

病原菌保守性特征分子及其介导的植物抗病性

戴景程^{1,2} 黄建国¹ 王春连^{2,3} 赵开军^{2,3*}

(1. 西南大学 资源环境学院 重庆 400716)

(2. 中国农业科学院作物科学研究所 农业部作物遗传育种重点实验室 北京 100081)

(3. 农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程 北京 100081)

摘要: 每种病原菌都有一些保守的特征性分子, 也称病原菌相关分子模式(PAMPs)。植物细胞表面的模式识别受体 PRRs 通过识别病原菌的 PAMPs 而激发免疫反应(PTI)。目前, 已发现多种 PRRs/PAMPs 的识别模式, 如拟南芥 FLS2 识别细菌鞭毛蛋白、拟南芥 EFR 识别细菌延长因子 Tu (EF-Tu)、水稻 CEBiP/CERK1 识别真菌几丁质、水稻抗病蛋白 XA21 识别白叶枯病菌的硫化蛋白 Ax21 等。这些识别模式都能激发植物的基础免疫反应以抵抗病原菌的侵染。但是病原菌为了成功侵染寄主植物, 也进化出一些致病机制, 例如向植物细胞中注入毒性效应蛋白阻断 PTI 途径, 或者产生一种“自我伪装”机制以逃避 PRRs 的识别。因此, 研究者们根据 PAMPs 的结构特性对 PRRs 重新改造, 以期使植物获得持久、广谱和高效的抗性。综述目前已知的 PAMPs 分子类型、PRRs/PAMPs 的识别机制及改造后的新型 PRRs, 并分析 PTI 研究中存在的问题及其发展前景。

关键词: PAMP, PRR, 植物免疫反应, 硫化作用, PTI

Pathogen conservation molecules and PAMP-triggered innate immunity in plants

DAI Jing-Cheng^{1,2} HUANG Jian-Guo¹ WANG Chun-Lian^{2,3}
ZHAO Kai-Jun^{2,3*}

(1. College of Natural Resource and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China)

(2. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences Key Laboratory of Crop Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China)

(3. National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081, China)

基金项目: 转基因生物新品种培育科技重大专项资助项目(No. 2011ZX08001-002)

*通讯作者: Tel: 86-10-82105852; E-mail: zhaokj@mail.caas.net.cn

收稿日期: 2011-11-28; 接受日期: 2012-02-03

Abstract: Pathogen associated molecular patterns (PAMPs) recognized by host cell surface localized pattern-recognition receptors (PRRs) are pathogen conservation molecules. So far, a few pairs of characterized PRR/PAMP in plants provided useful models to study the specificity of ligand-binding and likely activation mechanisms. For example, recognition models of FLS2-flagellin, EFR-Tu (EF-Tu), CEBiP/CERK1-chitin and XA21-Ax21 have been extensively studied. The perception between PRR and PAMP triggers immune response (PTI) to resist pathogens. However, to successfully grow and proliferate on their hosts, virulent pathogens had to override the PTI, for which, these pathogens evolved a variety of strategies, such as injecting effector proteins into the plant cell or sequestering their PAMPs. Based on the knowledge on the interaction of PRR-PAMP, researchers are trying to engineer PRRs (chimeras of PRRs) to develop new strategies in molecular breeding for achieving durability and a broad-spectrum disease resistance. We reviewed the recent findings about recognitions of PRRs-PAMPs, the engineered PRRs, and discussed the future prospects and several issues in researches on PTI.

Keywords: PAMP, PRR, Plant innate immunity, Sulfation, PTI

1 植物免疫与病原菌 PAMPs

植物生长在充满病原菌的环境中, 随时面临病原菌的侵袭。但植物既不像哺乳动物那样可以主动躲避, 也没有可移动的防卫细胞和获得性免疫系统, 因此植物对病原菌的抵御常依赖自身的先天性免疫^[1]。每种病原菌都有一些保守的特征性分子, 也称病原菌相关分子模式(Pathogen-associated molecular pattern, PAMP)。植物先天免疫系统通过侦测病原菌相关分子模式(PAMP)而被激活, 使植物表现抗性^[2]。目前已知, 植物被诱导的抗病性主要包括两个层次: 一是植物细胞表面分子模式识别受体(Pattern recognition receptor, PRRs)识别病原菌的 PAMPs 而激发的 PTI (PAMP-triggered immunity)抗性。二是病原菌注入植物细胞的效应子激发的“基因对基因”抗性 ETI (Effector-triggered immunity)。ETI 被认为是一种扩大了了的 PTI 反应, 它是为了抑制病原菌的侵入而形成的一种程序化细胞死亡, 一般呈现出过敏反应(Hypersensitive response, HR)。PTI 抗性可以抑制大范围的病原菌感染, 但 ETI 抗性通常只发生在特定寄主基因型与病原菌小种之间^[3]。

PAMPs 也称保守的抗原决定簇, 是一类病原菌赖以生存的基础分子, 广泛分布于不同种类的微生物中。近年已相继鉴定出多种 PAMPs 及其与 PRRs 的识别机制, 例如鞭毛蛋白(Flagellin)与鞭毛蛋白感受体 2 (Flagellin-sensing 2, FLS2)^[4]、细菌伸长因子 EF-Tu (Elongation factor Tu)与其受体 EFR^[5-6]、几丁质 (Chitin) 与其受体 CEBiP/CERK1^[7-8]和 Ax21 蛋白与其受体 XA21 蛋白^[9]的识别机制等(图 1)。但是目前还有多种 PAMPs 的受体不清楚, 如细菌细胞壁肽聚糖^[10]、革兰氏阴性菌脂寡糖(Lipooligosaccharide)^[11]、RNP-1 保守结构域的冷激蛋白^[12]等; 卵菌的钙离子依赖性细胞壁转谷氨酰胺酶残基 pep13^[13]、线性 β 葡聚糖^[14]等; 真菌的麦角固醇^[15]和木聚糖酶^[16]等; 还有一些核酸结构, 如双链 RNA^[17]、微生物的非甲基化 DNA 等。另外一些类似于 PAMPs 的信号分子 DAMPs 也可激发植物的免疫反应, 如植物细胞壁的组成成分寡聚半乳糖醛酸(Oligogalacturonides, OGs)等^[18]。本文在 Postel 文章^[2]的基础上将目前已知的植物识别的 PAMPs/DAMPs 分子及其相关信息整理成表 1。

