

DOI:10.11937/bfyy.201710041

病原菌引起小立碗藓防卫反应的研究进展

杨思思, 闫慧清, 姜 山

(贵州师范大学 生命科学院, 贵州 贵阳 550001)

摘 要:植物在进化过程中形成了对外界不同类型胁迫的适应和抵抗能力,如对病原菌的防卫反应。苔藓类植物是陆生植物早期登陆的代表,其中的小立碗藓单倍体的配子体时期在其生活史中占主导地位,并且具有较高的同源重组率,其基因组核酸序列测定已完成,这便于研究在病原菌胁迫下防卫相关基因的功能,因此小立碗藓是植物基因功能研究的理想试验材料。现概述了病原菌如何侵入到植物中和被病原菌感染后小立碗藓的防卫反应。这些防卫反应包括细胞壁的加厚、过氧化物质的产生、细胞程序性死亡、防御相关基因的活化以及与防御相关的次生代谢物和激素的合成等。通过了解小立碗藓植株与病原菌之间的互作关系,确定小立碗藓防卫机制及陆生植物在登陆早期的抗病机理。

关键词:小立碗藓;防卫机制;程序性细胞死亡

中图分类号:S 688.9;S 432.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)10-0184-08

植物在多样性的自然环境中会受到各种各样的病原菌感染,包括真菌、细菌和病毒等。当植物受病

原菌感染时,能够识别病原菌并激发相应的防卫反应以阻止病原菌的侵入。病原菌通过产生有毒物质及分解植物细胞壁的酶,如果胶酶、角质酶、纤维素酶和半纤维素酶等来攻击植物体以达到侵入植物体的目的,并在植物体内生长繁殖^[1],与此同时植物细胞壁作为植物的保护屏障会增厚并形成乳突以增强植物抗病性,植物体内也能够直接或间接的产生各种抗性蛋白并激发免疫反应以抵抗病原菌的生长,包括超敏反应(hypersensitive response)和系统获

第一作者简介:杨思思(1989-),女,贵州黎平人,硕士研究生,研究方向为植物生理生态学。E-mail: yang2016si@126.com.

责任作者:姜山(1969-),男,贵州贵阳人,博士,教授,现主要从事植物病理学等研究工作。E-mail: kyosan200312@hotmail.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31560508,30860158)。

收稿日期:2016-12-07

Problem and Countermeasure Analysis on the Execution Effect of the Quality Management of Edible Fungi

ZHOU Lin, GUO Shang, NAN Xiaojie, LI Yanting, GUO Xiaofei, LIU Xiaogang

(Institute of Edible Fungi, Shanxi Provincial Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan, Shanxi 030031)

Abstract: In order to provide a safer and secure edible fungus products to consumers, create a food quality and integrity of the social environment, this study analyzed the edible mushroom product quality and safety incidents and the induced factors, discussed many factors to influence the quality safety on whole process of edible fungi production. It was put forward, the edible mushroom product quality management results was a comprehensive reflection of technology effect, management control effect and execution effect, which the most important was the execution effect by edible fungi industry practitioners actively execute the quality and safety rule. And then put forward that to establish a product quality assurance system that the edible fungi industry practitioners voluntarily participated in, by their credit, forwardly executes quality standards and regulations, ensure the quality and to achieve the best implementation effect.

Keywords: edible fungus; quality management; food safety; execution effect; safety and relief food; quality assurance system

得性免疫(systemic acquired resistance, SAR)^[2]。此外,一些抗病原菌的化合物也会在植物体内产生,活性氧的积累和防御相关激素的变化,如水杨酸和茉莉酸等^[3]。小立碗藓是最古老的陆生植物的代表,现将系统地介绍病原菌侵入小立碗藓的过程以及病原菌所引起的植物防卫反应,以探讨陆生植物在登陆早期的抗病机理以及在进化过程中的变化。

1 小立碗藓的特点

小立碗藓(*Physcomitrella patens*)属葫芦藓科(Funariaceae)小立碗藓属(*Physcomitrella*)苔藓植物^[4]。小立碗藓有以下4个特点:1)拟叶和原丝体均由单层细胞构成,通过染色后便可以在普通光学显微镜下观察到被病原菌感染后的症状和形态变化;2)单倍体配子体在生活史中占主导地位;3)基因组数据已获知,包括EST序列、cDNA的全长(<http://moss.nibb.ac.jp/>)和注释基因组(<http://www.cosmoss.org/>);4)具有较高的同源重组率,便于通过基因敲除研究分析参与对病原菌防卫反应的相关基因功能^[5-6]。鉴于这些独特优势,小立碗藓已经越来越多地被用来研究植物与病原菌互作关系。

2 小立碗藓的病原菌种类及侵入行为

苔藓植物病原真菌主要有子囊菌、担子菌和卵菌等,病原细菌有欧氏杆菌。已有文献报道,广谱性病原真菌灰霉菌(*Botrytis cinerea*),细菌胡萝卜软腐欧氏杆菌(*Erwinia carotovora*)、腐霉菌(*Pythium irregulare*)和德巴利霉菌(*Pythium debaryanum*),能感染小立碗藓。被病原菌感染的小立碗藓会出现植物组织的萎黄褐变和坏死、组织软腐,并伴有原生质萎缩、叶绿体解体、细胞壁中出现酚类化合物等现象^[7-9]。

