

现代生物技术前沿

邱德文 主编

植物免疫与植物疫苗 ——研究与实践



科学出版社
www.sciencep.com

现代生物技术前沿

邱德文 主编

SK32.2

Q1

植物免疫与植物疫苗 ——研究与实践

科学出版社
北京

内 容 简 介

本书从植物与激发子物质或微生物互动角度系统介绍了植物疫苗在植物免疫诱导中的作用机理和应用实践。本书共分 15 章,主要论述了生化类激发子,如病毒衣壳蛋白、蛋白类激发子、壳寡糖、脱落酸和聚 γ -谷氨酸等,以及具有诱导免疫功能的微生物,如木霉、枯草芽孢杆菌、病毒弱毒株系等研究与应用的现状及发展趋势。

本书适合从事植物诱导免疫、生物制药、分子植物病理学、分子生物学、化学生物学等领域研究和教学工作的教师、研究生及科研人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

植物免疫与植物疫苗:研究与实践/邱德文主编. —北京:科学出版社, 2008

(现代生物技术前沿)

ISBN 978-7-03-021271-9

I. 植… II. 邱… III. ①植物学:免疫学 ②植物-疫苗
IV. S423.2 R979.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 030306 号

责任编辑:王海光/责任校对:张小霞

责任印制:钱玉芬/封面设计:陈 敬

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 4 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2008 年 4 月第一次印刷 印张:13 1/2

印数:1—4 000 字数:258 000

定价:38.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

编委会名单

主 编 邱德文

副主编 赫伟时

编 委	谢联辉	杨怀文	焦 阳
	邱德文	杨秀芬	曾洪梅
	杜昱光	陈 捷	谭 红
	王 琦	王振中	刘 波
	陈守文	陈功友	齐放军
	袁京京	唐宏琨	李 唐

主要编著者名单

(按章节先后顺序排列)

- | | |
|-----|-------------------------------|
| 邱德文 | 中国农业科学院植物保护研究所,北京 100081 |
| 杨秀芬 | 中国农业科学院植物保护研究所,北京 100081 |
| 曾洪梅 | 中国农业科学院植物保护研究所,北京 100081 |
| 谢联辉 | 福建农林大学植物病毒研究所,福州 350002 |
| 陈启建 | 福建农林大学植物病毒研究所,福州 350002 |
| 杜昱光 | 中国科学院大连化学物理研究所,大连 116023 |
| 赵小明 | 中国科学院大连化学物理研究所,大连 116023 |
| 陈捷 | 上海交通大学农业与生物学院,上海 200240 |
| 谭红 | 中国科学院成都生物研究所,成都 610041 |
| 王琦 | 中国农业大学农学与生物技术学院,北京 100094 |
| 牛犇 | 中国农业大学农学与生物技术学院,北京 100094 |
| 刘波 | 福建省农业科学院生物技术研究所,福州 350013 |
| 蓝江林 | 福建省农业科学院生物技术研究所,福州 350013 |
| 陈守文 | 华中农业大学农业微生物学国家重点实验室,武汉 430070 |
| 谢国生 | 华中农业大学植物科学技术学院,武汉 430070 |
| 王振中 | 华南农业大学植物病理生理学研究室,广州 510642 |
| 李云锋 | 华南农业大学植物病理生理学研究室,广州 510642 |
| 陈功友 | 南京农业大学植物保护学院,南京 210000 |
| 齐放军 | 中国农业科学院植物保护研究所,北京 100094 |
| 张文蔚 | 中国农业科学院植物保护研究所,北京 100094 |
| 袁京京 | 中国农业科学院植物保护研究所,北京 100081 |

前 言

长期探索和大量研究的结果证明,植物中同样存在与动物免疫系统相似的可诱导的抗性系统。植物免疫诱导抗性的研究在国内外已有近百年的历史,科学家们发现了很多对植物具有诱导抗性的功能物质并应用到植物病害的治理实践中。随着科学技术的发展,诱导抗性如果只停留在研究水平上,是不能适应现代农业发展需要的,为了能将此领域的研究成果为农业生产应用与实践服务,我们在植物免疫诱导抗性理论和实践的基础上,拓展了植物疫苗的概念。

