植物激发子肽Peps的功能研究进展

荆彦平, 沈诺, 兰文智*

南京大学生命科学学院, 南京 210093

* 联系人, E-mail: lanw@nju.edu.cn

收稿日期: 2021-05-12; 接受日期: 2021-08-09; 网络版发表日期: 2021-10-08

中国博士后科学基金面上项目(批准号: 2020M673626XB)资助

摘要 植物危险相关分子模式(danger-associated molecular patterns, DAMPs)是一类植物体内合成并激活植物免疫的内源信号物质. 近些年发现的植物激发子肽(plant elicitor peptides, Peps)是属于DAMPs类的小肽化合物, 广泛分布于多种植物体内. Peps来源于前体蛋白(precursor of peptides, PROPEPs)C末端的剪切释放, 被细胞膜表面的受体类蛋白激酶(Pep receptors, PEPRs)识别后触发危险相关信号. 该信号提高植物抗病虫和损伤的能力, 也能调控植物耐盐性和影响植物生长发育等. 本文回顾总结了Peps从发现至今的研究进程, 包括Peps的形成、识别、信号转导及生物学功能等, 展望了未来研究亟需解决的科学问题及在农业生产上的应用.

关键词 植物免疫, DAMPs, Peps, PROPEPs, PEPRs

生物胁迫是导致农业生产减产和作物品质下降的重要原因之一. 植物体在受到自然环境中病原菌侵染、食草性动物嚼食或外界机械损伤时, 植物细胞通过先天免疫系统识别病虫生物体存在的保守结构基序或自身合成内源性分子并启动免疫防御反应以抵抗这些危害^[1,2]. 位于植物细胞质膜表面的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)可以识别病原微生物表面的或分泌到植物细胞间隙的特定化学组分(如细菌鞭毛蛋白、热不稳定延伸因子、葡聚糖、甘露聚糖、脂多糖和真菌几丁质等), 并激活下游模式诱导免疫反应(pattern-triggered immunity, PTI), 通常将这类化学组分统称为病原菌相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)^[1-8]. 在模式植物拟南芥中, 多个功能性PRRs为富含亮氨酸重复序列受体

类激酶(leucine-rich repeat receptor-like protein kinases, LRR-RLKs), 例如, Flagellin-sensitive 2(FLS2)可以识别细菌鞭毛蛋白多肽flagellin 22(flag22), EF-Tu receptor (EFR)识别热不稳定延伸因子多肽elf18等触发植物免疫反应^[6,7].

植物体自身存在的一些化学组分, 如植物细胞壁残片和细胞代谢合成的一些寡聚半乳糖醛酸、角质素、ATPase、氨基酸多肽等物质也可以被特定的PRRs识别并触发PTI, 通常将这些植物内源物质称为危险相关分子模式(danger-associated molecular pattern, DAMPs)^[7-9]. 研究发现, 在受到病原菌侵染或机械损伤诱导后, 植物体内会释放一类激发子小肽Peps, Peps可作为DAMPs信号分子, 介导危险相关肽信号, 激活植物的免疫防御反应以抵抗外界细菌、真菌以及草食性

引用格式: 荆彦平, 沈诺, 兰文智. 植物激发子肽Peps的功能研究进展. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 301-311

Jing Y P, Shen N, Lan W Z. Research progress on the function of plant elicitor peptides (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 301-311, doi: 10.1360/SSV-2021-0137

动物的危害^[9-15]。Peps小肽也参与调控植物生长、衰老和植物对高盐耐受性等^[16-21]。

Peps所激活的免疫反应作为植物免疫系统的一个重要分支,也是近些年研究的一项热点。本文聚焦Peps信号近些年的研究报道并展开综述,包括Peps的形成、识别、信号转导及生物学意义,并探讨该研究领域尚未解决的科学问题和未来的研究方向,以期为后续研究提供理论建议。

1 功能性Peps的形成

21世纪初期,研究者认识到植物先天免疫的激活主要是由植物细胞表面的免疫受体识别病原生物分子模式来完成^[1]。病原生物体内的多种短肽,如真菌多肽AVR9和elicitins,细菌多肽hrpZ, NPP1, flg22和elfl3等均可作为分子模式被植物细胞的PRRs识别^[22-26]。除了识别外源肽类分子,植物体也会合成小肽类分子被特定的PRRs识别。2006年, Huffaker等人^[9]从拟南芥叶片组织中纯化得到了一个短肽并将其命名为AtPep1。AtPep1由23个氨基酸促成,在植物体内浓度为亚纳摩尔级别,利用AtPep1处理植物发现能诱导植物悬浮细胞培养基碱化,促进植物防御基因*Plant Defensin 1.2* (*PDF1.2*)的表达和诱导植物体内活性氧物质过氧化氢的产生。通过分析AtPep1氨基酸序列,他们发现其与拟

南芥AtPROPEP1(*At5g64900*)蛋白C末端23个氨基酸序列完全一致,认为AtPep1由其前体蛋白PROPEP1释放形成^[9]。后续研究发现拟南芥基因组存在8个可编码AtPROPEPs蛋白的基因,依次命名为*AtPROPEP1~AtPROPEP8*^[27]。AtPROPEPs是一类由100个左右的氨基酸编码的小分子蛋白,其在序列上同源性较低,相似性在12%~47%之间^[14]。AtPROPEPs蛋白C端保守性较高,拥有稳定的SSG-x2-G-x2-N基序,该基序是成熟AtPeps的重要组成部分,主要负责成熟的AtPeps与其受体AtPEPRs结合并形成稳定的化学键(图1)^[28]。尽管PROPEPs蛋白保守性较低,但在多种被子植物中均有发现,其中包括一些重要的农作物如水稻、玉米、番茄和马铃薯等植物体内均有PROPEPs同源蛋白分布^[14]。PROPEPs在系统进化上表现出种属特异性,双子叶植物十字花科、茄科和豆科植物的PROPEPs蛋白按照科属聚类在一起,单子叶禾本科植物中PROPEPs单独聚类成一个集群(图2A)。