灰霉菌属于坏死型广谱性病原真菌,能够感染200多种植物^[10],是双子叶植物如拟南芥、白菜、番茄、黄瓜等作物主要的病原菌,也能够感染某些单子叶植物,如洋葱、百合等^[11]。当灰霉菌感染植物时,能够分泌大量有毒物质及降解细胞壁的酶,如果胶酶、角质酶等,以杀死植物宿主细胞并使植株染上灰霉病^[1]。灰霉菌的基因组序列(<http://www.broad-institute.org/annotation/genom>)已经获得,便于了解灰霉菌在小立碗藓中的侵染机制和通过产生何种毒性物质抑制植物防卫反应^[12-13]。有研究报道,灰霉菌感染小立碗藓,可造成小立碗藓组织发生褐变、坏死和浸渍,进而迅速导致配子体的腐烂^[7-14]。用灰霉菌接种小立碗藓的结果表明,接种0 d,小立碗藓植株表型正常;接种1 d后,小立碗藓茎叶发生褐变;接

种3 d后,小立碗藓组织发生浸渍和坏死;接种5 d后,小立碗藓配子体出现腐烂现象(未发表数据)。

病原真菌通过附着在胞底部、侵入栓、感染盘等处,并在相应的人侵部位产生化合物,包括分解果胶的酶、多聚半乳糖醛酸酶和过氧化氢等物质,为有效入侵植物细胞提供了条件,使之能够适应植物细胞并便于其生长繁殖^[15]。灰霉菌侵染小立碗藓后,孢子开始萌发形成发芽管,接着发芽管前端的细胞膨大并发育成附着胞,最后,附着胞底部的细胞膜和细胞壁向内凹陷形成的感染盘(未发表数据)。当病原菌侵入植物组织时,感染盘的细胞膜和细胞壁向外突出延伸生成侵入栓,侵入栓穿透植物并在小立碗藓的细胞壁中其先端膨大形成角质下菌丝或者通过细胞连接处进入细胞中^[14]。

胡萝卜软腐欧氏杆菌能够广泛引起多种植物细胞根部的腐烂,包括马铃薯和拟南芥等^[16]。欧文氏杆菌通过分泌细胞壁降解酶,如果胶酶、蛋白酶、纤维素酶等来攻击宿主,破坏宿主细胞的完整性,进而导致组织浸渍^[17]。胡萝卜软腐欧氏杆菌也会侵染小立碗藓会造成叶片组织的黄化和浸渍^[7]。

腐霉菌在潮湿的环境下,通过作用于多种重要经济作物的根部、茎部和其它组织促使植物体的腐烂。腐霉菌主要是侵染植物的幼嫩组织,并通过分泌有毒物质和细胞降解酶,如半纤维素酶、纤维素酶和蛋白酶使得侵染部位浸渍化^[18]。腐霉菌(*P. irregulare*)和德巴利霉菌(*P. debaryanum*)侵染小立碗藓,引起组织腐烂和原丝体、茎部和叶片组织的褐变^[8]。自然界中,腐霉菌也能够感染苔藓植物,并引起苔藓组织大面积的死亡^[19]。

3 病原菌激活小立碗藓的防卫反应

3.1 小立碗藓体内抗病物质的积累

课题组尚未发表的数据表明,病原菌侵染小立碗藓会诱导植物细胞的细胞壁增厚并形成突起状的乳突结构,以阻止潜在病原菌的入侵。乳突产生的位置主要在侵入孔处。植物细胞壁的增厚处包含了多酚类化合物、ROS(reactive oxygen species)和胼胝质等物质的产生和积累,这样的沉积可能作为一种防御反应起到加固植物细胞壁并限制病原体扩散的作用,使得细胞壁被病原菌产生降解酶的破坏程度降低^[9]。

3.1.1 胼胝质 胼胝质即 β -1,3-葡聚糖的聚合物,广泛存在于植物细胞壁内。胼胝质与多酚类物质、抗菌蛋白和多糖参与形成乳突^[20]。在病原菌侵入植物体的早期,胼胝质的产生阻碍了病原菌的侵入^[21]。腐霉菌(*P. irregulare*)感染拟南芥胼胝质合酶突变

体 *pmr4* 植株时,相对野生型的抗性降低^[22],说明胼胝质在细胞壁中的沉积对植物的防卫反应起重要作用^[9-22]。使用苯胺蓝染色侵染了灰霉菌的小立碗藓叶片,发现有半月状的黄绿色荧光,说明有胼胝质的合成。以胼胝质抗体处理并免疫金标记,发现菌丝入侵部位的细胞壁和乳突样结构上有金颗粒,同样说明了有胼胝质的产生(未发表数据)。同时小立碗藓在接种灰霉菌后的第2天,胼胝质合酶基因 *PpCalS3*、*PpCalS5*、*PpCalS6*、*PpCalS11* 和 *PpCalS12* 表达量增加。另外,胼胝质合成调控相关基因 *NPR1* 在小立碗藓接种灰霉菌后表达量也增加(未发表数据)。

