)<sup>[1]</sup>和系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR)<sup>[2]</sup>, 这两种抗病机制是直接作用于病原物的, 在不同的植物与病原物互作系统中表达的内容基本是一致的, 植物将 HR 和 SAR 这两种抗病机制的内容程序化并将程序化的内容贮存在植物抗病体系中, 当接收来自病原物方面的信号后, 程序开启, 内容表达。

过敏反应是指在植物与病原物的非亲和互作系统中, 受病原物侵染的植物细胞快速死亡而形成枯斑的反应<sup>[1]</sup>。不同的植物与病原物互作系统中发生过敏反应时, 在细胞、生化及分子水平上的变化基本相同。首先, 病原物侵染点细胞进入程序死亡(programmed cell death)。程序死亡是细胞的一种保护性

自杀行为, 是动物、植物和微生物在个体发育、群体进化或抗逆反应中的一种普遍机制。动物细胞死亡时, 细胞骨架离散, 细胞形态改变, 细胞质浓缩, 细胞器功能丧失, 核 DNA 降解。细菌细胞死亡时, 限制修饰系统失去平衡, 限制酶活性高于修饰酶活性, 细胞 DNA 来不及甲基化而被降解。与动物、细菌一样, 植物细胞死亡时, 也存在着细胞形态结构的改变和遗传物质的降解。其次, 病原物侵染点和周围细胞的细胞壁结构发生改变, 细胞壁中结构蛋白氧化交联, 木质素沉积, 胼胝质形成。最后, 在侵染点和周围的细胞中, 防卫反应基因表达。Northern 杂交分析表明: 首先表达的是植保素合成酶基因, 其次是病程相关(pathogenesis related, PR)蛋白基因, 再次是细胞壁结构蛋白和木质素合成酶基因, 这些发生在细胞、生化及分子水平的复杂变化, 共同构成了植物的过敏反应, 它的直接结果是病原物被限制在侵染点的坏死组织中, 不能向周围扩展获得充足的营养物质, 以致死亡。

SAR 是指植物发生过敏反应之后获得的对病原

<sup>\*</sup> 收稿日期: 2003-03-25

第一作者简介: 王晓萍(1972—), 女, 农学博士, 讲师, 从事植物分子遗传学研究。

物的广谱抗性,在时间上落后于过敏反应,性质上类似于动物免疫的一种机制。在用非亲和病原物接种后,数天内形成 SAR,持续数周到数月不等, SAR 是一种可以用化学或遗传方法在生产上加以直接利用的抗病机制<sup>[2]</sup>。

SAR 是植物防卫反应基因被系统诱导表达的结果,特别是 PR 蛋白类基因。PR 蛋白至少有 5 类: PR-1、PR-2、PR-3、PR-4 和 PR-5。其中有降解病原物细胞壁的酶类,如几丁质酶、 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶;有抑制病原物生长的酶类,如过氧化物酶、超氧化物歧化酶、脂氧化酶等;有破坏取食性昆虫消化系统的蛋白酶抑制因子。大多数 PR 蛋白的功能未知,形成 SAR 的机制还不清楚。植物形成 SAR 时,通常有恒定的 PR 蛋白基因被高水平系统诱导表达,这类基因特称为 SAR 基因,如拟南芥和烟草 PR-1 基因、黄瓜的几丁质酶基因、水稻的脂氧化酶基因等,这是植物病害系统长期进化的结果。所以, SAR 基因是否系统表达,成为判断植物是否发生 SAR 的分子标准。由于植物防卫反应基因的系统表达,使得植物对该种病原物再次侵染,甚至与这种病原物不相关的其他病原物的侵染,产生了广谱的类似于动物免疫的抗性。

从时间顺序来看,居前的过敏反应为局部性的,居后的系统获得性抗性为整体性的。大量的研究表明,在信号由病原物侵染点传到侵染点附近和远离侵染点的健康组织的过程中,植物内源的信号分子水杨酸(salicylic acid, SA)起了重要作用<sup>[3]</sup>。当过敏反应发生后,植物体各组织器官水杨酸浓度均有提高,在过敏反应附近升得最高,远处次之。水杨酸存在于韧皮部的事实说明水杨酸在植物体内可沿韧皮部输导组织进行运输,从而使整个植物系统水杨酸含量达到足以诱导 PR 蛋白基因表达的水平。在对烟草 SAR 的研究中获得了水杨酸诱导 PR 蛋白基因表达的线索。在烟草细胞的细胞质中,存在一种可溶性的蛋白,对水杨酸具有强的亲和力,称为水杨酸结合蛋白(salicylic acid binding protein, SAbp)。游离的 SAbp 具有过氧化氢酶的活性,当结合水杨酸后其过氧化氢酶活性受到抑制。过氧化氢是一些代谢途径如光呼吸、 $\beta$ 氧化的副产品。正常情况下,由于过氧化氢酶的作用,过氧化氢在细胞中的浓度维持平衡。当水杨酸浓度升高后, SAbp 的过氧化氢酶活性受到抑制,细胞中过氧化氢浓度升高,激活依赖于氧化还原的一类转录因子以及植物防卫反应基因的表达。因此,植物是通过水杨酸调节细胞中活性

