

专题介绍 Special Topic

MAPK 和活性氧参与植物抗病防卫反应的信号转导

孔祥培, 李德全*

山东农业大学生命科学学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018

Cross Talk between MAPK and Reactive Oxygen Species during Plant Defense Responses

KONG Xiang-Pei, LI De-Quan*

State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

摘要: 促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联途径和活性氧参与调控植物过敏性细胞死亡。本文介绍促分裂原活化蛋白激酶级联途径在植物抗病防卫反应信号转导中的作用研究进展, 并对活性氧积累与MAPK之间的关系作了分析。

关键词: 植物抗病防卫信号转导; 过敏性反应; MAPK 级联途径; 活性氧

在自然界中, 植物经常遭受病原菌或病原激发子的侵袭, 在长期的进化过程中, 高等植物利用自身的先天免疫系统形成一套复杂而有效的防御机制来抵御病原菌或激发子的侵害, 这些机制包括过敏反应(hypersensitive response, HR) (Dangl等1996; Lamb和Dixon 1997; Pennell和Lamb 1997)和系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR) (Baker等1997; Durrant和Dong 2004; Greenberg和Yao 2004)。HR是植物抗病反应的一种典型症状, 其特征就是在病原菌的侵染部位, 细胞呈现快速枯死, 病原菌得不到营养, 而致其不能生长和扩散。这种死亡可在24 h内观察到。

HR的产生与两种类型的病原菌与植物相互作用: 一种是发生在病原菌与寄主之间的不亲和相互作用(avr-R), 如带无毒基因 *avrPto* 或 *avrPtoB* 的丁香假单胞菌致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*)诱导带抗病基因 *Pto* 的番茄产生过敏反应(Tang等1996; Lin和Martin 2007); 带无毒基因 *avrRrs1* 的黑麦喙孢霉(*Rhynchosporium secali*)能使带抗病基因 *Rrs1* 的大麦产生抗性(Rohe等1995)等。另外一种是由病原菌与非寄主植物的相互作用所引起, 已有研究表明, 病原真菌中引起非寄主过敏反应的物质主要是激发素(elicitin), 它是由疫霉属病原真菌产生的一类分子量为10 kDa大小的激发子的统称(Kamoun等1993); 在植物病原细菌中, 引起过敏性反应的激发子主要是 *hrp* 基因编码的 harpin 蛋白(Wei等1992; He等1993)。

已有的研究表明, 病原菌诱导的过敏性细胞死亡是一种程序化细胞死亡(Lam等2001; Greenberg和Yao 2004; Gechev和Hille 2005), 它和动物细胞凋亡的机制有很多相似的地方(Greenberg 1997; Lam等2001), 宿主植物细胞产生HR的过程中, 通过酶活修饰或基因表达的方式合成一系列的抗菌物质, 而在这些过程中需要一系列信号分子的参与, 如促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、一氧化氮(NO)等。近年来, 关于这些信号分子在植物抗病中互作的研究已取得较大进展, 人们对植物抗病信号转导途径也有了比较清晰的认识, 但依然有很多问题没有解决, 因此有必要理清近年来与这一问题相关的研究情况, 供以后的研究参考。

1 MAPKs参与植物病原信号的传递

1.1 *AtMAPK3*、*AtMAPK6*和*AtMAPK4* 在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组中, 大约有20个编码MAPK的基因, 10个MAP2K (MAPK激酶)的基因, 60个MAP3K (MAP2K激酶)的基因(Tena等2001; MAPK Group 2002; Jonak等2002), MAPK级联途径参与到多种非生物胁迫与生物胁迫途径中(Cardinale等2002; Kiegerl等2000; Petersen等2000;

收稿 2008-09-11 修定 2008-11-18

资助 国家自然科学基金(30871457、30471052)和教育部长江学者与创新团队发展计划项目(IRT0635)。

* 通讯作者(E-mail: dqli@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8249137)。

Teige 等 2004; Zhang 等 2007)。在拟南芥所有已知 MAPKs 中, 对 AtMAPK3、AtMAPK6 和 AtMAPK4 这 3 个 MAPKs 研究的最多, 功能也最丰富。这 3 个 MAPKs 几乎参与了拟南芥的所有生命活动, 不仅参与非生物胁迫(Droillard 等 2002; Miles 等 2005), 而且还参与激素和生长发育信号转导途径(Bush 和 Krysan 2007; Wang 等 2007; Yoo 等 2008), 尤其在植物抗病中的作用显得越来越重要(Asai 等 2002; Menke 等 2004; Brodersen 等 2006; Takahashi 等 2007)。