3.1.2 类木质素物质 植物细胞壁产生的木质素类物质在高等植物对灰霉菌侵染的防卫过程中起着重要的作用^[23]。被灰霉菌侵染的小立碗藓细胞壁内会产生酚类物质并且 *dirigent* (*DIR*) 基因的表达量增加^[14]。*DIR* 是一类能够介导单体酚类耦合成木质素和木脂素的蛋白质^[24]。小立碗藓具有除了阿魏酸-5-羟基化酶 (*ferulate 5-hydroxylase*, *F5H*) 的一整套木质素合成相关基因。*F5H* 主要作用是将 G 型木质素单体转化形成 S 型木质素单体^[25]。S 型木质素在高等植物对灰霉菌的防卫过程中起着尤其重要的作用^[26]。小立碗藓受灰霉菌感染时,木质素合成相关基因如 *C4H1*、*C4H2*、*C4H4*、*CCR2*、*CCR4*、*CAD2*、*COMT1* 和 *COMT3* 等基因表达上调(未发表数据)。据此推导,生物胁迫可能诱导了小立碗藓合成类木质素物质。

3.1.3 ROS 的积累 植物在正常情况下会产生 ROS,而且处于动态平衡的状态,但是当受到生物和非生物胁迫时 ROS 就会积累^[27]。ROS 作为信号分子激活植物的防卫反应,同时能够抑制病原菌生长和直接杀死病原菌^[27-28]。在灰霉菌侵染开花植物早期,灰霉菌自身产生 ROS 如 H_2O_2 ,并积累在发芽分生孢子内帮助其侵入宿主细胞,同时宿主植物也会产生 ROS 作为防卫机制抵抗病原菌的侵入^[29]。在某些植物与病原菌互作中,ROS 会引起超敏性反应^[27]。在接种灰霉菌的早期小立碗藓的表型出现了类似维管束植物的超敏反应,如在其拟叶感染部位上出现了超敏斑,但苔藓植物的过敏反应机制可能与维管束植物的不同,因为接种病原菌早期的小立碗藓植株与未接种植株中的 H_2O_2 含量并没有显著的差异^[30]。但真菌诱导子几丁质和壳聚糖可诱导小立碗藓氧爆发^[31]。

3.2 病原菌侵染小立碗藓后 PCD 的发生

超敏反应(HR)属于细胞程序性死亡的一种,即形成空泡,并且不会引起炎症^[32]。植物被侵染组织

的局部死亡最终导致了病原菌的死亡。细胞死亡在营养型病原菌和坏死型病原菌中分别具有不同的作用。对于营养型病原菌来说,HR 抑制了病原菌的侵入和限制了病原菌的生长,所以营养型病原菌通过分泌效应子来抑制 HR^[3]。例如丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*) 和野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris*) 能够向宿主细胞中释放 15~30 个效应子,抑制超敏反应的发生^[33]。相反,坏死型的病原菌主动诱发过敏反应,以提高病原菌的繁殖和宿主的易感病性。灰霉菌通过产生非特异性植物毒素促使宿主植物细胞的死亡^[29]。灰霉菌会促进开花植物程序性死亡(Programmed cell death, PCD),通过借助 HR 来提高致病性^[34-35]。在灰霉菌侵入小立碗藓后,植株也会发生与 HR 类似的反应,例如其细胞质皱缩、ROS 在植物体内积累、自发荧光化合物产生、叶绿体解体等现象。利用末端脱氧核糖核苷酸转移酶法 (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 对灰霉菌侵入的细胞检测呈阳性反应^[7-14]。此外,被病原菌侵染的小立碗藓还表现出 PCD 的特征,如细胞核凝聚和 DNA 断裂,核酸酶的活性增强和细胞质空泡的形成^[14]。值得关注的是,在病原菌或者诱导剂处理后的小立碗藓中与 PCD 的相关基因,如编码蛋白酶、脱氧核糖核酸酶和抗凋亡 Bax Inhibitor-1 (*BI-1*) 等基因能够被诱导表达,对病原菌的抵抗力增强^[36]。但在灰霉菌入侵小立碗藓后,却没有出现 DNA 的电泳梯度^[14],与开花植物的 PCD 呈现差异。

3.3 病原菌侵染中激素的作用

水杨酸(SA)、茉莉酸、乙烯、脱落酸(ABA)和生长素等植物激素都参与了高等植物对病原菌的防卫反应,在不同的宿主与病原菌互作中起着不同的作用^[37]。一般而言,水杨酸对营养型病原菌的抵抗性较强,而茉莉酸和乙烯对抵抗坏死型病原菌较强^[37-38]。小立碗藓能够产生 ABA、生长素和细胞分裂素^[39]。许多研究都集中在 ABA 介导的非生物胁迫和生长素及细胞分裂素对生长发育过程的调控作用^[40]。ABA 的作用因病原菌种类以及侵染的阶段、侵染的组织不同而不同^[41]。当灰霉菌菌丝在小立碗藓植株中快速生长时,ABA 的含量有少量的增加,表明 ABA 可能提高了植物的感病性,与在高等植物中所报道的水杨酸途径相同^[42]。

小立碗藓的基因组能够编码乙烯信号成分的同源蛋白质,包括有 7 个乙烯受体蛋白^[43]。当乙烯的结合位点 *PpETR7* 发生突变后能够抑制小立碗藓对乙烯的响应,表明小立碗藓是通过 *PpETR7* 识别

