

叶绿体介导的抗病毒防御和病毒反防御研究进展

杨萌, 赵晓菲, 李大伟*

中国农业大学生物学院植物抗逆高效全国重点实验室, 北京 100193

* 联系人, E-mail: Dawei.Li@cau.edu.cn

2024-12-17 收稿, 2025-02-15 修回, 2025-03-20 接受, 2025-03-24 网络版发表

国家自然科学基金(32470150)、中国科协青年人才托举工程(2022QNRC001)和中国农业大学2115人才培养发展支持计划资助

摘要 叶绿体不仅是光合作用的核心细胞器, 还在植物激素的合成、活性氧(ROS)的产生、环境变化的感知、生物和非生物胁迫的响应, 以及细胞器之间的信号传递等方面发挥着重要的作用. 随着对植物病毒与寄主之间相互作用研究的不断深入, 越来越多的研究发现叶绿体在病毒侵染过程中具有双重作用. 一方面, 叶绿体通过合成植物抗病毒相关激素(如水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)和脱落酸(ABA)), 诱导ROS的迸发、产生叶绿体基质小管, 以及向细胞核逆向传输信号分子等方式, 参与植物抗病毒防御反应, 抵御病毒的侵染; 另一方面, 病毒编码的蛋白既可以利用叶绿体组分以完成自身的复制和侵染循环, 也可通过干扰叶绿体介导的抗病反应(如抑制ROS迸发、阻断激素合成、破坏叶绿体基质小管形成及和信号传递等), 促进病毒在宿主中的持续侵染. 本文综述了近年来叶绿体抗病毒防御机制和病毒反防御策略的新进展, 系统阐述了叶绿体在植物与病毒相互作用过程中所发挥的复杂功能.

关键词 叶绿体, 病毒, 相互作用, 防御, 反防御

作为植物光合作用的主要场所, 叶绿体(chloroplast) 在植物生长发育过程中发挥着至关重要的作用, 其不仅参与脂肪酸、膜磷脂、氨基酸、淀粉等重要细胞组分的合成, 还负责多种植物激素和信号分子的合成, 如水杨酸(salicylic acid, SA)^[1]、茉莉酸(jasmonic acid, JA)前体^[2]、脱落酸(abscisic acid, ABA)以及活性氧(reactive oxygen species, ROS)^[3]. 近年研究表明, 叶绿体具备感知和响应非生物胁迫的能力, 从而提高植物对环境的适应性. 在面对病原物入侵等生物胁迫时, 叶绿体能够通过合成并释放抗性信号分子(如钙离子、ROS、SA或JA等), 参与植物的抗病反应^[4].

作为一种严格寄生的病原物, 病毒侵染通常会破坏寄主植物细胞的功能, 并通过直接或间接的作用导致叶绿体形态及功能受到不同程度的损伤^[5-7], 如形成基质小管(stromule)、胞质内涵体(cytoplasmic invagination, CI)^[5,8-11]、同时诱发叶绿体氧化应激^[12-15]、干

扰叶绿体的稳态维持^[16,17], 以及破坏光合作用过程^[18]等, 最终导致叶片出现黄化和花叶等症状^[13]. 在病毒侵染的过程中, 叶绿体介导的抗病毒防御反应与病毒的反防御机制之间存在复杂的调控关系, 一方面, 叶绿体通过免疫反应抵御病毒的侵染; 另一方面, 病毒蛋白通过操纵或“劫持”叶绿体组分完成自身的复制过程, 同时抑制叶绿体的抗病毒反应, 从而促进病毒的持续侵染.

1 病毒侵染改变叶绿体形态

自20世纪40年代以来, 研究人员对病毒侵染细胞中叶绿体的超微结构变化进行了系统的观察和研究^[19], 研究表明, 病毒侵染后会致叶绿体数量减少、分布异常, 如核周叶绿体聚集现象(perinuclear chloroplast clustering, PCC), 以及叶绿体形态的显著改变. 具体表现为叶绿体肿胀、类囊体结构紊乱、膜结构的异

引用格式: 杨萌, 赵晓菲, 李大伟. 叶绿体介导的抗病毒防御和病毒反防御研究进展. 科学通报, 2025, 70: 4328–4337

Yang M, Zhao X, Li D. Chloroplast-mediated antiviral defense and viral counterdefense (in Chinese). Chin Sci Bull, 2025, 70: 4328–4337, doi: 10.1360/TB-2024-1384

常,如膜凹陷、膜膨出、囊泡结构形成、向外延伸形成基质小管等,导致淀粉粒积累增多,并最终导致叶绿体稳定性的破坏(图1(a)).关于病毒侵染引起叶绿体形态变化的机制,前人进行了系统的归纳和总结^[4,13,20],本部分将以在叶绿体上进行复制的病毒为例,重点阐述病毒侵染过程中叶绿体形态变化的最新研究进展。

1.1 病毒侵染引起叶绿体形态变化

正义单链RNA病毒在寄主细胞内的复制过程通常伴随着内膜系统的重塑(remodeling),以构建适宜病毒复制的微环境,从而逃逸寄主细胞的RNA沉默等防御机制^[5]。通过内膜系统重塑建立的病毒复制结构能够实现病毒RNA、复制相关蛋白及寄主因子的有效区室化(compartmentalization),从而促进病毒基因组的高效合成^[5,21]。

在芜菁黄花叶病毒(turnip yellow mosaic virus, TYMV)为例,其侵染可诱导叶绿体外膜向内凹陷,形

成胞质内涵体(cytoplasmic inclusion, CI)结构^[22],作为病毒的复制场所^[23]。此外, TYMV的多功能蛋白P69通过与转录因子GLKs (GOLDEN 2-LIKEs) 交互,显著降低了包括HEMA1、LHCB1.1、GUN4、LHCB2.1在内的光合作用相关蛋白的合成,进一步导致叶绿体损伤及植物褪绿等症状^[24]。

大麦条纹花叶病毒(barley stripe mosaic virus, BSMV)侵染会造成叶绿体膜发生剧烈变化,表现为类囊体减少、基质片层排列混乱,以及淀粉粒的异常积累等现象^[15,25]。在BSMV侵染细胞中, CI结构中含有大量的病毒样颗粒 (virus-like particles, VLPs) 和双链RNA (dsRNA)复制中间产物,并且病毒的复制酶大亚基 α 和小亚基 γ 均可定位于叶绿体^[26,27],表明叶绿体CI结构是BSMV的复制位点,其中 α 的单独表达即可诱导CI结构的形成,但其分子机制仍有待进一步研究^[15]。

