

综 述

番茄受伤信号传导及诱导抗性的研究进展^{*}

刘丽艳

(黑龙江省农科院生物技术研究中心, 哈尔滨 150086)

摘要: 番茄植株机械受伤后激活了受伤愈合和防御的各种机制, 引发了受伤信号的产生、运转、感知接受和转导等以激活受伤诱导基因的表达。茉莉酸(Jasmonic acid, JA)在番茄对机械受伤反应中起中心作用, 其他化合物, 包括系统素、寡糖和寡聚半乳糖醛酸等也在受伤信号中起重要作用。番茄植株受伤诱导的蛋白酶抑制剂为研究诱导抗性提供了一个有用的模型体系, 说明调控系统防御反应信号传导的各种途径, 提出了细胞间受伤诱导蛋白酶抑制剂 PIs 表达的是多肽系统素(polypeptide systemin)和植物激素茉莉酸。越来越多的证据指明: 系统素和 JA 在同一信号途径中协同作用激活了 PIs 和其他防御相关基因的表达。

关键词: 诱导抗性; 机械受伤; 系统素; 蛋白酶抑制剂; 茉莉酸; 番茄

中图分类号: S 641.201 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2004)06-0038-04

Advances on Wound Signaling Pathway and Induced Resistance in Tomato

LIU Li-yan

(Biotechnology Research Center of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: wound-causing activate mechanisms directed to healing and further defenses in tomato plant. Responses to mechanical damage involving the generation, translocation, perception, and transduction of wound signal to activate the expression of wound inducible genes. Jasmonic acid has been acted as the center role in plant responses to wounding, other compounds, including the systemin, oligosaccharides, and oligogalacturonides have also played a role in wound signaling. Wound-inducible proteinase inhibitors (PIs) in tomato provide a useful model system to elucidate the signal transduction pathways that regulate system defense response. Among the proposed intercellular signal for wound-induced PIs expression are the peptide systemin and phytohormone jasmonic acid (JA). A increasing body of evidence indicates that systemin and JA work in the same signal pathway to activate the expression of PIs and other defense related genes.

Key words: induced resistance; wound; systemin; proteinase inhibitors; jasmonic acid; tomato

0 引言

植物是通过根系固定在地面上的有机体, 主要依靠根系从土壤中获取养分和水分, 因而缺乏可能的逃避机制以防止各种物理损伤、昆虫捕食引起的损伤、各种病原菌侵染引发的损伤。植株具有条件反射似的物理屏障, 如角质层、硬化或木质的覆盖物可成功地抵御较小昆虫的侵袭, 此外, 还有毛状体、

刺和其他特化了的器官可进一步的限制害虫进入植物体。植物细胞壁进化了一种能力, 使每一个细胞都胜任激活防御反应机能, 这主要依靠特定基因的转录激活, 激活反应是直接愈合受伤组织和直接激活防御机制以防止进一步的损伤。

受伤反应途径主要是指植株对于昆虫、病原菌等的侵袭、机械损伤的反应即在受伤叶片(可称之为

^{*} 收稿日期: 2004-07-03

作者简介: 刘丽艳(1959—), 女, 黑龙江省绥化市人, 研究员, 从事生物技术研究。

局部部位)发生局部反应(local response),又在位于受伤位点的末端未受伤叶片(可称之为整体部位)发生整体反应(systemic response),因而引发了受伤信号的产生、运转、感知接收和转导等以激活受伤诱导基因的表达。大多数的受伤诱导反应发生在受伤后几分钟到几小时之间。番茄的1个小叶经机械损伤或昆虫侵袭后,2 h内就能产生局部和系统的蛋白酶抑制剂(Pis)表达。这些蛋白质能在受伤植株叶片上高水平积累并抑制昆虫肠道的消化酶活性等而发挥防御作用。Green和Ryan^[1]在早期受伤诱导Pis的研究中提出,在受伤位点产生特定信号将移动到未受伤反应的叶片激活Pis表达^[2]。多个作用于该信号的化学和物理候选物都已提出。在这些受伤诱导Pis基因表达的信号之中,一个是由18个氨基酸组成的肽系统素(Systemin),另一个是植株激素茉莉酸(JA)。一系列的生化遗传学证据指出,系统素和JA在同一个信号途径中协同作用,引起受伤诱导的Pis的系统表达和其他与防御相关基因表达^[3]。