氧的浓度来形成系统获得性抗性的,即植物在形成系统获得性抗性的过程中,水杨酸是第一信使,活性氧是第二信使。SAbp 及 SA 对 SAbp 过氧化氢酶活性的抑制作用,在烟草以外的其他植物如黄瓜、番茄和拟南芥中也存在,说明 SA 通过活性氧来调节防卫反应基因表达以形成系统获得性抗性是植物抗病反应中的一种较为普遍的方式。

植物抗病基因的克隆固然对了解植物抗病机理和提高植物抗病能力具有重要意义,然而,实践同时证明植物抗病能力是一系列基因活动的综合效应,靠转入单个抗病基因往往收效甚微。植物抗病基因往往只是在抗病级联信号的起始起作用,可以诱导植物的过敏反应和系统获得性抗性,从而形成有效的抗病反应。因而通过直接转入在过敏反应和系统获得性抗性信号过程中的系列基因,也可以有效的提高植物的抗性<sup>[4]</sup>。对过敏反应和系统获得性抗性进行详细的遗传研究,不但可以对植物的主动抗性有更新的理解,而且为提高植物抗性提供一批全新的防卫基因<sup>[3]</sup>。

## 2 抗病基因(R)的抗病机理

R 基因是决定寄主植物对病原物的专化性识别并激发抗病反应的基因,它与病原物无毒基因互补<sup>[5]</sup>。抗病基因可在病原物小种或致病变种水平上决定抗病的专化性,即病原物不同小种或致病变种的无毒基因在寄主植物中有相应的抗病基因与之对应。植物抗病基因编码产物是抗病反应信号传导链的起始部分,与病原物无毒基因直接或间接编码产物互补结合后,通过信号转导激发植物的抗病反应。植物抗病基因与植物抗病机制中起最终作用的植物防卫反应基因不同,首先,抗病基因编码产物具有特异性,而防卫反应基因编码产物具有普遍性,即不同的寄主植物中有一套类似的防卫反应基因,如编码植保素合成链中的酶基因:苯丙氨酸裂解酶基因、查尔酮合成酶基因等;植物细胞壁成分合成酶基因如富含羟脯氨酸糖蛋白合成酶、木质素合成酶基因等。

Flor 于 1971 年根据亚麻对锈菌小种特异抗性的研究提出了基因对基因假说(gene for gene hypothesis)<sup>[6]</sup>,这一假说构成了现在克隆病原无毒基因和植物抗病基因的理论基础。该假说认为植物对某种病原的特异抗性取决于它是否具有相应的抗性基因,而同时病原的专一致病性取决于病原是否具有无毒基因,也就是说寄主分别含有感病基因(*r*)和抗病基因(*R*),病原分别含有毒性基因(*vir*)和无毒基因(*avr*),只有当具有相应抗病基因的植物与具有

无毒基因的病原相遇时,才会激发植物的抗病反应,其他情况下二者表现亲和,即寄主感病。

关于 *R* 基因和 *avr* 基因的互作机制,有一种假设已被广泛接受,即激发子/受体模型,它是从基因对基因假说发展而来的,该模式认为植物体内 *R* 基因编码的产物(即受体)可识别出病原物 *avr* 基因所编码的产物(即激发子),进而激发防卫反应<sup>[5]</sup>。

