

虞玲锦, 张国良. 植物类病变坏死突变体研究进展[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(2): 94–97.

# 植物类病变坏死突变体研究进展

虞玲锦, 张国良

(淮阴工学院生命科学与化学工程学院/江苏省生物质转化与过程集成工程实验室, 江苏淮安 223003)

**摘要:** 本文综述了植物类病变坏死突变体的定义、类型、形成机制以及信号转导途径, 并对植物类病变坏死突变体的研究进行了展望, 以为植物抗病育种提供新的思路。

**关键词:** 植物类病变; 形成机制; 信号转导途径

**中图分类号:** S432.2<sup>+</sup>3; S432.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1002–1302(2014)02–0094–03

植物在没有明显的逆境、损伤或病原物侵害时, 在叶片上能自发地形成坏死斑 (Lesion), 其症状与某种病原物侵染后的坏死症状非常类似, 被称为类病变坏死突变体 (lesion mimicking mutant, LMM)<sup>[1]</sup>。在玉米中首先发现了类病变坏死突变体<sup>[1]</sup>, 后来在拟南芥<sup>[2]</sup>、大麦<sup>[3]</sup>、水稻<sup>[4]</sup>、花生<sup>[5]</sup>和 大豆<sup>[6]</sup>等其他植物中也相继发现了类病变坏死突变体。有些类病变坏死突变体的发生与正常生理功能或细胞发育有关, 另外一些与植物抗病抗逆的防卫反应紧密有关, 其表型与植物在防卫过程中的过敏反应 (hyper-sensitive response, HR) 很相似。不少 LMM 在类病变坏死形成之前或之后还表现出对病原物局部或系统抗性的增强, 并且表现出与细胞程序性死亡有关, 推测类病变坏死突变体和过敏反应可能具有一些共同的形成机制<sup>[7]</sup>。过敏反应是植物在受到非亲和性病原菌感染后, 侵染部位的细胞迅速死亡, 从而使得病原菌获得养分的途径受到限制, 同时诱导周围细胞合成抑制病原菌生长的物质阻止病原菌增殖的一种植物特异性防卫反应, 属于一类细胞程序性死亡 (programmed cell death, PCD)<sup>[8]</sup>。1996 年 Dangl 等就已证实类病变不是病原菌直接导致的, 而是植物程序性细胞死亡机制的产物<sup>[9]</sup>。因此, 类病变坏死突变体逐渐受到学者们的广泛关注, 将其作为研究植物抗病性机制以及细胞程序性死亡途径的重要试验材料。

## 1 类病变坏死突变体的类型

根据类病变坏死突变体的表现型及其与 PCD 的关系, Lorrain 等<sup>[10]</sup>将其分成 2 类, 一类为 PCD 的抑制途径, 另一类为 PCD 的激发途径。抑制途径所产生的突变体被称为反馈型 (propagation class) 突变体, 其对细胞程序化死亡进程缺乏

下调作用, 最终会导致叶片完全枯死<sup>[11]</sup>。激发途径所产生的突变体被称为起始型 (initiation class) 突变体, 在无外界因素激发的情况下, 细胞坏死随机且自发地独立产生于叶片或其他器官上, 不会扩散。起始型突变体又可以被分为隐性和显性两种类型, 以显性为主。显性一般被称为功能获得型, 是程序性地表达细胞死亡信号; 隐性则被称为功能失去型, 是缺乏细胞死亡起始的负调控。

## 2 类病变坏死突变体形成机制

造成类病变形成的原因很复杂, 能够引起植物代谢紊乱而破坏细胞内部平衡的某个基因突变都有可能导致植物细胞程序性死亡而产生类病变。随着越来越多 LMM 基因的发现、克隆与功能分析, 对植物类病变坏死突变体坏死斑表型形成的机制的研究也越来越深入, 从研究结果推测, 可能存在以下几个方面的原因。

### 2.1 抗病基因的改变或过量表达

抗病基因的突变, 可能会导致信号传导途径的改变而引起细胞过敏反应, 最终导致大量的、难以控制的细胞程序性死亡, 产生类病变现象。1999 年 Tang 等<sup>[12]</sup>和 Collins 等<sup>[13]</sup>就分别在番茄和玉米中证实了这一说法, 过量表达 *Pto* 基因导致了类病变的产生, Collins 通过突变玉米的 *RPL* 位点从而导致了类病变的产生。突变体 blm 的免疫印迹分析结果表明, 突变体中一些发挥关键作用的抗病蛋白和氧化酶的表达都明显增加<sup>[14–15]</sup>。