现代植物免疫系统可分为两类:一类是通过跨膜的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR),该模式与微生物或病原菌相关分子模式(MAMP 或 PAMP)的识别在进化上相当稳定,并具有系统性,MAMP 的核心分子一般不会改变,这种免疫系统也称为先天免疫或基础免疫;另一类属于胞内的 R 基因主导的识别模式,即无毒基因与 R 基因编码产物 NB-LRR 互作的识别。根据识别的作用特点,植物疫苗主导的免疫反应主要属于第一种免疫系统。考虑到植物免疫系统与哺乳动物的免疫系统的差异,植物疫苗应该对植物诱导抗性形成具有较高的贡献率(至少在 65%以上)。植物疫苗的概念对诱导抗性提出了新的要求,需要利用新的研究手段和新工艺开展植物疫苗的开发,以适应现代农业发展的需求。

研究和利用植物疫苗防治植物病害,是我国现代农业研究中的一个新的重要课题。在植物未受到病原菌感染前进行疫苗接种,使植物获得免疫抗性,减少或减轻病害的发生,这样就可以从根本上减少农药使用量,从源头上减少农药对环境和农产品的污染。深入开展植物疫苗的研究对中国农业可持续发展具有重要的理论和实践意义。

本书系统地介绍了植物免疫诱导抗性的现状与发展趋势(第一章);在植物免疫诱导抗性理论和实践的基础上,拓展了植物疫苗的概念(第二章);总结了植物病毒病疫苗的研究成果与理论(第三章);介绍了激活蛋白的最新研究进展,分析了微生物蛋白激发子作为植物病害疫苗调节植物新陈代谢,激活植物的免疫系统和生长系统的实践与应用前景(第四章);介绍了壳寡糖诱导植物产生抗病性相关酶系,提高植物抗病能力,抑制根腐病菌、黑星病菌等病原菌的作用机理及分析技术(第五章);探讨了木霉菌及其功能蛋白诱导免疫的作用机理和研究技术(第六章);介绍了脱落酸诱导植物免疫抗性机理和脱落酸研究现状与应用实践及存在的问题,并指出了今后的发展方向(第八章);介绍了有关弱毒株系诱导植物免疫抗性的原理与实践技术(第九章);推出和分析了一种新的聚 γ -谷氨酸疫苗的生物功能与实践应用(第十章);本书还对激发子的发现、概念发展以及激发子的分类等进行了阐述(第十一章);对激发子诱导植物的抗性机理、植物-病原物互作分子免疫的理论

基础、植物对激发子的识别和激发子的应用前景进行了全面的分析(第十二章);从分子生物学方面分析了病原菌效应子对植物免疫抗性激活及抑制的分子机理(第十三章);分析指出了植物疫苗在我国实践的可行性与前景展望(第十四章);此外,本书最后还介绍了上述这些研究形成的初试产品所进行的田间示范应用,以及部分已经获得农药临时登记的植物疫苗制剂(第十五章)。随着植物免疫诱导抗病机理和植物疫苗研究的不断深入,将会开发出更多、效果更高的植物疫苗为现代农业生产服务。

本书所有参编作者均是国内本研究领域的知名专家、教授,相关章节的内容凝聚了作者多年的研究成果和丰富的实践经验。为了拓展读者范围,照顾到不同读者的兴趣及要求,本书各章作者在介绍最新研究成果的基础上,增加了研究背景知识的介绍。植物疫苗是新的研究领域,发展迅速,因此本书内容难免存在某些不足,希望读者提出宝贵建议,我们将诚恳改进。希望通过本书交流促进我国植物疫苗研究领域的广泛协作,共同推进植物疫苗研究的快速发展,为中国农业可持续发展做出应有的贡献。

邱德文

2008年2月

目 录

前言

第一章 植物免疫的理论与实践	1
一、植物免疫的概念	1
二、植物免疫的诱导因子及作用机理	2
三、植物免疫的系统获得抗性	6
四、植物免疫与农业可持续发展	7
参考文献	9
第二章 植物疫苗的概念——从免疫诱导抗性到植物疫苗	11
一、人类免疫与人用疫苗	11
二、动物免疫与动物疫苗	13
三、植物免疫与植物疫苗	14
参考文献	17
第三章 植物病毒疫苗的研究与实践	19
一、植物病毒疫苗的研究概况	19
二、近年来的研究概况	25
三、展望	27
参考文献	28
第四章 蛋白激发子抗病疫苗——激活蛋白研究与创新	33
一、国内外蛋白激发子研究概况	33
二、激活蛋白的纯化、功能分析及基因克隆	37
三、激活蛋白作为抗病疫苗诱导植物抗病促生长的作用机理	40
四、激活蛋白发酵工艺及示范应用	43
参考文献	44
第五章 寡糖激发植物免疫及寡糖植物疫苗的研究进展	48
一、寡糖植物疫苗的种类	49
二、寡糖疫苗在防治作物病害上的应用	52
三、寡糖激发植物免疫抗性的作用机理	56
四、展望	60
参考文献	61