表 1 植物识别的 PAMPs/DAMPs 分子

Table 1 Recognition of pathogen/danger-associated molecular patterns(PAMPs/DAMPs) in plants

激发子 Elicitors	最小基序 Minimal motif	来源 Origin	受体植物 Plant with receptor
病原菌相关分子模式 PAMPs			
Flagellin	flg22	Gram-negative bacteria	Tomato, <i>Arabidopsis thaliana</i>
Elongation factor (EF-Tu)	elf18	Gram-negative bacteria	<i>Arabidopsis thaliana</i> , other <i>Brassicaceae</i>
Harpin (Hrp Z)	Undefined	Gram-negative bacteria (<i>Pseudomonads</i> , <i>Erwinia</i>)	Cucumber, tobacco, tomato, <i>Arabidopsis thaliana</i>
Lipopolysaccharide	Lipid A lipooligosaccharides	Gram-negative bacteria (<i>Xanthomonads</i> , <i>Pseudomonads</i>)	Pepper, tobacco
Ax21	axY ^S 22	Gram-negative bacteria (All <i>Xanthomonas</i> spp.)	Tomato, <i>Arabidopsis thaliana</i> rice, Pepper, soybean
Peptidoglycan	Muropeptides	Gram-positive bacteria	<i>Arabidopsis thaliana</i> , tobacco
Cold shock protein	RNP-1 motif	Gram-negative bacteria, gram-positive bacteria	<i>Solanaceae</i>
Chitin	Chitin oligosaccharides (degree of polymerisation >3)	All fungi	Tomato, <i>Arabidopsis thaliana</i> , rice, wheat, barley
Xylanase	TKLGE pentapeptide	Fungi (<i>Trichoderma</i> spp.)	Tobacco, tomato
β-Glucans	Tetraglucosyl glucitol, branched hepta-β-glucoside, linear oligo-β-glucosides	Fungi (<i>Pyricularia oryzae</i>), oomycetes (<i>Phytophthora</i> spp.), brown algae	Tobacco, rice, <i>Fabaceae</i>
Cerebrosides A, C	Sphingoid base	Fungi (<i>Magnaporthe</i> spp.)	Rice
Ergosterol		All fungi	Tomato
Transglutaminase	Pep-13 motif	Oomycetes (<i>Phytophthora</i> spp.)	Parsley, potato, grapevine, tobacco, <i>Nicotiana benthamiana</i>
Cellulose-binding elicitor lectin (CBEL)	Conserved cellulose binding domain	Oomycetes (<i>Phytophthora</i> spp.)	Tobacco, <i>Arabidopsis thaliana</i>
Lipid-transfer proteins (elicitins)	Undefined	Oomycetes (<i>Phytophthora</i> spp., <i>Pythium</i> spp.)	Tobacco, turnip, <i>Raphanus sativus</i>
Necrosis-inducing proteins (NLP)	Undefined	Bacteria (<i>Bacillus</i> spp.), fungi (<i>Fusarium</i> spp.), oomycetes (<i>Phytophthora</i> spp., <i>Pythium</i> spp.)	Dicotyledonous plants
Siderophores	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Undefined	Tobacco
Invertase	N-mannosylated peptide	Yeast	Tomato
Sulfated fucans	Fucan oligosaccharide	Brown algae	Tobacco
Rhamnolipids	Mono-/dirhamnolipids	<i>Pseudomonas</i> species	Grapevine
Cyclic lipopeptides		<i>Bacillus</i> species	tobacco
伤害相关的分子模式 DAMPs			
Oligouronides	Oligomers	Plant cell wall pectins	Tobacco, <i>Arabidopsis thaliana</i>
Cellodextrins	Oligomers	Plant cell wall cellulose	Grapevine
Cutin monomers	Dodecan-1-ol	Plant cuticle	Cucumber, tomato, apple
systemin	18-amino-acid peptide	Plant cytoplasm	tomato
AtPep1	The 23-amino-acid peptide	Plant leaves	<i>Arabidopsis thaliana</i>

2 植物识别 PAMPs 的模式

植物 PRRs 对病原菌 PAMPs 的识别区域具有不同的结构,如富含亮氨酸的重复结构域(LRRs)、LysM 结构域、表皮生长因子(EGF)样结构域等^[19-20]。具有 LRRs 结构域的 PRRs 家族成员最多,在拟南芥中有 220 多个^[20],他们的 LRR 重复数也有变化,例如 FLS2 有 28 个 LRR 重复,识别鞭毛蛋白的多肽 flg22;XA21 有 23 个 LRR 重复,识别 Ax21 的 17 个含有酪氨酸硫化位点的区段 axY^S22;EFR 有 21 个 LRR 重复,识别细菌延长因子 Tu (EF-Tu)的 N 端 18 个残基的寡肽 elf18^[21-22]。而识别真菌几丁质的 PRRs 如 CEBiP、CERK1 等具有 LysM 结构域,细胞壁相关激酶(Wall-Associated Kinases, WAKs)具有 EGF 样结构域^[23]。

2.1 鞭毛蛋白(Flagellin)与其受体 FLS2 的识别

很多细菌依靠鞭毛运动,而鞭毛的主要成分是鞭毛蛋白。大多数植物都可通过其细胞表面的 PRRs 识别 Flagellin^[21]。Gómez 等在 1999 年发现从丁香假单胞菌 *Pseudomonas syringae* 中提取的 Flagellin 可刺激番茄、烟草、马铃薯、拟南芥等植物的悬浮细胞发生碱化作用,并表现出活性氧(ROS)的产生、促分裂素原活化蛋白激酶(MAPKs)的激活、细胞壁中胍胍质的沉积和一些抗性相关基因的表达^[24]。2000 年,科学家们发现植物中的 PRR 分子——FLS2,可直接识别微生物的 Flagellin。FLS2 是一个信号多肽,其 N 末端包含 28 个 LRR 重复,后接一个跨膜结构域和一个胞内 Ser/Thr 激活域^[4]。2001 年,又在动物中发现可识别 Flagellin 的模式识别受体 TLR5^[25],其结构与 FLS2 相似,表明动植物具有同源的 PRRs 来侦测病原菌的保守性特征分子^[17]。随后的研究发现拟南芥 PRRs 识别的位点是 Flagellin 保守的结构域,即鞭毛蛋白 N 端 22 个氨基酸的保守区

