

番茄系统抗性反应的信号转导

李常保 孙加强 蒋红玲 吴晓燕 李传友*

(中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101; 山东农业大学农学院, 泰安 271018)

* 联系人, E-mail: cyli@genetics.ac.cn

摘要 番茄中受伤诱导的蛋白酶抑制剂(Pis)为阐明植物系统性抗性反应信号转导途径的分子基础提供了一个理想的模式系统。在这一模式系统中, 与日俱增的证据表明多肽信号分子系统素和来源于不饱和脂肪酸的植物激素茉莉酸都具有信号分子的功能, 二者通过一个共同的信号转导途径激活蛋白酶抑制剂和其他抗性相关基因的表达, 从而使植物产生抗性。然而, 关于这些信号分子如何相互作用而促进细胞间长距离信号传递所知甚少。对番茄中由系统素/茉莉酸共同介导的蛋白酶抑制剂基因的表达过程进行遗传解析, 为全面认识多肽和氧化脂类信号分子在调控植物系统性抗性反应中的作用机制提供了独特的契机。以前的研究认为, 系统素是诱导抗性基因表达的长距离运输的信号分子。但是最近的遗传分析表明, 系统抗性反应中长距离运输的信号分子是茉莉酸而不是系统素, 系统素的作用在于调控茉莉酸的生物合成。

关键词 番茄 系统素 茉莉酸 防御反应 信号转导

对应于昆虫侵害和机械受伤, 高等植物会大量合成一系列抗性相关的化合物, 包括抑制昆虫进食、繁殖以及与伤口愈合相关的物质等。番茄历来被认为是研究植物从受伤刺激到抗性基因表达这一信号转导过程的理想模式系统。这主要是因为番茄中存在衡量植物抗性反应强弱的标记基因——蛋白酶抑制剂(proteinase inhibitors, Pis)。蛋白酶抑制剂是一类富含丝氨酸的小分子量碱性蛋白分子, 通过抑制昆虫体内消化酶的活性而达到抗虫的目的^[1,2]。Ryan^[1,2]研究发现, 当番茄植株受到昆虫侵害后会大量合成Pis等抗性相关物质, 并且Pis不只是在受伤的叶片中大量合成(局部反应), 而且在植物全身, 包括未受伤的叶片中合成(系统反应)。这一研究标志着植物系统抗性反应的发现。Ryan等人^[3]同时提出了一个假说以解释植物系统抗性反应的产生, 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。为了鉴定参与系统抗性反应的信号分子, Ryan研究组^[4]发明了一种简便的方法, 把各种组分体外饲喂给番茄幼苗并检测Pis的表达情况。到目前为止, 人们一直试图寻找和鉴定这种能长距离运输的信号分子, 进而研究其信号转导途径。目前, 被鉴定的信号分子主要包括多肽信号分子系统素(systemin)^[5,6]以及来源于不饱和脂肪酸的植物激素茉莉酸(jasmonic acid, JA)^[7,8]。

大量的生物化学和遗传学证据表明, 系统素和茉莉酸是通过一个共同的信号转导途径来调节Pis基因及其他抗性相关基因的系统性表达, 然而关于这些信号分子相互作用的细节过程尚不清楚。本文主要介绍以番茄为模式系统关于伤害反应途径遗传解析的最新研究进展。

1 系统素信号转导途径

系统素是从番茄叶片中提取的、能够强烈诱导Pis表达的、由18个氨基酸组成的一类多肽^[9]。作为植物中鉴定的第1个多肽信号分子, 系统素的发现在科学界引起了巨大的轰动。系统素的前体蛋白——前系统素(prosystemin)由200个氨基酸组成, 受伤反应能够刺激系统素从前系统素的C末端剪切下来。在番茄基因组中, 前系统素基因以单拷贝的形式存在。研究表明, 表达反义前系统素基因的转基因番茄植株丧失了系统抗性反应, 并对昆虫的侵害更加敏感^[10]; 而过量表达前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和多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)等抗性相关蛋白, 对昆虫的抗性也大大提高^[11]。最近, 研究人员通过正向遗传学方法筛选前系统素介导的抗性反应的抑制子, 鉴定了几个能阻断伤害诱导Pis基因表达的突变体^[12,13]。总之, 这些遗传学证据表明, (前)系统素在番茄对昆虫的系统抗性反应中起着重要作用。据此, Ryan^[9]提出系统素是系统抗性中进行长距离运输的信号分子。