乙烯^[44]。另外,乙烯会影响苯丙烷类的代谢,从而导致细胞壁中单体木质素的积累,进而影响由乙烯介导的对灰霉菌的抗性^[44]。

小立碗藓基因组有 14 个编码 PALs(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)的假定基因和若干异分支合酶的同源物^[45],说明苔藓植物中可能有水杨酸的存在。此外,小立碗藓至少有 7 个脂氧合酶基因(lipoxygenase, LOX)、2 个丙二烯氧化合酶基因(allene oxide synthase, AOS)、3 个丙二烯氧化环化酶基因(Allene oxide cyclase, AOC)和 7 个 12-氧-植物二烯酸(12-oxo-phytodienoic acid, OPDA)还原酶基因^[46]。这些酶都是不饱和脂肪酸氧化代谢产生茉莉酸类物质的关键酶^[47]。目前,小立碗藓中的 LOXs、AOSs 和 AOC 的酶活性已经确定,但没有检测到唯一能够将 *cis*-(+)-OPDA 转化成为茉莉酸的酶^[46]。小立碗藓受灰霉菌和腐霉菌(*P. irregulare*)侵染时,茉莉酸前体 OPDA 的内源水平会增加,这与高等植物存在一致性^[48],与 OPDA 合成相关的酶和 OPDA 还原酶的转录水平都被诱导提高^[14]。但在正常的植株、被病原菌侵染、被诱导剂处理或非生物胁迫处理的小立碗藓中都没有检测到茉莉酸,表明小立碗藓中氧化脂类不能产生茉莉酸^[14]。所以,小立碗藓中的 *cis*-(+)-OPDA 可能代替了茉莉酸来行使信号分子的作用^[46,49-50]。在小立碗藓中 OPDA、茉莉酸和茉莉酸甲酯可以诱导 PAL 的表达^[8],这说明小立碗藓能够识别这些氧化脂类,并激活相关的信号转导途径,最终提高了防御相关基因的转录水平^[14]。小立碗藓茉莉-异亮氨酸受体 COI 能够结合除了茉莉酸-异亮氨酸以外的氧化脂类,如 *cis*-(+)-OPDA 或者 *cis*-(+)-OPDA-异亮氨酸^[51]。据此推测,茉莉酸形成于苔藓类植物和维管束植物的过渡时期。与开花植物一样,小立碗藓受灰霉菌感染后,其体内水杨酸含量有所增加^[14],说明 SA 对于小立碗藓的防御反应具有重要的作用。用 SA 处理苔藓植物组织防卫基因 PAL 被诱导表达^[14]。

3.4 与病原菌侵染相关的其它基因变化

在植物防卫过程中,病原菌的侵入会诱导多种代谢途径中的基因表达。这些基因包括编码功能性的多种病程相关蛋白(pathogenesis-related, PR),转录因子、某些代谢途径(如苯丙烷类)的酶和激素^[52-53]。以灰霉菌侵染拟南芥为例,1/3 的基因组在侵染早期发生差异表达^[54]。小立碗藓在感受到病原菌和诱导剂的存在时也能快速激活防卫基因的表达^[55]。灰霉菌、腐霉菌(*P. irregulare*)和德巴利霉菌(*P. debaryanum*)能够诱导小立碗藓中查尔酮合酶