芜菁花叶病毒(turnip mosaic virus, TuMV) 编码的膜整合蛋白6k2定位于内质网(endoplasmic reticulum,

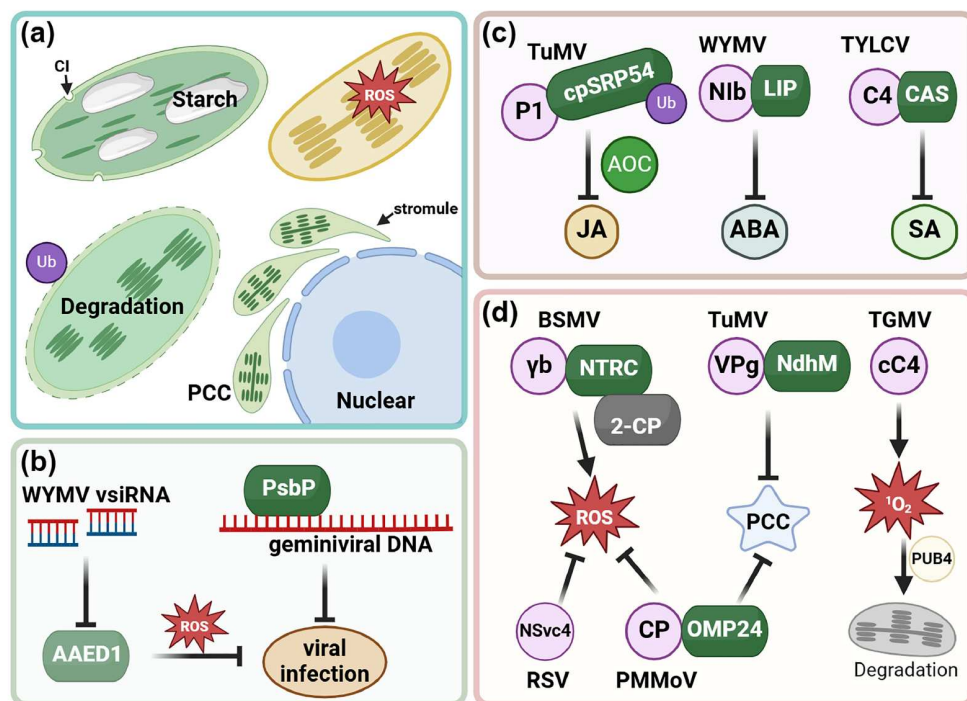


图 1 病毒与叶绿体之间的相互作用。(a) 病毒侵染造成叶绿体形态变化, 导致叶绿体膜重塑, 形成胞质内涵体 (CI) 结构、淀粉粒积累、ROS 水平上升、产生基质小管(stromule) 结构并向核周聚集(PCC), 并通过对叶绿体膜蛋白的泛素化降解干扰叶绿体稳态; (b) 核酸水平的调控提高叶绿体抗病毒防御反应; (c) 病毒通过抑制叶绿体产生抗病毒激素促进自身侵染; (d) 病毒蛋白通过调控叶绿体氧化还原状态、抑制叶绿体核周聚集以及叶绿体稳态促进自身侵染。此图由BioRender.com生成

Figure 1 The interplay between viruses and chloroplast. (a) Virus infection destroys the morphology of chloroplast, resulting in the chloroplast membrane remodeling and the CI formation, the starch accumulation, ROS burst, the formation of stromule and perinuclear chloroplast clustering, and facilitating the degradation of chloroplast. (b) Regulation at the nucleic acid level enhances the antiviral defense response of chloroplast. (c) Viruses inhibit the production of antiviral plant hormones to facilitate viral infection. (d) Viruses sustain infection by the regulation of chloroplast redox homeostasis, PCC suppression, and disruption of the chloroplast homeostasis (Created with BioRender.com)

ER),并在内质网输出位点(ER exit sites, ERES)处介导形成由ER衍生的病毒复制囊泡结构,这些囊泡沿微丝移动到叶绿体,并与之融合,在叶绿体外周形成伸长的管状结构^[28,29]。病毒RNA、复制中间体dsRNA以及复制相关蛋白均富集于叶绿体定位的6k2囊泡中,并最终在叶绿体周围形成特异化的复制区室,从而促进病毒基因组的高效合成^[29]。

1.2 病毒侵染诱导叶绿体基质小管产生

基质小管是一种充满叶绿体基质的管状结构,能够从多种类型的质体中延伸产生,包括原质体(proplastid)、叶绿体、淀粉质体(amyloplast)、黄化质体(etio-plast)和色素质体(chromoplast)。作为一种高度动态的细胞器,基质小管以肌动蛋白(actin)为动力基础,在微管和内质网上延伸,与其他质体建立物理连接,从而促进细胞内的物质交换和信号传递。同时,基质小管还能与细胞膜、线粒体以及细胞核形成紧密的物理连接^[30-32]。基质小管结构的形成可以被多种过程诱导触发,包括菌根共生、淀粉粒形成、外源性碳水化合物(如蔗糖或葡萄糖)的添加,以及生物和非生物胁迫等^[33]。

烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)的侵染能够诱导叶绿体基质小管的形成^[11]。在效应子触发的免疫反应(effector-triggered immunity, ETI)中, TMV p50蛋白或细菌效应子引发的细胞坏死的初期即可诱导基质小管形成,且这些结构通常位于细胞坏死位点的边缘,表明细胞间坏死相关信号可能参与了基质小管的形成。此外,外源施加过氧化氢(H₂O₂)或SA也能诱导产生基质小管的产生。在免疫反应过程中,基质小管向细胞核延伸和聚集,逆向传输H₂O₂信号分子至细胞核中,参与植物细胞免疫防御反应^[10]。在flg22触发的病原相关分子模式激发的免疫反应(pattern-triggered immunity, PTI)中,ROS的迸发同时,叶绿体基质小管也会迅速形成,表明叶绿体基质小管结构的形成与植物免疫过程中细胞的生理响应密切相关^[8]。