这一假说是过去十几年来植物受伤反应研究领域的主导工作模型, 尽管它缺乏直接实验证据的支持。

SR160是一种可以与系统素结合的蛋白, 最初是从番茄悬浮细胞中分离纯化得到的。最近其基因的克隆等一系列生化及遗传学研究证明, SR160是系统素的受体, 这是系统素信号转导研究方面的一个重大突破^[14,15]。SR160是一个160 kD的膜蛋白, 包括1个位于胞外的能与配体相互作用的富含亮氨酸的重复结构域(LRR)、1个跨膜结构域和1个位于胞内的Ser/Thr激酶结构域^[16]。有趣的是, SR160蛋白与拟南芥中油菜素内酯(brassinosteroid, BR)的受体BRI1在氨基酸水平上具有较高的同源性^[16,17]。在番茄中BR受体的鉴定和其基因的克隆表明, SR160同时也是BR的受体(即LeBRI1), 这一发现表明, SR160/BRI1能够在植物发育和抗性反应两方面起作用^[18]。SR160/BRI1的双重功能在表达番茄前系统素基因的转基因烟草中也得到证实。目前在烟草中还没有鉴定到前系统素基因, 通过mRNA和蛋白表达分析及光亲和标记实验证明, 在转化SR160基因的烟草悬浮细胞中表达了SR160基因, 而且系统素能够诱导类似番茄细胞的碱性化反应, 表明在功能获得性烟草细胞中也具有系统素信号转导早期步骤所需组分^[19]。

事实上, 在油菜素内酯受体BRI1发生突变的番茄突变体*cu-3*中系统素的信号转导发生了严重缺陷。同时, 在野生型番茄植株中, BR可以强烈地可逆性地抑制系统素诱导的抗性反应。这些结果表明番茄中多肽类激素系统素和甾醇类激素油菜素内酯共用一个受体介导不同的信号转导过程, 这种现象在动物中已有报道^[20], 在植物中则是第一次发现。

已有证据证明, 系统素可与位于细胞膜上的受体蛋白SR160特异性结合, 从而引发一系列的细胞学现象, 包括膜质Ca²⁺浓度升高、胞液的碱性化、膜的脱极性和促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的激活, 但是还没有鉴定到与SR160相互作用的蛋白^[21~23]。通过进一步对番茄系统素信号转导途径突变体的鉴定和相应基因的克隆, 期望能够为系统素信号转导途径的解析提供新的证据。

2 茉莉酸生物合成及信号转导

Ryan等人^[24]首先发现茉莉酸在植物系统性抗性反应中起重要作用。随后越来越多的证据表明, 伤害

和系统素是通过提高植物体内源茉莉酸家族化合物的含量而激活植物的抗性反应。具有生物活性的茉莉酸家族化合物主要包括茉莉酸(JA)、甲酯茉莉酸(methyl-JA, MeJA)以及它们的前体12-氧代-顺-10, 15-植物二烯酸(12-oxo-phytodienoic acid, 12-OPDA)^[7,25]。

2.1 茉莉酸生物合成的十八碳烷酸途径

茉莉酸是由亚麻酸(linolenic acid, LA)通过所谓的“十八碳烷酸途径”合成的(图1)。其中参与由亚麻酸到12-OPDA这一过程的几个关键性的酶, 包括脂肪氧化酶(lipoxygenase, LOX)、丙二烯氧化物合酶(allene oxide synthase, AOS)和丙二烯氧化物环化酶(allene oxide cyclase, AOC)等, 已在拟南芥或其他植物中进行了鉴定, 其相应的基因也已被克隆^[26~28]。由于LOX, AOS和AOC都定位于叶绿体, 因此研究已相对清楚的茉莉酸生物合成的初始步骤(如从LA到OPDA的合成)被认为是在叶绿体中进行的^[29]。但当前对于十八碳烷酸途径的最初底物LA本身是如何提供的尚所知不多, 如果参考动物Eicosanoid(花生酸)的生物合成过程, 可以推测有特定的磷脂酶A催化LA从膜的释放。在番茄中已有直接证据表明系统素通过激活磷脂酶A2(PLA2)从而促进受伤叶片膜脂中LA的释放^[30]。拟南芥突变体*defective anther dehiscence(dad1)*的鉴定以及基因克隆表明, *dad1*属于雄性不育突变体, *DAD1*基因编码一个新的PLA1, 而PLA1是花器官发育中调节茉莉酸生物合成所必需的, 但是*dad1*对伤害诱导的茉莉酸生物合成反应正常, 这说明DAD1可能参与了伤害诱导的茉莉酸生物合成, 但并非必需^[27]。据此可以推测, 作用于发育的茉莉酸生物合成和伤害诱导的茉莉酸生物合成是通过不同的机制分别进行调控的^[26]。在番茄抗性反应系统中, 目前关于从系统素与其受体SR160的结合到叶绿体中十八碳烷酸途径的激活之间的信号转导事件还很不清楚。

