

# 植物病原菌寄主范围的决定因子

何晨阳 王金生

(南京农业大学植保系, 南京 210014)

在病原菌-植物相互作用中,病原菌需要一套独特的遗传信息,决定与植物的基本亲和性,即决定病原菌在植物组织中的定殖和寄生关系的建立<sup>[1]</sup>。除此之外,病原菌有其专一的寄主范围,有的寄主范围很广,可以包括多种植物;有的却很窄,只侵染某一遗传型的植物品种。那

么病原菌的寄主范围是由哪些因子所控制的?是哪些基因赋予了病菌很广的寄主范围的表型?又是哪些基因限制了病菌的寄主范围?这个领域的最新研究结果对这些问题的解释带来了有力的证据。本文对此作一简述。

(一) 根癌土壤杆菌的寄主范围的决定因

子

根癌土壤杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 的寄主范围常常很广, 可以侵染许多种双子叶植物。病菌中正向功能因子决定了寄主范围和致病性, 使植物不能识别, 避免了防卫反应。而根癌土壤杆菌的某些菌株 (如侵染葡萄的菌株) 的寄主范围却很窄, 是由于负向功能因子引起了植物的识别和主动防卫反应, 限制了病菌的寄主范围<sup>[2]</sup>。

1. 双因子正调节系统: 根癌土壤杆菌是土壤习居菌, 能在植物表面定殖而不致病。然而, 植物局部受伤后将引起特征性的冠瘿瘤。冠瘿瘤一旦形成, 就不再需要病菌的存在。致瘤因子是病菌染色体外的大质粒 (Ti 质粒), 其中 13—26kb T-DNA 区被转移到植物细胞中, 整合到染色体上, 利用真核信号表达植物激素和冠瘿碱合成基因。前者致使植物内源激素过量产生而失调, 组织疯长, 后者合成的冠瘿碱被病菌当成氮碳源而利用<sup>[3]</sup>。

病菌中 T-DNA 向植物细胞的独特转移, 需要病菌中 vir 基因产物的作用, 而 vir 基因的活化、表达和调节是由植物中的信息分子所决定的<sup>[4]</sup>。vir 基因有 6 个互补位点 virA、B、C、D、E、G, 共同构成了一个调节子。virA 基因产物位于细胞膜上, 可能是植物信号分子的环境敏感因子, 能直接或间接感受植物细胞释放的酚类物质的存在, 在接受这一信号之后, 通过激活细胞内 virG 基因产物, 诱导 vir 区其它基因的表达。因此, vir B、C、D、E 的表达要有 virA、G 的存在, 而且只有在植物细胞的激活下才能表达。这种双因子正调节系统与大肠杆菌感受渗透压有关的 EnvZ/OmpR 系统有很多相同之处<sup>[5]</sup>。

2. 扩大寄主范围的基因: T-DNA 区编码植物激素合成的基因自然起着致病基因的功能, 因为它们的缺失就失去了致瘤性。然而, vir 基因也关系到更为专一的寄主范围<sup>[6]</sup>。vir E3' 端逐渐截短, 致瘤植物的数量逐渐减少。virC 基因有 2 个阅读框架 virC<sub>1</sub> 和 virC<sub>2</sub>, 无论哪一个发生突变, 都将减少敏感植物的数量。

一个强毒株 A281 的 vir 区片段能使其它菌株的毒性增强, 扩大寄主范围。该片段上有 virG 位点和 3' 端 virB 操纵子。virG 的改变增强了 vir 区基因表达, 从而可能引起强毒株的表型。