健康植株中,叶绿体热激蛋白70(chloroplast heat shock protein 70, cpHSC70)以点状形式定位于叶绿体及其向外延伸的丝状结构中。当苘麻花叶病毒(abutilon mosaic virus, AbMV)侵染植物时,能够诱导含有分子伴侣cpHSC70的基质小管形成,这些结构连接细胞内其他质体并向细胞外周延伸,从而实现细胞内外的分子交换^[34]。此外,AbMV的侵染还诱导了叶绿体在核周区

域聚集。

进一步研究表明,番茄黄曲叶病毒(tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)和甜菜曲顶病毒(beet curly top virus, BCTV)等双生病毒(geminivirus)的侵染或其复制相关蛋白的瞬时表达均能够诱导依赖ROS的叶绿体核周聚集现象。这一发现表明,在病原物入侵过程中,叶绿体核周聚集可能是一种广谱的植物防御响应机制^[35,36]。

2 叶绿体蛋白参与病毒的侵染循环

研究表明,叶绿体及其组分在病毒复制的不同阶段均发挥重要作用,病毒利用叶绿体组分进行复制及侵染循环。在BSMV、TYMV、TuMV以及剪秋罗环斑病毒(lychnis ringspot virus, LRSV)等病毒侵染过程中,叶绿体通过自身膜结构的形态变化,为病毒提供了复制所需的场所^[5]。此外,定位于叶绿体的蛋白还在病毒侵染的不同阶段表现出不同的功能。

2.1 叶绿体蛋白促进病毒复制

竹子花叶病毒(bamboo mosaic virus, BaMV)的复制和侵染过程依赖于叶绿体蛋白的功能。研究表明,叶绿体铁氧还蛋白-NADP⁺氧化还原酶(ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase, FNR)通过与BaMV的复制酶蛋白相互作用,下调FNR的表达则会导致BaMV的外壳蛋白(coat protein, CP)和病毒RNA积累水平显著降低,而丧失叶绿体定位或失去酶活性的FNR均不能促进BaMV的侵染^[37]。进一步研究发现, BaMV侵染还能诱导叶绿体光合系统II中的光合作用放氧复合体蛋白PsbO1(photosystem II oxygen-evolving complex protein)从类囊体重定位至叶绿体基质,并与BaMV亚基因组启动子结合,选择性地增强病毒亚基因组的转录,从而促进病毒复制^[38]。此外,叶绿体磷酸甘油酸激酶(chloroplast phosphoglycerate kinase, chl-PGK)^[39,40]和叶绿体热激蛋白cpHsp70-2^[41]等均在BaMV侵染过程中发挥正调控作用。

在烟草脉带花叶病毒(tobacco vein banding mosaic virus, TVBMV)的侵染过程中, PsbO1被TVBMV的6k2蛋白招募至病毒复制复合体(viral replication complex, VRC),从而促进病毒的侵染^[42]。此外, TVBMV的复制酶N1b蛋白与叶绿体核糖体蛋白大亚基(ribosomal protein large subunit 1, RPL1)发生相互作用并将其招募至VRC中。RPL1通过竞争性结合N1b蛋白,抑制自噬相关

蛋白Beclin1对病毒复制酶的降解作用,从而保护病毒复制酶免受自噬途径的破坏,促进病毒的复制和侵染^[43]。

2.2 叶绿体蛋白促进病毒运动

红三叶草坏死花叶病毒(red clover necrotic mosaic virus, RCNMV)的运动蛋白(movement protein, MP)与叶绿体蛋白3-磷酸甘油醛脱氢酶A(glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase-A, GAPDH-A)相互作用,并将其部分重定位至VRC处,从而介导MP与VRC的结合。研究表明,下调GAPDH-A的表达并不会影响病毒在单个细胞中的复制和RNA积累水平,但会导致整个侵染叶片中病毒RNA积累量显著减少,表明GAPDH-A在RCNMV的胞间运输过程中发挥正向调控作用^[44]。

对于烟草花叶病毒属的番茄花叶病毒(tomato mosaic virus, ToMV)和TMV,其运动蛋白均与叶绿体中Rubisco蛋白的小亚基(Rubisco small subunit, RbCS)在胞间连丝处相互作用,实验结果表明,下调RbCS基因的转录会显著影响ToMV和TMV的胞间运输及长距离运动能力,说明在烟草花叶病毒属病毒侵染过程中,“劫持”RbCS蛋白以维持病毒的高效侵染可能是一个普遍存在的策略^[45]。

在DNA病毒如AbMV的侵染过程中,叶绿体定位的伴侣分子cpHSC70-1与病毒MP发生相互作用,并共定位于细胞外周和叶绿体基质小管中;研究发现,下调cpHSC70的表达并不会影响病毒DNA的积累,但会抑制AbMV的运动能力,表明AbMV可能通过MP与cpHSC70-1的相互作用,沿着基质小管向细胞外周运动,从而完成病毒的胞间运输过程^[34]。

3 叶绿体在植物抗病毒防御中的作用

叶绿体作为植物细胞的重要组成部分,在病原物侵染的早期阶段能够感知入侵并触发一系列抗性防御信号,包括胞质Ca²⁺浓度的波动、ROS的产生,以及相关防御激素SA和JA的合成等,从而介导植物防御反应^[12]。其中,定位于叶绿体的蛋白通过直接调控叶绿体中ROS的合成,诱导用以传递防御信号的基质小管的产生,共同构成了叶绿体介导的抗病毒免疫系统^[3,4,12]。

3.1 叶绿体蛋白抑制植物病毒侵染

研究表明,多种叶绿体蛋白在抗病毒侵染过程中发挥了重要作用。而氧化还原失衡导致ROS的积累是

植物应对各种胁迫的普遍反应。在叶绿体进行复制的病毒(BSMV、LRSV和TYMV等)的侵染引起叶绿体H₂O₂的过量积累,破坏了叶绿体的氧化还原稳态,导致叶绿体产生氧化应激。瞬时和转基因稳定表达的叶绿体电子传递链中的还原型辅酶II(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NADPH)依赖的硫氧还蛋白还原酶C(NADPH-dependent thioredoxin reductase C, NTRC)均能够显著抑制BSMV的侵染,而敲除NTRC基因则导致BSMV的病毒积累量增加和侵染症状加重,证明NTRC等叶绿体抗氧化蛋白介导的抗氧化防御具有抗病毒侵染的作用^[14]。