直到目前为止, 不同的研究发现一种细菌的鞭毛蛋白 flg22 可以激活拟南芥中的两条 MAPK 级联途径, 最终诱导早期防卫基因的转录。其中一条是 MEKK1/?—MKK4/MKK5—MAPK3/MAPK6, 起正调控作用(Asai 等 2002); 另外一条是 MEKK1—/?—MAPK4, 起负调控作用(Suarez-Rodriguez 等 2007)。在拟南芥的原生质体体系中, flg22 通过结合并激活在质膜上的受体激酶 FLS2 (flagellin sensing 2), 进而激活下游的 MAPK 级联途径。Asai 等 (2002) 采用原生质体瞬时表达、生物化学以及遗传学等方法, 鉴定了拟南芥免疫反应中第一条完整的 MAPK 级联途径。这条途径从受体 FLS2 受激活开始, 依次传递 MEKK1、MKK4/MKK5、MAPK3/MAPK6。MAPK3/MAPK6 通过未知的机制活化 WRKY22/WRKY29, 而 WRKY22/WRKY29 是防卫基因表达的转录因子, 最终诱导防卫基因的表达。虽然这条通路比较经典, 但是依然有很多问题值得探讨, 如在 *mekk1* 的突变体中, flg22 处理之后, 依然可以激活 MAPK3/MAPK6, 暗示在拟南芥中还有其它的 MAP3K 参与这一信号途径(Ichimura 等 2006; Suarez-Rodriguez 等 2007), 而这一未知的 MAP3K 到现在还不能确定是不是 YODA、ANP1 或者是其它 MAP3K, 已有的研究发现 YODA 通过激活 MKK4/MKK5、MAPK3/MAPK6 级联途径可以调控气孔的发育过程(Wang 等 2007), 而 H₂O₂ 可以激活 ANP1—MKK4/MKK5—MAPK3/MAPK6 信号途径来调节相关基因的表达(Kovtun 等 2000)。

另外一条受 flg22 激活的 MAPK 途径, 包括 MAP3K、MEKK1 和 MAPK4 (Suarez-Rodriguez 等 2007)。MEKK1 对于 flg22 激活 MAPK4 来说是必需的, 因为在 *mekk1* 的突变体中, flg22 不能激活 MAPK4 (Ichimura 等 2006; Suarez-Rodriguez 等

2007)。另外, *mekk1* 和 *mapk4* 这两种突变体都表现出矮小的表型, 这可能是由于这两种突变体过量积累水杨酸(salicylic acid, SA)和 H₂O₂ 造成的, 此外, *mekk1* 和 *mapk4* 突变体的叶片自发出现细胞死亡的症状, 并伴随有抗病相关基因病程相关(pathogenesis related 1, PR1)蛋白和植物防御素(plant defensin 1.2, PDF1.2)的持续表达, 因此这两种突变体对一些病原菌如丁香假单胞杆菌(*Pseudomonas syringae*)等产生持续的抗性(Petersen 等 2000; Ichimura 等 2006; Suarez-Rodriguez 等 2007)。总之, 由 flg22 诱导的 MEKK1 和 MAPK4 途径参与到病原菌或病原菌激发子诱导的细胞死亡, 负调 MKK4/MKK5—MAPK3/MAPK6 级联途径, 抑制抗病基因的表达。但遗憾的是, 目前还没有找到与 *mekk1* 和 *mapk4* 突变体表型相似的 MAP2K 的突变体, 这可能是由于拟南芥中 MAP2K 的功能冗余的原因。尽管如此, 许多研究表明, MKK1 和 MKK2 是 MAPK4 的上游激酶(Teige 等 2004; Meszaros 等 2006; Brader 等 2007)。Meszaros 等(2006)发现, 在 *mkk1* 的突变体中 flg22 不能激活 MAPK4, 因此参与这一途径的 MAP2K 最可能的就是 MKK1。

1.2 SA 诱导蛋白激酶(salicylic acid-induced protein kinase, SIPK)与伤诱导蛋白激酶(wounding-induced protein kinase, WIPK) 烟草(*Nicotiana tabacum*)中与 AtMAPK6、AtMAPK3 同源的 MAPK 分别是 SIPK、WIPK (MAPK Group 2002)。SA 是植物获得抗病反应的重要信号分子, SIPK 可以被 SA 快速诱导(Zhang 和 Klessig 1997), 而 WIPK 是伤诱导的蛋白激酶(Seo 等 1999)。用烟草花叶病毒(TMV)侵染烟草叶片, 可以快速激活 SIPK 和 WIPK, 并最终产生 HR (Zhang 和 Klessig 1998)。此外番茄芽枝病菌(*Cladosporium fulvum*)分泌的无毒因子 avr9 和细菌激发子 harpin 都能诱导这两种 MAPK 的激活(Romeis 等 1999; Samuel 等 2005)。在转基因烟草植株中诱导表达组成型激活的 NtMEK2^{DD} 蛋白可以激活内源的 SIPK 和 WIPK (Yang 等 2001; Jin 等 2003; Ren 等 2006), 根据动力学曲线分析, 由 NtMEK2^{DD} 激活的 SIPK 和 WIPK 与由病原菌或病原菌激发子诱导的非常相似(Zhang 和 Klessig 1998)。在 NtMEK2^{DD} 过表达之后的 36 h 就可以明显看到细胞死亡的症状(Yang 等 2001; Jin 等 2003)。同样的方法证明, 过表达组成型激活的 SIPK^{DD} 单独就可以