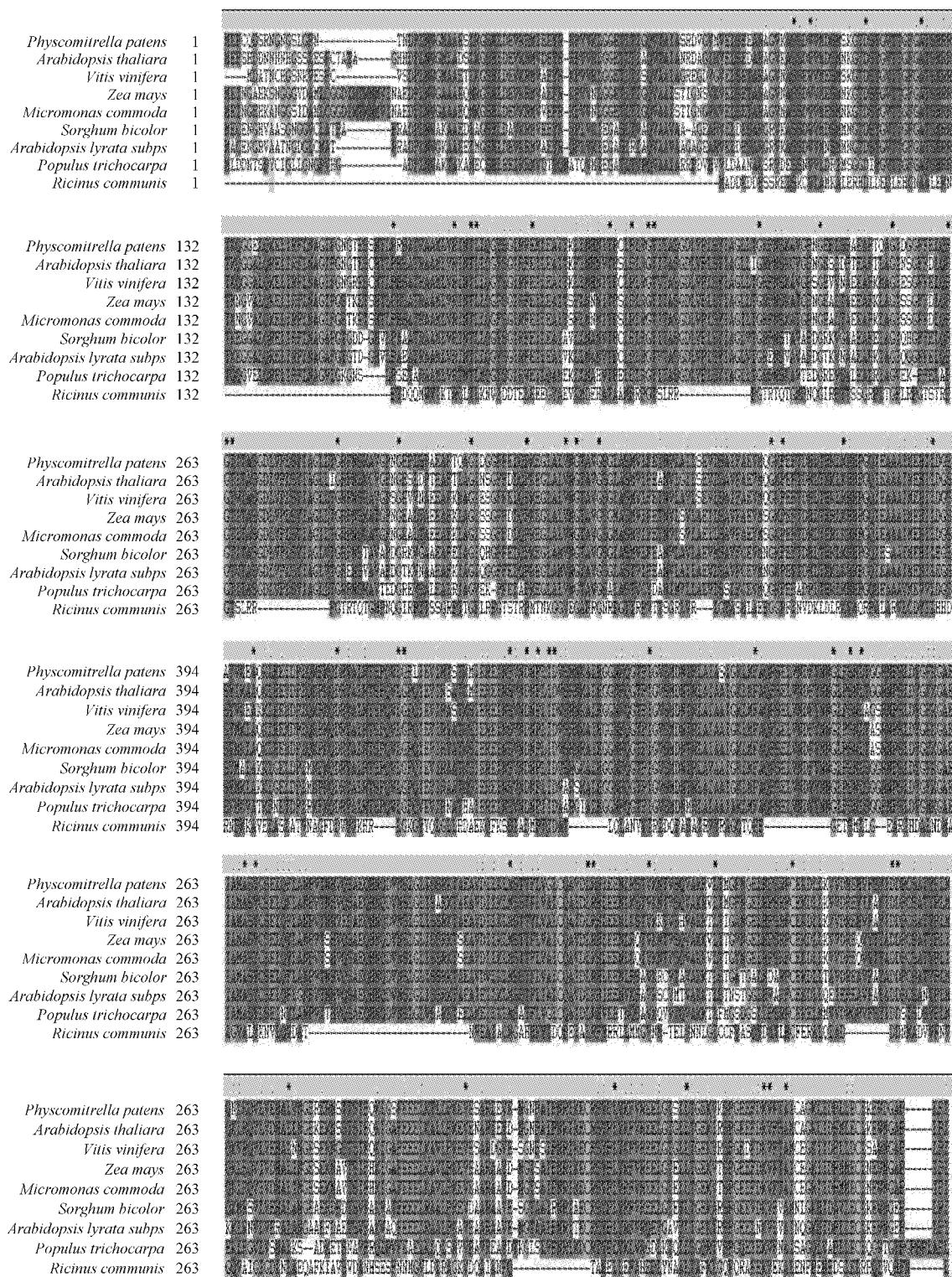
(chalcone synthase, CHS)、苯丙氨酸脱氨酶(PAL)、脂加氧酶(LOX)基因的表达^[7-14]。PAL 是苯丙烷类化合物合成中的关键酶,参与了包括木质素单体、植保素、抗菌素和水杨酸的生成,而 CHS 是黄酮类物质合成中的第一个酶^[53]。LOX 是不饱和脂肪酸代谢途径中的第一个酶,产生的脂氢过氧化物经过 AOS 和 HPL(hydro-peroxide lyase)途径分别生成茉莉酸类物质和醛类物质,这 2 类物质在植物防御反应中都具有信号分子的作用,醛类物质尤其是 C₆ 醛对病原菌具有毒性^[46]。小立碗藓 PAL 家族基因、LOX 家族基因和 CHS 家族基因的数量较高等植物的多,其中有一些基因是防卫反应特有的基因。PAL、LOX 和 CHS 的功能基因在拟南芥中分别有 4、3、1 个,在小立碗藓中分别有 14、14、19 个^[46](表 1)。这些基因家族中大部分基因的表达都是由病原菌侵入所诱导的^[56]。这 3 类基因家族在小立碗藓和拟南芥数量上的差异,揭示了小立碗藓中可能生成更多的次生代谢产物参与病原菌互作。苔藓类植物含有许多开花植物没有的次生代谢物,如花生四烯酸生成的氧化脂类,该类物质在植物登陆、UV-B 紫外照射、干旱胁迫和病原菌胁迫下发挥了重要的作用^[57]。另外,灰霉菌能够诱导小立碗藓花生四烯酸合成氧化脂类,这在高等植物中是不存在的^[58]。壳聚糖能够诱导小立碗藓中次生代谢物的产生,如环二萜,并能强化相关基因的表达^[59]。

表 1 查尔酮合酶、苯丙氨酸脱氨酶和脂加氧酶的功能基因个数在小立碗藓和拟南芥的区别

Table 1 Different function gene numbers of CHS, PAL and LOX in *P. patens* and *Arabidopsis thaliana*

| 基因名称 Gene name | 小立碗藓 <i>Physcomitrella patens</i> | 拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> |
|---|--------------------------------------|------------------------------------|
| 苯丙氨酸脱氨酶 Phenylalanine ammonia-lyase(PAL) | 14 | 4 |
| 查尔酮合酶 Chalcone synthase(CHS) | 19 | 1 |
| 脂加氧酶 Lipoxygenase(LOX) | 14 | 3 |

植物体内木质素的生物合成受到基因和环境的双重影响,苯丙氨酸解氨酶(PAL)作为木质素代谢途径的上游酶,其编码基因相对稳定,不易受环境的影响^[60]。但生物在长期的演化过程中,为适应环境各个物种的表型表现出差异性,形成了丰富多样的生物种类。随着演化的进行,生物基因也发生了相应的变异, PAL 也不例外。利用 ClustalX 对小立碗藓、拟南芥、玉米、葡萄、高粱、毛果杨、玉山筷子芥、蓖麻和海藻做了同源性比较。由图 1 可知,小立



注:灰色阴影表示序列的一致性,*表示相同的氨基酸。

Note: Gray shaded backgrounds indicate that the amino acids are identical, * represents the same amino acid sequence.