植物体对受伤反应虽然有种间特异变化,例如番茄和拟南芥有所不同但却存在着同样复杂的受伤信号网络系统。许多结构不同的分子在受伤信号传导中发挥了调节作用。包括肽系统素^[4]、从受伤细胞壁释放的寡糖^[3]和激素活性分子如茉莉酸酯化合物^[7,8]等。然而,还不可能鉴定和准确定义引发受伤防御反应的原始信号的性质。诱导受伤反应常常需要不同信号和调控因子的同时作用。番茄受伤信号途径是在受伤叶片原系统素的加工释放了活跃的系统素^[12],系统素结合到特异的受体。释放低聚糖,激活质子泵,这一系列事件导致脱落酸、乙烯和JA即在受伤的局部叶片又在未受伤的系统叶片高水平的积累。JA的生产需要ABA,而对于Pis在局部和系统叶片激活基因表达则同时需要乙烯和JA。

受伤诱导信号传导过程包括特别信号的产生/释放,感知接受和转导以及接下来的和受伤相关的防御基因的激活、表达。由这些受伤诱导基因编码的蛋白质可行使以下功能:①修复受伤植物组织;②产生抑制昆虫生长的物质,这些物质降低了植物组织的可消化性或产生了毒素;③参与了受伤防御信号的激活;④调节植物代谢以适应植物营养需求。一个局部损伤激发了整个植物体的防御机制,受伤激活局部和整体反应包括代谢变化和诱导抗性基因表达。

1 各种局部和整体的信号物质

受伤后,植株最初瞬间产生反应氧族(ROS),

包括在损伤组织的超氧化^[7],局部地、系统地产生^[7]过氧化氢。机械受伤几分钟后,过氧化物生产达到最大量,4~6 h过氧化氢达最大量,然后随时间推移下降^[7,8]。在未受伤植株中用系统素处理^[8],局部和整体部位均产生了H₂O₂,这表明H₂O₂可以参与系统素相关的反应。

寡聚半乳糖醛酸和真菌衍生的几丁糖均可激活受伤诱导的Pis基因在茄科植物表达^[10]。在番茄上定性了一个受伤诱导的多聚半乳糖醛酸基因^[11],在植物受伤时负责生产内源寡聚半乳糖醛酸。多聚半乳糖醛酸基因也是系统素诱导的,寡聚半乳糖醛酸可能代表信号激活局部反应和随后的受伤位点系统素生产的一个中间步骤。然而,寡聚半乳糖醛酸剪接番茄细胞的氧化燃烧反应^[14]表明:至少在番茄植株上,受伤—系统素—寡聚半乳糖醛酸—反应氧族这一顺序可能属于同一信号途径。

1.1 激素不均衡

在番茄中,系统素和寡聚半乳糖醛酸在激活受伤反应过程中一直是紧密连锁的,它的整体和局部受伤反应可积累高水平的茉莉酸和脱落酸(ABA),这些植物激素通过信号传导途径介导受伤基因表达^[13,14],这些激素的增加大概是由于受伤诱导的植物激素的从头合成。JA是通过脂肪酸途径由 α -亚麻酸前体合成的。生长素类对受伤诱导基因表达具有负作用。烟草机械损伤时内源吲哚乙酸水平^[16]下降。JA和ABA的作用是激活受伤反应基因表达,最初提出了通过普通系统素激活的番茄信号传导途径^[9]。在番茄植物受伤诱导Pis时ABA的感知接收是必须的^[18],但ABA不象是受伤信号的初始信号^[19]。

1.2 细胞内受伤信号及受体

植物体的受伤信号是复杂的,涉及了一整套的调控分子和对诱导防御反应的调控活性物质。尽管有些受伤信号途径已被提出,也在植物体中实施功能。这些信号中负责感知和传导的分子组分可用资料极少。

受伤信号传导途径的第一步是特定受体对信号的感知,当前,系统素结合蛋白和膜关联的uronide结合磷蛋白已被鉴定并已部分地被定性。但它们的功​​能仍不确定。这个鉴定的系统素结合蛋白似乎具有蛋白酶活性。因而可能参与了当系统素执行完功能后降解它的任务。一个推测的系统素受体在番茄细胞中被鉴定出来了,系统素的N-末端部份是需要结合到这一受体上,而它的C末端部分参与了激

活细胞反应,然而,尚未有 JA 受体被鉴定出来,对受伤反应基因激活的主要诱导物是机械受伤。

在番茄中,曾报道过受伤和系统素诱导钙调素基因表达可与受伤反应基因激活相连^[1],所有这些资料支持这一论点:钙和钙调素结合蛋白调控着受伤反应。可逆的蛋白质磷酸化作用是真核生物信号途径的另一种广泛调控机制。此途径在受伤激活基因表达方面起关键作用。