### 2.2 正常代谢途径紊乱

当植物的正常生长代谢过程发生紊乱时, 干扰或者影响正常 PCD 的发生都有可能对植物类病变坏死表型的发生。如脂转移酶 ACDIII 以及红叶绿素还原酶 ACD 2 的突变都会导致类病变的产生<sup>[16]</sup>。Brodersen 等<sup>[17]</sup>敲除编码拟南芥鞘氨醇转运蛋白的 *acd11* 基因后能激活植物 PCD 和防卫反应。这些研究表明, 植物类病变坏死形成与植物 PCD 失控密切相关。

另外, 卟啉代谢途径的紊乱也是类病变坏死形成的重要原因之一。卟啉代谢途径中任何一个酶基因的突变或任何可能导致光活化代谢物积累的基因突变都可能会导致类病变的形成, 此外异源基因的过量表达和原卟啉原氧化酶 (proto porphyrinogen oxidase) 的表达受到抑制等都可能造成类病变的形成。Hu 等<sup>[18]</sup>对玉米 *les 22* 基因序列的分析结果表明, *les 22* 的变异导致尿卟啉原 III 大量积累, 在光照作用下使得分

收稿日期: 2013–06–18

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (编号: 2011CB100700); 江苏省自然科学基金 (编号: BK2008193、BK2012667); 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所植物分子遗传国家重点实验室开放课题; 江苏省淮安市“533 英才工程”拔尖人才资助项目 (编号: 134); 淮阴工学院自然科学重点项目 (编号: HGA1101)。

作者简介: 虞玲锦 (1987—), 女, 江苏常州人, 硕士, 主要从事植物抗病性等方面的工作。

通信作者: 张国良, 博士, 副教授, 硕士生导师。E-mail: hgzgl@sina.com。

子氧转变成活性氧,引发了类病斑的形成。

### 2.3 活性氧和自由基的作用

在类病变坏死突变体中自发性坏死斑的形成往往与活性氧(ROS)和自由基密切相关,活性氧主要以超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )和过氧化氢( $H_2O_2$ )的形式存在,自由基为羟基自由基( $OH^{\cdot}$ ),主要存在于正常的植物细胞叶绿体和线粒体中。伴随着 ROS 和自由基的富集,许多 LMM 在短时间内,会在坏死斑及周围快速积累  $H_2O_2$  和  $O_2^{\cdot-}$ 。许多类病变坏死突变体都显示 ROS 积累于病斑周围,但我们对这些早期的信号分子是怎样在病斑的起始和扩散中发挥作用仍不清楚。如突变体 *sp12*、*spl* 和 *spl1* 在接菌后,随着 NADPH 氧化酶活性的增强  $H_2O_2$  会进一步得到积累;突变体 *s1* 接菌后过氧化氢酶活性下降,也同样导致积累  $H_2O_2$ ,这会造成叶绿体、线粒体等细胞器受到损伤,从而引发植物发生细胞程序性死亡<sup>[19]</sup>。Jabs 等研究结果表明超氧阴离子是启动拟南芥 *lsd 1* 突变体发生程序性死亡的充分必要条件,外源的超氧化物歧化酶(SOD)能抑制 *lsd 1* 细胞死亡<sup>[20-21]</sup>。在烟草、小麦的试验中也发现,线粒体内的选择性氧化酶(mitochondrial alternative oxidase, AOX)可抑制线粒体的电子传递链同时有效阻碍由细胞色素呼吸途径下调而引起的程序性细胞死亡<sup>[22-23]</sup>。

### 2.4 激素的作用

水杨酸是一种极其重要的能激活植物发生抗病防卫反应的内源信号分子,其 NPR1 蛋白含有锚蛋白重复结构,可以介导局部的植物过敏反应。Dong<sup>[24]</sup>发现 NPR1 与 TGA 类的转录因子之间发生相互作用,这些转录因子结合 *PR-1* 抗病基因启动子中的水杨酸应答元件<sup>[25]</sup>,从而直接参与调节 *PR-1* 基因的表达,也就是说其作用位点在水杨酸途径的下游。另外,过量表达水杨酸水解酶基因也可使拟南芥的 LMM 的细胞死亡情况受到抑制<sup>[26]</sup>。有研究结果表明,在 *NahG* 基因存在的情况下,能抑制突变体自发坏死斑的形成,表明水杨酸在类病斑坏死的形成中起了关键作用<sup>[17]</sup>。

乙烯和茉莉酸是与果实成熟、花粉形成、根系发生等植物生长发育过程密切相关的重要激素。一些类病斑的表达除通过组成型激活水杨酸途径外,还可表达茉莉酸和乙烯依赖的基因(*PDF1-2* 和 *Thi2-1*),或通过过量表达这些信号成分,或通过下游信号的异常加以调节<sup>[27-29]</sup>。Devadas<sup>[30]</sup>等将突变体 *acd 5*、*cpr 5* 和 *hrl 1* 与乙烯途径被破坏的突变体进行杂交,发现类病斑坏死的出现延迟,说明乙烯在细胞死亡的起始上发挥重要作用。