3. 缩小寄主范围的基因: 与大多数菌株不同, 根癌土壤杆菌葡萄菌株只在很少几种植物上致瘤, 它们的 Ti 质粒上缺少细胞分裂素合成基因。导入寄主范围广的 Ti 质粒的细胞分裂素合成基因, 可以扩大葡萄土壤杆菌菌株的寄主范围<sup>[7]</sup>。然而, virA 和 virC 也与寄主范围窄的表型有关。葡萄菌株的 virA 基因与寄主范围广的菌株的 virA 基因不同<sup>[8]</sup>。由于 virA 产物被认为是识别植物酚类物质的, 因此葡萄土壤杆菌菌株的 virA 基因可能只对葡萄寄主的一种独特代谢物反应。然而, 寄主范围广的 Ti 质粒却不能对葡萄寄主致瘤, 因为葡萄能产生过敏性防卫反应。如果 virC 位点发生了突变, 就不会发生这种过敏性反应, 对葡萄寄主能致瘤。因此, 对葡萄等少数植物而言, virC 产物可能是引起过敏性反应的激发子, virC 类似于其它病原菌中的无毒基因<sup>[8]</sup>。

(二) 其它植物病原菌的寄主范围决定因子

其它植物病原菌的寄主范围同样也是由正向功能因子和负向功能因子所控制的<sup>[9]</sup>。正向功能因子包括其致病因子和特异性扩大寄主范围的因子, 负向功能因子通常指无毒基因及其产物, 激发了具有相应抗性基因植物的过敏性反应, 从而限制了病菌的寄主范围。

1. 致病因子: 这些因子是病原菌的致病性和毒性最起码的要求。一般认为病菌的致病因子有各种胞外降解酶, 包括角质酶、果胶酶、纤维素酶、半纤维素酶, 蛋白酶、淀粉酶和磷脂酶等, 还有毒素, 植物激素以及胞外多糖。病原细菌中各种具有明确功能的致病基因大部分已被克隆, 如欧文氏菌 (*Erwinia spp.*) 的果胶酶基因已克隆出来, 用标记交换诱变法证实了该基因在致病性中的作用。该基因的表达能被葡萄糖或其它糖类所抑制, 但可被果胶诱导<sup>[10]</sup>。青枯假单胞菌 (*Pseudomonas solanacearum*) 和玉

米萎蔫欧文氏菌 (*E. stewartii*) 的胞外多糖似乎与致病性有关, 有关基因也被克隆出来<sup>[11,12]</sup>。另外, 从许多细菌中分离和克隆出与致病基因紧密连锁的大基因簇 *hrp* 基因, 它决定了病原菌对寄主植物的致病性, 同时也决定了病菌诱导非寄主植物的过敏性反应<sup>[13]</sup>。

2. 特异性扩大寄主范围的正向功能因子: 野油菜黄单胞菌小麦致病变种 (*Xanthomonas campestris* pv. *translucens*) 能为害多种禾谷类植物。对一个侵染黑麦、大麦和小麦的菌株进行诱变, 突变体只侵染以上寄主中的部分寄主因此, 突变并未影响其基本的致病性, 受到影响的是病菌中侵染每个寄主所必需的专门的基因。因此认为这些基因决定病菌的寄主范围<sup>[14]</sup>。

青枯假单胞菌 (*P. solanacearum*) 的一个花生菌株的 12.8kb DNA 片段被导入到一个对花生不致病的马铃薯菌株中, 能使后者获得引起花生枯萎的能力, 表明该 DNA 序列可以扩大青枯假单胞菌的寄主范围<sup>[15]</sup>。

炭色长蠕孢菌 (*Helminthosporium carbonum*) 毒素只为害一个基因型的玉米, 而维克多里亚长蠕孢 (*H. victoriae*) 毒素只为害一个基因型的燕麦。两个病菌进行有性杂交后, 为害两个寄主、或只为害其中的一个寄主、或对两个寄主都不为害的子代数量相等。这种 1:1:1:1 的分离率被认为是单基因分离。尽管不清楚此结果是否表明毒素合成基因在病菌中成簇排列, 但至少可以说明这两种截然不同的毒素可以使病菌的寄主范围扩大<sup>[16]</sup>。

3. 无毒基因: 在病原物与植物的特异性不亲和互作关系中, 病菌中常有与寄主植物抗病基因在遗传上互补且显性的无毒基因, 其产物是植物抗病基因产物特异性识别的激发子, 激发植物的过敏性反应<sup>[15]</sup>。过敏性反应的分子生物学过程包括细胞膜快速反应、侵入点附近细胞快速死亡、诱导酶合成、结构和化学屏障的分布, 植物基因迅速去阻遏和编码产生植保素合成途径中的酶类<sup>[17,18]</sup>。由病菌诱导植物产生的过敏性反应, 是限制病菌寄主范围的主要因素。