PROPEPs家族成员具有特异的植物组织表达和亚细胞定位模式。拟南芥中*AtPROPEPs*在根、茎、叶和花等组织的表达具有一定差异性^[18,27]。Bartels等人^[27]分析了拟南芥*AtPROPEPs*基因的组织定位,发现*AtPROPEP1/2/3/8*主要在根系中表达,地上部叶脉系统中也有表达,但表达比较弱,*AtPROPEP5*主要在花序中表达,*AtPROPEP4/7*在主根和侧根根尖部位表达。

图1 拟南芥AtPROPEPs蛋白和AtPeps氨基酸保守性分析。黑色下划线标记的是SSG-x2-G-x2-N基序的位置。红色方框所示为Peps序列

Figure 1 Analysis of amino acids conservation between AtPROPEPs and AtPeps in *Arabidopsis thaliana*. The black underscore indicates the location of the SSG-X2-G-X2-N motif. The red boxes show the AtPeps sequences

图 2 PROPEPs和PEPRs蛋白在不同物种内的进化分析. A: PROPEPs蛋白的进化分析; B: PEPRs蛋白的进化分析

Figure 2 Evolutionary analysis of PROPEPs and PEPRs in different species. A: The evolutionary analysis of PROPEPs; B: the evolutionary analysis of PEPRs

Jing等人^[18]发现*AtPROPEP1*在拟南芥地上和地下组织中都正常表达, 并且这种表达模式受Pep1的显著诱导. 在亚细胞水平上, *AtPROPEP1/6*定位在液泡膜, *AtPROPEP3*定位在细胞质中^[27]. 在正常生长条件下, *AtPROPEPs*的启动子并不活跃^[21]. 当植物受到机械损伤、病原菌侵染或利用防御相关激素处理时, *AtPROPEPs*的表达受到诱导, 但表现出一定的差异性. 如机

械损伤可诱导*AtPROPEP1/2/3/5/8*的表达, 丁香假单胞菌番茄致病菌株(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000, *Pst. DC3000*)、灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)、致病疫霉菌(*Phytophthora infestans*)或激发子多肽flg22, HrpZ和NPP1等均可诱导*AtPROPEP2/3*的显著表达, 而植物防御激素茉莉酸(jasmonic acid, JA)能诱导*AtPROPEP1/2/4*的表达, 水杨酸(salicylic acid,

SA)可诱导*AtPROPEPR2/3*上调表达等^[13,14,29,30]。*AtPROPEPs*基因本身能被相应的Peps诱导表达, 形成一个正反馈调节链, 如*AtPROPEP1*能被AtPep1显著诱导, 而*AtPROPEP2*和*AtPROPEP3*的表达均能被AtPep1/2/3/4/5/6诱导^[18,29]。

PROPEPs蛋白在C末端酶切释放Peps肽, 该酶切释放过程主要是由一类Ca²⁺依赖型半胱氨酸蛋白酶(metacaspases, MCs)所控制^[31,32]。拟南芥有9个基因编码MCs, 根据其结构域和生化特性将MCs分为I型和II型两类^[33]。I型包括MC1~MC3, 在其N端结构域中含有一个富含脯氨酸/谷氨酰胺的重复结构域和一个锌指基序。其中MC1和MC2参与调控植物过敏反应中程序性细胞死亡^[33]。II型包括MC4~MC9, 它们缺少N端前体结构域, 并且大多数蛋白酶的激活受胞内Ca²⁺的诱导, 并且最适pH为7.5^[33,34]。PROPEPs的切割主要由II型MCs催化完成, 其中MC4起主要作用^[31]。在拟南芥原生质体中共表达MC4~MC9有助于促进AtPep1的切割释放^[32]。*AtPROPEP1*缺少典型的跨膜结构域, 其N端结合在液泡膜并靠近胞质一侧。正常生长情况下, MC4和PROPEP1都处于不活跃状态。当植物受到机械损伤时, 损伤部位细胞膜完整性丧失导致细胞外Ca²⁺迅速进入胞质。细胞质Ca²⁺浓度上升激活MC4, 对*AtPROPEP1*进行切割并释放AtPep1^[31,32]。Hander等人^[31]研究表明, 无论在植物体内还是体外条件下, *AtPROPEP1*的R69位点都是MC4的首选切割位点。*AtPep1*从其前体被切割释放到胞质, 然后以未知的方式被转运或分泌到胞外, 最终与细胞膜上的特定受体结合激活植物下游信号。

2 Peps的识别

MAMPs和DAMPs均需要被特定的受体识别后执行生理功能。Peps的识别依赖于细胞膜上特异的蛋白受体PEPRs。Yamaguchi等人^[35,36]先后在拟南芥中鉴定了*AtPEPR1*和*AtPEPR2*两个特异性受体识别AtPeps。与FLS2类似, PEPRs属于LRR-RLKs家族成员, 其包含一个富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)的胞外结构域, 单跨膜结构域和胞内激酶结构域。与PROPEPs进化相似, PEPRs在不同物种中进化形成了特异家族簇(图2B), 家族簇中的序列相似性高达60%~90%。虽然PROPEP的总体保守性较低。但PEPRs的序