根据理论预测, 由OPDA转化成茉莉酸的过程应该在过氧化物酶体中完成。越来越多的研究不断为这一预测的正确性提供实验证据。OPDA先被12-OPDA还原酶(12-oxo-phytodienoic acid reductase, OPR)催化生成3-氧代-2'(顺2'-戊烯基)-环戊烷-1-辛酸(3-oxo-2-(2'(Z)-pentenyl)-cyclopentane-1-octanoic acid, OPC-8:0), 然后经过3轮 β -氧化(β -oxidation)生成最

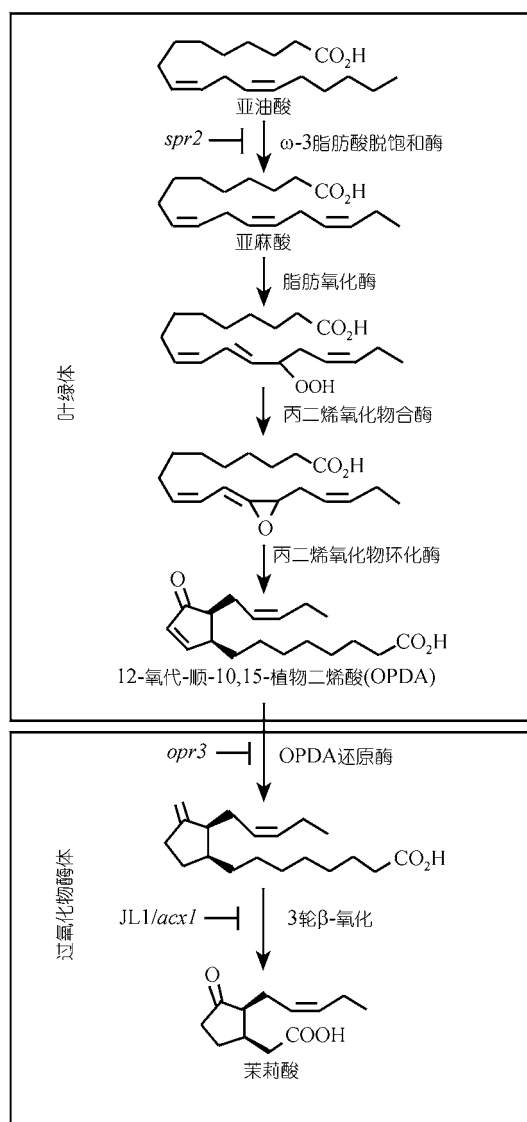


图1 茉莉酸生物合成的十八碳烷酸途径

茉莉酸的合成起始于叶绿体,由亚麻酸经过一系列氧化反应形成OPDA,OPDA经过某种尚不清楚的机制运输到过氧化物酶体中,然后通过OPDA还原酶和3轮 β -氧化最终转化为茉莉酸。图中显示了已知中间产物的化学结构和已经鉴定的有关酶的作用次序,具体参见正文介绍。图中还显示了能够阻断该合成途径的突变体(*spr2*, *opr3*和 *JL1/acx1*)的位置

终产物茉莉酸。通过对拟南芥雄性不育突变体 *dde1* (*delayed dehiscence1*)^[31]和 *opr3* (*oxo-phytodienoic acid reductase 3*)^[32]的分析表明,OPR3催化了从OPDA到OPC-8:0还原反应过程,但是OPR1和OPR2却没有同样的功能。OPR3定位于细胞过氧化物酶体中^[32],一些参与 β -氧化的酶也位于过氧化物酶体中,这表明OPR3的底物OPDA需要从叶绿体中被转运到过氧化物

酶体中。然而,上述茉莉酸生物合成途径中的部分反应的亚细胞定位还需要直接的实验证据。

番茄 *JL1* 突变体丧失了受伤诱导的抗性相关基因的表达能力并且对昆虫侵害更加敏感,进一步分析表明 *JL1* 突变体丧失了茉莉酸合成能力,但茉莉酸合成的一个中间产物 12-OPDA 的合成正常,暗示 *JL1* 在由 12-OPDA 转化为茉莉酸的代谢过程中起作用(图1)。基因克隆及功能分析结果表明, *JL1* 编码一个在脂肪酸 β -氧化中起重要作用的酰基辅酶氧化酶(命名为 *LeAcx1*),从而为确立脂肪酸 β -氧化在茉莉酸生物合成和抗性反应中的重要作用提供了直接的实验证据^[33]。对于JA生物合成的理解还存在一个明显而且重要的问题,就是 12-OPDA 是通过何种机制从叶绿体被运输到过氧化物酶体中的?