图 1 9 种植物 PAL 蛋白的氨基酸序列比对

Fig. 1 Multiple amino acid sequence alignments of PAL in nine plants

碗藓与玉米、高粱的同源率分别为 71%、73%，玉米与高粱的同源性较高为 85%。葡萄与拟南芥、毛果杨、玉山筷子芥的同源率分别为 76%、79%、75%。拟南芥与玉山筷子芥的同源性非常高为 95%。毛果杨与蓖麻的同源性较高为 84%。由于在长期的进化演变中发生的突变位点及频率的不同，因此，不同物种的 PAL 存在差异性。用 MegAlign 建立了以上 9 种植物的系统进化发生树(图 2)，通过该进化树得到

9 种植物之间进化关系。9 种植物的 PAL 系统进化树与其氨基酸序列同源性结果相一致性。在分支当中，小立碗藓与高粱和玉米的 PAL 基因亲缘关系较近。玉山筷子芥与拟南芥，高粱与玉米，毛果杨与蓖麻的 PAL 基因亲缘关系较近。结果表明小立碗藓的 PAL 基因与禾本科植物的 PAL 基因可能有着更多的相似性。

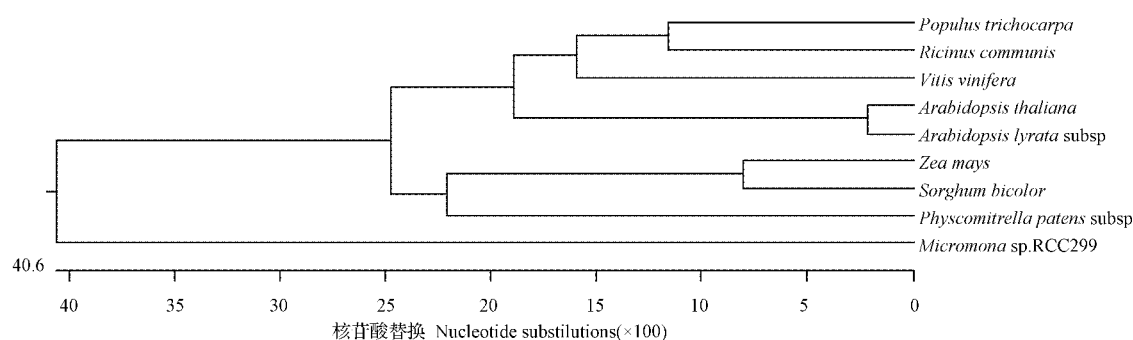


图 2 9 种植物 PAL 的系统进化树

Fig. 2 Polygenetic tree of nine plants' PAL

4 结语与展望

小立碗藓存在着与维管束植物相似的某些防卫反应和保守的信号传导途径，但茉莉酸信号途径可能形成于苔藓植物和维管束植物的分歧处。乙烯、脱落酸和水杨酸信号途径可能在植物登陆的早期形成。在关键信号代谢途径中，小立碗藓突变体的研究能够帮助确定某些代谢物在苔藓防卫过程中的作用。同时一些代谢物在维管束植物中是不存在的，如花生四烯酸生成的氧化脂类，但在小立碗藓的防卫过程中也起着重要的作用。为全面的掌握苔藓植物防御反应，今后可开展小立碗藓在相关功能基因组学的比较研究，以确定小立碗藓防卫机制及陆生植物在登陆早期的抗病机理。

参考文献

- [1] VAN K. Licensed to kill: The lifestyle of a necrotrophic plant pathogen[J]. Trends in Plant Science, 2006, 11(5): 247-253.
- [2] BOLLER T, FELIX G. A renaissance of elicitors: Perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors[J]. Annual Review of Plant Biology, 2009, 60(1): 379-406.
- [3] JONES D G, DANGL J L. The plant immune system[J]. Nature, 2006, 444(7117): 323-329.
- [4] 刘艳, 曹同, 陈静文. 有前景的模式植物小立碗藓的研究新进展[J]. 广西植物, 2007, 27(1): 90-94.
- [5] RENSING S A, ICK J, FAWCETT J A, et al. An ancient genome

duplication contributed to the abundance of metabolic genes in the moss *Physcomitrella patens* [J]. BMC Evolutionary Biology, 2007, 7(1): 162-173.

[6] PONCE D L I. The moss *Physcomitrella patens* as a model system to study interactions between plants and phytopathogenic fungi and oomycetes[J]. Journal of Pathogens, 2011(5): 719-873.

[7] LEÓN P D, OLIVER J P, CASTRO A, et al. *Erwinia carotovora* elicitors and *Botrytis cinerea* activate defense responses in *Physcomitrella patens* [J]. BMC Plant Biology, 2007, 7(1): 1-11.

[8] OLIVER J P, CASTRO A, GAGGERO C, et al. *Pythium* infection activates conserved plant defense responses in mosses[J]. Planta, 2009, 230(3): 569-579.

[9] TON J, MAUCH-MANI B. β -amino-butyric acid-induced resistance against necrotrophic pathogens is based on ABA-dependent priming for callose[J]. Plant Journal, 2004, 38(1): 119-130.

[10] ELAD Y, WILLIAMSON B, TUDZYNSKI P, et al. Botrytis: Biology, pathology and control[M]. Berlin: Springer Netherlands, 2004.

[11] PRINS T W, TUDZYNSKI P, TIEDEMANN A V, et al. Infection strategies of *Botrytis cinerea*, and related necrotrophic pathogens[M]// Fungal Pathology. Berlin: Springer Netherlands, 2000: 33-64.

[12] 伍自力, 余孟瑶, 陈露, 等. 植物分子生物学研究极具前景的模式系统: 小立碗藓[J]. 植物学报, 2015, 50(2): 171-179.

[13] RENSING S A, LANG D, ZIMMER A, et al. The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants [J]. Science, 2008, 319(5859): 64-69.