列总体保守性较高, 达到40%^[14]。

拟南芥中*AtPEPR1*和*AtPEPR2*在根和叶片中均有表达。这两个基因的转录调控基本相似, 都受机械损伤、外源激发子、JA以及AtPeps等的诱导^[27]。但也存在些许差异, 如AtPep1-AtPep6, flg22和elf18处理都能促使*AtPEPR1*转录水平提高, 而*AtPEPR2*只在AtPep1/2/4和elf18处理后表达量显著提高^[36], 说明两个基因的功能出现了分化。拟南芥*AtPEPR1*和*AtPEPR2*对AtPeps家族成员的识别能力不同: *AtPEPR1*可以识别8个AtPeps, 而*AtPEPR2*主要识别AtPep1和AtPep2^[27]。PEPRs对Peps的识别表现出组织特异性: 如AtPEPRs在调控植物地上免疫时, *AtPEPR1*对AtPep1识别能力强于*AtPEPR2*^[36,37]; 而在地下组织中, AtPep1诱导根生长抑制, *AtPEPR2*起主要识别作用^[18]。另外, 在不同物种之间, Peps的识别表现出物种特异性, 拟南芥AtPep1只能被拟南芥或亲缘关系较近的物种识别, 如利用拟南芥AtPep1处理不同物种叶片, 只有与拟南芥亲缘关系较近的十字花科植物芜菁能识别AtPep1并激活体内防御信号, 而番茄、玉米或烟草体内信号并不受AtPep1诱导^[14]。

Peps主要结合在PEPRs的胞外结构域上发挥功能^[28]。Tang等人^[28]解析了*AtPEPR1*与AtPep1的晶体结构, 发现AtPep1以伸展状态结合在*AtPEPR1*胞外超螺旋状的LRR凹面, AtPep1 C末端的10个氨基酸残基在其与*AtPEPR1*结合上起关键作用。AtPep1 C末端Asn²³突变严重影响AtPep1与*AtPEPR1*的结合; 将C末端的Ser¹⁵或Gly¹⁷替换成Ala后均降低细胞对Pep1的敏感性^[38]。Peps被PEPRs识别后触发的下游信号依赖类受体激酶brassinosteroid insensitive 1-associated kinases 1 (BAK1)^[39,40]。体外生化和结构生物学的实验表明, *PEPR1*胞外LRR结构域与BAK1胞外LRR结构域并无直接的互作关系, 在Pep1诱导后, *PEPR1*^{LRR}与BAK1^{LRR}互作形成稳定的异源复合物^[28]。Pep1, *PEPR1*^{LRR}和BAK1^{LRR}彼此互作形成*PEPR1*^{LRR}-Pep1-BAK1^{LRR}复合物是启动下游信号的关键。其中Pep1 C末端Pro¹⁹, Glu²¹和His²²以及BAK1 LRR的Leu⁵³, Phe⁶⁰和Phe¹⁴⁴作为关键氨基酸控制BAK1^{LRR}-*PEPR1*^{LRR}复合物的形成^[28]。

3 Peps介导的信号转导

与MAMPs激活植物免疫系统相似, Peps被PEPRs

识别后, 会激活细胞的一系列防御信号. Peps 调控的信号转导主要分成两个类型. 其一是控制细胞内钙信号的波动来激活下游免疫信号^[30]. 植物质膜环核苷酸门控 Ca^{2+} 通道(cyclic nucleotide-gated channels, CNGCs)在Peps刺激后通道活性打开并向细胞内转运钙, 引起细胞内钙波动^[41,42]. 细胞钙波动激活 Ca^{2+} 依赖型蛋白激酶(calcium-dependent protein kinases, CDPKs)或钙调素(calmodulin, CAM)的功能, 进一步促进防御相关基因(如 *PDF1.2*, *PR1*)和转录因子(*WRKY33*等)的转录表达, 促进乙烯(ethylene, ET)合成或增强 *PROPEP1* 的表达, 最终起到免疫信号的加强作用^[41~43]. PEPRs 含有一个类似于油菜素内酯受体(brassinosteroid-insensitive 1, BRI1)蛋白的胞内腺苷酸环化酶(gytosolic guanylyl cyclase, GC)结构域, 该结构域催化GTP合成cGMP. 当PEPRs与Peps结合之后, GC结构域将GTP转化成cGMP, 接着cGMP结合CNGC2并激活CNGC2通道活性, 促使细胞外 Ca^{2+} 的内流引起细胞内钙波动^[41,42]. 尽管体外实验显示GC位点能够催化GTP形成cGMP, 但是利用外源油菜素内酯, flg22, chitin或elf18等处理植物发现并不能导致cGMP含量的升高, 因此目前有关cGMP活化CNGC2的学说存在一定争议^[44,45]. 而另一种更有可能的机制是Peps通过磷酸化水平来调控CNGCs的活性^[46]. Flg22诱导BIK1磷酸化激活CNGC2和CNGC4并控制 Ca^{2+} 进入细胞质, 而PEPR1可直接与BIK1互作并且磷酸化激活BIK1^[47]. PEPRs被Peps活化后有可能通过BIK1磷酸化激活CNGC2/4来调控胞质 Ca^{2+} 波动^[46]. 另外一个模型是, 当Peps与PEPRs结合后, Peps-PEPRs与SERKs家族成员形成免疫复合体Peps-PEPRs-SERKs激活植物免疫信号, 如激活细胞ROS和ET信号, 活化MAPKs级联免疫反应, 促进胼胝质生成等^[30,40,47].