诱导 HR 类似的细胞死亡(Ren 等 2006), 虽然如此, 在 WIPK 失活的情况下, 这种 SIPK^{DD} 诱导的 HR 类似的细胞死亡表型延迟, 但是最终还是能产生细胞死亡, 说明 WIPK 的激活只是加速了这一过程(Liu 等 2003)。采用病毒诱导的基因沉默(virus induced gene silencing, VIGS)技术分别使 *NtMEK2* 基因和 *SIPK* 基因沉默, 结果即由 *N* 基因介导的对 TMV 的抗性大大减弱(Jin 等 2003), 由此也可以说明 SIPK 和 WIPK 在植物的抗病防卫反应中起着重要的作用。很多研究对这一信号途径进一步进行了完善: MAPKKK α ——*NtMEK2* 的上游激酶对于由 Pto 介导的抗性是必需的, 由此鉴定出 MAPKKK α — *NtMEK2* — SIPK 级联途径参与了由 Pto/AvrPto 介导的过敏性细胞死亡(Del Pozo 等 2004); 另外一条 MAPK 级联途径 NPK1 — *NtMEK1* — NTF6 对于 *N* 基因介导的抗性以及 Pto 依赖的细胞死亡是必需的 (Jin 等 2002; Del Pozo 等 2004)。Takahashi 等(2007) 采用高通量筛选的方法得到了另一个 MAP2K——*NbMKK1*。另外又运用生物化学及遗传学的方法证实, *NbMKK1* — *NbSIPK* 级联途径参与由 INF1 诱导的细胞死亡。

2 ROS 与 MAPKs 在植物病原信号传递中的关系

植物受到病原菌或病原菌激发子感染后, 通过相应受体或其它机制识别随即产生抗病信号, ROS 的产生就是早期的信号之一。植株产生 ROS 的途径有多种, 最主要的几种途径包括位于细胞膜上的 NADH 和 NADPH 氧化酶, 过氧化物酶体以及线粒体、叶绿体中的电子传递等, 其中与嗜中性粒细胞相似的 NADPH 氧化酶途径在植物病原互作中受到了极大的关注。用一定浓度的碘二苯(diphenylene iodonium, DPI) 预处理悬浮的大豆细胞时, 它可以抑制由真菌激发子或无毒菌株丁香假单胞菌大豆致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*) 产生的 H₂O₂ (Levine 等 1994)。另外, 由叶绿体和线粒体途径产生 H₂O₂ 的研究也作过相应的探讨(Xie 和 Chen 2000; Krause 和 Durner 2004; Garmier 等 2007)。

在病原信号转导过程中, 前人虽然对 ROS 的产生与 MAPK 的关系做了大量研究, 但是对于二者之间的联系仍有争议。到底是 H₂O₂ 位于 MAPK 级联途径的上游, 还是 H₂O₂ 的产生需要 MAPK 级联途径的激活呢? 尚不清楚。