第六章 木霉菌产生的植物疫苗功能蛋白及其应用前景	67
一、木霉菌-植物共生体	68
二、木霉菌-植物-病菌的互作体系	69
三、木霉菌调控的植物免疫相关反应	69
四、展望	77
参考文献	78
第七章 植物“逆境抗灾疫苗”——脱落酸的研究与应用	80
一、脱落酸的结构与生理活性	80
二、脱落酸的微生物发酵生产技术	81
三、脱落酸——植物“逆境抗灾疫苗”	85
四、脱落酸作为植物“逆境抗灾疫苗”的应用	90
参考文献	92
第八章 拮抗微生物疫苗的研究现状与展望	96
一、拮抗微生物疫苗的研究现状	96
二、拮抗微生物疫苗的诱导抗性作用	97
三、拮抗微生物疫苗的微生态调控作用	102
四、拮抗微生物疫苗的应用现状与前景	105
参考文献	107
第九章 青枯雷尔氏菌无致病力菌株免疫抗病机理的研究与应用	112
一、病原菌免疫抗病特性的基础——青枯雷尔氏菌致病机理的多态性	112
二、青枯雷尔氏菌致病机理的多态性	118
三、青枯雷尔氏菌脂肪酸型的应用	120
四、生防菌致弱特性产生青枯雷尔氏菌无致病力菌株	122
五、青枯雷尔氏菌绿色荧光蛋白基因转化意义	123
六、青枯雷尔氏菌无致病力菌株免疫接种剂的研发 与应用	126
七、植物免疫系统的研究展望	128
参考文献	130
第十章 聚γ-谷氨酸疫苗的生物功能与实践	141
一、 γ -PGA 的结构和理化性质	141
二、 γ -PGA 的微生物发酵制备	142
三、聚 γ -谷氨酸在农业生产中的应用	143
四、聚 γ -谷氨酸植物疫苗在水稻中的生产实践	144
五、聚 γ -谷氨酸在农业中的应用前景	150
参考文献	151

第十一章 植物诱导抗病性激发子及其应用前景	152
一、激发子	152
二、植物对病原生物激发子的识别	156
三、激发子诱导植物抗性物质的代谢基础	157
四、激发子的应用前景	158
五、激发子作为植物免疫疫苗的前景分析	159
参考文献	159
第十二章 植物-病原物互作的分子机制与分子免疫	163
一、植物免疫基础是植物-病原物互作协同进化的结果	163
二、植物与病原物互作的遗传学	164
三、植物与病原物的识别	167
四、植物抗病防卫反应的信号转导	170
五、植物免疫激活生化因子的利用策略	172
参考文献	175
第十三章 病原菌效应子对植物免疫抗性激活及抑制的分子机制	177
一、病原菌效应子及有关基础研究	177
二、效应子对植物免疫抗性的诱导和抑制的分子机制	179
三、增强植物免疫抗性的靶向性策略和途径的前景展望	182
参考文献	183
第十四章 植物疫苗在中国的实践与前景分析	185
一、植物疫苗的研究现状	185
二、植物疫苗在我国的实践	188
三、发展植物病害疫苗的可行性及前景分析	192
参考文献	194
第十五章 植物疫苗品种介绍	198
一、黄瓜花叶病毒卫星 RNA 生防制剂	198
二、NS-83 增抗剂	198
三、新型植物生化激活剂——康壮素	198
四、蛋白激发子抗病疫苗——植物激活蛋白	199
五、芽孢杆菌疫苗——增产菌	200
六、壳聚糖、壳寡糖疫苗	201
七、木霉菌生防制剂	202
八、脱落酸	202
九、无致病力菌株疫苗——鄂鲁冷特	202
参考文献	203

