

植物对细菌群体感应系统的反应

宋水山^{1,2*} 贾振华¹ 邢志华³ 马宏¹ 高振贤¹ 张霞¹

(¹河北省生物研究所, 石家庄 050051; ²河北农业大学生命科学学院, 保定 071001;

³保定市农业科学研究所, 保定 071001)

摘要 细菌的群体感应系统参与包括动植物病原细菌致病因子产生在内的许多生物学功能的调节。植物可以感知细菌群体感应系统及其信号分子, 并作出复杂反应。植物可能受细菌群体感应信号分子诱导产生系统性防御反应, 能够分泌细菌群体感应信号分子的类似物, 可能产生降解细菌 N-酰基高丝氨酸内酯信号分子的酶来阻断或干扰细菌群体感应系统。

关键词 细菌群体感应系统; 植物抗病性; N-酰基高丝氨酸内酯; 植物-微生物相互作用

病原细菌和共生细菌在其真核生物寄主上定殖和侵染依赖于细菌的群体感应系统(quorum sensing system, QS 系统)。反过来, 真核寄主生物也会在和细菌相互作用的长期进化过程中获得利用细菌群体感应系统的方法, 使其有利于自身的生长和发育。本文将综述植物对细菌群体感应系统及其信号分子的感知和反应方面的研究进展, 并阐述植物针对 QS 系统介导的细菌病害的抗病策略。

1 细菌群体感应系统

细菌通过可自由扩散的小分子化合物作为信号分子进行个体细胞间信息交流, 感应其自身群体密度的变化, 当细菌达到一定浓度时, 该信号分子达到一定的浓度阈值, 细菌与细菌之间就会发信号调整整个群体的行为, 做出相应的应答。这一过程被称为群体感应系统(QS 系统)^[1]。目前发现许多细菌利用 QS 系统调节体内许多生物学功能, 如海洋发光细菌的生物发光^[2], 芽胞杆菌中感受态与芽孢的形成^[3], 菌体游动, 抗生素合成^[4], 色素产生^[5], 根癌农杆菌中 Ti 质粒接合转移^[6], 根瘤菌与植物共生^[7], 生物膜形成^[8], 动植物病原菌致病因子的产生^[9]等。最近的研究表明, 在铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)基因组中 5%~20% 的基因转录和蛋白质表达受到 QS 系统直接和间接的调控, 表明细菌 QS 系统在多种基因表达的相互协调方面发挥重要作用^[10, 11]。已在革兰氏阳性和革兰氏阴性菌中鉴定出几种信号分子。其中研究最广泛和深入的是 N-酰基高丝氨酸内酯(N-Acyl-L-homoserine lactone, AHL)。不同革兰氏阴性细菌可以合成不同的 AHLs。虽然不同的 AHL 可能含有不同结构的

脂酰链, 但均具有相同的高丝氨酸内酯环, 其调控生物过程的机制是相似的。AHL 由 LuxI 族蛋白诱导产生, 然后透膜扩散至胞外, 并在培养基中积累。如果 AHL 随细菌群体密度的增加在细胞外积累到一定的浓度, 这些信号分子进入胞内就与胞内特异受体 LuxR 族蛋白发生作用, AHL-LuxR 复合物与特定的启动子序列结合, 启动含 LuxI 族基因在内的操纵子的转录表达, 产生 LuxI 蛋白并进一步促进 AHL 的合成, 形成一个正反馈调节机制。同时该操纵子内其他基因被同步诱导表达, 并产生一些蛋白质^[12, 13]。革兰氏阳性细菌利用寡肽类(autoinducing peptide, AIP)信号感知自身种群数量; 还有一类信号分子是呋喃酰硼酸二酯(furanosyl borate diester, 即 AI-2 型信号分子), 存在于革兰氏阳性和革兰氏阴性菌中, 细菌利用感知其他种群间细菌数量来调控自身行为^[14]。