SERKs家族成员中BAK1是形成植物免疫的关键组分, 其分别与FLS2, EFR和PEPRs等形成免疫复合体来触发PTI响应, 在该过程中, PEPRs对BAK1的依耐性类似于FLS2, BAK1在这些信号中发挥正调控功能^[28,48,49,50]. 当病原菌效应因子破坏植物PTI响应时, 植物体通过效应因子触发的植物免疫反应(Effector-Triggered Immunity, ETI)开启第二道免疫防线, 多种病原菌效应因子抑制FLS2/EFR的活性并干扰PRR-BAK1复合物的形成^[8,51~53]. ETI响应促使BAK1泛素化降解, 同时诱导 *PROPEP3* 的转录表达和促进Pep3的生

成, Pep3-PEPRs激活程序性细胞死亡以抵御病原菌危害^[54]. 而BAK1在Peps诱导的细胞死亡中起负调控作用, BAK1的功能突变加剧了Peps诱导的细胞死亡^[54].

拟南芥AtPep1与AtPEPRs结合后, 也能引起免疫复合体的内吞降解来下调植物免疫信号的传导. Ortiz-Moreno等人^[55]和Mbengue等人^[56]分别利用荧光标记的方法合成N端修饰肽TAMRA-pep1, 该修饰肽完全具备AtPep1小肽的活性, 利用TAMRA-pep1处理拟南芥根系和烟草叶片, 发现TAMRA-pep1荧光信号逐渐从细胞质膜以内涵体形式转移到液泡, 并且这种内吞小体完全与AtPEPR1的内吞小体相重叠, 并且依赖于受体的存在^[55,56]. 这两项研究进一步证实了AtPep1-AtPEPR1的内吞依赖于网格蛋白(clathrin)介导的内吞, 网格蛋白重链2(clathrin heavy chain 2, CHC2)的功能突变降低了AtPep1的内吞及细胞对AtPep1的敏感性^[55,56]. Collins等人^[57]发现网格蛋白衔接子EPS1可以调节AtPEPR1和BAK1在细胞膜上的丰度, 调控植物免疫信号. AtPep1-AtPEPR1从质膜通过内吞转运到液泡前体, 这一途径不依赖于反面高尔基网/早期核内体(*trans*-Golgi network/early endosome, TGN/EE)转运^[55]. 对于Pep1-PEPR1以何种方式转运至液泡目前并不清楚.

4 危险相关Peps信号在植物体中的功能

4.1 调控植物生物胁迫

植物体在自然生长过程中面临多种生物胁迫, 如细菌、真菌性病害, 食草类昆虫或动物等的危害. Peps能被多种生物胁迫诱导后激活植物免疫信号. 利用外源Peps处理植物, 能够快速诱导早期PTI响应, 如促进细胞内 Ca^{2+} 的波动, 诱导ROS的释放, 促进免疫复合物PEPRs-BAK1和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)的磷酸化以及促进胼胝质的积累等^[9,11,15,30]. CDPKs和MAPKs协同调控Pep1诱导的初期PTI响应, CDPK5/6/11和MPK3/6的功能突变抑制了Peps免疫信号的传递^[43,58].

自然界中大多数病原菌主要通过植物表面的伤口或者自然开口进入植物体^[59]. 植物叶表面的气孔是病原菌进入植物体内的主要路径. 植物通过先天免疫系统感知病原菌并通过一系列精细调控机制来关闭气孔以阻止病原菌进入植物叶组织^[60]. Zheng等人^[37]发现

Peps-PEPRs系统能够调控气孔关闭来阻止病原菌向叶片组织扩散。Pep1诱导气孔关闭主要通过激活慢阴离子通道(slow-type anion channel 1, SLAC1)及其同源蛋白SLAH3的活性, 促使保卫细胞阴离子外流, 降低细胞膨压来关闭气孔(图3)。Open Stomata 1(OST1)是控制气孔关闭的核心调控因子, 同时也是气孔对抗病原菌及相关PAMPs所必需的组分^[60-62]。Zheng等人^[37]发现Pep1调控气孔关闭不依赖于OST1途径, 而BIK1在该信号途径中起正调控作用。

Peps在植物系统免疫中也发挥重要作用, 利用At-Peps预处理拟南芥叶片或过表达*AtPROPEP1*和*At-*

*PROPEP2*时均能增强植物对*Pst.* DC3000和*Pythium irregulare*的抗性, PEPRs功能突变后植物体对多种致病菌的抗性减弱^[13,43,47,63]。Peps信号主要与植物防御激素(如ET, JA和SA)信号相关联调控植物系统^[13,43,47,63]。ET可诱导*PROPEPs*的表达并合成Peps, Peps-PEPRs进一步磷酸化激活BIK1及其同源蛋白PBL1, 调控植物对*Botrytis cinerea*的抗性^[13,43,47,63], PEPRs位于ET信号下游调控植物免疫, 当ET信号缺失时, PEPRs可弥补ET的作用以增强植物免疫信号^[63]。同时Peps-PEPRs可促进ET合成并对ET诱导的免疫信号做出反馈调节, 进一步放大植物免疫信号^[43]。ET和JA能协同调控植物对死

图3 AtPep1调控植物叶片免疫和主根生长抑制模式。Co: 皮层细胞; En: 内皮层细胞; Ep: 表皮细胞; St: 中柱。图引自文献^[18,19,30,37]

Figure 3 The model of AtPep1 regulates leaf immunity and primary root growth inhibition. Co: cortex cell; En: endodermal cell; Ep: epidermis cell; St: stele. The figure is cited from refs. ^[18,19,30,37]