外源 H₂O₂ 可以激活多种 MAPKs, 其中包括

AtMAPK3/AtMAPK6。Kovtun 等(2000) 采用拟南芥原生质体体系研究时发现 H₂O₂ 可以激活 ANP1 (一种 MAP3K), 而 ANP1 激活它的下游 MAPK —— AtMAPK3/AtMAPK6, 在这条级联途径中的 MAP2K 则是 AtMKK4/AtMKK5。另外, OXI1 (oxidative signal-inducible 1) 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶也可以激活 AtMAPK3/AtMAPK6 (Rentel 等 2004)。在 *oxi1* 突变体中, H₂O₂ 诱导的 AtMAPK3/AtMAPK6 的活性降低, 进而影响了依赖 ROS 的发育过程, 如根毛的伸长和数量等, 并减弱突变体对真菌寄生霜霉(*Peronospora parasitica*) 的抗性; 此外, 在过量表达 OXI1 蛋白的植株中, 通过检测发现可大大增强 H₂O₂ 诱导的 AtMAPK3 的活性, 因此确定 OXI1 参与由 H₂O₂ 所诱导的 AtMAPK3/AtMAPK6 途径中, 但 OXI1 具体通过哪些途径激活 AtMAPK3/AtMAPK6, 还有待进一步的研究(Rentel 等 2004)。而另外一条 H₂O₂ 诱导的 MAPK 级联途径包括 MAP3K、AtMEKK1 和 AtMAPK4。用 H₂O₂ 处理拟南芥的原生质体, 可以检测到 AtMEKK1 的激活, 继而激活它的下游 AtMAPK3/AtMAPK6/AtMAPK4 (Nakagami 等 2006), 而在 *mekk1* 的突变体中, H₂O₂ 不能激活 AtMAPK4, 而 AtMAPK3/AtMAPK6 则不受影响, 因此确定 AtMEKK1 仅仅对于 AtMAPK4 的激活是必需的 (Nakagami 等 2006), 这与用 flg22 处理得到的结果非常相似(Ichimura 等 2006; Suarez-Rodriguez 等 2007), 并且在这一途径中, H₂O₂ 通过抑制依赖蛋白酶体的降解途径来保持 MEKK1 蛋白的稳定 (Nakagami 等 2006)。最近 Doczi 等(2007) 发现 MKK3-MAPK7 也参与 H₂O₂ 的途径, 过表达组成型激活的 MKK3^{DD} 蛋白, 增强了 H₂O₂ 诱导的 MAPK7 的活性。综上所述, 可以看出, H₂O₂ 可以激活多条 MAPK 级联途径, 但在植物体内 H₂O₂ 是不是作为一种普遍的激活剂激活 MAPK 呢? 值得探讨。

Flg22 处理拟南芥可以诱导 ROS 的爆发 (Gomez-Gomez 等 1999), 而此种 ROS 的爆发是依赖于 NADPH 氧化酶 RbohD (respiratory-burst oxidase protein D) 途径的。Nuhse 等(2007) 研究发现, flg22 处理拟南芥 3 min 之内, RbohD 的 C 端的两个 S-Q 位点被磷酸化, 而 MAPK 的识别位点是 S/T, 因此认为, H₂O₂ 的积累是不需要 MAPK 的参与, 而是通过其它未知的途径完成的。此外, 用 MAP2K 的抑制剂 PD98059 预处理之后, 也发现 H₂O₂ 的积累

并不需要 MAPK 的激活(Romeis 等 1999)。虽然如此, 但有的研究与上述结果相悖, Asai 等(2008)发现用 INF1 激发子侵染烟草后, 产生依赖于 NADPH 氧化酶 *RbohB* 途径的 ROS, 并且此种途径需要 MAPK 级联途径的参与, 并鉴定出两条 MAPK 途径: MEK2—SIPK/NTF4; NPK1—MEK1—NTF6。在这一研究中过表达组成型激活的 MEK2^{DD}、MEK1^{DD} 蛋白, 大大增加了 *RbohB* 基因的转录水平, 最终诱导 ROS 的爆发。另外, 用番茄晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)侵染烟草的研究也证明, MEK2 途径很可能作为 NADPH 氧化酶基因的上游参与了 ROS 的产生(Yoshioka 等 2003; Asai 等 2008)。事实上, Ren 等(2002)的研究早就发现, 在转基因烟草植株中诱导表达组成型激活的 NtMEK2^{DD} 以及在拟南芥中的同源蛋白 AtMKK4^{DD} 或 AtMKK5^{DD}, 可以诱导叶片产生类似于 HR 的细胞死亡症状, 并且在这一过程中有 H₂O₂ 的积累, 但是这一研究中并未探讨 H₂O₂ 到底是通过哪些途径产生的, 直到 2007 年在 Liu 等的研究中才发现叶绿体在 H₂O₂ 的积累过程中起作用。他们发现, MEK2—SIPK/NTF4/WIPK 级联途径通过某种方式打乱了碳同化与光反应的平衡, 造成还原力过剩, 从而产生过多的 ROS。虽然如此, 但在叶绿体发育不完整的植株中或在没有光的情况下, 过表达组成型激活的 MEK2^{DD} 照样发生细胞死亡, 这说明由叶绿体途径产生的 ROS 仅仅是加速细胞死亡的进程, 应该还有其它的产生途径, 最有可能的就是 MEK2—SIPK/NTF4 参与的 NADPH 氧化酶途径(Asai 等 2008)。