对于受体与激发子识别的场所是在胞内还是胞外,至今仍不能确定。一般认为识别过程是在胞外进行的,例如水稻 *Xa 21* 基因编码的蛋白与动物的酪氨酸受体激酶类似, N 端位于胞外,含有富亮氨酸重复单位(LRR), C 端为胞内的激酶功能域,中间则为跨膜区域,这样的蛋白结构能单独完成胞外信号的接收和转换:含 LRR 的胞外域识别并结合来自病原物的激发子,由此激活胞内的催化域,从而引发胞内的防卫反应<sup>[7]</sup>。但是编码胞内蛋白的 *R* 基因如何在胞外病原物的识别中起作用?编码蛋白激酶的 *Pto* 基因能否单独完成特异性识别以启动防卫反应?有一种观点认为,有些植物病原细菌也象某些哺乳动物的病原物那样,通过一种蛋白分泌系统将 *avr* 基因编码的蛋白直接引入植物细胞并与胞内的蛋白作用。已有证据表明这种机制是可能的,例如当丁香假单孢菌大豆致病变种的 *avrB* 基因在植物细胞中表达时,可诱导出依赖 *R* 基因的过敏反应。*Pto*—*avrPto* 基因互作的研究也显示病原细菌 *avrPto* 蛋白进入植物细胞后,可与胞内的 *Pto* 激酶直接作用<sup>[8]</sup>。

对 *Pto* 及其连锁基因的研究揭示了植物 *R* 基因与病原细菌 *avr* 基因的互作机制。番茄中引起对杀虫剂倍硫磷(fenthion)敏感的 *Fen* 基因与抗丁香假单孢菌的 *Pto* 基因紧密连锁,序列同源性 80% 以上,但 *Fen* 编码的蛋白并不与 *avrPto* 蛋白作用。而当 *Fen* 蛋白中加入一小段来自 *Pto* 蛋白的与底物结合有关的片段时,就可以和 *avrPto* 蛋白作用了。相反,若在 *Pto* 或 *avrPto* 基因的相关位点发生突变,则 *Pto* 和 *avrPto* 蛋白的相互作用就受到干扰。可见 *Pto* 和

*avrPto* 基因的特定序列决定了寄主对病原物识别的特异性。有研究结果也表明, *Pto* 和 *avrPto* 基因的识别还需要 *Prf* 基因的参与。*Prf* 基因与 *Pto* 基因紧密连锁,编码一个含 LRR 和 NBS 的蛋白。从结构上看, *Pto* 和 *Prf* 基因编码的蛋白分别类似于水稻 *Xa21* 基因编码蛋白的胞外和胞内域,由此推测 *Pto* 和 *Prf* 蛋白很可能形成了一个受体体系,在功能上相当于 *Xa 21* 所编码的类酪氨酸受体激酶。含 LRR 和 *Prf* 蛋白与特异性无关, *avrPto* 蛋白进入植物细胞后不与 *Prf* 结合,而是与 *Pto* 直接结合,有可能是形成一个复合物后再与 *Prf* 结合<sup>[4, 9]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] Baker B, Zambryski P, Staskawicz B, Dinesh—Kumar SP. Signaling in plant—microbe interactions[J]. Science, 1997, 276: 726-733.
- [2] Ryals JA, Lawton KA, Delaney TP, Friedrich L, Kessmann H, Neuenschwander U, Uknes S, Vemouu B, Weymann K. Signal transduction in systemic acquired resistance[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 4202-4205.
- [3] Michelmore R. Genomics approaches to plant disease resistance[J]. Curr Opin Plant Biol, 2000, 3: 125-131.
- [4] Staskawicz BJ, Ausubel FM, Baker BJ, Ellis JG, Jones JDG. Molecular genetics of plant disease resistance[J]. Science, 1995, 268: 661-667.
- [5] Cnute R. The elucidation and exploitation of gene— for— gene recognition[J]. Plant Pathology, 1998, 47: 107-113.
- [6] Flor H. Current status of the gene— for— gene concept[J]. Annu Rev Phytopath, 1971, 9: 275-296.
- [7] Song WY, Wang GL, Chen LL, Kim HS, Pi LY, Holsten T, Gardner J, Wang B, Zhai WX, Zhu IH, Fauquet C, Ronald P. A receptor kinase— like protein encoded by the rice disease resistance gene[ J] *Xa21*. Science, 1995, 270: 1804-1806.
- [8] Martin GB, Brommonschenkel SH, Chunwongse J, Frary A, Ganal MW, Spivey R, Wu T, Earle ED, Tanksley SD. Map— based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato[J]. Science, 1993, 262: 1432-1436.
- [9] Salmeron JM, Oldroyd GE, Rommens CM, Scofield SR, Kim HS, Lavelle DT, Dahlbeck D, Staskawicz BJ. Tomato *Prf* is a member of the leucine— rich repeat class of plant disease resistance genes and lies embedded within the *Pto* kinase gene cluster[J]. Cell, 1996, 86: 123-133.

# 欢迎订阅

# 黑龙江农业科学