2 番茄是植物诱导性抗性研究的理想模式系统

在植物与农业病、虫害相互作用关系的研究中,番茄是不可多得的模式植物。世界上第一个验证“基因对基因”学说的抗病基因 *Pto* 是从番茄中用定位克隆法分离的^[20]。从番茄中克隆的重要抗性基因已经有 10 余个,涉及对真菌、线虫、蚜虫、细菌和病毒的抗性^[19]。在番茄中存在抗性反应强弱的标志基因—蛋白酶抑制剂 (PIs)。PIs 是一类富含丝氨酸的小碱性蛋白质分子,通过抑制昆虫肠道内消化酶的活性而达到抗虫目的。番茄植株受到机械损伤、昆虫侵害后会大量合成 PIs 等抗性相关的物质,并且 PIs 不只是在受伤的部位大量合成,而且在植物全身,包括未受伤的叶片中合成。这标志着植物整体抗性反应,即对应于受伤刺激,植物会合成一类信号分子 (Signal),这种信号分子可以长距离运输到植物全身的各个部位,包括未受伤的叶片,从而诱导抗性相关基因的表达^[1]。此后三十多年来,人们试图寻找和鉴定这种能长距离运输的信号分子并进而研究其信号传导途径。目前所鉴定到的信号分子中主要包括由 18 个氨基酸组成的多肽—系统素^[4,21]以及来源于不饱和脂肪酸的植物激素茉莉酸。与日俱增的生化 and 遗传学证据表明,系统素和 JA 通过一个共同的信号传导途径调控抗性相关基因的局部和整体表达。

2.1 系统素及其信号传导途径

为鉴定参与系统抗性反应的信号分子,Ryan 教授发明了一种简便的方法,把各种组分通过茎切割部位体外饲喂给番茄幼苗并检测 PIs 的表达情况。系统素是从番茄叶片中提取到的能够强烈诱导 PIs 表达的由 18 个氨基酸组成的多肽^[2,22]。作为植物中的第一个多肽信号分子,系统素的发现在科学界引起了巨大轰动。系统素是由其前体产物—一个由 200 个氨基酸组成的原系统素 (Prosystemin) 的 C—末端剪切而来的。反义表达原系统素基因的转基因

番茄植株丧失了系统抗性反应,对昆虫的侵害更加敏感;而 35S—CaMV 驱动下超表达原系统素基因的转基因番茄则如同一直处于受伤的状态中,组成型地表达 PIs 等抗性相关蛋白,对昆虫的抗性也大大提高^[23]。尽管有些证据指明系统素是植物体内主要的长距离可传递信号^[2,23],系统素和相关肽的存在和功能到目前为止仅在茄科植物有文献记载,受伤反应的组成型激活,包括在超表达原系统素基因的转基因番茄植物中定性的 PIs 转录激活^[21],指出了系统素在局部和整体受伤激活反应中的重要作用。

生化研究表明,系统素可与位于膜上的受体蛋白 SR160 特异性结合。系统素和 SR160 结合后会引发一系列的细胞学现象,包括膜质 Ca^{2+} 浓度升高、胞液的碱化、膜的脱极性,最终引发特定的磷脂酶的活性以释放 JA 合成的最初底物亚麻酸,从而诱导 JA 的生物学合成并随之参与诱导抗性相关基因的表达。

2.2 JA 受伤信号的作用及其传导途径

JA 是 α 亚麻酸的衍生物,受伤反应是通过茉莉酸酯化合物作用介导的,机械受伤后发生在头几分钟的事件主要包括原始信号的生产和感知,在质膜离子通道的激活,和可逆的蛋白质磷酸化作用等。在次级信号中,氧脂特别是 JA,是受伤激活基因表达的主调控因子。

JA 在植物对昆虫和某些病原菌的诱导抗性中起重要作用^[19]。首先,受伤反应引起植物内源 JA 水平大大提高;其次,外源施加 JA 引起植物体内代谢途径的重大调整、受伤反应相关基因的高水平表达;诱导抗性提高;并且,大量 JA 合成和识别的突变体丧失了抗性相关基因的表达而削弱了对昆虫及病原菌的抗性。

2.3 系统素和 JA 在系统抗性反应中的作用

过去一直认为系统素是进行长距离运输的信号分子,在系统抗性反应中起主导作用,而 JA 不进行长距离运输,主要在局部区域起作用,诱导抗性基因的表达。尽管这一假说富有说服力,但缺乏更为直接的实验证据支持。以番茄中 JA 合成突变体 *spr 2* 和 JA 识别突变体 *jai 1* 为材料,巧妙地采用传统的嫁接实验已证明,在系统抗性中实际上进行长距离运输的信号分子是 JA 而不是传统认为的系统素^[23]。

3 受伤信号及诱导抗性的研究方向

鉴定和定性受伤信号受体应当是今后研究的主攻方向,说明不同信号途径的分化作用和细胞类型特异性研究是重点,最终将澄清受伤激活的信号途

径和信号传导途径之间调控连结。

在植物诱导抗性的研究方面,将鉴定和筛选更多的抗性缺失突变体,进而分离相应的基因,以尽可能多地鉴定抗性反应信号传导途径中的重要组分。随着抗性反应信号传导途径中重要基因的分离、克隆及对其生物学功能的阐明,将以模式植物建立植物对昆虫抗性机理的基本模型。在此基础上确定整个信号传导途径中的关键调控步骤,并对这些关键调控基因进行遗传工程操作,期望通过内源抗性基因的调控达到控制农业害虫的目的。