此外, 其它的激发子, 如 Pep13, 从大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)分离得到的一段长 13 个氨基酸的多肽。用 Pep13 处理欧芹的悬浮细胞, 发现能够产生大量的 ROS 和植保素, 当然也检测到 MAPK 级联途径的激活以及 *PR* 基因的表达, 并且用 MAPK 的抑制剂处理发现 MAPK 的激活对于 *PR* 基因的表达是必需的。用 DPI 预处理, 再用 Pep13 处理之后发现 ROS 的积累和植保素的合成受到抑制, 而 MAPK 的激活与 PR 蛋白的合成不受影响(Ligterink 等 1997; Kroj 等 2003)。丁香假单胞杆菌分泌的激发子 harpin, 可以诱导拟南芥细胞产生 H₂O₂, 并且能够激活 AtMAPK3/AtMAPK6/AtMAPK4 (Desikan 等 1999, 2001; He 等 2006), 用过氧化氢酶(catalase, CAT)、DPI 预处理之后发现, 虽然可抑制 H₂O₂ 的

产生, 但并不影响 AtMAPK6/AtMAPK4 的激活。此外, 在烟草中 harpin 也可以激活 SIPK 和 WIPK, Samuel 等(2005)采用 RNAi 技术沉默 *SIPK* 基因的表达研究发现, 与野生型相比, harpin 处理之后 SIPK 沉默的植株能够积累更多的 ROS; 相反, 过表达 SIPK 植株的 ROS 积累量则大大降低, 说明 SIPK 位于 harpin 诱导的 ROS 积累的上游, 并且它可从一方面或者多方面负调 ROS 的积累。

从上述已有的研究结果发现, 不管是真菌激发子 Pep13、INF1, 还是细菌激发子 harpin, 都能够诱导植株产生 ROS 和 MAPK 的激活。MAPK 的激活与 ROS 的积累在同一条途径中起作用, 并且 MAPK 位于 ROS 的上游或者植株通过受体识别病原菌之后, ROS 途径与 MAPK 途径分别行使不同的功能, 而 MAPK 反馈调节 ROS。

3 结语

植物抗病防卫反应的信号转导是当今研究的热点之一, 随着植物抗病基因及抗病信号转导途径的其它组分的鉴定与分离, 使得抗病防卫反应的整个信号转导网络已逐渐清晰。MAPK 级联途径是这个复杂网络系统中非常重要的一部分, 同一病原菌或病原激发子可以激活不同的 MAPK 途径, 不同的病原菌或病原激发子也可以激活相同的 MAPK 级联途径, 这就势必造成各个信号通路的交叉。近年来, MAPK 的研究进展很快, 并已鉴定出一系列的 MAPK 级联途径, 其中研究最多的是拟南芥中 AtMAPK3/AtMAPK6/AtMAPK4 及其在其它物种中的同源基因, 如烟草中的 NtSIPK/NtWIPK。在众多的试验中, 上述 MAPK 的激酶活性是最容易检测到的, 这可能与其本底水平的表达或检测水平有关, 但其它 MAPK 的研究比较少, 因此需要进一步分析其它 MAPK 成员的功能, 以进一步完善 MAPK 级联途径在植物抗病防卫反应信号转导中的作用。

ROS 在植物抗病防卫中起着非常重要的作用, ROS 可以作为毒性因子直接杀死病原菌, 而更重要的是, 它作为一种信号分子参与抗病防卫信号的传递。目前对 ROS 与 MAPK 的关系还有争议, 已经知道在植物抗病防卫反应中, ROS 可以作为 MAPK 级联途径的上游激活剂, 激活多条 MAPK 途径, 而 MAPK 也可以通过调控不同的途径产生 ROS。当然 MAPK 也能够激活多种清除 ROS 的系统来维持植物体内的 ROS 平衡。此外, 许多植物的基因组

测序工作已经完成,采用现有的技术鉴定分离ROS下游的组分以及MAPK的底物,可能更有助于理解它们之间的关系。

从近几年的研究可以看出,植物抗病防卫信号转导途径的研究多集中在一些双子叶模式植物如拟南芥和烟草等,而单子叶植物的研究则相对较少。大家知道,单子叶植物与双子叶植物在进化上关系很远,在形态发育和抗病等的研究中有很大的差别,而大多数粮食作物均是单子叶植物,如小麦、玉米和水稻等,因此单子叶植物抗病信号途径的研究显得越来越重要。最近,人们比较关注一种单子叶植物短柄草(*Brachypodium distachyon*)的研究(Draper等2001),它的个体、基因组、生长条件和生长周期等方面与拟南芥类似,并且具有禾本科植物的许多共性,如抗病性和颖果等,因此短柄草逐渐成为单子叶植物的模式植物。此外,玉米基因组测序工作已经完成,单子叶植物转基因技术也有了很大的进展,这些都为单子叶植物抗病防卫信号转导途径的研究提供了平台。