2.2 茉莉酸信号转导

伤害诱导的系统抗性反应不但需要茉莉酸的生物合成,还需要正常的茉莉酸信号的识别与转导,最后诱导抗性相关基因的表达。通常认为,这个过程包括茉莉酸受体结合茉莉酸信号分子后被激活,然后茉莉酸受体再激活下游基因的表达。以拟南芥为材料,对甲酯茉莉酸(Me-JA)^[34]及结构类似物(coronatine)^[35]不敏感突变体的筛选已饱和了拟南芥的整个基因组,然而一直到今天还没有鉴定到茉莉酸的受体^[36]。茉莉酸信号转导途径研究的一个重大突破是拟南芥中对 *coi1* (*coronatine insensitive 1*, *coi1*) 突变体的研究。*coi1* 突变体对茉莉酸不敏感,表明 *COI1* 基因在茉莉酸的识别及信号转导中起重要作用。*COI1* 编码一个 66 kD 的蛋白,包含一个 F-box 结构域和一个富含亮氨酸结构域^[37]。通常情况下 F-box 蛋白和 Skp1 及 Cullin 作用一起形成一个 E3 泛素连接酶复合体(E3 ubiquitin ligase complex),命名为 SCF 复合体,从而参与细胞内蛋白质的选择性降解过程^[38,39]。在植物中,日益积累的证据表明这种蛋白降解途径通过选择性降解一些转录抑制子或调节蛋白而参与调节许多生理过程,包括发育、激素信号转导、光信号转导及抗性反应等^[36,40,41]。最近通过酵母双杂交^[39]和免疫共沉淀^[42]实验证明了 *COI1* 蛋白与 Skp1 和 Cullin 在体内相结合形成 SCF^{*COI1*} 复合体。据推测,该复合体通过泛素(ubiquitin)介导的蛋白降解途径选择性地募集并降解某些茉莉酸信号转导途径的抑制因子,从而使信号转导反应正常进行。但目前对 *COI1* 所降解的抑制因子的本质尚不清楚,这些调节因子的鉴定将是茉

茉莉酸信号转导研究的一个重要突破。

在拟南芥中通过筛选对茉莉酸或其衍生物甲酯茉莉酸的反应发生变化的突变体还获得了茉莉酸途径的其他一些组分。其中对*jar1*(*methy jasmonate resistant1*)突变体的分析、相应基因的分离及功能研究表明,*JAR1*编码1个腺苷化酶,为萤火虫荧光素酶超基因家族成员,茉莉酸通过腺苷化与异亮氨酸共价结合是诱导抗性基因表达所必需的一个步骤^[43]。有研究表明,生长素信号转导途径突变体*axr1*对茉莉酸的反应也发生了缺陷,暗示生长素和茉莉酸信号转导可能共用了泛素(ubiquitin)介导的蛋白降解途径中的某些组分^[44]。相对于茉莉酸不敏感突变体,组成型表达茉莉酸反应的突变体可能代表了茉莉酸信号转导的负调控因子。对拟南芥突变体*cev1*(*constitutive expression of vegetative storage protein 1*)的研究发现,该突变体组成型地过量合成茉莉酸和组成型地诱导茉莉酸反应基因的表达,如*PDF1.2*。利用图位克隆技术发现,*CEV1*基因编码一个纤维素合成酶基因,暗示细胞壁合成与茉莉酸信号转导之间存在某种需要进一步阐明的联系^[41]。

在茉莉酸信号转导研究领域一个亟待解决的问题是其受体的鉴定。大量遗传学筛选都未能鉴定到茉莉酸受体,事实使人们认识到,茉莉酸受体本身或其他重要信号转导元件可能存在遗传或生化功能上的重叠或冗余^[36,45]。最近研究发现,茉莉酸可以激活昆虫基因的表达,这些基因与对寄主植物产生的allelochemicals的解毒有关^[46]。另外也有报道,茉莉酸可以在抑制癌细胞生长方面发挥作用^[47],这些发现暗示茉莉酸的信号转导途径在植物和动物之间可能存在一定的保守性。

3 系统素在植物系统抗性反应中的作用

在番茄这一模式系统中,多肽信号分子系统素和植物激素茉莉酸都对受伤及昆虫侵害诱导的系统性抗性反应起重要的调控作用。那么二者是否通过一个共同的信号途径调控抗性相关基因的表达?二者的相互作用关系是怎样的?最近一系列的遗传学研究为回答这些问题提供了重要线索。