域(fl22)^[26]。比 flg22 稍短一些的寡肽 flg15 不能引起拟南芥的抗性反应,却能激发番茄的免疫反应^[27],表明不同植物特异性识别 PAMP 的位点在物种进化过程中发生了些微变化。2007 年在拟南芥中又发现一种共受体 BAK1 (BRI1-associated receptor kinase 1)能与 FLS2 共同介导植物的免疫反应^[28](图 1)。Jaillais 在 2011 年证实 BAK1 的 LRR3 上天冬氨酸 Asp 是其与 FLS2 结合的关键位点^[29],因此 BAK1 与 FLS2 形成的稳固结构可以作为一种“双锁模式”去解释 PAMPs 所介导的受体与共受体相互作用的分子机制^[30]。最近研究发现病原菌的效应蛋白 AvrPto 只能与 FLS2 结合,并截断 FLS2 与下游 BAK1 的信息交流,阻止 PAMP 引起的免疫反应^[31]。在拟南芥中还有两个和 BAK1 相关的泛素连接酶 PUB12 和 PUB13,当拟南芥感受到 Flagellin 的刺激后,会泛素化 FLS2 然后将其降解,从而降低免疫反应^[32]。虽然一些单子叶植物不能识别 flg22,但水稻细胞表面受体 OsFLS2 能够识别 Flagellin,并激活 OsFLS2 受体激酶下游的抗病信号途径^[33]。水稻 OsFLS2 介导的抗性反应容易受到来自燕麦假单胞菌 *Pseudomonas avenae*^[34]或燕麦食酸菌 *Acidovorax avenae*^[35]的 Flagellin 的诱导,表现出 H₂O₂ 的产生、强烈的 HR 及 PR (Pathogenic related)基因的表达等。这些结果说明在水稻中 OsFLS2 识别 flagellin 所引起的免疫反应与在拟南芥中 FLS2 介导的免疫反应相似^[36],但是 *P. avenae* 和 *A. avenae* 的 Flagellin 能否直接被 OsFLS2 识别却还未知。虽然一些实验已经证明 FLS2 与 flg22 特异性识别,但是 FLS2 上的识别位点至今未明。尽管如此,拟南芥中 AtFLS2 的 LRR9 和 LRR15 之间区域的缺失突变体却无法识别 flg22^[37],证明 LRR9 和 LRR15 之间的区域至关重要。最近 Ronald 实验室证明拟南芥的 FLS2 不仅识别 flg22,也可识别水稻白叶枯病菌分泌的硫化蛋白 Ax21,引起

一系列的抗病反应^[38]。我们推测 FLS2 上 LRR 重复区域的随机组合可能会识别很多不同的 PAMPs 分子。

2.2 细菌延伸因子 EF-Tu 与植物受体 EFR 的识别

细菌延伸因子 Tu (EF-Tu) 是一种高丰度蛋白, 在蛋白质合成过程中起延伸作用。研究发现 EF-Tu 是病原菌的 PAMP 分子, 能够被植物识别^[6]。EF-Tu 是细菌中保守的蛋白质之一, 它和 flg22 有很多相似性, 其 N 端乙酰化的 18 个氨基酸(elf18)是其作为 PAMP 分子被植物识别的关键位点, 人工合成的 elf18 就能诱导拟南芥的抗性反应^[5]。EF-Tu 虽然存在于病原菌细胞内, 但能在病原菌定植于植物细胞表面时被释放出来, 且极其微量的存在就能被植物细胞识别。用 T-DNA 对拟南芥进行插入突变, 发现 *efr* 缺失突变体对 elf18 反应不敏感, 因此证明 EFR 识别 elf18。EFR 和 FLS2 同属于富含亮氨酸受体激酶 LRR-RLKs 的 XII 家族成员, 并且与 FLS2 调节的抗性反应很相似^[6]。但这两个受体却有不同的进化历程, 例如 Flagellin 能够引起很多高等植物的抗性反应, 并在拟南芥、番茄、本明烟、水稻中都发现了 FLS2 的同源基因^[39], 而 EF-Tu 和 elf18 只能激发拟南芥和其他一些十字花科植物的抗性反应^[9]。因此从进化角度推测, 大约 1 亿 2 千万年前, 茄科植物和十字花科植物发生分离之后, elf18 的识别机制才进化形成^[40]。有趣的是, 将 *AtEFR* 转入本明烟中进行瞬时表达时, 发现本明烟能够识别 elf18 并产生免疫反应, 说明在茄科植物和十字花科植物中, 其下游信号途径是很保守的。由于拟南芥的 EFR 缺失突变体更容易被农杆菌介导转化, 说明植物的转化机制也受到植物抗性反应的限制^[6]。已知 BAK1 不仅是植物激素油菜素内酯受体(BRI1)的共受体, 也是 EFR 和 FLS2 的共受体(图 1), 因此 BAK1 不仅调控植物的生长发育, 也

介导植物的抗病反应, 而最近的研究发现油菜素内酯 BR 能够调节 elf18 和 flg22 介导的免疫反应^[41-42]。

2.3 真菌几丁质与植物受体 CEBiP/CERK1 的识别

几丁质(Chitin)是一种由多个乙酰氨基葡萄糖形成的多糖, 是真菌细胞壁的主要成分, 能引起植物产生抗性反应^[43]。Chitin 诱导水稻产生的抗性反应是和其他植物相似的, 如 MAPKs (Mitogen-activated protein kinases)的激活, 活性氧的产生, 致病性相关(PR)基因的表达, 植物抗毒素的合成及磷酸酯的累积等^[44]。Kaku 等通过生物化学方法从水稻中分离到能够识别 Chitin 的 CEBiP 跨膜糖蛋白, 其含有膜外的两个 LysM 结构域, 却没有细胞内的激酶结构域^[7], 但 RNAi 试验证明, CEBiP 表达的降低会减弱 Chitin 引起的抗性反应^[45], 表明可能存在其他的结构域启动识别后的抗病信号途径。拟南芥的 CERK1 含有 3 个 LysM 结构域, 胞内含有 Ser/Thr 激酶域^[8], 体外试验证明 CERK1 可以直接结合 Chitin^[46]。目前已知 CERK1 的同源物也存在于水稻中, 且对 Chitin 介导的信号传导起着重要作用。酵母双杂试验证明, CEBiP 和 OsCERK1 形成异源二聚体, 在水稻细胞表面共同识别 Chitin, 并作出相应的抗性反应^[47](图 1)。另外, CERK1 在 *P. syringae* 引起的拟南芥抗病反应中起着重要的作用, 说明病原细菌 *P. syringae* 存在一个被 CERK1 识别的未知的 PAMP 分子^[48]。随后在番茄中发现了和拟南芥 CERK1 具有相似结构的 LysM 受体蛋白 Bti9/SILyk13, 同样能够识别 *P. syringae* 中一些未知的 PAMP 分子, 激发番茄的免疫反应^[49]。有趣的是, de Jonge 等研究发现病原真菌叶霉菌(*Cladosporium fulvum*)会分泌一种和 CEBiP 的 LysM 域结构相似的效应蛋白 Ecp6 (Extracellular protein 6), 通过与植物细胞表面的 CEBiP 竞争,