植物病原细菌通过产生胞外降解酶和毒性因子感染寄主植物, 使植物发病, 而细菌胞外降解酶和毒性因子的产生受细菌 QS 系统的调控。因此, 细菌 QS 系统, 尤其是其中的信号分子与该细菌的致病性密切相关。了解植物对细菌 QS 系统及其信号分子的感知并做出何种反应对开发植物针对 QS 系统介导的细菌病害的抗病策略具有重要意义。

2 植物对细菌 QS 系统 AHL 信号分子的反应

2.1 植物感知细菌 QS 信号分子启动应激反应

收稿日期: 2004-11-02 接受日期: 2005-02-22

河北省自然科学基金资助项目(No.303610)

* 通讯作者。Tel: 0311-3014618, Fax: 0311-3022636, E-mail:

shuishans@hotmail.com

利用动物细胞研究表明,细菌 AHL 可以进入动物细胞,并能与其自身受体结合进而启动靶基因的表达。用细菌 AHL 刺激动物细胞可产生应激反应,包括促进免疫调节效应,抑制平滑肌收缩,心动过缓加剧,促进细胞凋亡,刺激炎症和免疫原性反应等^[15-17]。Bauer 等^[18]最近发现,线虫中 4% 可分辨蛋白的积累受细菌 QS 信号分子处理影响;除此之外,还发现线虫可以利用细菌 AHL 作为捕食细菌的趋化因子。

根据这些观察结果,人们不禁要问植物是否也可以感知细菌 QS 信号分子,并作出相应的反应。Mathesius 等^[19]利用蛋白质组学方法研究发现,用纳摩尔浓度的 AHL 处理苜蓿(*Medicago truncatula*)根后,有 150 多种蛋白质的积累发生了显著变化,预示着这些蛋白质的相应功能可能受到了细菌 QS 信号分子的调节,其中约 25 种蛋白质参与寄主植物的防御反应,其他蛋白质在初级代谢、植物激素反应、转录调节、蛋白质加工或细胞骨架活动中发挥作用。寄主植物对不同种类的 AHL 处理产生的反应不同,说明植物能够分辨不同结构的 AHL。AHL 也可以诱导目苜蓿白鳞茎生长素诱导基因和查尔酮合成酶基因的组织特异性表达^[19]。这些结果说明植物可能具有检测细菌所感知的临界浓度甚至更低浓度的 QS 信号分子存在的能力,并且利用这些信息建立一套全面而复杂的反应系统。

植物可能感知细菌 QS 信号分子产生诱导性系统防御反应。基因芯片分析表明, AHL 处理番茄根后,可以在番茄茎上引发一些防御反应。Joseph 等^[20]也发现纳摩尔浓度的高丝氨酸内酯处理豌豆根部可导致茎上部分气孔通透性和蒸发作用提高 20%~30%。高丝氨酸内酯是细菌降解 AHL 的产物之一。由高丝氨酸内酯蒸发作用的提高可导致更多的水分和营养从土壤流向根际,有利于植物和细菌的生长。

2.2 植物合成细菌 QS 系统信号分子的类似物

研究表明,植物和藻类能够通过分泌细菌 QS 信号分子的类似物阻断或干扰细菌 QS 系统。其中发现最早也是研究最广泛的是海洋红藻 *Delisa pulchra* 产生的卤化呋喃,它的分子结构与 AHL 相似,可以和细菌的 AHL 受体蛋白竞争性结合,并且促进这些受体分子的降解。呋喃 AHL 类似物能够在体外影响铜绿假单胞菌生物膜结构,减弱铜绿假单胞菌的致病力^[21, 22]。*Delisa* 分泌的 AHL 类似物还可以明显改变