3.1 系统素在植物系统抗性反应中的作用要依赖于茉莉酸的生物合成

系统素/茉莉酸信号途径中研究的热点问题之一是阐明二者之间的相互依赖关系。最近对番茄抗性

缺失突变体*spr2*(*suppressor of prosystemin-mediated response 2*)的遗传分析、相应基因的分离及功能研究证明,系统素对抗性基因表达的诱导作用严格依赖于茉莉酸的生物合成^[13]。*spr2*是通过筛选系统素信号转导的抑制子突变(suppressor)获得的一个抗性缺失突变体,*spr2*植物丧失了受伤以及系统素诱导的抗性相关基因的表达,但是外源茉莉酸可以恢复其抗性相关基因的表达^[12],暗示*spr2*可能是一个茉莉酸合成突变体(图1)。气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析表明,受伤后*spr2*中茉莉酸积累的水平仅为正常植物的10%^[8,48]。利用图位克隆技术, Li 等人^[13]研究表明,*Spr2*基因编码一个定位于叶绿体的 ω -3 脂肪酸脱饱和酶,该基因与拟南芥*FAD7*基因具有较高的同源性,因此被命名为*LeFad7*。DNA序列分析发现,*spr2*突变是一个无义突变,该突变破坏了*LeFad7*的功能。因为 ω -3 脂肪酸脱饱和酶的功能之一是催化茉莉酸的代谢前体物亚麻酸的合成,因此*spr2*突变体中*LeFad7*功能的丧失极有可能是导致突变体中茉莉酸的合成发生缺陷的原因。脂肪酸分析的结果验证了上述假设,在*Spr2/LeFad7*基因功能丧失的*spr2*突变体叶片中,完全没有16:3(十六碳三烯酸),18:3(十八碳三烯酸,亚麻酸)降低为野生型的10%。不难理解,茉莉酸合成前体物亚麻酸含量的不足导致了突变体中受伤诱导的茉莉酸合成的缺陷,结果导致*spr2*丧失了抗性相关基因的表达能力,对昆虫的抗性也大大降低。由于*spr2*是通过筛选(前)系统素信号转导途径的抑制子突变获得的抗性缺失突变体,因此上述对*Spr2*基因功能的分析表明系统素的作用严格依赖于茉莉酸的合成途径,即来源于叶绿体中十八碳三烯酸的茉莉酸是系统素介导的抗性反应所必需的。

3.2 系统素在植物系统性抗性反应中的作用在于调控受伤诱导的茉莉酸的合成

如上所述,*Spr2*基因的分离和功能研究证明系统素在系统抗性中的作用依赖于茉莉酸途径,那么系统素的具体作用是什么?系统素和茉莉酸二者怎样相互作用从而促进受伤和未受伤叶片之间的长距离信号转导?最近对于另一个系统素不敏感突变体*spr1*的分析为回答这些问题提供了重要线索。类似于*spr2*,*spr1*也是系统素介导的信号转导途径的一个抑制子突变。但与其他抗性缺失突变体(如*spr2*)不同,*spr1*最突出的表型是PIs等抗性相关基因在受伤部位

(局部反应)表达正常而在未受伤部位(系统反应)发生了缺陷,说明*spr1*突变主要影响系统抗性^[49]。与此相吻合,*spr1*对一些被认为在局部反应中起作用的信号物质如寡聚糖(oligosaccharide)的反应与正常植物类似。而且,*spr1*对系统素的反应发生了缺陷,外源施加系统素不能诱导*spr1*植物中茉莉酸的积累以及PIs等抗性相关基因的表达。

*spr1*突变体和野生型番茄相互嫁接实验表明,*spr1*突变体丧失了系统抗性的原因是影响了受伤叶片中长途运输的信号分子(系统信号)的产生能力,而不是影响了系统信号在未受伤叶片的识别及转导。这表明*Spr1*参与了从系统素的识别到茉莉酸生物合成之间的信号转导过程,同时表明系统素主要在受伤部位或附近起作用以促进茉莉酸在短时间内积累到一定的水平,从而引起系统性抗性反应。上述*spr1*表现出的系统素特异性的特点暗示*Spr1*基因可能编码系统素的受体SR160或者与之相关的一个系统素特异性的信号转导组分。然而,最近的遗传定位结果表明,*Spr1*和SR160的编码基因(即系统素受体基因)位于不同的染色体上。因此可以推测*Spr1*作为一个系统素特异的信号转导组分起到偶联SR160及其下游元件的功能,从而参与系统素诱导的茉莉酸的生物合成,并最终激活PIs等抗性相关基因的表达。上述表型特点说明*spr1*代表了系统素特异的一个新颖的突变体,预期对*Spr1*基因的克隆以及功能研究将会对解析系统素在抗性反应的长途信号转导途径中的作用提供重要基础。