特异性地结合病原真菌的 Chitin, 即采取伪装 PAMP 的方式逃避 Chitin 激发的 PTI 反应^[50-51]。

2.4 细菌硫化的 Ax21 蛋白与水稻 XA21 受体的识别

Song 等从长药野生稻(*Oryza longistaminata*) 中发现水稻抗白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*)基因 *Xa21* 编码一种跨膜的蛋白激酶 XA21, 其膜外含有 LRRs 结构域, 膜内含有 Ser/Thr 激酶域^[22], 可发生自我磷酸化^[52]。随后研究发现, *Xa21* 家族成员 *XA21D*, 编码一个缺少跨膜域(TM)和 Ser/Thr 域的一类受体蛋白, 却对 *Xoo* 具有部分抗性, 而 *Xa21* 胞内激酶域缺失的突变体仍然具有对 *Xoo* 的抗性, 说明可能存在与

XA21 互作的共受体或胞内蛋白, 从而激发下游的抗性反应^[53]。后来在果蝇^[54]、人类^[55]、小鼠^[56]和拟南芥^[4-6]中相继发现了和 XA21 具有相似结构的蛋白。先前的研究一直认为水稻中的 *Xa21* 和 *Xoo* 中的 *Ax21* (*AvrXa21*)符合“基因对基因”假说, 即宿主编码的抗性基因(R 基因)产物识别病原菌的无毒基因(avr 基因)产物, 两者的互作引发一个快速的防卫反应^[57]。直到 2009 年, Lee 等发现具有活性的 *Ax21* 并不是由一个基因控制的^[9], 在 *Xoo* 将 *Ax21* 分泌到细胞外的过程中, 有一连串基因起着调控和修饰作用(图 1): 3 个与硫化相关的基因 *RaxP*、*RaxQ*^[58]和 *RaxST*^[59]分别编码 ATP 硫化酶、APS (腺苷酰硫酸)激酶和类硫

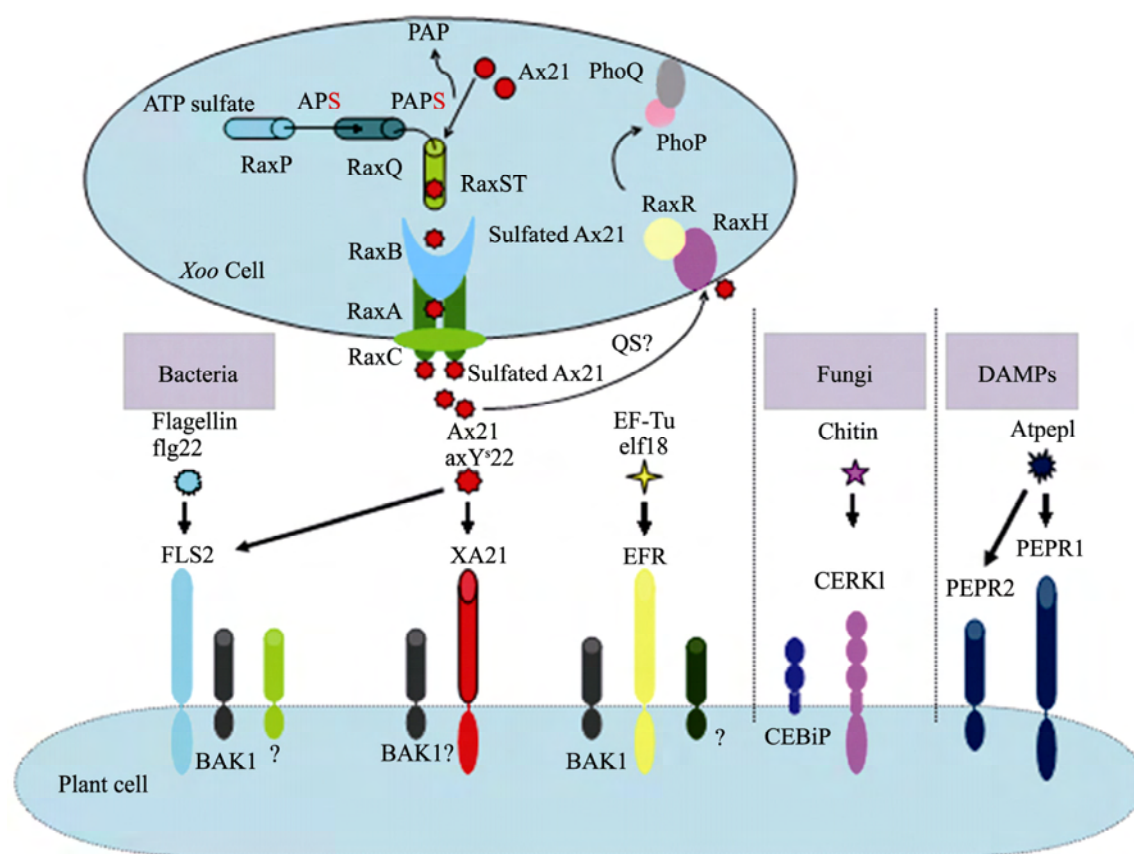


图 1 植物模式识别受体 PRRs 识别病原菌的模式图及其 Ax21 的分泌模型

Fig. 1 plant PRRs involved in recognition of pathogens and Model for Ax21-mediated secretion

注: ? : 植物中可能存在的共受体。

Note: ? : The other coreceptor not verified in plants.