(1) 病原真菌的无毒基因: 寄主专一性的概念首先是从真菌病害体系中病菌无毒基因和植物抗病基因相互作用的经典遗传学研究中建立起来的。虽然至今尚未分离出一个无毒基因, 但已从许多真菌中分离出能引起植物过敏性反应的激发子, 并且利用某些蛋白质类型的激发子来寻找其编码基因——无毒基因。

(2) 病毒的无毒基因: 病毒寄主范围的决定因子可能起着类似于无毒基因的功能。花椰菜花叶病毒一个株系能系统侵染 *Datura stramonium*, 而另一个株系则表现为局部枯斑典型的过敏性反应, 这种差异是由于病毒基因组 VI 阅读框架前半部分的一个 496bp 片段不同所致。但尚不清楚哪个基因是显性的, 即毒性株系基因 VI 产物抑制了其它基因产物诱发的过敏性反应, 还是无毒株系 VI 产物本身就是过敏性反应的激发子。

用烟草花叶病毒烟草株系外壳蛋白基因置换了番茄株系的外壳蛋白基因, 重组病毒表现出烟草株系而非番茄株系的寄主范围。外壳蛋白基因上不同的插入和缺失, 都会使病毒对烟草的症状发生改变, 或者无症状, 或者黄化, 或者坏死。因此, 烟草花叶病毒外壳蛋白基因决定了寄主范围。但至今仍不清楚突变的外壳蛋白是不是引起过敏性反应的激发子<sup>[19]</sup>。

(3) 病原细菌的无毒基因: 病原细菌分子遗传研究的突出贡献就是阐明了无毒基因的存在, 目前至少从 10 多种细菌中分离出无毒基因, 但大多数的研究集中在无毒基因决定病菌小种的寄主专一性的作用上<sup>[15,20]</sup>。最先从丁香假单胞菌大豆致病变种 (*P. syringae* pv. *glycinea*) 小种 0 和 6 中分离的 3 个无毒基因 (*avr A, B, C*) 分别编码 100, 36 和 39kd 蛋白质, 既无信号肽分泌序列, 又无明显的疏水区。在复合培养基上生长时, 它们不表达; 在无机培养基上生长时, 基因进行表达; 当接种到大豆叶片上时, 基因表达水平很高。尽管对 *avr B* 和 *avr C* 产物功能尚不清楚, 但序列分析表明二者有相当大的同源性, 或许有相近的功能<sup>[21]</sup>。

从野油菜黄单胞菌棉花致病变种 (*X. ca-*

*mpestris* pv. *malvacearum*) 小种H中克隆了5个不同的无毒基因,至少有3个连锁在一个32kb DNA片段上。重要的是,病菌另一个毒性小种中也有与无毒基因同源的隐性等位基因<sup>[20]</sup>。

野油菜黄单胞菌辣椒致病变种(*X. campestris* pv. *vesicatoria*)小种2的一个200kb的自身转移的坑钢质粒上具有一个无毒基因(avr BS<sub>1</sub>)。从小种1中克隆出另一个无毒基因(avr BS<sub>3</sub>)大约为3.7kb,组成型表达,产物是一个125kd蛋白质,其功能尚不清楚。

另外也有报道,从丁香假单胞菌豌豆致病变种(*P. syringae* pv. *pisii*)、菜豆致病变种(*P. syringae* pv. *phaseolicola*)、丁香致病变种(*P. syringae* pv. *syringae*)、番茄致病变种(*P. syringae* pv. *tomato*)、烟草致病变种(*P. syringae* pv. *tabaci*)、梨火疫病欧文氏菌(*E. amylovora*)和野油菜黄单胞菌水稻致病变种(*X. campestris* pv. *oryzae*)中分离出无毒基因<sup>[15,20]</sup>。