海洋藻类表面的微生物群落结构。

高等植物包括豇豆、番茄、野豌豆、苜蓿和水稻也可以分泌某些模拟细菌 QS 系统 AHL 活性的化合物,影响细菌 AHL 介导的 QS 调控系统^[23, 24]。与来源于 *Delisa* 的呋喃 AHL 类似物只具有抑制细菌 QS 系统的作用不同,高等植物和衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)产生的 AHL 类似物多数能够促进 AHL 依赖的细菌 QS 系统调控基因的表达^[24, 25]。虽然这些化合物的化学结构和性质尚不清楚,不过有实验表明它们多数能够特异地与细菌 AHL 受体相互作用。这些性质表明,这些类似物可能是某种新的能够特异地与细菌 QS 系统发生互作的植物化合物。一种植物产生的 AHL 类似物对不同细菌 QS 系统可能发挥不同的调控作用。衣藻(*Chlamydomonas*)产生的 AHL 类似物可以特异的提高铜绿假单胞菌的 LasR 介导的报告菌的蛋白质表达,但对 LuxR、AhyR 和 CviR 介导的报告菌的蛋白质表达不起作用,如用 HPLC 纯化的这种物质和植物固氮细菌 *Sinorhizobium meliloti* 自身的 QS 信号分子共同处理细菌细胞,蛋白质组学分析表明有近 10 种蛋白质的积累水平与对照相比增加或减少 3 倍^[25]。这表明,这些类似物可能与某些 AHL 受体互作导致转录激活,而与另外某些受体互作则导致受体蛋白的降解从而使 AHL 的刺激效应消失或抑制 AHL 的刺激作用。

在细菌 QS 系统中,除了 AHL 信号分子外,还有其他种类群体感应信号分子。目前尚未了解植物是否合成其他信号分子的类似物,但利用 AI-2 报告菌株哈氏弧菌 BB170 确实在苜蓿、衣藻和小球藻的分泌物中检测到某种能够刺激或抑制 AI-2 特异报告菌生物发光的物质。这也许说明,植物除了产生 AHL 类似物外,还可以产生 AI-2 类似物^[24, 25]。Wang 等^[26]从被称为卷心菜病菌的 *Xanthomonas campesteris* 中分离鉴定出一种 α - β 不饱和脂肪酸 QS 信号分子,其结构和功能与调节病原真菌白色念珠菌(*Candida albicans*)形态和致病性的信号分子 Farnesoic acid 密切相关。有报道指出,哺乳动物激素 epinephrine 可以通过 AI-3 受体刺激大肠杆菌致病基因的表达。这也许是细菌利用真核寄主的刺激信号来诱导其自身 QS 调节机制来感染寄主。

植物产生 AHL 类似物与细菌利用 AHL 介导的 QS 系统侵袭植物可能是相互关连的。研究发现用 AHL 处理苜蓿根后,苜蓿产生 AHL 类似物的数量和种类发生了变化^[24]。这说明植物能够识别某种 AHL,进

而提高该种 AHL 类似物的产生。反过来，由于编码 AHL 合成酶的基因常常受 AHL 的受体调节，导致 AHL 的自我扩增，因此植物所产生的特定 AHL 类似物又可以改变细菌该种 AHL 合成。

2.3 植物产生降解细菌 QS 系统信号分子的酶

铜绿假单胞菌是一种自然环境中广泛存在的动、植物条件致病菌，它利用 N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone (3-oxo C12-HSL) 和 N-butanoyl-L-homoserine lactone (C4-HSL) 两种信号分子介导致病因子的表达和生物膜的形成。Chun 等^[27]研究发现，哺乳动物呼吸道上皮细胞裂解物中存在可以降解细菌 QS 系统信号分子的物质，进一步研究表明这种物质可能是动物细胞产生的酶，并且这种酶降解具有底物特异性，如只 3-oxo-C12-HSL 降解，而对 C4-HSL 无作用。虽然这种动物细胞酶降解细菌 QS 系统信号分子的机制和这种酶降解是否减弱铜绿假单胞菌的致病性有待进一步研究，但这预示真核生物也有可能像某些微生物一样产生降解细菌 QS 系统信号分子的酶，作为自身天然免疫系统的重要组成部分。在植物中目前仅发现指状岩褐藻能产生卤素过氧化物酶催化产生卤素氧化物破坏 AHL 信号分子^[28]，还没有其他植物能产生降解细菌 AHL 信号分子的酶的报道。