体营养菌的免疫^[64,65]。Peps的识别能诱导JA合成和JA信号通路基因*PDF1.2*的表达,启动植物系统免疫^[43,64,66],JA合成酶allene oxide synthase(AOS)和JA受体coronatine-insensitive 1(COI1)的功能突变抑制了Peps介导的免疫信号传递^[43,66],Peps激活JA信号又依赖ET信号途径,ET不敏感蛋白ethylene-insensitive protein 2(EIN2)的功能突变有效抑制Pep1诱导的*PDF1.2*和*PDF1.3*的上调表达,说明ET和JA在介导Peps信号中具有协同性^[13]。Peps处理也能诱导SA信号相关基因*pathogenesis related 1(PR1)*的转录上调,SA合成关键基因*SID2*的突变降低了Peps对植物系统免疫的调控^[13],说明SA信号在Peps调控的系统免疫中发挥重要作用。在Peps调控的ETI过程中,Peps主要依赖水杨酸信号诱导程序性细胞死亡^[54]。

Peps在抵抗食草类动物的危害中发挥重要作用,研究者们分别利用甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)或斜纹夜蛾(*Spodoptera littoralis* larvae)口腔分泌物处理玉米或者拟南芥叶片,发现均能促进*AtPROPEP3*和*AtPEPRs*基因的表达,同时叶片组织中JA和ET显著积累^[11,15]。直接用叶片饲喂斜纹夜蛾幼虫,发现*AtPEPRs*功能突变降低了对幼虫的抗性^[11]。而利用ZmPep3处理玉米叶片发现能诱导挥发性萜烯和苯并恶唑酮类物质的生成,有助于抑制甜菜夜蛾幼虫的生长,同时能够间接吸引甜菜夜蛾天敌寄生蜂,起到防御虫害作用^[15]。

4.2 调控植物非生物逆境胁迫

非生物逆境胁迫是影响植物正常生长的重要因素之一。Nakaminami等人^[20]发现AtPep3可作为一类激素信号调控植物高盐胁迫。高盐处理后,*AtPROPEP3*的表达量显著上调。外源施加AtPep3或过表达*AtPROPEP3*均能提高植物耐盐性^[20]。AtPep3 C末端11~23个氨基酸残基决定植物的抗盐能力。AtPEPR1作为AtPep3的主要受体参与到植物的耐盐反应中。研究者推测AtPep3-AtPEPR1有可能调控Na⁺的吸收来影响植物耐盐性^[20]。AtPEPR2也可作为CLAVATA3/Endosperm surrounding region 14(CLE14)小肽的受体来调控低磷响应信号^[67]。植物感受低磷信号后,分泌CLE14小肽,然后被其受体CLAVATA2(CLV2)和PEPR2识别后激活植物局部磷响应信号^[67]。AtPep1在根部主要被AtPEPR2识别后引发类似于低磷诱导的根构型变化,包括根尖细胞分裂活性降低、主根缩短、根尖细胞膨

大、根毛增多以及胼胝质积累等^[18,67]。Pep1是否能够调控植物低磷响应信号有待进一步探索。

4.3 调控植物生长发育

在植物生理条件下,过表达*AtPROPEP1*和*AtPROPEP2*能够增强植物对土壤病原微生物的抗性,促进植物根系、花序和茎系统的健康生长,提高植物生物量^[9],而外源AtPep1处理植物根系,发现能抑制植物主根生长,其有可能是通过诱导植物免疫系统持续激活,促进免疫相关激素的释放而抑制根系生长^[17,18]。Jing等人^[18]观察到AtPep1处理根系后根尖分生区细胞分裂能力降低,根尖局部发生细胞膨大。AtPep1诱导根系构型改变主要有两方面原因:其一是AtPep1通过调控根尖生长素的积累来影响根构型。AtPep1诱导生长素转运蛋白PIN-FORMED2(PIN2)内吞抑制了根尖生长素的向基运输,诱导PIN3在根尖细胞侧向表达促使了生长素横向运输(图3)。另一个原因是AtPep1激活H⁺-ATPase亚基AHA2活性,诱导根尖细胞H⁺外排,促进质外体空间酸化从而影响根系构型(图3)^[19]。Peps诱导免疫物质ROS的过渡积累也是抑制根系生长的重要原因之一^[68]。AtPep1诱导BIK1磷酸化激活呼吸爆发氧化酶(respiratory burst oxidase homologs, RBOH)亚基RBOHD和RBOHDF,促使ROS释放,抑制根系生长^[68]。此外,也有研究表明AtPep1能够抑制谷氨酰胺转运蛋白(glutamine dumpers, GDU)活性,抑制氨基酸外排,导致细胞过度积累氨基酸抑制根系生长^[69]。Peps同时也能激活JA, SA和ET信号,而这些信号均能调控植物根系生长,Peps也有可能通过调节这些信号来抑制根系生长^[17]。外施Peps能够诱导植物根毛形成,并且受PEPR2的识别^[18,70]。Okada等人^[70]发现拟南芥AtPep1诱导根毛的发育依赖于AtPEPRs下游信号元件如BAK1, BKK1, BIK1和PBL1等,同时依赖生长素、ET信号元件及根毛分化调控元件。

Peps在植物衰老调节中也发挥作用,外施AtPep1能加剧黑暗或饥饿诱导的叶片衰老,该作用主要通过促进叶绿体降解实现^[16]。黑暗诱导能促进*AtPROPEP3*的转录表达,促进胞内AtPep3形成,而AtPep3能够激活叶绿体降解基因*PAO*以及自噬基因*APG7*和*APG8a*的转录表达,启动叶绿体降解和细胞自噬程序。AtPep1诱导的ET信号在该过程中发挥重要作用,而细胞分裂素又能延缓Pep1对细胞衰老的影响^[16]。