参考文献:

- [1] Green, T. R. and Ryan, C. A.. Wound inducible proteinase inhibitors in plant leaves: a possible defense mechanism against insects [J]. Science, 1972, 175: 776-777.
- [2] O'donnell PJ, Calvert C, Atzorn R, et al. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants[J]. Science, 1996, 274: 1914-1917.
- [3] Pena-Cortes H, Sanchez-Serrano JJ, Mertens R, et al. Abscissic acid is involved in the wound-induced expression of the proteinase inhibitor II gene in potato and tomato[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1989, 86: 9851-9855.
- [4] Pearce G, Strydom D, Johnson S, et al. A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins [J]. Science, 1991, 253: 895-898.
- [5] Bishop PD, Makus DJ, Pearce G, et al. Proteinase inhibitor-inducing factor activity in tomato leaves resides in oligosaccharides enzymically released from cell walls[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1981, 78: 3536-3540.
- [6] Farmer EE, Ryan CA. Interplant communication; airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, US, 1990, 87: 7713-7716.
- [7] Doke N, Miura Y, Chai H-B, et al. Involvement of active oxygen in induction of plant defense response against infection and injury. In: Pell e, Steffen K, eds[Z]. Active oxygen/oxidative stress and plant metabolism. American Society of Plant Physiologists, 1991. 84-96.
- [8] Orozco-Cardenas M, Ryan C. A. Hydrogen peroxide is generated systemically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1999, 96: 6553-6557.
- [9] Stennis MJ, Chandra S, Ryan CA, et al. Systemin potentiates the oxidative burst in cultured tomato cells[J]. Plant Physiology, 1998, 117: 1031-1036.
- [10] Benhamou N, Chamberland H, Pauze FJ. Implication of pectic components in cell surface interactions between tomato root cells and *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersicon*[J]. Plant Physiology, 1990, 92: 995-1003.
- [11] Doares SH, Strydom T, Weiler EW, et al. Oligogalacturonides and chitosan activate plant defensive gene through the octadecanoid pathway[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1995, 92: 4095-4098.
- [12] Bergey DR, Howe G. A, Ryan CA. Polypeptide signaling for plant defensive genes exhibits analogies to defense signaling in animals[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1996, 93: 12053-12058.
- [13] Stennis MJ, Chandra S, Ryan CA, et al. Systemin potentiates the oxidative burst in cultured tomato cells[J]. Plant Physiology, 1998, 117: 1031-1036.
- [14] Pena-Cortes H, Fishn J, Wilmitzer L. Signals involved in wound-induced proteinase inhibitor II gene expression in tomato and potato plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, US, 1995, 92: 4106-4113.
- [15] Berger S, Bell E, Mullet JE. Two methyl jasmonate insensitive mutants show altered expression of *asip* in response to methyl jasmonate and wounding[J]. Plant Physiology, 1996, 111: 525-531.
- [16] Thomburg RW, Li X. Wounding *Nicotiana tabacum* leaves causes a decline in endogenous indole-3-acetic acid levels[J]. Plant Physiology, 1991, 96: 802-805.
- [17] Carrera E, Prat S. Expression of the *Arabidopsis* *ah1-1* mutant allele inhibits proteinase inhibitor wound-induction in tomato[J]. The Plant Journal, 1998, 15: 765-771.
- [18] Birkenmeier G. F, Ryan C. A. Wound signaling in tomato plants. Evidence that ABA is not a primary signal for defense gene activation[J]. Plant Physiology, 1998, 117: 687-693.
- [19] Dombrowski JE, Pearce G, Ryan CA. 1999. Proteinase-inhibitor inducing activity of the prohormone prosystemin resides exclusively in the C-terminal systemin domain[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1999, 96: 12947-12952.
- [20] Farmer, E. E. and Ryan, C. A. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors[J]. Plant Cell, 1992, 4: 129-134.
- [21] Ryan CA, Pearce G. Systemin: a polypeptide signal for plant defensive genes[J]. Annual review of Cell and Developmental biology, 1998, 14: 1-17.
- [22] McGurl B, Orozco-Cardenas M, Pearce G, et al. Overexpression of the prosystemin gene in transgenic tomato plants generates a systemic signal that constitutively induces proteinase inhibitor synthesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1994, 91: 9799-9802.
- [23] Li L, Li C, Lee GI et al. Distinct roles for jasmonate synthesis and action in the systemic wound response of tomato[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 6416-6421.