4 茉莉酸是伤害系统性抗性反应中长途运输的信号分子

自从在番茄中发现系统素以来,这种含有18个氨基酸的短肽就被认为是能够长途运输的抗性反应信号分子。该假说认为系统素首先在受伤部位由前系统素生成,然后通过韧皮部被运输到远处未受伤的叶片中。系统素与靶细胞膜上的受体SR160结合后,引发一系列信号转导事件而激活十八碳烷酸途径以合成茉莉酸,进而诱导抗性相关基因的表达^[5]。然而,这种假说只是被几个间接的证据所支持:()外源系统素被施加到植物受伤害的部位后,可以通过韧皮部进行运输^[9,50];()表达前系统素反义基因的转基因植物系统性抗性反应降低,但还存在基本的局部伤害反应^[10],过量表达前系统素基因的转基

因植物表现为组成型地表达PIs基因,且能够产生一种信号分子可以穿过嫁接接口而在接穗部位诱导PIs基因的表达^[11]。尽管这一假说富有感染力,但最近利用系统抗性反应发生缺陷的番茄突变体所进行的嫁接实验表明,在植物系统性抗性反应中进行长途运输的信号分子是茉莉酸而不是传统认为的系统素^[8]。

*spr2*和*jai1*突变体分别在茉莉酸生物合成和信号转导方面发生了缺陷,因而都丧失了受伤诱导的PIs基因的表达能力。基因分离及功能研究的结果表明,*Spr2*(*LeFad7*)和*Jai1*(*LeCoi1*)分别在茉莉酸的生物合成和信号转导中起重要作用。利用*spr2*和*jai1*为遗传工具,运用经典的嫁接技术把受伤的部位(砧木)和反应部位(接穗)从空间上分离开来,通过追踪标记基因的表达来确定茉莉酸的合成及信号转导在系统性抗性反应中的作用。嫁接实验结果表明,*spr2*不能产生长途运输的信号分子但可以识别该信号分子,而*jai1*不能识别长途运输的信号分子但可以产生该信号分子。系统性抗性反应需要同时具备受伤部位(砧木)完整的茉莉酸合成能力及反应部位(接穗)完整的茉莉酸识别和信号转导能力。对上面实验结果最简单的解释是,茉莉酸或一个来源于十八碳烷酸途径的氧化脂类分子是系统性抗性中长途运输的信号分子。嫁接实验结果同时发现,过量表达前系统素基因的转基因植物(35S::*prosystemin*)产生的信号分子可以通过嫁接而被*spr2*植物(对系统素不敏感)所识别,但不能被茉莉酸不敏感突变体*jai1*所识别。这一发现有力地证明了35S::*prosystemin*转基因植物产生的系统信号是茉莉酸,而不是系统素。这些结果对认为系统素是伤害诱导的抗性反应的长途信号分子的假说是一个较大的修正^[51,52]。施加外源茉莉酸/甲酯茉莉酸到植物叶片上可以诱导远距离未处理叶片中PIs基因的表达,这一结果同样支持了茉莉酸在细胞之间信号转导中的作用。而且,茉莉酸也能够植物韧皮部中运输^[53]。

综上所述,嫁接实验和其他证据对系统素在番茄系统性伤害信号转导中的作用提出了新的挑战,证明了茉莉酸作为长途运输的信号分子在伤害诱导的系统性反应中的核心作用。作为对上述嫁接实验的深入和拓展,需要确定茉莉酸相关化合物的亚细胞或组织特异性定位,精确测定受伤叶片和未受伤叶片中诱导产生的茉莉酸的水平以及用体内同位素标记实验追踪茉莉酸从受伤害的砧木运输到未受

伤接穗中的过程等。

致谢 本工作作为科学技术部国家转基因植物及产业化专项(批准号: JY03A21)、国家杰出青年科学基金(批准号: 30425033)和中国科学院“百人计划”资助项目。