TuMV侵染本生烟(*Nicotiana benthamiana*)会降低光系统II光捕获叶绿素a/b复合体蛋白3(light-harvesting chlorophyll a/b complex protein 3, LHCb3)的表达,进一步诱导细胞中ROS的迸发,进而抑制TuMV的侵染^[46]。

Bhat等人^[47]研究发现, TMV复制复合体组分中包含两种叶绿体蛋白, Rubisco激活酶(Rubisco activase, RCA)和ATP合成酶γ亚基(ATP-synthase γ-subunit, AtpC), 下调AtpC和RCA的表达均增加了TMV的积累量,并加重发病症状,表明RCA和AtpC蛋白在病毒侵染过程中发挥了抗病毒作用。类似地, GAPDH-A和PsbQ等叶绿体蛋白也具有抑制水稻条纹病毒(rice stripe virus, RSV)侵染的作用^[48]。光诱导蛋白(light-induced protein, LIP)下调表达的小麦植株更易感小麦黄花叶病毒(wheat yellow mosaic virus, WYMV),说明叶绿体LIP蛋白正调控寄主的抗性^[49]。这些研究结果表明,叶绿体各组分以不同形式参与了叶绿体的抗病毒免疫过程。

来源于番茄的CC-NLR(coiled-coil nucleotide-binding leucine-rich repeats)类抗病毒基因Tm-2²,通过识别TMV或ToMV等烟草花叶病毒属病毒的运动蛋白MP,能够激活植物对病毒的极端抗性^[50]。尽管烟草花叶病毒属病毒可能通过“劫持”叶绿体蛋白RbCS以维持病毒的高效侵染^[45],但研究发现,RbCS基因表达水平的下调不仅削弱了Tm-2²介导的对病毒的极端抗性,还显著增强了ToMV在接种部位的致病性,这一结果表明,RbCS在病毒侵染过程中具有双重功能,一方面参与RbCS在ToMV的长距离运输,另一方面,在局部组织发挥抗病毒作用^[45]。

3.2 核酸水平的调控提高叶绿体抗病毒防御反应

WYMV侵染过程中产生的源自病毒的小干扰

RNA(virus-derived small interference RNA, vsiRNA)以剂量依赖的方式抑制叶绿体类硫氧还蛋白(thioredoxin-like)AAED1的表达,阻碍了叶绿体中ROS的清除,导致细胞中ROS水平升高,进而增强小麦对多种病毒及条锈菌的抗性,具体而言,寄主细胞通过识别vsiRNA,激活由ROS信号介导的免疫反应,从而实现抗病毒防御^[51].

此外,叶绿体光合系统II光合作用放氧复合体蛋白(photosystem II subunit P protein, PsbP)与DNA病毒萝卜曲叶病毒(radish leaf curl virus, RaLCV)的DNA发生非特异性结合,抑制病毒的复制.过表达PsbP蛋白可以减轻病毒的早期症状,而下调*PsbP*表达不仅能够促进RaLCV对本生烟的侵染^[52],还能增加RNA病毒RSV的积累水平并产生更严重的病害症状^[53],这些结果表明,PsbP对DNA病毒和RNA病毒均具有广谱的抗性作用(图1(b)).

3.3 叶绿体基质小管在病毒侵染中的作用

高度动态的管状延伸结构——基质小管是植物细胞器,尤其是叶绿体的典型特征之一,基质小管通常与其他细胞器相连通,在细胞内作为信号传递通道介导细胞器间的协同作用^[33].在正常情况下,叶绿体基质小管的数量维持在较低的基础水平,然而,当植物PTI或ETI被激活时,基质小管能够快速诱导形成^[8].

在植物病原物侵染过程中,叶绿体及其基质小管直接参与了NLR类受体蛋白介导的效应子识别及ETI激活过程.例如,在TMV侵染的细胞中,定位于叶绿体的N受体互作蛋白NRIP1(N receptor-interacting protein 1)能够介导N蛋白与TMV p50蛋白的相互识别,并将自身重定位至细胞质和细胞核中,进而激活植物ETI免疫反应^[11].其中,依赖SA形成的基质小管结构不仅介导NRIP1由叶绿体转运至细胞核^[10],还参与了叶绿体产生的H₂O₂逆向运输至细胞核的过程,从而在一定程度上激活或加强了免疫反应,这一发现说明,基质小管在植物免疫过程中发挥着重要的作用.最近有研究认为基质小管的形成是NLR介导免疫反应的最早标志之一^[54].

最近的研究进一步发现,在马铃薯Y病毒(potato virus Y, PVY)侵染过程中,对所致细胞坏死区域周围的叶绿体氧化还原状态以及基质小管的形成进行观察分析,发现临近细胞坏死区的叶绿体呈现较强的氧化状态,并且形成了较多的基质小管结构,然而,在无法合成SA的*NahG*转基因植株中几乎观察不到基质小管

结构,同时植物对病毒表现出较弱的抗性,这一发现进一步证实了依赖SA的叶绿体基质小管的产生在细胞间ROS信号的传输以及介导HR抗性反应的过程中具有重要作用^[55].

此外,叶绿体中的NADH脱氢酶样复合物M亚基(NADH dehydrogenase-like complex M subunit, NdhM)在基质小管形成以及介导叶绿体核周聚集过程中也发挥重要的作用,TuMV侵染过程中,NdhM被快速诱导上调,并通过刺激核周叶绿体聚集过程,将抗性信号由叶绿体逆向运输至细胞核中,从而激活抗性基因的表达,增强植物对TuMV的抗性反应^[56].

4 病毒操纵寄主因子抵御叶绿体介导的防御反应

4.1 病毒蛋白通过调控叶绿体氧化还原状态促进自身侵染

虽然在病毒侵染过程中,叶绿体电子传递链的各组分通过不同机制发挥抗性作用,但病毒蛋白能够通过“劫持”电子传递链中的关键组分,操纵叶绿体功能及其氧化还原状态,从而发挥反防御作用.例如,RNA病毒BSMV编码的多功能蛋白 γ b通过与NTRC互作竞争性干扰了其下游蛋白2-Cys过氧化物酶(2-CP)的结合,抑制NTRC对叶绿体中H₂O₂的还原,维持了病毒复制所需的偏氧化微环境,从而促进了病毒的持续侵染^[14].此外,RSV运动蛋白NSvc4在叶绿体中大量积累,干扰ROS的产生并降低了抗性相关基因的转录水平,从而抑制寄主植物的抗病反应^[48].RSV病毒编码的另一非结构蛋白——病害特异蛋白SP(disease-specific protein)与叶绿体蛋白PsbP直接相互作用,并将其重定位或滞留在胞质区,抑制PsbP介导的防御反应,从而促进病毒侵染并加重寄主植物中的症状^[53].