第一章 植物免疫的理论与实践

20 世纪初, 免疫学尚是一门实践科学, 到 20 世纪末, 免疫学已经发展成为在分子水平研究生命活动机理的综合科学。免疫学的应用, 为人类征服疾病做出了巨大贡献, 由于广泛使用了能抵御重大疾病的疫苗, 使人类重大传染性疾病如天花、鼠疫、霍乱、结核、黄热病、登革热和脊髓灰质炎等在全球范围内得到了彻底控制和消灭 (陈慰峰, 2004)。20 世纪, 诺贝尔生理学与医学奖已有 15 次授予杰出的免疫学家, 居该奖项的生命科学及医学领域获奖次数之首, 有力证明了免疫学对人类做出的巨大贡献。免疫系统成为人类研究最多, 研究手段和方法最为完善的体系, 免疫方法成为应用最广、最有效的防治疾病和诊断疾病的重要手段。

一、植物免疫的概念

免疫学对人类和动物的重大疾病诊断和治疗做出了巨大的贡献, 自然界有关动物和人类疾病的免疫也早就为人所知, 长期以来人们一直在探索和研究植物中是否也存在与动物相类似的免疫系统, 这也是植物病理学工作者长期面临的一个重要课题。近年来, 随着科学研究的发展, 国内外科学工作者从不同角度, 不同研究领域, 用不同的研究手段获得了越来越多的实验结果, 证明了植物存在免疫抗性, 这种免疫抗性可被自然界中的多种诱抗因子或诱导子诱导或激活。

植物在长期的进化中, 不但逐步获得了适应不良环境的能力, 而且还形成了抵抗病原菌侵入的各种机制。100 多年前, 人们就观察到对植物接种致病菌、非致病性生理小种以及一些病菌的代谢产物可使植物产生对一些相关病害的免疫作用。自 20 世纪 50 年代以来, 人们陆续发现真菌、细菌、病毒可诱导烟草、蚕豆、豇豆等多种植物产生抵抗病菌的能力。1933 年, Kuc 提出了“植物免疫”这一专有名词, 即植物在外界因子的诱导下, 能抵抗一部分病害, 从而使自己免遭病害或减轻病害。能使植物产生免疫效果的诱导因子很多, Yarwood、Cruickshank、Mandryk 和 Müller 等分别发现真菌能诱导植物对其病害产生免疫 (Cruickshank, 1963)。60 年代初, Ross 发现以病毒为诱导因子可使烟草、蚕豆、豇豆产生抵抗病毒侵染的能力 (Ross, 1966)。进一步研究发现, 除病毒、真菌外, 细菌也可作为周围免疫的诱导因子, 由此可见, 自然界存在许多可作为诱导植物产生免疫作用的生物或微生物代谢产物。

2002 年的 *Nature* 杂志中报道了植物本身存在有效的保护机制、可帮助植物

抵抗细菌及霉菌的侵染。美国马萨诸塞州总医院分子生物部 Jen Sheen 博士也发现了能使植物对致病菌产生抗性的途径 (Jen Sheen, 2002)。2006 年美国科学家在 *Nature* 上提出了植物免疫系统的概念 (Jonathan et al., 2006)。2007 年德国科学家在 *Science* 杂志发表文章指出: 自然界中的植物具有特殊的可以识别细菌、病毒和霉菌等微生物入侵的免疫传感器 (Shen, 2007)。2007 年, 美国康奈尔大学植物研究所的 Klessig 研究确定了植物免疫响应过程中的一个关键信号——水杨酸甲酯 (methyl salicylate) (Sang, 2007)。研究已明确植物的这种免疫系统由两级免疫传感器组成, 第一级是植物细胞表面可以针对不同微生物的入侵, 促使植物细胞分泌出具有抵抗功能的调节蛋白; 第二级是植物细胞内本身就存在的特殊抗体蛋白, 可以与植物细胞的分泌物一起抵御病原微生物的入侵。

二、植物免疫的诱导因子及作用机理

植物在生长过程中受到各种病原菌的侵染, 发生不同程度的各种病害, 但是植物并没有因此而灭绝, 这一现象说明植物与动物一样也具有免疫功能, 并且植物在长期的演化过程中, 形成了许多抵抗病原生物侵袭的能力和特性, 其中包括植物自身的免疫抗性和由外界因子诱导或激发子诱导的免疫抗性。

(一) 植物自身免疫的物质基础及理化作用

植物在长期的进化过程中, 为适应自然界环境的变化和抵抗病原微生物的入侵形成了多种自身免疫的功能物质。植物的自身免疫抗性可分为物理免疫和化学免疫。物理免疫主要指叶面等部位形成的角质层、蜡质层, 受伤组织周围形成的木栓组织, 植物组织的高度木质化, 组织分泌的各种树浆和树脂等防御病原微生物的入侵能力; 化学免疫主要是指植物本身形成的次生物质对某些病原物的杀灭或抑制作用。目前已知的次生物质种类多达两万多种, 主要是含氮化合物、类萜和酚类物质等。