参 考 文 献

- Ryan C A. Proteinase inhibitors in plants, genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annu Rev Phytopathol*, 1990, 28: 425~449[DOI]
- Ryan C A. The search for the proteinase inhibitor-inducing factor, PIIF. *Plant Mol Biol*, 1992, 19: 123~133[DOI]
- Green T R, Ryan C A. Wound inducible proteinase inhibitors in plant leaves, a possible defense mechanism against insets. *Science*, 1972, 175: 776~777
- Ryan C A. Assay and biochemical properties of the proteinase inhibitor inducing factor, a wound hormone. *Plant physiol*, 1974, 54: 328~332
- Ryan C A. Systemin: A polypeptide signal for plant defensive genes. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1998, 14: 1~17[DOI]
- Ryan C A. The systemin signaling pathway, differential activation of plant defensive genes. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1477: 112~121
- Farmer E E, Ryan C A. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *Plant Cell*, 1992, 4: 129~134[DOI]
- Li L, Li C, Lee G I, et al. Distinct roles for jasmonate synthesis and action in the systemic wound response of tomato. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 6416~6421[DOI]
- Pearce G, Strydom D, Johnson S, et al. A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. *Science*, 1991, 253: 895~989
- McGurl B, Pearce G, Orozco-Cardenas M, et al. Structure, expression, and antisense inhibition of the systemin precursor gene. *Science*, 1992, 255: 1570~1573
- 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. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 9799~9802
- Howe G A, Ryan C A. Suppressors of systemin signaling identify genes in the tomato wound response pathway. *Genetics*, 1999, 153: 1411~1421
- Li C, Liu G, Xu C, et al. The tomato *suppressor of prosystemin-mediated responses2* gene encodes a fatty acid desaturase required for the biosynthesis of jasmonic acid and the production of a systemic wound signal for defense gene expression. *Plant Cell*, 2003, 15: 1646~1661[DOI]
- Meindl T, Boller T, Felix G. The plant wound hormone systemin binds with the N-terminal part to its receptor but needs the C-terminal part to activate it. *Plant Cell*, 1998, 10: 1561~1570[DOI]
- Scheer J M, Ryan C A. A 160-kD systemin receptor on the surface of *lycopersicon peruvianum* suspension-cultured cells. *Plant Cell*, 1999, 11: 1525~1536[DOI]
- Scheer J M, Ryan C A. The systemin receptor SR160 from *Lycopersicon peruvianum* is a member of the LRR receptor kinase family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 9585~9590[DOI]
- Yin Y, Wu D, Chory J. Plant receptor kinases: Systemin receptor identified. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 9090~9092[DOI]
- Montoya T, Nomura T, Farrar K, et al. Cloning the tomato *curl3* gene highlights the putative dual role of the leucine-rich repeat receptor kinase tBR11/SR160 in plant steroid hormone and peptide hormone signaling. *Plant Cell*, 2002, 14: 3163~3176[DOI]
- Scheer J M, Pearce G, Ryan C A. Generation of systemin signaling in tobacco by transformation with the tomato systemin receptor kinase gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 10114~10117[DOI]
- Grazzini E, Guillon G, Mouillac B, et al. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature*, 1998, 392: 509~512[DOI]
- Felix G, Boller T. Systemin induces rapid ion fluxes and ethylene biosynthesis in *Lycopersicon peruvianum* cells. *Plant J*, 1995, 7: 381~389[DOI]
- Moyen C, Hammond-Kosack K E, Jones J, et al. Systemin triggers an increase of cytoplasmic calcium in tomato mesophyll cells: Ca^{2+} mobilization from intra- and extracellular compartments. *Plant Cell Environ*, 1998, 21: 1101~1111[DOI]
- Moyen C, Johannes E. Systemin transiently depolarizes the tomato mesophyll cell membrane and antagonizes fusicoccin-induced extracellular acidification of mesophyll tissue. *Plant Cell Environ*, 1996, 19: 464~470
- Farmer E E, Ryan C A. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 7713~7718
- Doares S H, Syeovets T, Weiler E W, et al. Oligogalacturonides and chitosan activate plant defensive genes through the octadecanoid pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 4095~4098
- Turner J G, Ellis C, Devoto A. The jasmonate signal pathway. *Plant Cell*, 2002, 14 (Suppl): S153~S164
- Ishigure S, Kawai-Oda A, Ueda K, et al. The *DEFECTIVE IN ANTHOR DEHISCENCE1* gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2001, 13: 2191~2209[DOI]
- Feussner I, Wasternack C. The lipoxygenase pathway. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 275~297[DOI]
- Schaller F. Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid-derived signalling molecules. *J Exper Bot*, 2001, 52: 11~23[DOI]
- Narváez-Vásquez J, Florin-Christensen J, Ryan C A. Positional specificity of a phospholipase A activity induced by wounding,