双生病毒RaLCV卫星DNA编码的 β C1蛋白定位于叶绿体,是病毒的关键致病因子^[57].不编码 β C1蛋白的RaLCV突变体病毒侵染寄主植物后不会引起明显症状或改变叶绿体形态,而野生型病毒侵染和瞬时表达 β C1蛋白则会导致寄主植物出现明显的发病症状.研究发现, β C1蛋白的表达显著下调了叶绿素合成等相关基因的转录水平^[58],同时通过与PsbP直接相互作用,干扰PsbP与双生病毒DNA的非特异结合,解除PsbP对病毒侵染的抑制作用,从而促进病毒侵染并加重发病症状^[52].

4.2 病毒通过抑制叶绿体产生抗病毒激素促进自身侵染

JA是植物抗病毒免疫中的重要激素,多种病毒通过干扰JA通路相关蛋白的转录及稳定性来拮抗JA介导的防御反应^[59]。氧化丙烯环化酶(allene oxide cyclase, AOC)作为JA生物合成的关键酶,在叶绿体中通过叶绿体信号识别颗粒(chloroplast signal recognition particle, cpSRP)蛋白转运复合体定位到类囊体膜,经过级联催化反应,在叶绿体中合成JA的前体12-氧代-植物二烯酸(oxylin 12-oxo-phytodienoic acid, OPDA)。为了抑制JA的抗病毒作用, TuMV的P1蛋白直接结合叶绿体定位的cpSRP54蛋白,导致cpSRP54经泛素-26S蛋白酶系统降解,进而干扰AOC蛋白向类囊体膜的转运,从而阻断JA的生物合成途径,促进TuMV的侵染^[60]。同样的,在辣椒轻斑驳病毒(pepper mild mottle virus, PMMoV)和马铃薯X病毒(potato virus X, PVX)等RNA病毒的侵染过程中, cpSRP54的表达同样受到抑制,表明cpSRP54可能是广谱的抑制JA介导的抗病毒防御的靶向的共同位点^[60]。

WYMV的侵染显著抑制了LIP 蛋白的转录水平,研究表明,而WYMV的Nib蛋白与LIP蛋白直接发生相互作用,致使LIP的叶绿体定位发生改变,异位及下调表达的LIP蛋白进一步抑制ABA相关基因的表达,干扰ABA信号通路的抗病毒作用,从而促进WYMV的在宿主中的侵染过程^[49]。

DNA病毒TYLCV通过其致病因子C4蛋白与外壳蛋白复合体(coat protein complex I, COP I)复合体的 β 亚基相互作用,使其从细胞膜重定位至叶绿体中^[36],重定位的C4蛋白与类囊体膜定位的钙感应受体(calcium sensing receptor, CAS)直接结合,抑制叶绿体依赖的SA的生物合成,进一步促进病毒侵染能力^[61]。在其他双生病毒如甜菜曲顶病毒(beet curly top virus, BCTV)和东非木薯花叶病毒(east African cassava mosaic virus, EACMV)的侵染过程中, COP I复合体同样参与了C4蛋白向叶绿体的重定位过程,并对病毒侵染过程起到了正调控作用^[36](图1(c))。

4.3 病毒蛋白干扰核周叶绿体聚集介导的抗病反应

NdhM可定位于细胞核、叶绿体、细胞膜及叶绿体基质小管处,并能诱导叶绿体在细胞核外周聚集。TuMV的末端结合蛋白(viral protein genome-linked,

VPg)通过与NdhM相互作用,将其滞留在细胞核中,导致叶绿体核周聚集现象显著减少,从而促进病毒侵染进程(图1(d))^[56]。此外, PMMoV的CP蛋白可以直接与叶绿体外膜蛋白(outer membrane protein 24, OMP24)互作,抑制OMP24介导的抗性反应,包括活性氧的积累、基质小管的诱导产生以及核周叶绿体聚集等,进而促进病毒侵染^[62]。值得注意的是, OMP24的超表达也促进了马铃薯纺锤块茎类病毒(*potato spindle tuber viroid*, PSTVd)的侵染,尽管OMP24与PSTVd并无直接相互作用,表明OMP24介导的核周叶绿体聚集现象可能为PSTVd的侵染提供了适宜的微环境^[63]。

4.4 病毒侵染干扰叶绿体稳态

DNA病毒番茄金色花叶病毒(tomato golden mosaic virus, TGMV)通过核糖体渗漏扫描的翻译策略,分别从同一编码框中编码叶绿体定位的C4蛋白(chloroplast C4, cC4)以及膜定位的C4蛋白(membrane C4, mC4)。叶绿体定位的cC4诱导叶绿体中单线氧(singlet oxygen, $^1\text{O}_2$)的产生,进而招募细胞质中E3泛素连接酶(plant U-box 4, PUB4)泛素化叶绿体外膜蛋白,通过降低叶绿体稳态的方式抑制叶绿体介导的防御反应(图1(d))^[16]。此外,金腰箭黄化明脉病毒(synedrella yellow vein clearing virus, SyYVCV)的致病蛋白 β C1在寄主植物中调控DNA损伤修复(DNA damage and repair, DDR)基因的表达。在不影响细胞核DNA的情况下, β C1通过诱导叶绿体特异核酶DPD1的表达促进了叶绿体DNA的降解,同时, β C1蛋白与叶绿体DDR蛋白(recombinase 1, RecA1)相互作用,引发叶绿体基因损伤效应,抑制叶绿体介导的防御反应,从而促进病毒侵染和症状的发生^[17]。

5 总结与展望

叶绿体作为植物细胞中信号传递的枢纽和中心^[64-66],在感知和响应环境变化、生物胁迫以及非生物胁迫过程中发挥着重要的作用,同时通过不同的机制,如产生基质小管以及核周叶绿体聚集等,与细胞核、线粒体、细胞质膜等各细胞器和结构产生联系,并进行信号传递。在植物免疫过程中,叶绿体同样也发挥着至关重要的作用,作为病原物反防御策略的靶标之一,细菌、病毒等病原体的效应子均能够直接或间接靶向叶绿体介导的防御反应,从而维持自身的侵染^[8,13,20,64,67,68]。但由于叶绿体复杂的调控机制,其在植