参考文献

- Asai S, Ohta K, Yoshioka H (2008). MAPK signaling regulates nitric oxide and NADPH oxidase-dependent oxidative bursts in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell*, 20: 1390~1406
- Asai T, Tena G, Plotnikova J, Willmann MR, Chiu WL, Gomez-Gomez L, Boller T, Ausubel FM, Sheen J (2002). MAP kinase signaling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature*, 415: 977~983
- Baker B, Zambryski P, Staskawicz B, Dinesh-Kumar SP (1997). Signaling in plant-microbe interactions. *Science*, 276: 726~733
- Brader G, Djamei A, Teige M, Palva ET, Hirt H (2007). The MAP kinase kinase MKK2 affects disease resistance in *Arabidopsis*. *Mol Plant Microbe Interact*, 20: 589~596
- Brodersen P, Petersen M, Bjorn Nielsen H, Zhu S, Newman MA, Shokat KM, Rietz S, Parker J, Mundy J (2006). *Arabidopsis* MAP kinase 4 regulates salicylic acid- and jasmonic acid/ethylene-dependent responses via EDS1 and PAD4. *Plant J*, 47: 532~546
- Bush SM, Krysan PJ (2007). Mutational evidence that the *Arabidopsis* MAP kinase MPK6 is involved in anther, inflorescence, and embryo development. *J Exp Bot*, 58: 2181~2191
- Cardinale F, Meskiene I, Ouaked F, Hirt H (2002). Convergence and divergence of stress-induced mitogen-activated protein kinase signaling pathways at the level of two distinct mitogen-activated protein kinase kinases. *Plant Cell*, 14: 703~711
- Dangl JL, Dietrich RA, Richberg MH (1996). Death don't have no mercy: cell death programs in plant-microbe interactions. *Plant Cell*, 8: 1793~1807
- Del Pozo O, Pedley KF, Martin GB (2004). MAPKKK α is a positive regulator of cell death associated with both plant immunity and disease. *EMBO J*, 23: 3072~3082
- Desikan R, Clarke A, Atherfold P, Hancock JT, Neill SJ (1999). Harpin induces mitogen-activated protein kinase activity during defence responses in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures. *Planta*, 210: 97~103
- Desikan R, Hancock JT, Ichimura K, Shinozaki K, Neill SJ (2001). Harpin induces activation of the *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinases AtMPK4 and AtMPK6. *Plant Physiol*, 126: 1579~1587
- Doczi R, Brader G, Pettko-Szandtner A, Rajh I, Djamei A, Pitzschke A, Teige M, Hirt H (2007). The *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinase MKK3 is upstream of group C mitogen-activated protein kinases and participates in pathogen signaling. *Plant Cell*, 19: 3266~3279
- Draper J, Mur LA, Jenkins G, Ghosh-Biswas GC, Bablak P, Hasterok R, Routledge AP (2001). *Brachypodium distachyon*. A new model system for functional genomics in grasses. *Plant Physiol*, 127: 1539~1555
- Droillard M, Boudsocq M, Barbier-Brygoo H, Lauriere C (2002). Different protein kinase families are activated by osmotic stresses in *Arabidopsis thaliana* cell suspensions. Involvement of the MAP kinases AtMPK3 and AtMPK6. *FEBS Lett*, 527: 43~50
- Durrant WE, Dong X (2004). Systemic acquired resistance. *Annu Rev Phytopathol*, 42: 185~209
- Garmier M, Priault P, Vidal G, Driscoll S, Djebbar R, Boccara M, Mathieu C, Foyer CH, De Paepe R (2007). Light and oxygen are not required for harpin-induced cell death. *J Biol Chem*, 282: 37556~37566
- Gechev TS, Hille J (2005). Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J Cell Biol*, 168: 17~20
- Gomez-Gomez L, Felix G, Boller T (1999). A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 18: 277~284
- Greenberg JT (1997). Programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 48: 525~545
- Greenberg JT, Yao N (2004). The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cellular Microbiol*, 6: 201~211
- He P, Shan L, Lin NC, Martin GB, Kemmerling B, Nurnberger T, Sheen J (2006). Specific bacterial suppressors of MAMP signaling upstream of MAPKKK in *Arabidopsis* innate immunity. *Cell*, 125: 563~575
- He SY, Huang HC, Collmer A (1993). *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* harpin_{psa}: a protein that is secreted via the Hrp pathway and elicits the hypersensitive response in plants. *Cell*, 73: 1255~1266
- Ichimura K, Casais C, Peck SC, Shinozaki K, Shirasu K (2006). MEKK1 is required for MPK4 activation and regulates tissue-specific and temperature-dependent cell death in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 281: 36969~36976
- Jin H, Axtell MJ, Dahlbeck D, Ekwenna O, Zhang S, Staskawicz B,