酸转移酶, 共同将硫酸基团呈递给 Ax21, 因为 Ax21 的活性依赖于硫化作用; 3 个属于 I 型分泌系统(TOSS)的基因 *RaxA*、*RaxB* 和 *RaxC* 主要负责将硫化的 Ax21 由胞质分泌到细胞表面或胞外^[59]; 另外两个属于双组分调控系统(TCS)的基因 *RaxH* 和 *RaxR*, 不仅在 Ax21 介导的菌群效应(Quorum sensing, QS)中起调节作用^[60], 还控制 PhoP/Q 双组分调控系统, PhoP/Q 系统不仅是 Ax21 活性所必须的, 也通过调节 *hrpG* 基因表达来控制毒性因子^[61]。

Ax21 是由 194 个氨基酸组成的蛋白质, 其 N 端 17 个包含有酪氨酸硫化位点的区段 (axY^S22) 是活性存在的主要部分^[9]。此硫化位点的突变体不能激发 *Xa21* 介导的抗病反应, 说明 Ax21 必须在 *Xoo* 细胞内经受硫化的修饰才能成为一个具有活性的 PAMP 分子被 XA21 识别。免疫共沉淀试验证明 XA21 通过与 axY^S22 相互识别并结合。axY^S22 在大部分的黄单胞杆菌属中具有 100% 的保守性, 而在难养木栓菌(*Xylella fastidiosa*)和嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)中分别有 77% 和 65% 的同源性^[9], 这可解释含 *Xa21* 水稻对 *Xoo* 的广谱抗性。最近发现, Ax21 可以作为一种信号物质调节 *Stenotrophomonas maltophilia* 的毒性, 而 Ax21 作为一种 QS 分子, 其活性却与其是否硫化无关^[62]。目前已发现 Ax21 广泛存在于动植物致病菌中, 包括已经测序的黄单胞杆菌, 如水稻的致病性细菌 PXO99、KACC10331、MAFF311018 和 BLS256 (细菌性条斑病菌); 柑橘类植物病菌(*X. axonopodis* pv. *citri* 306); 番茄的致病性细菌; 胡椒的致病性细菌(*X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Xav*); 大豆的致病性细菌(*X. axonopodis* pv. *Glycines 8ra*, *Xag*); 芸苔类植物性致病细菌和拟南芥致病性细菌 [*X. campestris* pv. *campestris* 33919 (*Xcc* 33919)、8004 (*Xcc* 8004)、B100 (*Xcc* B100)]; *Xylella fas-*

tidiosa (容易引起葡萄尔皮斯病); 人类的致病性病原菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)等^[9,63]。因此有关 XA21 与 Ax21 的识别细节的研究对深入认识和控制植物甚至人类细菌性疾病具有重要意义。

2.5 其他类型 PAMPs 的识别

植物细胞壁作为一个结构性屏障可以抵御外界的伤害, 但是容易受到病原菌分解酶的破坏或外界机械性损伤。植物接收到损伤信号后, 能够产生内源性激发子或 DAMPs (Damage-associated molecular patterns) 分子。DAMPs 存在于植物细胞的质外体中, 能够激发植物的免疫反应。番茄系统素(Systemin)是典型的 DAMP 分子, 它是一个 18 氨基酸的寡肽, 可以诱导番茄产生和机械损伤相同的抗性反应^[64]。拟南芥也有一个 23 氨基酸的 DAMP 分子, 即 AtPep1, 能够引起拟南芥细胞的抗性反应^[65]。最近已在拟南芥中找到两个可以识别 AtPep1 的 PRRs 分子, PEPR1 和 PEPR2^[66-67] (图 1)。此外, 大多数病原菌都可以产生细胞壁降解酶(Cell wall-degrading enzymes, CWDEs), 将细胞壁的主要成分果胶质等分解成大小不一的寡聚半乳糖醛酸苷(Oligogalacturonides, OGs), 如透明质酸等, 这些大小不一的 DAMPs 分子可以激发植物的免疫反应^[68], 并且已发现透明质酸可引起动物细胞的炎症反应, 提高已损坏组织的修复能力^[69]。

其他一些 PAMPs 的识别机制似乎更为复杂, 目前对其细节尚不清楚, 如肽聚糖(PGNs), 其存在于革兰氏阳性和阴性细菌细胞壁中, 可被拟南芥识别。对革兰氏阳性菌 PGNs 的识别取决于其糖的骨架部分^[70]。而对革兰氏阴性菌的识别则取决于 PGNs 衍生的胞壁肽(Muropeptides)部分^[10]。类似地, 脂多糖(LPS)是革兰氏阴性菌外膜的组成部分, 可引起动物的败血症, 也可作为一种 PAMP 分子被单子叶和双子叶植物识别。脂多糖是由脂质 A、核心多糖和 O 抗原三部分组成, 而

脂质 A 的磷酸化和酰化可以影响其作为激发子的活性^[11]。Erbs 等已详细综述了近年来有关 PGNs 和 LPS 在植物抗病反应中的重要作用^[71]。另外,来自绿脓假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* 的鼠李糖脂(Rhamnolipids)也可作为 PAMP 分子被葡萄识别^[72]。还有一些环状的脂肽可激发烟草的抗性^[73]。Yakushiji 等在 2009 年发现细菌的非甲基化 CpG DNA 可作为 PAMP 被拟南芥识别^[74]。还有一些微生物的核酸可以作为 PAMP 被哺乳动物识别^[75]。类似的 PAMPs 分子还有很多,但其相应 PRRs 还未被鉴定出来,因此植物如何识别这些 PAMPs 分子尚不清楚。

3 PAMPs 在植物广谱抗性研发中的应用

农业生产已有 9 000 多年的历史,人们一直在与植物病虫害作斗争。目前,培育抗病品种和施用化学农药是作物病害防治最有效的手段。由于抗病品种选育周期长、抗性易于丧失,加之化学农药施用导致一些病原菌的抗药性,因此科学家们一直在寻找新的措施来提高植物的抗病性。

先前的研究发现,通过遗传育种和分子手段,使导入 *Xa21* 的水稻^[76]、转入 *EFR* 的烟草和番茄^[77]对特定病原菌具有强烈的广谱抗性。Brutus 等也发现 *WAK1*(Wall-Associated Kinase 1)的高表达会增加拟南芥对葡萄孢菌 *Botrytis cinerea* 的抗性^[78]。因此科学家构思一种可使植物具有持久、广谱、强烈抗性的人工嵌合式 PRRs。He 等报道将 *BRI1* 的胞外识别域和 *XA21* 的胞内激酶域结合,能够被油菜素内酯(Brassinosteroids)诱导产生强烈的 HR 反应^[79]。由于 *CEBiP* 只含有两个膜外的 LysM 域和一段 TM 域,并没有激酶域,因此为了增强植物抗病信号反应, Kishimoto 等设计出一种新型的 PRRs 装置 CRXA, 其含有可以识别几丁质的 *CEBiP* 的胞外