物抗病免疫过程中所发挥的功能以及病原物侵染过程中对其造成的损伤等机制仍需进一步阐明。

病毒的侵染通常会造成叶片白化、黄化或花叶的表型,表明寄主植物叶绿体的功能可能受到了损伤。利用叶绿体膜结构建立复制位点的病毒,通常会导致叶绿体的形态变化,从而影响叶绿体的正常生理功能,如BSMV在侵染过程中诱导叶绿体外膜凹陷形成CI结构作为病毒的复制位点,同时引起叶绿体基质片层排列异常以及淀粉粒积累,导致叶绿体形态严重受损^[15]。研究发现BSMV复制酶蛋白 α 的瞬时表达即可诱导叶绿体产生类似CI结构,但其机制尚需进一步解析。另一方面,即使不以叶绿体为复制场所的病毒,在侵染时也会造成叶绿体形态受损,产生花叶等症状^[13,57],如双生病毒侵染时其卫星DNA编码的 β C1蛋白会导致非常严重的侵染表型, β C1的表达会对叶绿体产生毒性,破坏叶绿体结构和功能,然而其具体机制也尚不明确。

叶绿体作为高度动态化的细胞器,其通过基质小

管与细胞内不同组分或细胞器连接,实现信号传输和大分子物质的转运^[8,65,69]。尽管目前对基质小管结构的研究逐渐深入,但在病毒侵染过程中,基质小管结构产生的机制、丝状结构走向的调控、叶绿体向细胞核外周聚集现象的介导信号等一系列关键问题仍未得到解答。此外,病毒不同组分之间是否对基质小管结构的产生具有拮抗作用,以及病毒不同组分与叶绿体之间的相互作用关系的机制仍有待进一步探究。进一步研究基质小管的形成机制及其在病毒侵染循环中的作用,将有助于深入理解病毒与叶绿体之间的复杂关系,并为抗病毒策略的开发提供新的思路。

由于叶绿体含有约3000多种蛋白,其中约90%由核基因编码^[67],其调控网络极为复杂,解析叶绿体介导的防御反应及其分子机制是叶绿体与植物病毒相互作用中的关键问题,探索如何调节或利用叶绿体蛋白提高作物产量及对植物病原物的抗性也是今后研究的热点,这将为植物抗病分子育种领域提供重要理论依据。

参考文献

- Peng Y, Yang J, Li X, et al. Salicylic acid: biosynthesis and signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2021, 72: 761–791
- Li M, Yu G, Cao C, et al. Metabolism, signaling, and transport of jasmonates. *Plant Commun*, 2021, 2: 100231
- Li M, Kim C. Chloroplast ROS and stress signaling. *Plant Commun*, 2022, 3: 100264
- Yang F, Xiao K, Pan H, et al. Chloroplast: the emerging battlefield in plant–microbe interactions. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 637853
- Jin X, Cao X, Wang X, et al. Three-dimensional architecture and biogenesis of membrane structures associated with plant virus replication. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 57
- Reinero A, Beachy R N. Reduced photosystem II activity and accumulation of viral coat protein in chloroplasts of leaves infected with tobacco mosaic virus. *Plant Physiol*, 1989, 89: 111–116
- Takahashi H. Changes in the activity and the polypeptide composition of the oxygen-evolving complex in photosystem II of tobacco leaves infected with cucumber mosaic virus strain Y. *Mol Plant Microbe Interact*, 1992, 5: 269
- Jung S, Woo J, Park E. Talk to your neighbors in an emergency: stromule-mediated chloroplast-nucleus communication in plant immunity. *Curr Opin Plant Biol*, 2024, 79: 102529
- Rong W, Wang X, Wang X, et al. Molecular and ultrastructural mechanisms underlying yellow dwarf symptom formation in wheat after infection of barley yellow dwarf virus. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 1187
- Caplan J L, Kumar A S, Park E, et al. Chloroplast stromules function during innate immunity. *Dev Cell*, 2015, 34: 45–57
- Caplan J L, Mamillapalli P, Burch-Smith T M, et al. Chloroplastic protein NRIP1 mediates innate immune receptor recognition of a viral effector. *Cell*, 2008, 132: 449–462
- Liu J, Gong P, Lu R, et al. Chloroplast immunity: a cornerstone of plant defense. *Mol Plant*, 2024, 17: 686–688
- Zhao J, Zhang X, Hong Y, et al. Chloroplast in plant-virus interaction. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1565
- Wang X, Jiang Z, Yue N, et al. *Barley stripe mosaic virus* γ b protein disrupts chloroplast antioxidant defenses to optimize viral replication. *EMBO J*, 2021, 40: e107660
- Jin X, Jiang Z, Zhang K, et al. Three-dimensional analysis of chloroplast structures associated with virus infection. *Plant Physiol*, 2018, 176: 282–294
- Mei Y, Hu T, Wang Y, et al. Two viral proteins translated from one open reading frame target different layers of plant defense. *Plant Commun*, 2024, 5: 100788
- Nair A, Harshith C Y, Narjala A, et al. Begomoviral β C1 orchestrates organellar genomic instability to augment viral infection. *Plant J*, 2023, 114: 934–950