细胞壁是植物抵御外来入侵的第一道有效屏障, 当病原物侵染时, 植物在组织上形成物理或化学屏障。如叶表面等部位的角质层、蜡质层, 此外有些植物组织在微生物侵染部位迅速产生木质素, 高度木质化。木质素是酚类化合物的聚合物, 酚类化合物的前体对真菌、细菌是有毒的, 因此, 木质素是一种重要的抗菌物质, 可以防止病原菌产生的毒素进入植物体内。诱导因子导致木质素在细胞壁沉积而构成致密、不易穿透的屏障, 阻止病菌的繁殖, 从而保护细胞免受侵害。此外, 木质素可在多糖分子和蛋白质分子的外面包上一层膜, 这样植物组织不致被病原菌水解。有些植物茎的表皮和果实的果皮细胞壁中还含有鞣酸、硅酸盐和碳酸钙等无机化合物, 这些坚固的屏障可以阻止病菌孢子的侵入。

植物体内的酶系统, 除了完成调节植物正常生理活动的使命外, 还担负着防

御病菌侵入的任务。病菌一旦进入植物的某一组织后,这个部位的氧化酶就异常活跃,呼吸作用加强,从而氧化分解病菌产生的毒素,起到“消毒”的作用。植物呼吸作用的加快,还可抑制病菌水解酶的作用,使其不能分解利用植物的有机物而死亡。此外,植物旺盛的呼吸作用,还能促进植物伤口部位形成木栓层,加快伤口的愈合,将健康组织与受害部位隔离开来,阻止病菌的进一步蔓延。诱导剂除了引起植物富含羟脯氨酸糖蛋白(HRGP)的变化,导致木质素在细胞壁沉积,使植物形成物理防御机制外,还能导致内源水杨酸(SA)的累积,形成氧化激增,植物局部程序性细胞死亡而产生过敏反应(hypersensitive reaction, HR)。

有些次生物质可在植物健康状态即非诱导条件下产生,参与植物正常的生理代谢,如吲哚乙酸、赤霉素作为植物激素直接参与生命活动的调节;叶绿素、类胡萝卜素参与光合作用;木质素是细胞次生壁的重要组成成分。而多数次生物质包括小分子质量的酚类、醌类、萜类化合物等和高分子质量的单宁、抗菌蛋白和抗菌肽、溶菌酶、蛋白酶抑制剂等对维持生命有机体的基本生命过程无直接关系,并非生命活动所必需的,它们是预先生成的抑菌物质,当植物受感染时参与植物的免疫作用(彭有良等,2006)。

植物还能采取一些有效的“战术”与病菌做斗争。其一是分泌抗菌物质,直接杀灭病菌。一些花卉植物叶片细胞能产生类似人体干扰素的物质,这种植物干扰素能有效阻止花卉花叶病毒的繁殖;其二是植物在受到病菌侵袭时会产生“过敏反应”。过敏反应是植物抗病(病毒病、细菌病、真菌病)的基本反应,局部枯斑的产生可以抑制病原菌在其体内扩展,并诱导植物的主动防卫机制,如氧爆发(oxidative burst)、植保素和抗菌物质的产生、防卫基因的启动以及病程相关蛋白(pathogenesis-related protein, PRP)的合成,植物最终表现出局部获得抗性(local acquired resistance, LAR)和系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)。普遍认为过敏反应不仅是一种抗病反应,也是一种诱导植物系统抗性的途径。

(二) 诱导或激发子诱导的植物免疫及作用原理

激发子(elicitor)能诱导植物产生抗性,有些生物激发子是无毒基因的产物,因此是专化性的,大部分激发子是非专化性的。诱导或激发植物免疫抗性的物质称为诱导子或激发子。目前发现的诱导或激发因子主要有病毒衣壳蛋白、寡核苷酸、小分子多肽、脱落酸、寡糖和激活蛋白等,当这些诱导子或激发子与植物接触后,有的通过叶表进入植物体内,如病毒衣壳蛋白、脱落酸等,有的则通过细胞表面的膜蛋白如激活蛋白、过敏蛋白,有的通过气孔或水孔如寡糖等而作用于植物组织,这些物质通过信号转导诱导植物产生乙烯、水杨酸、吲哚乙酸、