5 展望

MAMPs或DAMPs所触发的免疫反应是植物先天免疫的第一道防线。植物体通过细胞表面的特定受体识别这些激发子信号并部署防御措施, 以应对外界生物胁迫的危害。激发子的功能研究有助于促进对植物免疫系统更深入了解。植物危险信号肽Peps是近些年发现的一类存在于多种被子植物体内的短肽, 在植物体内具有重要功能。研究者从第一个Pep1发现至今将近15年时间, 对Peps的功能进行广泛研究, 发现其在植物应对生物胁迫和非生物胁迫、调控植物生长发育等过程中都发挥作用。针对Peps的功能研究也是近些年研究热点, 让人们逐渐认识到植物分泌多肽在植物生长发育和应对外界胁迫中的重要性, 也逐渐开启了人们对其他植物分泌肽的研究。

研究者们在Peps形成、识别、信号转导以及生物学功能等方面取得了重要成果, 但当前也存在许多未知的科学问题亟需解决。比如Peps释放后, 通过何种方

式到达细胞外被PEPRs识别; Peps-PEPRs系统在调控气孔免疫中, 是通过何种分子机制激活SLAC1的活性达到关闭气孔的目的; Peps能同时激活植物免疫并诱导根系生长抑制, 这两种信号在植物体内如何平衡, 具有何种生物学意义; Peps及其前体PROPEPs蛋白能调控植物耐盐性, 具体通过何种机理发挥作用? Peps能够诱导植物根毛生长, 在植物生理条件下, Peps及其前体PROPEPs是否能够调控根毛的生长等。通过探索这些科学问题, 将有助于研究者更详细地了解Peps的功能。

农业生产中, 开展植物天然免疫研究可为农业抗性育种提供广阔思路, 利用基因工程途径来提高植物PTI响应是一种新的育种思路^[1,71,72]。Peps作为植物内源性肽, 能促进植物适应生物、非生物胁迫以及调控植物生长发育。在未来农业发展中, 通过基因工程手段在农作物体内改良Peps信号途径元件, 有助于促进植物抗性育种。随着短肽合成技术的升级和成本降低, Pep也有望成为一种新型的植物抗菌剂或者生长调节剂更广泛地应用于农业生产中。

参考文献

- 1 Zhang J, Dong S M, Wang W, et al. Plant immunity and sustainable control of pests in China: advances, opportunities and challenges (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2019, 49: 1479–1507 [张杰, 董莎萌, 王伟, 等. 植物免疫研究与抗病虫绿色防控: 进展、机遇与挑战. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49: 1479–1507]
- 2 Zhang J, Coaker G, Zhou J M, et al. Plant immune mechanisms: from reductionistic to holistic points of view. *Mol Plant*, 2020, 13: 1358–1378
- 3 Zhou J M, Zhang Y. Plant immunity: danger perception and signaling. *Cell*, 2020, 181: 978–989
- 4 Nürnberger T, Brunner F, Kemmerling B, et al. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunol Rev*, 2004, 198: 249–266
- 5 Zipfel C, Felix G. Plants and animals: a different taste for microbes? *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8: 353–360
- 6 Jones J D G, Dangl J L. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444: 323–329
- 7 Boller T, Felix G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu Rev Plant Biol*, 2009, 60: 379–406
- 8 Macho A P, Zipfel C. Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. *Mol Cell*, 2014, 54: 263–272
- 9 Huffaker A, Pearce G, Ryan C A. An endogenous peptide signal in *Arabidopsis* activates components of the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 10098–10103
- 10 Huffaker A, Dafoe N J, Schmelz E A. ZmPep1, an ortholog of *Arabidopsis* elicitor peptide 1, regulates maize innate immunity and enhances disease resistance. *Plant Physiol*, 2011, 155: 1325–1338
- 11 Huffaker A, Pearce G, Veyrat N, et al. Plant elicitor peptides are conserved signals regulating direct and indirect antiherbivore defense. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 5707–5712
- 12 Trivilin A P, Hartke S, Moraes M G. Components of different signalling pathways regulated by a new orthologue of *AtPROPEP1* in tomato following infection by pathogens. *Plant Pathol*, 2014, 63: 1110–1118
- 13 Ross A, Yamada K, Hiruma K, et al. The *Arabidopsis* PEPR pathway couples local and systemic plant immunity. *EMBO J*, 2014, 33: 62–75
- 14 Lori M, van Verk M C, Hander T, et al. Evolutionary divergence of the plant elicitor peptides (Peps) and their receptors: interfamily