域、可以产生强烈 HR 反应的 *XA21* 的胞内激酶域,中间还有一个 *XA21* 或者 *CEBiP* 的跨膜域。这种融合蛋白的表达可引起水稻对稻瘟菌的强烈抗病反应^[80]。类似地, Albert 等将 *EFR* 的胞外结构与 *FLS2* 的胞内激酶域结构组成新的 PRR 分子 E-oJM, 可以识别 elf18, 引起植物下游的抗病反应^[81]。最近 Brutus 等将 *EFR* 胞外的 LRR 域和 *WAK1* 的胞内激酶域结合,也可产生 elf18 诱导的广谱抗性,同时证明将 *WAK1* 的胞外域与 *EFR* 的胞内激酶域结合,可以增强植株对腐生性病原菌 *B. cinerea* 和 *P. carotovorum* 的抗性^[78],从而推测病原菌 *B. cinerea* 和 *P. carotovorum* 参与植物细胞壁的分解和 Ogs (Oligogalacturonides)的产生。上述研究表明,根据不同病原菌的 PAMPs 进行植物 PRRs 的人工改造,可以使植物对不同病原菌产生广谱、高抗的特性^[82]。

4 问题及展望

植物的 PTI 和 ETI 是病原菌不同诱导物激发的,过去关于 ETI 的研究很多,而 PTI 的研究较少,但近年关于 PTI 的研究发展迅速。在实际生产中,利用作物垂直抗性(特异的 ETI)面临病原菌快速进化的问题,因此在加强对垂直抗性利用的同时,需要发展其它新的抗病策略。而水平抗性(非特异的 PTI)持续时间长且具有一定的广谱性,育种实践也证明其有效性^[3]。目前,科学家已分离克隆了几对 PAMPs 和相应的模式识别受体 (PRR)基因,但对于以下问题的研究仍然不足: (1) 不同病原中更多 PAMP 的分离; (2) 植物中相应受体蛋白和基因的分离; (3) PTI 信号通路元件的分离; (4) PTI 信号传导的机理; (5) PTI 信号通路与植物激素信号之间的关系; (6) PTI 在广谱抗病中的应用。通过正向遗传学和反向遗传学的手段将有助于分离克隆在 PTI 过程中发挥关键功能的基因。其中,以病原的效应蛋白作为分子探针

将是一个有效的研究途径^[45]。将来的研究需要获得具有水平抗性的抗源, 并且重点研究水平抗性的分子机理, 同时将基础研究和应用研究有机地结合起来。随着科学技术的发展, 人们可以使用荧光显微镜观察 PRRs 与 PAMPs 分子之间的相互作用^[83]。在医学上, 科学家已经将 PAMPs 分子的生物材料制作成新的疫苗, 激发生物的免疫反应^[84]。未来还需要加强多信号通路交叉干涉性的研究、优化多基因叠加转化技术、PRR 基因改造技术等抗病新策略与新方法。总之, 对病原菌保守性特征分子及其致病性的进化机理研究的不断深入, 不仅对认识自然, 而且对植物育种实践, 都将发挥重要的推动作用。

参 考 文 献

- [1] Ausubel FM. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved?[J]. *Nature Immunology*, 2005, 6(10): 973–979.
- [2] Postel S, Kemmerling B. Plant systems for recognition of pathogen-associated molecular patterns[J]. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 2009, 20(9): 1025–1031.
- [3] 赵开军, 李岩强, 王春连, 等. 植物天然免疫性研究进展及其对作物抗病育种的可能影响[J]. *作物学报*, 2011, 37(6): 935–942.
- [4] Gómez-Gómez L, Boller T. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Cell*, 2000, 5(6): 1003–1011.
- [5] Kunze G, Zipfel C, Robatzek S, et al. The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants[J]. *The Plant Cell*, 2004, 16(12): 3496–3507.
- [6] Zipfel C, Kunze G, Chinchilla D, et al. Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by the receptor EFR restricts *Agrobacterium*-mediated transformation[J]. *Cell*, 2006, 125(4): 749–760.
- [7] Kaku H, Nishizawa Y, Ishii-Minami N, et al. Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(29): 11086–11091.
- [8] Miya A, Albert P, Shinya T, et al. CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(49): 19613–19618.
- [9] Lee SW, Han SW, Sririyanum M, et al. A type I-secreted, sulfated peptide triggers XA21-mediated innate immunity[J]. *Science*, 2009, 326(5954): 850–853.
- [10] Erbs G, Silipo A, Aslam S, et al. Peptidoglycan and muropeptides from pathogens *Agrobacterium* and *Xanthomonas* elicit plant innate immunity: structure and activity[J]. *Chemistry and Biology*, 2008, 15(5): 438–448.
- [11] Silipo A, Sturiale L, Garozzo D, et al. The acylation and phosphorylation pattern of lipid A from *Xanthomonas campestris* strongly influence its ability to trigger the innate immune response in *Arabidopsis*[J]. *ChemBioChem*, 2008, 9(6): 896–904.
- [12] Felix G, Boller T. Molecular sensing of bacteria in plants. The highly conserved RNA-binding motif RNP-1 of bacterial cold shock proteins is recognized as an elicitor signal in tobacco[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(8): 6201–6218.
- [13] Brunner F, Rosahl S, Lee J, et al. Pep-13, a plant defense-inducing pathogen-associated pattern from *Phytophthora* transglutaminases[J]. *The EMBO Journal*, 2002, 21(24): 6681–6688.
- [14] Klarzynski O, Plesse B, Joubert JM, et al. Linear β -1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco[J]. *Plant Physiology*, 2000, 124(3): 1027–1038.
- [15] Granado J, Felix G, Boller T. Perception of fungal sterols in plants: subnanomolar concentrations of ergosterol elicit extracellular alkalization in tomato cells [J]. *Plant Physiology*, 1995, 107(2): 485–490.
- [16] Enkerli J, Felix G, Boller T. The enzymatic activity