- Baker B (2002). NPK1, an MEKK1-like mitogen-activated protein kinase kinase kinase, regulates innate immunity and development in plants. *Dev Cell*, 3: 291~297
- Jin H, Liu Y, Yang KY, Kim CY, Baker B, Zhang S (2003). Function of a mitogen-activated protein kinase pathway in N gene-mediated resistance in tobacco. *Plant J*, 33: 719~731
- Jonak C, Okresz L, Bogre L, Hirt H (2002). Complexity cross talk and integration of plant MAP kinase signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 5: 415~424
- Kamoun S, Klucher KM, Coffey MD, Tyler BM (1993). A gene encoding a host-specific elicitor protein of *Phytophthora parasitica*. *Mol Plant Microbe Interact*, 6: 573~581
- Kiegerl S, Cardinale F, Siligan C, Gross A, Baudouin E, Liwosz A, Eklof S, Till S, Bogre L, Hirt H et al (2000). SIMKK, a mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase, is a specific activator of the salt stress-induced MAPK, SIMK. *Plant Cell*, 12: 2247~2258
- Kovtun Y, Chiu WL, Tena G, Sheen J (2000). Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 2940~2945
- Krause M, Durner J (2004). Harpin inactivates mitochondria in *Arabidopsis* suspension cells. *Mol Plant Microbe Interact*, 17: 131~139
- Kroj T, Rudd JJ, Nurnberger T, Gabler Y, Lee J, Scheel D (2003). Mitogen-activated protein kinases play an essential role in oxidative burst-independent expression of pathogenesis-related genes in parsley. *J Biol Chem*, 278: 2256~2264
- Lam E, Kato N, Lawton M (2001). Programmed cell death, mitochondria and the plant hypersensitive response. *Nature*, 411: 848~853
- Lamb C, Dixon RA (1997). The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 48: 251~275
- Levine A, Tenhaken R, Dixon R, Lamb C (1994). H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 79: 583~593
- Ligterink W, Kroj T, zur Nieden U, Hirt H, Scheel D (1997). Receptor-mediated activation of a MAP kinase in pathogen defense of plants. *Science*, 276: 2054~2057
- Lin NC, Martin GB (2007). Pto- and Prf-mediated recognition of AvrPto and AvrPtoB restricts the ability of diverse *Pseudomonas syringae* pathovars to infect tomato. *Mol Plant Microbe Interact*, 20: 806~815
- Liu Y, Jin H, Yang KY, Kim CY, Baker B, Zhang S (2003). Interaction between two mitogen-activated protein kinases during tobacco defense signaling. *Plant J*, 34: 149~160
- Liu Y, Ren D, Pike S, Pallardy S, Gassmann W, Zhang S (2007). Chloroplast-generated reactive oxygen species are involved in hypersensitive response-like cell death mediated by a mitogen-activated protein kinase cascade. *Plant J*, 51: 941~954
- MAPK Group (2002). Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci*, 7: 301~308
- Menke FL, van Pelt JA, Pieterse CM, Klessig DF (2004). Silencing of the mitogen-activated protein kinase MPK6 compromises disease resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 897~907
- Meszáros T, Helfer A, Hatzimasoura E, Magyar Z, Serazetdinova L, Rios G, Bardoczky V, Teige M, Koncz C, Peck S et al (2006). The *Arabidopsis* MAP kinase kinase MKK1 participates in defence responses to the bacterial elicitor flagellin. *Plant J*, 48: 485~498
- Miles GP, Samuel MA, Zhang Y, Ellis BE (2005). RNA interference-based (RNAi) suppression of AtMPK6, an *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase, results in hypersensitivity to ozone and misregulation of AtMPK3. *Environ Pollut*, 138: 230~237
- Nakagami H, Soukupova H, Schikora A, Zarsky V, Hirt H (2006). A mitogen-activated protein kinase kinase mediates reactive oxygen species homeostasis in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 281: 38697~38704
- Nuhse TS, Bottrill AR, Jones AM, Peck SC (2007). Quantitative phosphoproteomic analysis of plasma membrane proteins reveals regulatory mechanisms of plant innate immune responses. *Plant J*, 51: 931~940
- Pennell RI, Lamb C (1997). Programmed cell death in plants. *Plant Cell*, 9: 1157~1168
- Petersen M, Brodersen P, Naested H, Andreasson E, Lindhart U, Johansen B, Nielsen HB, Lacy M, Austin MJ, Parker JE et al (2000). *Arabidopsis* map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell*, 103: 1111~1120
- Ren D, Yang H, Zhang S (2002). Cell death mediated by MAPK is associated with hydrogen peroxide production in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 277: 559~565
- Ren D, Yang KY, Li GJ, Liu Y, Zhang S (2006). Activation of Ntf4, a tobacco mitogen-activated protein kinase, during plant defense response and its involvement in hypersensitive response-like cell death. *Plant Physiol*, 141: 1482~1493
- Rentel MC, Lecourieux D, Ouaked F, Usher SL, Petersen L, Okamoto H, Knight H, Peck SC, Grierson CS, Hirt H et al (2004). OXII kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis*. *Nature*, 427: 858~861
- Rohe M, Gierlich A, Hermann H, Hahn M, Schmidt B, Rosahl S, Knogge W (1995). The race-specific elicitor, NIP1, from the barley pathogen, *Rhynchosporium secalis*, determines avirulence on host plants of the *Rrs1* resistance genotype. *EMBO J*, 14: 4168~4177
- Romeis T, Piedras P, Zhang S, Klessig DF, Hirt H, Jones JD (1999). Rapid Avr9- and Cf-9-dependent activation of MAP kinases in tobacco cell cultures and leaves: convergence of resistance gene, elicitor, wound, and salicylate responses. *Plant Cell*, 11: 273~287
- Samuel MA, Hall H, Krzymowska M, Drzewiecka K, Hennig J, Ellis BE (2005). SIPK signaling controls multiple components of harpin-induced cell death in tobacco. *Plant J*, 42: 406~416
- Seo S, Sano H, Ohashi Y (1999). Jasmonate-based wound signal transduction requires activation of WIPK, a tobacco mitogen-activated protein kinase. *Plant Cell*, 11: 289~298
- Suarez-Rodriguez MC, Adams-Phillips L, Liu Y, Wang H, Su SH, Jester PJ, Zhang S, Bent AF, Krysan PJ (2007). MEKK1 is required for flg22-induced MPK4 activation in *Arabidopsis*