- incompatibility of perception but compatibility of downstream signalling. *J Exp Bot*, 2015, 66: 5315–5325
- 15 Klauser D, Desurmont G A, Glauser G, et al. The *Arabidopsis* Pep-PEPR system is induced by herbivore feeding and contributes to JA-mediated plant defence against herbivory. *J Exp Bot*, 2015, 66: 5327–5336
 - 16 Gully K, Hander T, Boller T, et al. Perception of *Arabidopsis* AtPep peptides, but not bacterial elicitors, accelerates starvation-induced senescence. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 14
 - 17 Poncini L, Wyrsh I, Dénervaud Tendon V, et al. In roots of *Arabidopsis thaliana*, the damage-associated molecular pattern AtPep1 is a stronger elicitor of immune signalling than flg22 or the chitin heptamer. *PLoS ONE*, 2017, 12: e0185808
 - 18 Jing Y, Zheng X, Zhang D, et al. Danger-associated peptides interact with PIN-dependent local auxin distribution to inhibit root growth in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2019, 31: 1767–1787
 - 19 Shen N, Jing Y, Tu G, et al. Danger-associated peptide regulates root growth by promoting protons extrusion in an AHA2-dependent manner in *Arabidopsis*. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 7963
 - 20 Nakaminami K, Okamoto M, Higuchi-Takeuchi M, et al. AtPep3 is a hormone-like peptide that plays a role in the salinity stress tolerance of plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 5810–5815
 - 21 Safaeizadeh M, Boller T. Differential and tissue-specific activation pattern of the *AtPROPEP* and *AtPEPR* genes in response to biotic and abiotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav*, 2019, 14: e1590094
 - 22 Van den Ackerveken G F, Vossen P, De Wit P J. The AVR9 race-specific elicitor of *Cladosporium fulvum* is processed by endogenous and plant proteases. *Plant Physiol*, 1993, 103: 91–96
 - 23 He S Y, Huang H C, Collmer A. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* harpinPss: a protein that is secreted via the *Hrp* pathway and elicits the hypersensitive response in plants. *Cell*, 1993, 73: 1255–1266
 - 24 Kamoun S. Nonhost resistance to *Phytophthora*: novel prospects for a classical problem. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4: 295–300
 - 25 Kunze G, Zipfel C, Robatzek S, et al. The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants. *Plant Cell*, 2004, 16: 3496–3507
 - 26 Navarro L, Zipfel C, Rowland O, et al. The transcriptional innate immune response to flg22. Interplay and overlap with *Avr* gene-dependent defense responses and bacterial pathogenesis. *Plant Physiol*, 2004, 135: 1113–1128
 - 27 Bartels S, Lori M, Mbengue M, et al. The family of Peps and their precursors in *Arabidopsis*: differential expression and localization but similar induction of pattern-triggered immune responses. *J Exp Bot*, 2013, 64: 5309–5321
 - 28 Tang J, Han Z, Sun Y, et al. Structural basis for recognition of an endogenous peptide by the plant receptor kinase PEPR1. *Cell Res*, 2015, 25: 110–120
 - 29 Huffaker A, Ryan C A. Endogenous peptide defense signals in *Arabidopsis* differentially amplify signaling for the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 10732–10736
 - 30 Bartels S, Boller T. Quo vadis, Pep? Plant elicitor peptides at the crossroads of immunity, stress, and development. *J Exp Bot*, 2015, 66: 5183–5193
 - 31 Hander T, Fernández-Fernández Á D, Kumpf R P, et al. Damage on plants activates Ca^{2+} -dependent metacaspases for release of immunomodulatory peptides. *Science*, 2019, 363: eaar7486
 - 32 Shen W, Liu J, Li J F. Type-II metacaspases mediate the processing of plant elicitor peptides in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2019, 12: 1524–1533
 - 33 Minina E A, Stael S, van Breusegem F, et al. Plant metacaspase activation and activity. In: Van Bozhkov P, Salvesen G, eds. *Caspases, Paracaspases, and Metacaspases. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*. New York: Humana Press, 2014. 1133
 - 34 Zhu P, Yu X H, Wang C, et al. Structural basis for Ca^{2+} -dependent activation of a plant metacaspase. *Nat Commun*, 2020, 11: 2249
 - 35 Yamaguchi Y, Pearce G, Ryan C A. The cell surface leucine-rich repeat receptor for AtPep1, an endogenous peptide elicitor in *Arabidopsis*, is functional in transgenic tobacco cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 10104–10109
 - 36 Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan A C, et al. PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2010, 22: 508–522
 - 37 Zheng X, Kang S, Jing Y, et al. Danger-associated peptides close stomata by OST1-independent activation of anion channels in guard cells. *Plant Cell*, 2018, 30: 1132–1146
 - 38 Pearce G, Yamaguchi Y, Munske G, et al. Structure-activity studies of AtPep1, a plant peptide signal involved in the innate immune response. *Peptides*, 2008, 29: 2083–2089