- of fungal xylanase is not necessary for its elicitor activity[J]. *Plant Physiology*, 1999, 121(2): 391–398.
- [17] Ronald PC, Beutler B. Plant and animal sensors of conserved microbial signatures[J]. *Science*, 2010, 330(6007): 1061–1064.
- [18] Ferrari S, Galletti R, Denoux C, et al. Resistance to *Botrytis cinerea* induced in *Arabidopsis* by elicitors is independent of salicylic acid, ethylene, or jasmonate signaling but requires *PHYTOALEXIN DEFICIENT₃*[J]. *Plant Physiology*, 2007, 144(1): 367–379.
- [19] Shiu SH, Bleeker AB. Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(19): 10763–10768.
- [20] Gou XP, He K, Yang H, et al. Genome-wide cloning and sequence analysis of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase genes in *Arabidopsis thaliana*[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(1): 19.
- [21] Boller T, Felix G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors[J]. *The Annual Review of Plant Biology*, 2009, 60(1): 379–406.
- [22] Song WY, Wang GL, Chen LL, et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*[J]. *Science*, 1995, 270(5243): 1804–1806.
- [23] Verica JA, Chae L, Tong HY, et al. Tissue-specific and developmentally regulated expression of a cluster of tandemly arrayed cell wall-associated kinase-like genes in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(4): 1732–1746.
- [24] Gómez-Gómez L, Felix G, Boller T. A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Journal*, 1999, 18(3): 277–284.
- [25] Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5[J]. *Nature*, 2001, 410(6832): 1099–1103.
- [26] Naito K, Taguchi F, Suzuki T, et al. Amino acid sequence of bacterial microbe-associated molecular pattern flg22 is required for virulence[J]. *Molecular Plant Microbe Interacts*, 2008, 21(9): 1165–1174.
- [27] Robatzek S, Bittel P, Chinchilla D, et al. Molecular identification and characterization of the tomato flagellin receptor LeFLS2, an orthologue of *Arabidopsis* FLS2 exhibiting characteristically different perception specificities[J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 64(5): 539–547.
- [28] Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, et al. A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence[J]. *Nature*, 2007, 448(7152): 497–500.
- [29] Jaillais Y, Belkhadir Y, Balsemão-Pires E, et al. Extracellular leucine-rich repeats as a platform for receptor/coreceptor complex formation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(20): 8503–8507.
- [30] Li JM. Direct involvement of leucine-rich repeats in assembling ligand-triggered receptor-coreceptor complexes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(20): 8073–8074.
- [31] Xiang TT, Zong N, Zhang J, et al. BAK1 is not a target of the *Pseudomonas syringae* effector AvrPto[J]. *Molecular Plant Microbe Interacts*, 2011, 24(1): 100–107.
- [32] Lu DP, Lin WW, Gao XQ, et al. Direct ubiquitination of pattern recognition receptor FLS2 attenuates plant innate immunity[J]. *Science*, 2011, 332(6036): 1439–1442.
- [33] Takai R, Isogai A, Takayama S, et al. Analysis of flagellin perception mediated by flg22 receptor OsFLS2 in rice[J]. *Molecular Plant Microbe Interacts*, 2008, 21(12): 1635–1642.
- [34] Che FS, Nakajima Y, Tanaka N, et al. Flagellin from an incompatible strain of *Pseudomonas avenae* induces a resistance response in cultured rice cells[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(41): 32347–32356.
- [35] Tanaka N, Che FS, Watanabe N, et al. Flagellin from an incompatible strain of *Acidovorax avenae* mediates H₂O₂ generation accompanying

- hypersensitive cell death and expression of *PAL*, *Chit-1*, and *PBZ1*, but not of *Lox* in rice[J]. *Molecular Plant Microbe Interacts*, 2003, 16(5): 422–428.
- [36] Zipfel C, Robatzek S, Navarro L, et al. Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception[J]. *Nature*, 2004, 428(6984): 764–767.
- [37] Dunning FM, Sun WX, Jansen KL, et al. Identification and mutational analysis of *Arabidopsis* FLS2 leucine-rich repeat domain residues that contribute to flagellin perception[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(10): 3297–3313.
- [38] Danna CH, Millet YA, Koller T, et al. The *Arabidopsis* flagellin receptor FLS2 mediates the perception of *Xanthomonas* Ax21 secreted peptides[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(22): 9286–9291.
- [39] Zipfel C. Early molecular events in PAMP-triggered immunity[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(4): 414–420.
- [40] Cheng XD, Zhang DF, Cheng ZK, et al. A new family of Ty1-copia-like retrotransposons originated in the tomato genome by a recent horizontal transfer event[J]. *Genetics*, 2009, 181(4): 1183–1193.
- [41] Albrecht C, Boutrot F, Segonzac C, et al. Brassinosteroids inhibit pathogen-associated molecular pattern-triggered immune signaling independent of the receptor kinase BAK₁[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(1): 303–308.
- [42] Belkhadir Y, Jaillais Y, Eapple P, et al. Brassinosteroids modulate the efficiency of plant immune responses to microbe-associated molecular patterns[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, doi: 10.1073/pnas.1112840108.
- [43] Wan JR, Zhang XC, Neece D, et al. A LysM receptor-like kinase plays a critical role in chitin signaling and fungal resistance in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(2): 471–481.
- [44] Kishi-Kaboshi M, Okada K, Kurimoto L, et al. A rice fungal MAMP-responsive MAPK cascade regulates metabolic flow to antimicrobial metabolite synthesis[J]. *The Plant Journal*, 2010, 63(4): 599–612.
- [45] Zhang J, Zhou JM. Plant immunity triggered by microbial molecular signatures[J]. *Molecular Plant*, 2010, 3(5): 783–793.
- [46] Iizasa E, Mitsutomi M, Nagano Y. Direct binding of a plant LysM receptor-like kinase, LysM RLK1/CERK1, to chitin *in vitro*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(5): 2996–3004.
- [47] Shimizu T, Nakano T, Takamizawa D, et al. Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice[J]. *The Plant Journal*, 2010, 64(2): 204–214.
- [48] Gimenez-Ibanez S, Hann DR, Ntoukakis V, et al. AvrPtoB targets the LysM receptor kinase CERK1 to promote bacterial virulence on plants[J]. *Current Biology*, 2009, 19(5): 423–429.
- [49] Zeng LR, Velásquez AC, Munkvold KR, et al. A tomato LysM receptor-like kinase promotes immunity and its kinase activity is inhibited by AvrPtoB[J]. *The Plant Journal*, 2012, 69(1): 92–103.
- [50] de Jonge R, van Esse HP, Kombrink A, et al. Conserved fungal LysM effector Ecp6 prevents chitin-triggered immunity in plants[J]. *Science*, 2010, 329(5994): 953–955.
- [51] Kombrink A, Sánchez-Vallet A, Thomma BPHJ. The role of chitin detection in plant-pathogen interactions[J]. *Microbes and Infection*, 2011, 13(14/15): 1168–1176.
- [52] Chen XW, Chern MS, Canlas PE, et al. An ATPase promotes autophosphorylation of the pattern recognition receptor XA21 and inhibits XA21-mediated immunity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(17): 8029–8034.
- [53] Park CJ, Han SW, Chen XW, et al. Elucidation of XA21-mediated innate immunity[J]. *Cellular Microbiology*, 2010, 12(8): 1017–1025.
- [54] Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, et al. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults[J]. *Cell*, 1996, 86(6): 401–410.