- systemin, and oligosaccharide elicitors in tomato leaves. *Plant Cell*, 1999, 11: 2249~2260[DOI]
- 31 Sanders P M, Lee P Y, Biesgen C, et al. The *Arabidopsis DEHISCENCE1* gene encodes an enzyme in the jasmonic acid synthesis pathway. *Plant Cell*, 2000, 12: 1041~1061[DOI]
- 32 Stintzi A, Weber H, Reymond P, et al. Plant defense in the absence of jasmonic acid: The role of cyclopentenones. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 12837~12842[DOI]
- 33 Li C, Schilmiller A L, Liu G, et al. Role of β -oxidation in jasmonate biosynthesis and systemic wound signaling in tomato. *Plant Cell*, 2005, 17: 971~986[DOI]
- 34 Staswick P E, Su W, Howell S H. Methyl jasmonate inhibition of root growth and induction of a leaf protein are decreased in an *Arabidopsis thaliana* mutant. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 6837~6840
- 35 Feys B J F, Benedetti C E, Penfold C N, et al. *Arabidopsis* mutants selected for resistance to the phytotoxin coronatine are male sterile, insensitive to methyl jasmonate, and resistant to a bacterial pathogen. *Plant Cell*, 1994, 6: 751~759[DOI]
- 36 Devoto A, Turner J G. Regulation of jasmonate-mediated plant responses in *Arabidopsis*. *Ann Bot*, 2003, 92: 329~337[DOI]
- 37 Xie D X, Feys B F, James S, et al. COI1, an *Arabidopsis* gene required for jasmonate-regulated defense and fertility. *Science*, 1998, 280: 1091~1094[DOI]
- 38 Bai C, Sen P, Hofmann K, et al. SKP1 connects cell cycle regulators to the ubiquitin proteolysis machinery through a novel motif, the F-box. *Cell*, 1996, 86: 263~274[DOI]
- 39 Xu L, Liu F, Lechner E, et al. The SCFCOI1 ubiquitin-ligase complexes are required for jasmonate response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2002, 14: 1919~1935[DOI]
- 40 Ciechanover A, Orian A, Schwartz A L. Ubiquitin-mediated proteolysis: Biological regulation via destruction. *Bioessays*, 2000, 22: 442~451[DOI]
- 41 Ellis C, Karafyllidis I, Wasternack C, et al. The *Arabidopsis* mutant *cev1* links cell wall signaling to jasmonate and ethylene responses. *Plant Cell*, 2002, 14: 1557~1566[DOI]
- 42 Devoto A, Nieto-Rostro M, Xie D, et al. COI1 links jasmonate signalling and fertility to the SCF ubiquitin-ligase complex in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2002, 32: 457~466[DOI]
- 43 Staswick P E, Tiryaki I, Rowe M L. Jasmonate response locus JAR1 and several related *Arabidopsis* genes encode enzymes of the firefly luciferase superfamily that show activity on jasmonic, salicylic, and indole-3-acetic acids in an assay for adenylation. *Plant Cell*, 2002, 14: 1405~1415[DOI]
- 44 Tiryaki I, Staswick P E. An *Arabidopsis* mutant defective in jasmonate response is allelic to the auxin-signaling mutant *axr*. *Plant Physiol*, 2002, 130: 887~894[DOI]
- 45 Berger S. Jasmonate-related mutants of *Arabidopsis* as tools for studying stress signaling. *Planta*, 2002, 214: 497~504[DOI]
- 46 Li X, Schuler M A, Berenbaum M R. Jasmonate and salicylate induce expression of herbivore cytochrome P450 genes. *Nature*, 2002, 419: 712~715[DOI]
- 47 Rotem R, Heyfets A, Fingrut O, et al. Jasmonates: Novel anticancer agents acting directly and selectively on human cancer cell mitochondria. *Cancer Res*, 2005, 65: 1984~1993[DOI]
- 48 Stratmann J W, Ryan C A. Myelin basic protein kinase activity in tomato leaves is induced systemically by wounding and increases in response to systemin and oligosaccharide elicitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 11085~11089[DOI]
- 49 Lee G I, Howe G A. The tomato mutant *spr1* is defective in systemin perception and the production of a systemic wound signal for defense gene expression. *Plant J*, 2003, 33: 567~576[DOI]
- 50 Narváez-Vásquez J, Pearce G, Orozco-Cardenas M, et al. Autoradiographic and biochemical evidence for the systemic translocation of systemin in tomato plants. *Planta*, 1995, 195: 593~600
- 51 Ryan C, Moura D S. Systemic wound signaling in plants, A new perception. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 6519~6520[DOI]
- 52 Stratmann J W. Long distance run in the wound response—jasmonic acid is pulling ahead. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 247~250[DOI]
- 53 Zhang Z P, Baldwin I T. Transport of [14 C] jasmonic acid from leaves to roots mimics wound-induced changes in endogenous jasmonic pools in *Nicotiana glauca*. *Planta*, 1997, 203: 436~441[DOI]

(2005-05-16 收稿, 2005-07-08 收修稿稿)