- 18 Li Y, Cui H, Cui X, et al. The altered photosynthetic machinery during compatible virus infection. *Curr Opin Virol*, 2016, 17: 19–24
- 19 Bald J G. The development of amoeboid inclusion bodies of tobacco mosaic virus. *Aust Jnl Bio Sci*, 1948, 1: 458–463
- 20 Bhattacharyya D, Chakraborty S. Chloroplast: the Trojan horse in plant–virus interaction. *Mol Plant Pathol*, 2018, 19: 504–518
- 21 Verchot J. Wrapping membranes around plant virus infection. *Curr Opin Virol*, 2011, 1: 388–395
- 22 Hatta T, Bullivant S, Matthews R E F. Fine structure of vesicles induced in chloroplasts of Chinese cabbage leaves by infection with turnip yellow mosaic virus. *J Gen Virol*, 1973, 20: 37–50
- 23 Prod'homme D, Le Panse S, Drugeon G, et al. Detection and subcellular localization of the turnip yellow mosaic virus 66K replication protein in infected cells. *Virology*, 2001, 281: 88–101
- 24 Ni F, Wu L, Wang Q, et al. Turnip yellow mosaic virus P69 interacts with and suppresses GLK transcription factors to cause pale-green symptoms in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2017, 10: 764–766
- 25 Torrance L, Cowan G H, Gillespie T, et al. Barley stripe mosaic virus-encoded proteins triple-gene block 2 and γ b localize to chloroplasts in virus-infected monocot and dicot plants, revealing hitherto-unknown roles in virus replication. *J Gen Virol*, 2006, 87: 2403–2411
- 26 Zhang K, Zhang Y, Yang M, et al. The Barley stripe mosaic virus γ b protein promotes chloroplast-targeted replication by enhancing unwinding of RNA duplexes. *PLoS Pathog*, 2017, 13: e1006319
- 27 Yue N, Jiang Z, Pi Q, et al. Zn^{2+} -dependent association of cysteine-rich protein with virion orchestrates morphogenesis of rod-shaped viruses. *PLoS Pathog*, 2024, 20: e1012311
- 28 Wei T, Wang A. Biogenesis of cytoplasmic membranous vesicles for plant potyvirus replication occurs at endoplasmic reticulum exit sites in a COPI- and COPII-dependent manner. *J Virol*, 2008, 82: 12252–12264
- 29 Cotton S, Grangeon R, Thivierge K, et al. Turnip mosaic virus RNA Replication complex vesicles are mobile, align with microfilaments, and are each derived from a single viral genome. *J Virol*, 2009, 83: 10460–10471
- 30 Kumar A S, Park E, Nedo A, et al. Stromule extension along microtubules coordinated with actin-mediated anchoring guides perinuclear chloroplast movement during innate immunity. *eLife*, 2018, 7: e23625
- 31 Natesan S K A. Stromules: a characteristic cell-specific feature of plastid morphology. *J Exp Bot*, 2005, 56: 787–797
- 32 Schattat M, Barton K, Baudisch B, et al. Plastid stromule branching coincides with contiguous endoplasmic reticulum dynamics. *Plant Physiol*, 2011, 155: 1667–1677
- 33 Hanson M R, Sattarzadeh A. Stromules: recent insights into a long neglected feature of plastid morphology and function. *Plant Physiol*, 2011, 155: 1486–1492
- 34 Krenz B, Jeske H, Kleinow T. The induction of stromule formation by a plant DNA-virus in epidermal leaf tissues suggests a novel intra- and intercellular macromolecular trafficking route. *Front Plant Sci*, 2012, 3: 291
- 35 Ding X, Jimenez - Gongora T, Krenz B, et al. Chloroplast clustering around the nucleus is a general response to pathogen perception in *Nicotiana benthamiana*. *Mol Plant Pathol*, 2019, 20: 1298–1306
- 36 Zhao W, Ji Y, Zhou Y, et al. Geminivirus C4/AC4 proteins hijack cellular COAT PROTEIN COMPLEX I for chloroplast targeting and viral infections. *Plant Physiol*, 2024, 196: 1826–1839
- 37 Chen I H, Chen X Y, Chiu G Z, et al. The function of chloroplast ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase positively regulates the accumulation of bamboo mosaic virus in *Nicotiana benthamiana*. *Mol Plant Pathol*, 2022, 23: 503–515
- 38 Huang Y W, Sun C I, Hu C C, et al. NbPsbO1 interacts specifically with the *Bamboo mosaic virus* (BaMV) subgenomic RNA (sgRNA) promoter and is required for efficient BaMV sgRNA transcription. *J Virol*, 2021, 95: e00831-21
- 39 Cheng S F, Huang Y P, Chen L H, et al. Chloroplast phosphoglycerate kinase is involved in the targeting of bamboo mosaic virus to chloroplasts in *Nicotiana benthamiana* plants. *Plant Physiol*, 2013, 163: 1598–1608
- 40 Lin J W, Ding M P, Hsu Y H, et al. Chloroplast phosphoglycerate kinase, a gluconeogenic enzyme, is required for efficient accumulation of Bamboo mosaic virus. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35: 424–432
- 41 Huang Y W, Hu C C, Tsai C H, et al. Chloroplast Hsp70 isoform is required for age-dependent tissue preference of *Bamboo mosaic virus* in mature *Nicotiana benthamiana* leaves. *Mol Plant Microbe Interact*, 2017, 30: 631–645
- 42 Geng C, Yan Z Y, Cheng D J, et al. Tobacco vein banding mosaic virus 6K2 protein hijacks NbPsbO1 for virus replication. *Sci Rep*, 2017, 7: 43455
- 43 Cheng D J, Xu X J, Yan Z Y, et al. The chloroplast ribosomal protein large subunit 1 interacts with viral polymerase and promotes virus infection. *Plant Physiol*, 2021, 187: 174–186
- 44 Kaido M, Abe K, Mine A, et al. GAPDH-A recruits a plant virus movement protein to cortical virus replication complexes to facilitate viral cell-to-cell movement. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004505
- 45 Zhao J, Liu Q, Zhang H, et al. The rubisco small subunit is involved in tobamovirus movement and *Tm-22*-mediated extreme resistance. *Plant Physiol*, 2012, 161: 374–383
- 46 Qiu S, Chen X, Zhai Y, et al. Downregulation of light-harvesting complex II induces ROS-mediated defense against turnip mosaic virus infection