- 973–983.
- [55] Kirschning CJ, Wesche H, Merrill Ayres T, et al. Human toll-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 1998, 188(11): 2091–2097.
- [56] Poltorak A, He XL, Smirnova I, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene[J]. *Science*, 1998, 282(5396): 2085–2088.
- [57] Flor HH. Current status of the gene-for-gene concept[J]. *Annual Reviews Phytopathology*, 1971, 9(1): 275–296.
- [58] Shen YW, Sharma P, Silva F, et al. The *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* *raxP* and *raxQ* genes encode an ATP sulphurylase and adenosine-5'-phosphosulphate kinase that are required for AvrXa21 avirulence activity[J]. *Molecular Microbiology*, 2002, 44(1): 37–48.
- [59] da Silva FG, Shen YW, Dardick C, et al. Bacterial genes involved in type I secretion and sulfation are required to elicit the rice *Xa21*-mediated innate immune response[J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 2004, 17(6): 593–601.
- [60] Lee SW, Han SW, Bartley LE, et al. Unique characteristics of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* AvrXa21 and implications for plant innate immunity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(49): 18395–18400.
- [61] Lee SW, Jeong KS, Han SW, et al. The *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PhoPQ two-component system is required for AvrXA21 activity, *hrpG* expression, and virulence[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(6): 2183–2197.
- [62] McCarthy Y, Dow JM, Ryan RP. The Ax21 protein is a cell-cell signal that regulates virulence in the nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(22): 6375–6378.
- [63] Han SW, Lee SW, Ronald PC. Secretion, modification, and regulation of Ax21[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(1): 62–67.
- [64] Schillmiller AL, Howe GA. Systemic signaling in the wound response[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(4): 369–377.
- [65] Huffaker A, Ryan CA. Endogenous peptide defense signals in *Arabidopsis* differentially amplify signaling for the innate immune response[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(25): 10732–10736.
- [66] Krol E, Mentzel T, Chinchilla D, et al. Perception of the *Arabidopsis* danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(18): 13471–13479.
- [67] Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan AC, et al. PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(2): 508–522.
- [68] Sanabria N, Goring D, Nürnberger T, et al. Self/nonself perception and recognition mechanisms in plants: a comparison of self-incompatibility and innate immunity[J]. *New Phytologist*, 2008, 178(3): 503–514.
- [69] Jiang DH, Liang JR, Noble PW. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases[J]. *Physiological Reviews*, 2011, 91(1): 221–264.
- [70] Gust AA, Biswas R, Lenz HD, et al. Bacteria-derived peptidoglycans constitute pathogen-associated molecular patterns triggering innate immunity in *Arabidopsis*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(44): 32338–32348.
- [71] Erbs G, Newman MA. The role of lipopolysaccharide and peptidoglycan, two glycosylated bacterial microbe-associated molecular patterns (MAMPs), in plant innate immunity[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(1): 95–104.
- [72] Varnier AL, Sanchez L, Vatsa P, et al. Bacterial rhamnolipids are novel MAMPs conferring resistance to *Botrytis cinerea* in grapevine[J]. *Plant Cell and Environment*, 2009, 32(2): 178–193.
- [73] Jourdan E, Henry G, Duby F, et al. Insights into the defense-related events occurring in plant cells

- following perception of surfactin-type lipopeptide from *Bacillus subtilis*[J]. *Molecular Plant Microbe Interacts*, 2009, 22(4): 456–468.
- [74] Yakushiji S, Ishiga Y, Inagaki Y, et al. Bacterial DNA activates immunity in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2009, 75(3): 227–234.
- [75] Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition[J]. *International Immunology*, 2009, 21(4): 317–337.
- [76] Wang GL, Song WY, Ruan DL, et al. The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates in transgenic plants[J]. *Molecular Plant Microbe Interacts*, 1996, 9(9): 850–855.
- [77] Lacombe S, Rougon-Cardoso A, Sherwood E, et al. Interfamily transfer of a plant pattern-recognition receptor confers broad-spectrum bacterial resistance[J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(4): 365–369.
- [78] Brutus A, Sicilia F, Macone A, et al. A domain swap approach reveals a role of the plant wall-associated kinase 1 (WAK1) as a receptor of oligogalacturonides[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(20): 9452–9457.
- [79] He ZH, Wang ZY, Li JM, et al. Perception of brassinosteroids by the extracellular domain of the receptor kinase BRI1[J]. *Science*, 2000, 288(5475): 2360–2363.
- [80] Kishimoto K, Kouzai Y, Kaku H, et al. Perception of the chitin oligosaccharides contributes to disease resistance to blast fungus *Magnaporthe oryzae* in rice[J]. *The Plant Journal*, 2010, 64(2): 343–354.
- [81] Albert M, Jehle AK, Mueller K, et al. *Arabidopsis thaliana* pattern recognition receptors for bacterial elongation factor Tu and flagellin can be combined to form functional chimeric receptors[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(25): 19035–19042.
- [82] De Lorenzo G, Brutus A, Savatin DV, et al. Engineering plant resistance by constructing chimeric receptors that recognize damage-associated molecular patterns (DAMPs)[J]. *FEBS Letters*, 2011, 585(11): 1521–1528.
- [83] Triantafilou K, Triantafilou M. Visualising PAMP-PRR interactions using nanoscale imaging[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2012, 799: 253–266.
- [84] Demento SL, Siefert AL, Bandyopadhyay A, et al. Pathogen-associated molecular patterns on biomaterials: a paradigm for engineering new vaccines[J]. *Trends in Biotechnology*, 2011, 29(6): 294–306.

论文中统计学符号书写规则

统计学符号一般用斜体。本刊常用统计学符号介绍如下, 希望作者参照执行。

样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} , 不用大写 X , 也不用 *Mean*。标准差用英文小写 s , 不用 *SD*。标准误用英文小写 $s_{\bar{x}}$, 不用 *SE*。 t 检验用英文小写 t 。 F 检验用英文大写 F 。卡方检验用希文小写 χ^2 。相关系数用英文小写 r 。样本数用英文小写 n 。概率用英文大写 P 。