3 针对植物病原细菌 QS 系统的植物抗病策略

许多植物病原细菌依赖信号分子介导的 QS 系统调控致病基因和毒性因子的表达，导致植物发生细菌病害。因此，如以病原细菌 QS 系统尤其是 QS 信号分子为靶标，干扰和破坏病原细菌 QS 系统可能会有效地减弱病原细菌的致病力。根据植物对细菌 QS 系统的反应，可采用以下几种策略来提高植物对 QS 系统调控的细菌病害的抗病能力。(1)植物合成病原菌 QS 信号分子降解酶，使病原菌不能启动其致病基因表达。虽然植物自身产生细菌 AHL 信号分子降解酶的报道很少，但在土壤中发现芽胞杆菌 (*Bacillus* sp.)、争论贪噬菌 (*Variovorax paradoxus*)、青枯菌 (*Ralstonia* sp.)、根癌农杆菌中能够产生 AHL 信号分子降解酶，其中芽胞杆菌产生的 AiiA 蛋白已被转入植物，转基因植物对欧文氏菌具有较好的抗病性^[29]。我们也从土壤中分离到几株能够抑制欧文氏菌病害发生的芽胞杆菌，并从中克隆出几个 AHL 水解酶基因，正在转化马铃薯、烟草、白菜和拟

南芥。随着研究的深入也有可能从植物和微生物中发现降解多种细菌 QS 系统信号分子的酶，通过转基因技术使植物合成足量的降解病原菌 QS 信号分子的酶，提高抗病能力。(2)植物产生病原菌 QS 信号分子的类似物干扰病原细菌 QS 系统，阻断病害发生。如前所述，已在多种植物中检测到细菌 QS 信号分子类似物的存在，这些类似物可以破坏或促进病原细菌 QS 系统，虽然目前这些物质的化学结构和性质还很不清楚。但随着研究的深入，一旦从植物中获得信号分子阻遏物就可以通过转基因技术达到抗病目的。(3)植物合成过量病原菌 QS 信号分子，诱发植物提前启动其防御系统阻止病原菌的侵染。病原菌 QS 信号分子不仅调控病原菌 QS 系统，而且可能直接作为致病因子被植物感知并诱导植物防御系统的启动。如果通过转基因技术将细菌 AHL 合成酶基因转入植物，植物可以合成 QS 信号分子，在病原菌尚不具备群体攻击能力之前就已经启动其防御系统，提高了植物的抗性。表达胡萝卜软腐欧文氏菌的 N-3-oxo-hexannoyl homoserine lactone 合成酶基因 *expI* 的转基因烟草对欧文氏菌的抗病性提高^[30]。而表达 *Yersinia enterocolitica* 的 N-3-oxo-hexannoyl homoserine lactone 合成酶基因 *yenI* 的转基因烟草对欧文氏菌的抗病性与野生型相比并未有明显提高^[31]。这些结果表明，要将这些抗病策略应用于实践还有很多工作要做。

综上所述，人们对植物响应细菌 QS 信号的了解仅仅是开始。目前的研究表明植物能够检测到一类细菌 QS 信号(如 AHL)的存在，并且可以对 AHL 做出广泛的反应。但是对有关植物产生的各种细菌 QS 信号分子类似物的化学结构和性质，对细菌 AHL 信号在植物体内的信号转导途径以及其受体和受体特异性知之甚少。为了全面了解植物体内受 AHL 影响而发生功能改变的蛋白质，需要在全基因组水平上进行研究。创建和利用 AHL 受体突变株或利用 AHL 处理植株的研究可以进一步揭示植物对细菌 QS 信号 AHL 的感知和反应及信号转导途径。对植物产生的各种细菌 QS 信号分子类似物进行进一步分离鉴定对于分析它们的生化作用模式，确定其所作用的细菌范围，了解合成这些化合物的酶促反应，开发其在提高植物抗性方面的作用具有重要的意义。