- in *Nicotiana benthamiana*. [Front Microbiol](#), 2021, 12: 690988
- 47 Bhat S, Folimonova S Y, Cole A B, et al. Influence of host chloroplast proteins on *Tobacco mosaic virus* accumulation and intercellular movement. [Plant Physiol](#), 2012, 161: 134–147
- 48 Li Z, Li C, Fu S, et al. NSvc4 encoded by rice stripe virus targets host chloroplasts to suppress chloroplast-mediated defense. [Viruses](#), 2022, 14: 36
- 49 Zhang T, Liu P, Zhong K, et al. Wheat yellow mosaic virus Nlb interacting with host light induced protein (LIP) facilitates its infection through perturbing the abscisic acid pathway in wheat. [Biology](#), 2019, 8: 80
- 50 Wang J, Chen T, Han M, et al. Plant NLR immune receptor Tm-22 activation requires NB-ARC domain-mediated self-association of CC domain. [PLoS Pathog](#), 2020, 16: e1008475
- 51 Liu P, Zhang X, Zhang F, et al. A virus-derived siRNA activates plant immunity by interfering with ROS scavenging. [Mol Plant](#), 2021, 14: 1088–1103
- 52 Gnanasekaran P, Ponnusamy K, Chakraborty S. A geminivirus betasatellite encoded β C1 protein interacts with PsbP and subverts PsbP-mediated antiviral defence in plants. [Mol Plant Pathol](#), 2019, 20: 943–960
- 53 Kong L, Wu J, Lu L, et al. Interaction between rice stripe virus disease-specific protein and host PsbP enhances virus symptoms. [Mol Plant](#), 2014, 7: 691–708
- 54 Prautsch J, Erickson J L, Özyürek S, et al. Effector XopQ-induced stromule formation in *Nicotiana benthamiana* depends on ETI signaling components ADR1 and NRG1. [Plant Physiol](#), 2023, 191: 161–176
- 55 Lukan T, Županič A, Mahkovec Povalej T, et al. Chloroplast redox state changes mark cell-to-cell signaling in the hypersensitive response. [New Phytol](#), 2023, 237: 548–562
- 56 Zhai Y, Yuan Q, Qiu S, et al. Turnip mosaic virus impairs perinuclear chloroplast clustering to facilitate viral infection. [Plant Cell Environ](#), 2021, 44: 3681–3699
- 57 Cui X, Tao X, Xie Y, et al. A DNA β associated with *Tomato yellow leaf curl China virus* is required for symptom induction. [J Virol](#), 2004, 78: 13966–13974
- 58 Bhattacharyya D, Gnanasekaran P, Kumar R K, et al. A geminivirus betasatellite damages the structural and functional integrity of chloroplasts leading to symptom formation and inhibition of photosynthesis. [J Exp Bot](#), 2015, 66: 5881–5895
- 59 Zhao S, Li Y, Wang X. Current understanding of the interplays between host hormones and plant viral infections. [PLoS Pathog](#), 2021, 17: e1009242
- 60 Ji M, Zhao J, Han K, et al. Turnip mosaic virus P1 suppresses JA biosynthesis by degrading cpSRP54 that delivers AOCs onto the thylakoid membrane to facilitate viral infection. [PLoS Pathog](#), 2021, 17: e1010108
- 61 Medina-Puche L, Tan H, Dogra V, et al. A defense pathway linking plasma membrane and chloroplasts and co-opted by pathogens. [Cell](#), 2020, 182: 1109–1124.e25
- 62 Han K, Zheng H, Yan D, et al. Pepper mild mottle virus coat protein interacts with pepper chloroplast outer envelope membrane protein OMP24 to inhibit antiviral immunity in plants. [Horticulture Res](#), 2023, 10: uhad046
- 63 Han K, Jia Z, Zhang Y, et al. Chloroplast clustering around the nucleus induced by OMP24 overexpression unexpectedly promoted PSTVd infection in *Nicotiana benthamiana*. [Mol Plant Pathol](#), 2023, 24: 1552–1559
- 64 Kachroo P, Burch-Smith T M, Grant M. An emerging role for chloroplasts in disease and defense. [Annu Rev Phytopathol](#), 2021, 59: 423–445
- 65 de Souza A, Wang J Z, Dehesh K. Retrograde signals: integrators of interorganellar communication and orchestrators of plant development. [Annu Rev Plant Biol](#), 2017, 68: 85–108
- 66 Jarvis P, López-Juez E. Biogenesis and homeostasis of chloroplasts and other plastids. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2013, 14: 787–802
- 67 Sun Y, Jarvis R P. Chloroplast proteostasis: import, sorting, ubiquitination, and proteolysis. [Annu Rev Plant Biol](#), 2023, 74: 259–283
- 68 Zhuang X, Jiang L. Chloroplast degradation: multiple routes into the vacuole. [Front Plant Sci](#), 2019, 10: 359
- 69 Gu Y, Dong X. Stromules: signal conduits for plant immunity. [Dev Cell](#), 2015, 34: 3–4

Summary for “叶绿体介导的抗病毒防御和病毒反防御研究进展”

Chloroplast-mediated antiviral defense and viral counterdefense

Meng Yang, Xiaofei Zhao & Dawei Li*

State Key Laboratory of Plant Environmental Resilience, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China

* Corresponding author, E-mail: Dawei.Li@cau.edu.cn

As one of the most dynamic organelles, chloroplast not only carries out photosynthesis to convert light into chemical energy to sustain plant life activities but also plays a central role in phytohormone biosynthesis, including salicylic acid (SA), jasmonic acid (JA), abscisic acid (ABA). Additionally, they are key sites for reactive oxygen species (ROS) production, which are critical for antiviral defense responses and the transportation of signaling molecules. However, the host internal environment is manipulated and reorganized during plant virus infection. As the first prime target, the structure and functions of the chloroplast are often destroyed during plant virus infection.

Increasing evidence highlights the dual roles of chloroplasts in plant-virus interactions. Chloroplast-mediated immunity has emerged as a pivotal mechanism for coordinating plant defense responses during pattern-triggered immunity (PTI) and effector-triggered immunity (ETI), which are induced by bacterial invasion and virus infection. During plant pathogen invasion, chloroplasts produce and release pro-defense signals, including phytohormones SA and JA, ROS, and cytoplasmic Ca^{2+} . Recent studies have further revealed the connections between chloroplasts and plasma membranes or nuclei. The stromules derived from the chloroplast membrane and stroma are induced during cell death and viral infection, mediating retrograde signaling to the nucleus, thus directing the chloroplast perinuclear clustering, that directly or indirectly involves the plant defense immunity.

Conversely, viruses exploit chloroplast factors to sustain their replication and infection. Some viruses disrupt the redox homeostasis and reorganize the chloroplast membranes to establish their replication factories or recruit chloroplast-localized proteins to viral replication sites to facilitate replication or movement. Moreover, to counteract the chloroplast-mediated defense immunity, virus-encoded proteins employ diverse strategies to suppress ROS bursts, the synthesis of plant phytohormones, stromule formation, and chloroplast perinuclear clustering. This review summarizes recent advances and discusses the versatile roles of chloroplast in plant responses to plant virus infection.

chloroplast, virus, interaction, defense, counterdefense

doi: [10.1360/TB-2024-1384](https://doi.org/10.1360/TB-2024-1384)