[14] LEÓN P D, SCHMELZ E A, GAGGERO C, et al. *Physcomitrella patens* activates reinforcement of the cell wall, programmed cell death and accumulation of evolutionary conserved defense signals like SA and

OPDA but not JA upon *Botrytis cinerea* infection[J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(8): 960-974.

[15] MALOY M. Encyclopedia of plant pathology[M]. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000: 676-677.

[16] PEROMBELON M C, KELMAN A. Ecology of the soft rot *Erwinia*[J]. Annual Review of Phytopathology, 2003, 18(1): 361-387.

[17] PALVA T K, HEINO P, PALVA E T. Induction of plant defense response by exoenzymes of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1993, 6(2): 190-196.

[18] CAMPION C, MASSIOT P, ROUXEL F. Aggressiveness and production of cell-wall degrading enzymes by *Pythium violae*, *Pythium sulcatum* and *Pythium ultimum*, responsible for cavity spot on carrots[J]. European Journal of Plant Pathology, 1997, 103(8): 725-735(11).

[19] DAVEY D L, CURRAH C S. Interactions between mosses (*Bryophyta*) and fungi[J]. Canadian Journal of Botany, 2006, 84(10): 1509-1519.

[20] JACOBS A K, LIPKA V, BURTON R A, et al. An *Arabidopsis* callose synthase, *GSL5*, is required for wound and papillary callose formation[J]. Plant Cell, 2003, 15(11): 2503-2513.

[21] LUNA E, PASTOR V, ROBERT J, et al. Callose deposition: A multifaceted plant defense response[J]. Molecular Plant-microbe Interactions: MPMI, 2011, 24(2): 183-193.

[22] ADIE B A, PÉREZ-PÉREZ J, PÉREZ-PÉREZ M M, et al. ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2007, 19(5): 1665-1681.

[23] JÓZSEF R, ANA-MARIA B, DÉNES S. Resistance to *Botrytis cinerea* in sitiens, an abscisic acid-deficient tomato mutant, involves timely production of hydrogen peroxide and cell wall modifications in the epidermis[J]. Plant Physiology, 2007, 144(4): 1863-1877.

[24] DAVIN L B, LEWIS N G. Dirigent proteins and dirigent sites explain the mystery of specificity of radical precursor coupling in lignan and lignin biosynthesis[J]. Plant Physiology, 2000, 123(2): 453-462.

[25] XU Z, ZHANG D, HU J, et al. Comparative genome analysis of lignin biosynthesis gene families across the plant kingdom[J]. BMC Bioinformatics, 2009, 10(5): 1-15.

[26] LLOYD A J, WILLIAM A J, WINDER C L, et al. Metabolomic approaches reveal that cell wall modifications play a major role in ethylene-mediated resistance against *Botrytis cinerea*[J]. Plant Journal, 2011, 67(5): 852-868.

[27] NANDA A K, ANDRIO E, MARINO D, et al. Reactive oxygen species during plant-microorganism early interactions[J]. 植物学报(英文版), 2010, 52(2): 195-204.

[28] 曹保华. 氧化胁迫调控病原菌致病力的机制[D]. 北京: 中国科学院, 2012.

[29] CHOQUER M, FOURNIER E, KUNZ C, et al. *Botrytis cinerea*, virulence factors: New insights into a necrotrophic and polyphagous pathogen[J]. Fems Microbiology Letters, 2007, 277(1): 1-10.

[30] 姜山, 余治锦, 兰世超. 小立碗藓-灰霉菌互作过程中活性氧代谢及病程相关蛋白 1 转录表达的变化[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 2013, 37(4): 349-354.

[31] LEHTONEN M T, AKITA M, FRANK W, et al. Involvement of

a class III peroxidase and the mitochondrial protein TSPO in oxidative burst upon treatment of moss plants with a fungal elicitor[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2012, 25(25): 363-371.

[32] van DOORN W G, BEERS E P, DANGL J L, et al. Morphological classification of plant cell deaths[J]. Cell Death & Differentiation, 2011, 18(8): 1241-1246.

[33] KJEMTRUP S, NIMCHUK Z, DANGL J L. Effector proteins of phytopathogenic bacteria: Bifunctional signals in virulence and host recognition[J]. Current Opinion in Microbiology, 2000, 3(1): 73-78.

[34] EM G, LEVINE A. The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*[J]. Current Biology Cb, 2000, 10(13): 751-757.

[35] DICKMAN M B, PARK Y K, OLTERSDORF T, et al. Abrogation of disease development in plants expressing animal antiapoptotic genes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(12): 6957-6962.

[36] LAWTON M, SAIDASAN H. Pathogenesis in Mosses [M]// Annual Plant Reviews Volume 36. The Moss, 2009: 298-338.

[37] LÓPEZ M A, BANNENBERG G, CASTRESANA C. Controlling hormone signaling is a plant and pathogen challenge for growth and survival[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2008, 11(4): 420-427.

[38] LUND S T, STALL R E, KLEE H J. Ethylene regulates the susceptible response to pathogen infection in tomato[J]. Plant Cell, 1998, 10(3): 371-382.

[39] KOMATSU K, NISHIKAWA Y, OHTSUKA T, et al. Functional analyses of the ABI1-related protein phosphatase type 2C reveal evolutionarily conserved regulation of abscisic acid signaling between *Arabidopsis* and the moss *Physcomitrella patens*[J]. Plant Molecular Biology, 2009, 70(3): 327-340.