茉莉酸、植保素和病程相关蛋白等,提高植物抵御病原菌的能力。

1968年,Cruickshank和Perrin首次从丛梗孢属(*Monilinia fructicola*)菌丝中得到一种多肽诱导物——Monilicolin A,它能诱导一种植保素——菜豆素在豆荚中积累,并且仅在 10^{-9} mol/L的低浓度诱导非寄主菜豆产生菜豆素(Cruickshank et al.,1968)。目前研究比较深入的例子是从一种能引起大豆根和茎腐烂的大雄疫霉大豆专化型真菌(*Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*)菌丝细胞壁分离得到的中性多聚糖诱导物。通过部分酸水解、凝胶过滤和高压液相层析,确定了具有诱导活性的最小分子是一个由七个 β -葡萄糖苷组成的多聚体,并且其间的糖苷键必须按一定的顺序排列才有活性。研究证明,从大雄疫霉碱水解得到的糖蛋白也具有诱导物的活性。此外,从引起番茄枝孢叶霉病的黄枝孢霉(*Cladosporium fulvum*)中分离的半乳糖苷露聚糖的多肽能诱导番茄叶片和果实产生植保素;从刺盘孢属(*Colletotrichum*)真菌的培养滤液中都可得到多聚糖诱导物,除含有葡萄糖残基外,还含有鼠李糖、半乳糖苷、甘露糖苷残基以及蛋白质,这一诱导物能引起蚕豆积累植保素和褐色化。

植保素是能抑制微生物生长的小分子化合物,主要是一些酚类和萜类物质。植保素种类繁多,例如在豆科植物中发现了120种植保素,其中84种为异萜酚的衍生物。马铃薯、番茄、辣椒等茄科植物中已发现43种,其中34种是萜类衍生物。植保素在健康植物中是不存在的,是植物在外界因子的诱导下产生的,此外植物产生的抗菌物质还有绿原酸、咖啡酸、奎尼酸等。

诱导或激发因子对植物所产生的抗病信号经内源信号转导物质水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)、乙烯(Et)和一氧化氮(NO)可转导到整个植株,经过一系列抗病相关基因的调控和表达引起寄主防御酶系如苯丙氨酸解氨酶(PAL)、 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase)、几丁质酶(chitinase)、过氧化物酶(POX)等以及抗病物质如木质素与植保素等的变化及病程相关蛋白的调控与表达,以此来抵抗病原菌的侵入和发展,减轻和防止病害的发生。上述这些植物免疫抗性大多是由外在的诱导或激发因子诱导和激发产生的,人们利用植物这一诱导免疫抗性,将诱导或激发因子开发成诱抗剂或免疫剂,并针对其功能用于植物病害的防治。

(三) 活体微生物诱导的植物免疫抗性及作用机理

活体微生物主要指真菌、细菌和病毒等,其中包括病原菌和非病原菌,病原菌中主要是无毒或弱致病力的菌株。一般来说,植物免疫的诱导因素来源于病原微生物的直接感染,如植保素是在诱导条件下产生的,致病和非致病的菌株都能诱导植保素的形成。具有诱导植物产生免疫抗性的细菌包括死体和活体病原细菌或非病原细菌及细菌的不同成分,如细菌 *hrp* 基因产物可诱导非寄主植物产生

过敏性,进而获得系统抗性。在美国,枯草芽孢杆菌被用于控制黄瓜和番茄上的瓜果腐霉和烟草疫霉 (*Phytophthora nicotianae*),它不仅对病害有防治作用,也能促进作物的生长 (Grosch et al., 1999)。植物促生根际菌 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) 增产菌可诱导植物对一些叶部病害的抗性。例如 PGPR 生防菌 *Pseudomonas fluorescens* 菌株 Wes417r 在番茄根部的定殖可以使植株的抗生活性提高,减轻对土传病菌 *Fusarium axysporum* f. sp. *raphani* 引起的枯萎症状以及 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* 引起的叶部症状 (Van peer, 1991)。目前,发现具有这种作用的细菌有农杆菌 (*Agrobacterium paspali*)、自生固氮菌 (*Azotobacter putida*)、矮小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*)、枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*)、荧光假单孢菌 (*Pseudomonas fluorescence*)、臭味假单孢菌 (*P. putida*)、黏质雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 和链霉菌 (*Streptomyces* sp.) 等。我国也发现了能防治镰刀菌的枯草芽孢菌,中国农业大学陈延熙等发现枯草芽孢杆菌能诱导多种农作物对多种植物病害的抗性。