无毒基因也决定病菌不同致病变种的寄主专一性<sup>[15]</sup>。将丁香假单胞菌番茄致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)无毒基因克隆引入丁香假单胞菌大豆致病变种(*P. syringae* pv. *glycinea*)中,能引起部分大豆品种的过敏性反应;如果引入烟草致病变种(*P. syringae* pv. *tabaci*)中,能引起不同烟草品种的过敏性反应。同样将野油菜黄单胞菌莴苣致病变种(*X. campestris* pv. *vitians*)中一段DNA转移到甘蓝致病变种(*X. campestris* pv. *campestris*)中,后者不能对甘蓝致病。将野油菜黄单胞菌辣椒致病变种(*X. campestris* pv. *vesicatoria*)基因文库中一个cosmid克隆转移到菜豆致病变种(*X. campestris* pv. *phaseolicola*)中,后者在菜豆品种Sprite上引起了过敏性反应<sup>[21]</sup>。

总之,由于运用了现代分子生物学,在短短的几十年内,对植物病原菌寄主范围的决定因子的认识大大加强了,但病菌寄主范围决定因子要比想象中的更为复杂。对根瘤土壤杆菌的

研究,提出了一些模式,也许会对其它病原菌的研究有所启发。现在已逐步阐述病菌致病性和扩大寄主范围所必需的基本机制,并开始认识到无毒基因使寄主范围变窄的负向功能,它不仅控制病菌小种的寄主专一性,也决定了致病变种的寄主范围。

尽管有上述进展,但在病菌寄主范围决定因子的研究中,尚有许多问题有待解决。比如,病菌与植物之间复杂的信息交流过程仍不清楚,必须弄清无毒基因的产物及其功能,它们在诱导植物过敏性反应中的作用,无毒基因与hrp基因的关系等。因此,需要分子遗传分析作为主要工具,同时结合细胞学和生化技术,才能有效地解决上述问题。

### 参 考 文 献

1. Ellingboe A H: *Ann. Rev. Phytopathol.* **19**: 125—143, 1981.
2. Anderson A R, Moore L W: *Phytopathology*, **69**: 320—323, 1979.
3. Weiler E W, Schroder J: *Trends biochem Sci.* **12**: 271—276, 1987.
4. Usami S et al.: *MGG*, **209**: 221—226, 1987.
5. Leroux B et al.: *EMBO J.* **6**: 849—856, 1987.
6. Yanofsky M F, Nester E W: *J. Bacteriol.* **168**: 244—250, 1986.
7. Hockema A et al.: *EMBO J.* **3**: 3043—3047, 1984.
8. Yanofsky M F et al.: *MGG* **201**: 237—246, 1985.
9. Oku H et al.: *Naturwissenschaften* **67**: 310—311, 1980.
10. Kotoujansky A: *Ann. Rev. Phytopathol.* **25**: 405—430, 1987.
11. Boucher C et al.: *MGG* **205**: 270—275, 1986.
12. Coplin D L et al.: *J. Bacteriol.* **168**: 619—623, 1986.
13. Willis D K et al.: *MPMI* **4**(2): 132—138, 1991.
14. Mellano V J, Cooksey D A: *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 884—889, 1988.
15. Daniels M J et al.: *Ann. Rev. Phytopathol.* **26**: 285—312, 1988.
16. Nishimura S, Kohmoto K: *Ann. Rev. Phytopathol.* **21**: 87—116, 1983.
17. Collinge D B, Slusarenko A J: *Plant Mol Biol.* **9**: 389—410, 1987.
18. Dixon R A: *Biol. Rev.* **61**: 239—291, 1986.
19. Saito T et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **84**: 6074—6077, 1987.
20. Daniels M J: *Mol. Genet. Pl. Microbe. Interact.* eds. R. Palacios et al. 229—234, 1988.
21. Keen N J: *Mol. Genet. Pl. Microbe. Interact.* eds. R. Palacios et al. 15—19, 1988.
22. Keen N J: *Ann. Rev. Microbiol.* **42**: 421—440, 1988.