参考文献 (References)

- [1] Swift S *et al.* *Trend Biochem Sci*, 1996, **21**: 214
- [2] Eberhard A *et al.* *Biochemistry*, 1981, **20**: 2444

- [3] Lazazzera BA. *Peptides*, 2001, **22**: 1519
- [4] Whistler CA. *J Bacteriol*, 2003, **185**: 3718
- [5] McClean KH *et al. Microbiology*, 1997, **143**: 3703
- [6] Zhang L *et al. Nature*, 1993, **362**: 446
- [7] Wisniewski-Dye F. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002, **81**: 397
- [8] Zhu J. *Dev Cell*, 2003, **5**: 647
- [9] Von Bodman SB. *Annu Rev Phytopathol*, 2003, **41**: 455
- [10] Hentzer M *et al. EMBO J*, 2003, **22**: 3803
- [11] Arevalo-Ferro C *et al. Environ Microbiol*, 2003, **5**: 1350
- [12] Pirhonen M *et al. EMBO J*, 1993, **12**: 2467
- [13] 宋水山等. *河北省科学院学报*, 2003, **20**: 124
- [14] 周焱等. *微生物学报*, 2004, **44**: 122
- [15] Ritchie AJ *et al. Infect Immun*, 2003, **71**: 4421
- [16] Tateda K *et al. Infect Immun*, 2003, **71**: 5785
- [17] Smith RS *et al. J Bacteriol*, 2002, **184**: 1132
- [18] Bauer WD *et al. Curr Opin Biotechnol*, 2002, **13**: 234
- [19] Mathesius U *et al. Proc Nalt Acad Sci USA*, 2003, **100**: 1444
- [20] Joseph CM *et al. Plant Physiol Biochem*, 2003, **41**: 189
- [21] Manefield M *et al. Microbiology*, 2002, **148**: 1119
- [22] Kjelleberg S. *Curr Opin Microbiol*, 2002, **5**: 254
- [23] Gao M *et al. Mol Plant Microbe Interact*, 2003, **16**: 827
- [24] Teplitski M. *Mol Plant Microbe Interact*, 2000, **13**: 637
- [25] Teplitski M *et al. Plant Physiol*, 2004, **134**: 137
- [26] Wang LH *et al. Mol Microbiol*, 2004, **51**: 903
- [27] Chun CK *et al. Proc Nalt Acad Sci USA*, 2004, **101**: 3587
- [28] Taga ME. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 14549
- [29] Dong YH *et al. Nature*, 2001, **411**: 813
- [30] Mae A *et al. Mol Plant Microbe Interact*, 2001, **14**: 1035
- [31] Fray RG. *Ann Bot (Lond)*, 2002, **89**: 245

Plant Responds to Bacterial Quorum-sensing System

Shui-Shan Song^{1,2*}, Zhen-Hua Jia¹, Zhi-Hua Xing³, Hong Ma¹, Zhen-Xian Gao¹, Xia Zhang¹

¹Biology Institute of Hebei Province, Shijiazhuang 050051, China;

²School of Life Science, Agriculture University of Hebei, Baoding 071001, China;

³Agriculture Institute of Baoding, Baoding 071001, China)

Abstract Bacterial quorum-sensing is involved in the regulation of diverse biological process including the virulence of plant and animal bacterial pathogens. The current evidences show that plant can sense bacterial quorum-sensing (QS) and the QS signal, and response in a complex way to these information. Plant can initiate its defense system upon sensing bacterial QS signal or secret QS signal mimics or produce enzymes which are able to degrade bacterial QS signal to block or interfere bacterial QS.

Key words bacterial quorum-sensing; plant resistance against bacterial disease; N-acylhomoserine lactone; plant-microbe interaction

Received: November 2, 2004

Accepted: February 22, 2005

This work was supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No.303610)

*Corresponding author. Tel: 86-311-3014618, Fax: 86-311-3022636, E-mail: shuishans@hotmail.com