- plants. *Plant Physiol*, 143: 661~669
- Takahashi F, Yoshida R, Ichimura K, Mizoguchi T, Seo S, Yonezawa M, Maruyama K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2007). The mitogen-activated protein kinase cascade MKK3-MPK6 is an important part of the jasmonate signal transduction pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 805~818
- Takahashi Y, Nasir KH, Ito A, Kanzaki H, Matsumura H, Saitoh H, Fujisawa S, Kamoun S, Terauchi R (2007). A high-throughput screen of cell-death-inducing factors in *Nicotiana benthamiana* identifies a novel MAPKK that mediates INF1-induced cell death signaling and non-host resistance to *Pseudomonas cichorii*. *Plant J*, 49: 1030~1040
- Tang X, Frederick RD, Zhou J, Halterman DA, Jia Y, Martin GB (1996). Initiation of plant disease resistance by physical interaction of AvrPto and Pto kinase. *Science*, 274: 2060~2063
- Teige M, Scheikl E, Eulgem T, Doczi R, Ichimura K, Shinozaki K, Dangl JL, Hirt H (2004). The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 15: 141~152
- Tena G, Asai T, Chiu WL, Sheen J (2001). Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Curr Opin Plant Biol*, 4: 392~400
- Wang H, Ngwenyama N, Liu Y, Walker JC, Zhang S (2007). Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 63~73
- Wei ZM, Laby RJ, Zumoff CH, Bauer DW, He SY, Collmer A, Beer SV (1992). Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science*, 257: 85~88
- Xie Z, Chen Z (2000). Harpin-induced hypersensitive cell death is associated with altered mitochondrial functions in tobacco cells. *Mol Plant Microbe Interact*, 13: 183~190
- Yang KY, Liu Y, Zhang S (2001). Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway is involved in disease resistance in tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 741~746
- Yoo SD, Cho YH, Tena G, Xiong Y, Sheen J (2008). Dual control of nuclear EIN3 by bifurcate MAPK cascades in C₂H₄ signalling. *Nature*, 451: 789~795
- Yoshioka H, Numata N, Nakajima K, Katou S, Kawakita K, Rowland O, Jones JD, Doke N (2003). *Nicotiana benthamiana* gp91^{phox} homologs *NbrbohA* and *NbrbohB* participate in H₂O₂ accumulation and resistance to *Phytophthora infestans*. *Plant Cell*, 15: 706~718
- Zhang S, Klessig DF (1997). Salicylic acid activates a 48-kD MAP kinase in tobacco. *Plant Cell*, 9: 809~824
- Zhang S, Klessig DF (1998). Resistance gene *N*-mediated *de novo* synthesis and activation of a tobacco mitogen-activated protein kinase by tobacco mosaic virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 7433~7438
- Zhang X, Dai Y, Xiong Y, DeFraia C, Li J, Dong X, Mou Z (2007). Overexpression of *Arabidopsis* MAP kinase kinase 7 leads to activation of plant basal and systemic acquired resistance. *Plant J*, 52: 1066~1079