此外,真菌不同结构有机组分中一些不饱和脂肪酸和氧化脂肪酸也可诱导系统获得抗性,如花生四烯酸、亚麻酸、亚油酸和油酸可系统诱导番茄对 *Phytophthora infestans* 的抗性, Cohen 等 (1991) 认为花生四烯酸天然存在于晚疫病病菌的孢子中,侵染后释放到植物组织中,可能具有激发孢子的作用。

普遍认为,活体微生物附着在植物根部的表皮和皮层外部,在土壤及根部周围产生黄草次甙的物质,从而诱导作物抗性。此外,还能在作物感病部位引起木质素积累,使病菌不能在细胞外生长,抑制病斑扩展。诱导植物产生过氧化酶 (POD)、多酚氧化酶 (PPO)、壳聚糖酶、 β -1,3-葡聚糖酶等各种与防卫代谢相关的酶,从而降低病菌活性,抑制病菌的生长也是诱导抗病机制之一。

根据基因对基因假说,病原菌与寄主植物的关系分亲和与不亲和两种类型,即病原菌具有毒基因和无毒基因,寄主植物具有感病基因和抗性基因,只有当携带无毒基因的病原菌感染携带抗性基因的寄主植物时,才会诱导植物产生抗性,否则就会导致植物被感染致病。病原无毒基因直接或间接编码信号分子 (激发子),被植物抗病基因所识别,而编码病原信号分子的受体,两者互作激活与抗病有关的信号转导级联网络,最终使植物表达一系列的防卫反应。目前已经研究发现,虽然植物种类不同,所拮抗的病原生物类型也不一样,但植物抗病基因产物的序列结构有许多共同特征,如许多植物抗病基因编码的蛋白均有 C 端的富亮氨酸重复序列 (LRR) 和 N 端的核苷酸结合位点 (NBS) 等。在植物与病原生物的互作中,这些蛋白可作为受体识别有病原生物无毒基因编码的激发子,从而激发一系列防卫反应,使植物表现出抗病性。另外,科学家推测还有可能通过病原生物与寄主植物发生基因亲和或植物通过修饰甚至“丢弃”亲和基因的作用受体而实现抗性。在植物的抗病基因识别病原生物的无毒基因过程中,信号转导

是如何进行的,目前尚不清楚,编码蛋白的结构和功能及其在细胞中的定位以及植物抗病基因与相关基因的关系等诸多问题也有待进一步研究。

(四) 非生物因子诱导的植物免疫抗性及其机理

非生物诱导因子包括物理诱导和化学诱导。物理诱导中包括机械损伤、紫外光、加热和触摸等均能诱导植物产生抗性;化学诱导因子及其代谢产物在离体或活体条件下无直接杀菌活性,可通过调节植物-病原物间的互作而产生非亲和性互作。目前研究比较多的有水杨酸(SA)、二氯异烟酸(DCINA)及其酰胺(1NA)。水杨酸是植物系统获得抗性所必需的内源信号分子,在介导SAR的信号转导中起着十分重要的作用。水杨酸结合蛋白(SABP)与SA结合能抑制过氧化氢酶的活性,使植物细胞中过氧化氢水平升高,促使SAR的产生。水杨酸可诱导多种植物产生抗性,但由于外源使用水杨酸时,在植物体内迅速转化成以 β -葡萄糖基存在的形式,因此不能被植物有效利用。二氯异烟酸及其酰胺在离体条件下有微弱抗菌活性,在田间和温室条件下均能起到保护黄瓜、水稻等作物抗真菌和细菌性病害的作用。Kogel(1994)用二氯异烟酸处理大麦感病品种,诱导了对*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*的系统抗性,并发现系统获得抗性的表达与PR蛋白、POD、几丁酶的积累存在相关性。此外,1996年新发现的苯并噻重氮(benzothiadiazol, BTH)具有诱导剂的功能,其结构与水杨酸和酰胺有相似之处,可诱导许多植物的广谱系统获得抗性,目前已商品化生产,商品名为BION,在大田试验中取得良好的诱导效果(Hammerschmidt et al., 2001; Oostendorp et al., 2001)。研究发现使用BTH后,植物中的过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶等均受到影响。此外,同一种诱导剂对不同植物的作用机理也不尽相同,诱导植物免疫的抗性机理涉及非常复杂的网络传导过程中多种相关酶和相关物质的变化,随着研究的不断深入,人们对机理的解释和对激发子的认识会越来越明确。