[40] KHANDELWAL A, CHO S H, MARELLA H, et al. Role of ABA and ABI3 in desiccation tolerance[J]. Science, 2010, 327(5965): 546.

[41] TON J, FLORS V, MAUCH-MANI B. The multifaceted role of ABA in disease resistance[J]. Trends in Plant Science, 2009, 14(6): 310-317.

[42] SIEWERS V, SMEDSGAARD J, TUDZYNSKI P. The P450 monooxygenase BcABA1 is essential for abscisic acid biosynthesis in *Botrytis cinerea* [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2004, 70(7): 3868-3876.

[43] KAI I, YAMASHINO T, NAKANISHI H, et al. Classification of the genes involved in the two-component system of the moss *Physcomitrella patens*[J]. Bioscience Biotechnology & Biochemistry, 2010, 74(12): 2542-2545.

[44] YASUMURA Y, PIERIK R, FRICKER M D, et al. Studies of *Physcomitrella patens* reveal that ethylene-mediated submergence responses arose relatively early in land-plant evolution[J]. Plant Journal, 2012, 72(6): 947-959.

[45] WOLF L, RIZZINI L, STRACKE R, et al. The molecular and physiological responses of *Physcomitrella patens* to ultraviolet-B radiation[J]. Plant Physiology, 2010, 153(3): 1123-1134.

[46] BREITHAUPT C, KURZBAUER R, SCHALLER F, et al. Structural basis of substrate specificity of plant 12-oxophytodienoate reducta-

- ses[J]. Journal of Molecular Biology, 2009, 392(5): 1266-1277.
- [47] 王文霞, 李曙光, 白雪芳, 等. 不饱和脂肪酸及其衍生物在植物抗逆反应中的作用[J]. 植物生理学报, 2004, 40(6): 741-748.
- [48] NEUMANN P, BRODHUN F, SAUER K, et al. Crystal structures of *Physcomitrella patens* AOC1 and AOC2: Insights into the enzyme mechanism and differences in substrate specificity[J]. Plant Physiology, 2012, 160(3): 1251-1266.
- [49] 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[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1992, 89(15): 6837-6840.
- [50] EL O M, EL RAHMAN T A, RIGANO L, et al. *Botrytis cinerea* manipulates the antagonistic effects between immune pathways to promote disease development in tomato[J]. Plant Cell, 2011, 23(6): 2405-2421.
- [51] CHICO J M, CHINI A, FONSECA S, et al. JAZ repressors set the rhythm in jasmonate signaling[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2008, 11(5): 486-494.
- [52] van LOON L C, REP M, PIETERSE C M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants[J]. Annual Review of Phytopathology, 2006, 44(1): 135-162.
- [53] DIXON R A, PAIVA N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism[J]. Plant Cell, 1995, 7(7): 1085-1097.
- [54] WINDRAM O, MADHOU P, MCHATTIE S, et al. *Arabidopsis* defense against *Botrytis cinerea*: Chronology and regulation deciphered by high-resolution temporal transcriptomic analysis[J]. Plant Cell, 2012, 24(9): 3530-3557.
- [55] KODURI P K H, GORDON G S, BARKER E I, et al. Genome-wide analysis of the chalcone synthase superfamily genes of *Physcomitrella patens*[J]. Plant Molecular Biology, 2009, 72(3): 247-263.
- [56] 陈书霞, 陈巧, 王聪颖, 等. 绿叶挥发物代谢调控及分子机理研究进展[J]. 中国农业科学, 2012, 45(8): 1545-1557.
- [57] 吴秀祯, 姜红祥. 苔藓植物的化学生态学[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(6): 1073-1078.
- [58] WICHARD T, GÖBEL C, FEUSSNER I, et al. Unprecedented lipoxygenase/hydroperoxide lyase pathways in the moss *Physcomitrella patens*[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2004, 44(1): 158-161.
- [59] XIE C, LOU H. Secondary metabolites in bryophytes: An ecological aspect[J]. Chemistry & Biodiversity, 2009, 6(3): 303-312.
- [60] 靳萍, 靳同霞, 赵青青, 等. 11种植物石细胞形成相关基因 *pal* 的生物信息学分析[J]. 河南农业科学, 2012, 41(4): 117-120.

Defense Response of *Physcomitrella patens* Against Pathogens Infection

YANG Sisi, YAN Huiqing, JIANG Shan

(College of Life Science, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001)

Abstract: Plants have developed different mechanisms to adapt and cope with various types of stresses during evaluation, including microbial infection. *Physcomitrella patens* is an interesting model plant to perform functional studies of genes involved in microbial infection, because it has a dominant haploid phase during its life cycle, its genome has been sequenced. Targeted knock-out mutants can be generated by homologous recombination. This study reviewed the invade process of pathogens and the current knowledge of inducible defense mechanisms in *P. patens*, including the reinforcement of cell wall, reactive oxygen substance (ROS) generation, programmed cell death, activation of defense gene, and synthesis of defense compounds, like hormones and so on. The knowledge generated by the interactions of *P. patens* and pathogens will help to identify defense strategies to microbial infection and resistant mechanisms of land plant in evolutionary process.

Keywords: *Physcomitrella patens*; defense mechanisms; programmed cell death