- 39 Postel S, Küfner I, Beuter C, et al. The multifunctional leucine-rich repeat receptor kinase BAK1 is implicated in *Arabidopsis* development and immunity. *Eur J Cell Biol*, 2010, 89: 169–174
- 40 Schulze B, Mentzel T, Jehle A K, et al. Rapid heteromerization and phosphorylation of ligand-activated plant transmembrane receptors and their associated kinase BAK1. *J Biol Chem*, 2010, 285: 9444–9451
- 41 Qi Z, Verma R, Gehring C, et al. Ca^{2+} signaling by plant *Arabidopsis thaliana* Pep peptides depends on AtPepR1, a receptor with guanylyl cyclase activity, and cGMP-activated Ca^{2+} channels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 21193–21198
- 42 Ma Y, Walker R K, Zhao Y, et al. Linking ligand perception by PEPR pattern recognition receptors to cytosolic Ca^{2+} elevation and downstream immune signaling in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 19852–19857
- 43 Flury P, Klauser D, Schulze B, et al. The anticipation of danger: microbe-associated molecular pattern perception enhances AtPep-triggered oxidative burst. *Plant Physiol*, 2013, 161: 2023–2035
- 44 Kwaaitaal M, Huisman R, Maintz J, et al. Ionotropic glutamate receptor (iGluR)-like channels mediate MAMP-induced calcium influx in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem J*, 2011, 440: 355–373
- 45 Irving H R, Kwezi L, Wheeler J, et al. Moonlighting kinases with guanylate cyclase activity can tune regulatory signal networks. *Plant Signal Behav*, 2012, 7: 201–204
- 46 Tian W, Hou C, Ren Z, et al. A calmodulin-gated calcium channel links pathogen patterns to plant immunity. *Nature*, 2019, 572: 131–135
- 47 Liu Z, Wu Y, Yang F, et al. BIK1 interacts with PEPRs to mediate ethylene-induced immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 6205–6210
- 48 Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, et al. A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature*, 2007, 448: 497–500
- 49 Heese A, Hann D R, Gimenez-Ibanez S, et al. The receptor-like kinase SERK3/BAK1 is a central regulator of innate immunity in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 12217–12222
- 50 Sun Y D, Li L, Macho A P, et al. Structural basis for flg22-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science*, 2013, 342: 624–628
- 51 Shan L, He P, Li J, et al. Bacterial effectors target the common signaling partner BAK1 to disrupt multiple MAMP receptor-signaling complexes and impede plant immunity. *Cell Host Microbe*, 2008, 4: 17–27
- 52 Xiang T, Zong N, Zou Y, et al. *Pseudomonas syringae* effector AvrPto blocks innate immunity by targeting receptor kinases. *Curr Biol*, 2008, 18: 74–80
- 53 Xiang T, Zong N, Zhang J, et al. BAK1 is not a target of the *Pseudomonas syringae* effector AvrPto. *Mol Plant Microbe Interact*, 2011, 24: 100–107
- 54 Yamada K, Yamashita-Yamada M, Hirase T, et al. Danger peptide receptor signaling in plants ensures basal immunity upon pathogen-induced depletion of BAK1. *EMBO J*, 2016, 35: 46–61
- 55 Ortiz-Moreno F A, Savatin D V, Dejonghe W, et al. Danger-associated peptide signaling in *Arabidopsis* requires clathrin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 11028–11033
- 56 Mbengue M, Bourdais G, Gervasi F, et al. Clathrin-dependent endocytosis is required for immunity mediated by pattern recognition receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 11034–11039
- 57 Collins C A, LaMontagne E D, Anderson J C, et al. EPSIN1 modulates the plasma membrane abundance of FLAGELLIN SENSING2 for effective immune responses. *Plant Physiol*, 2020, 182: 1762–1775
- 58 Ma Y, Zhao Y, Walker R K, et al. Molecular steps in the immune signaling pathway evoked by plant elicitor peptides: Ca^{2+} -dependent protein kinases, nitric oxide, and reactive oxygen species are downstream from the early Ca^{2+} signal. *Plant Physiol*, 2013, 163: 1459–1471
- 59 Gudesblat G E, Torres P S, Vojnov A A. *Xanthomonas campestris* overcomes arabidopsis stomatal innate immunity through a DSF cell-to-cell signal-regulated virulence factor. *Plant Physiol*, 2009, 149: 1017–1027
- 60 Melotto M, Underwood W, Koczan J, et al. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell*, 2006, 126: 969–980
- 61 Assmann S M. OPEN STOMATA1 opens the door to ABA signaling in *Arabidopsis* guard cells. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 151–153
- 62 Guzel Deger A, Scherzer S, Nuhkat M, et al. Guard cell SLAC1-type anion channels mediate flagellin-induced stomatal closure. *New Phytol*, 2015, 208: 162–173
- 63 Tintor N, Ross A, Kanehara K, et al. Layered pattern receptor signaling via ethylene and endogenous elicitor peptides during *Arabidopsis* immunity to bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 6211–6216

- 64 Yan C, Xie D. Jasmonate in plant defence: sentinel or double agent? *Plant Biotechnol J*, 2015, 13: 1233–1240
- 65 Sun J Q, Jiang H L, Li C Y. Systemin/jasmonate-mediated systemic defense signaling in tomato. *Mol Plant*, 2011, 4: 607–615
- 66 Holmes D R, Grubb L E, Monaghan J. The jasmonate receptor COI1 is required for AtPep1-induced immune responses in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Res Notes*, 2018, 11: 555
- 67 Gutiérrez-Alanís D, Yong-Villalobos L, Jiménez-Sandoval P, et al. Phosphate starvation-dependent iron mobilization induces CLE14 expression to trigger root meristem differentiation through CLV2/PEPR2 signaling. *Dev Cell*, 2017, 41: 555–570.e3
- 68 Jing Y P, Shen N, Zheng X J, et al. Danger-associated peptide regulates root immune responses and root growth by affecting ROS formation in *Arabidopsis*. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 4590
- 69 Ma C L, Guo J, Kang Y, et al. AtPEPTIDE RECEPTOR2 mediates the AtPEPTIDE1-induced cytosolic Ca^{2+} rise, which is required for the suppression of *Glutamine Dumper* gene expression in *Arabidopsis* roots. *J Integr Plant Biol*, 2014, 56: 684–694
- 70 Okada K, Kubota Y, Hirase T, et al. Uncoupling root hair formation and defence activation from growth inhibition in response to damage-associated Pep peptides in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 2021, 229: 2844–2858
- 71 Zhao K J, Li Y Q, Wang C L, et al. Recent findings in plant innate immunity and possible impacts on crop disease-resistance breeding (in Chinese). *Acta Agron Sin*, 2011, 37: 935–942 [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. 作物学报, 2011, 37: 935–942]
- 72 Zhang D D, Qiu J L. Interactions and co-evolution of plants and pathogens (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2017, 62: 1214–1220 [张丹丹, 邱金龙. 植物与病原物的相互作用及协同进化. 科学通报, 2017, 62: 1214–1220]

Research progress on the function of plant elicitor peptides

JING YanPing, SHEN Nuo & LAN WenZhi

College of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China

Danger-associated molecular patterns (DAMPs) are endogenous substances in plants to regulate plant immunity. Plant elicitor peptides (Peps), a new type of DAMPs, are widely distributed in various plants. Peps are released from their precursor protein precursor of peptides (PROPEPs) in C-terminal and perceived by receptor protein kinases Pep receptors (PEPRs) to activate the plant cell immune signaling to defense against pathogens and herbivory. In addition, Peps also collaborate with its receptors to mediate salt tolerance and regulate plant growth and development. Here, we review the research progress of Peps since their discovery, including the formation, recognition, signal transduction and biological function, and probe into the problems that need to be solved in future research and their application in agricultural production.

plant immunity, DAMPs, Peps, PROPEPs, PEPRs

doi: 10.1360/SSV-2021-0137