三、植物免疫的系统获得抗性

诱导子或激发子和活体微生物均能引起植物的系统获得抗性(SAR)或诱导系统抗性(ISR),使植物形成对病原菌和逆境因子的抗性反应。植物系统获得抗性是植物受到病原菌侵染后所激发的一种防卫反应,它是通过植物抗病基因(R)与病原微生物的无毒基因(*avr*)相互识别和相互作用来实现的。SAR是一种植物主动防御机制,从发生过敏反应到植物系统获得抗性的产生,需要一系列信号的转导,SAR信号途径也可由模拟自然信号的化学物质激活,这些激活剂的应用是发展绿色农药的新思路。

系统获得抗性在模式植物烟草中研究的较多,烟草茎部注射烟草霜霉菌

(*peronospora? tabacina*) 孢囊孢子, 同时叶片接种烟草花叶病毒, 可诱导烟草对病毒病的系统抗性。研究发现, 这种抗性可通过注射过霜霉病菌的烟草叶片经组织培养传到新植株, 但所结的种子以及由这种植株经组织培养所获植株的种子中没有这种抗性 (Kuc, 1982)。Ajlan 和 Potter (1992) 报道, 烟草花叶病毒诱导的烟草系统获得抗性对病原真菌、细菌和病毒均产生广谱抗性。Anfoka 和 Buchenauer (1997) 用烟草坏死病毒预接种番茄和马铃薯, 诱导了对 CMV 株系 Y 的系统抗性, 从而延缓了病情发展, 降低了病情指数。研究诱导系统获得抗性的生化机理发现, 过氧化物酶 (POD) 活性明显增强, 并且与诱导抗性呈正相关。

我国在植物系统获得抗性的研究中也取得了一些成绩。朱明华 (1990) 用 *Colletotrichum lagenarium* 或 *Pseudomonas lachrymans* 诱导黄瓜产生抗性, 并且发现处理后的第二片真叶上的 6-磷酸脱氢酶 (G6PD)、PAL 酶、4-肉桂酸羧化酶 (4CL) 和 POD 酶活性升高, 木质素含量提高 2 倍。用黄瓜炭疽病的弱毒系诱导黄瓜获得对该病菌和黄瓜霜霉菌的系统抗性 (张元恩, 1987)。烟草花叶病毒可诱导心叶烟、三生烟、珊西烟和曼陀罗对烟草花叶病毒、烟草环斑病毒和 PVX 产生非特异性和广谱抗性 (安德荣, 1993)。

系统获得抗性 (SAR) 潜在的开发领域是对转基因作物响应的整体控制, SAR 过程会诱发产生防御蛋白, 如 PR 蛋白, 这类蛋白在抗病性转基因作物中早已有了基本表达。在拟南芥中已鉴别出几种具有 SAR 基本表达的突变体, 表明这种表型会自然产生, 但这种 SAR 基本表达对田间作物的影响尚不清楚。无论 SAR 在作物保护中是否具有直接的实用性, 但了解 SAR 现象, 特别是与其他植物防御响应之间的关系, 对开发提高作物对病虫害抗性的基因策略是有价值的。

四、植物免疫与农业可持续发展

植物在为自然界提供巨大的物质财富、为人类及动物提供赖以生存的食物资源的同时, 也饱受病原微生物及自然界各种灾害的侵袭, 尽管植物在长期的进化过程中, 在大自然和各种病虫害的选择压力下, 形成了形式多样的防御系统, 但是这种自然免疫及诱导抗性对植物的保护还不能保障日益增长的人口和牲畜对粮食资源的需要, 为了提高作物产量, 人们在农事操作、提高农作物产量和防治植物病害的生产过程中, 通过使用化肥和化学农药保证了一段时期的生活需要, 但长期大量使用化学农药造成的环境污染已经直接危害到人类的健康, 成为全球普遍关注的问题。同时随着人类生活水平的提高, 农业产业结构已由追求产量调整为开发精品农业。在农业生产中, 减少或放弃使用化肥和化学农药, 发展“有机农业”和“绿色食品”是人类共同愿望和努力方向。