此外,外界环境,臭氧、温度、光照和湿度条件也会诱发植物形成类病斑坏死表型,如在光照和黑暗条件下,类病变坏死突变体 *Sekiguchi* 会形成不同的病斑<sup>[31]</sup>。又如在长日照下,拟南芥类病变坏死突变体 *lsd 1* 自发形成病斑,而在短日照下,病斑的形成则受到抑制,当从短日照条件再次移到长日照条件下又会形成病斑<sup>[32]</sup>。2002 年,第一个水稻类病斑突变基因 *Spl 7* 被成功克隆,其编码的一个转录因子蛋白通过参与水稻细胞的热激反应来控制光温下植物的 PCD 过程<sup>[33]</sup>,说明温度可能参与类病斑的形成。

## 3 类病变坏死突变体的信号转导途径

类病变坏死突变体在产生类病斑的过程中一般都伴随着

胍胍质的沉积、活性氧的产生、自发荧光化合物的积累以及 SA 含量的提高和组成型表达防卫基因,同时其抗性也会加强。通过研究发现,类病斑的产生与植物的抗病信号途径中水杨酸、茉莉酸、乙烯和 *R* 基因介导的抗性密切相关。

### 3.1 SA 信号途径在类病变坏死突变体形成中的作用

在病原菌侵染植物的过程中,植物的局部组织会产生 HR,此时植物体内的水杨酸会增加,从而激发 PR 蛋白表达提高植物系统抗性。由于 *NahG* 转基因植物不能够积累 SA, Greenberg<sup>[17,27,34]</sup>等将其和各种类病变坏死突变体杂交以确定 SA 信号在 LMM 中的作用。结果显示, $F_2$  代类病斑的形成受到抑制,可见这些类病变坏死突变体所激活的抗性反应位于 SA 的下游。此外,在水杨酸信号途径中,*NPR1* 基因和特异性抗病基因发挥着及其重要的作用。在 *PR-1* 抗病基因表达过程中,SA 应答元件通过与 NPR1 相互作用的 TGA 类转录因子来调节 *PR-1* 基因的表达<sup>[25]</sup>;SNCI 则能产生组成型表达的防卫反应,使细胞生长减缓,细胞死亡得到抑制<sup>[35-38]</sup>。

### 3.2 JA 和 ET 信号途径在类病变坏死突变体形成中的作用

JA 作为脂肪酸源的信号分子,ET 则调节复杂的信号网络,通过正调节或负调节控制植物抗病信号传导<sup>[39]</sup>。类病变坏死突变体一般通过两个方式调节病斑的形成,过量表达 JA 信号途径中的信号分子和不正常调节下游信号<sup>[28,40]</sup>。基因 *PDF1-2* 和 *Thi 2-1* 的特异性均受到 JA 或 ET 的诱导,一般被用来作为区别依赖于 SA 和 JA/ET 抗病性转导途径中的标记基因<sup>[41-43]</sup>。Brodersen 等将一些类病变坏死突变体(*acd 5*、*acd 1*、*cpr 5*、*cpr 22*、*dll 1*、*hrl 1* 和 *cet*)和削弱 JA 或 ET 信号的突变体杂交,结果表明 *acd 1* 和 *cpr 22* 类病斑的形成并不依赖于 JA 和 ET 信号;*acd 5*、*cpr 5* 和 *hrl 1* 病斑延迟出现,说明 ET 对这些类病斑形成的时间以及细胞死亡的扩散极其重要<sup>[17,44]</sup>。

### 3.3 R 基因介导的抗病反应

目前已从水稻、拟南芥等多种植物中分离得到了 20 余种 *R* 基因,这些 *R* 基因所编码的蛋白结构具有很强的保守性,多数都包含有一个 LRR 结构域,它控制着配体的结合或者蛋白质与蛋白质之间的互作,此外,两个脂类蛋白 PAD4 和 EDS1 与膜蛋白 NDRI 共同调控 *R* 基因介导抗性的 2 个分支<sup>[45]</sup>,其亮氨酸的重复序列以及亮氨酸拉链在蛋白的相互识别和相互作用过程中发挥作用,激酶保守区和核苷酸结合位点则在信号传递过程中起作用。Rustérucci 等<sup>[32,45]</sup>利用 2 个突变体 *lsd1* 和 *eds1* 证实了 EDS1 在细胞死亡中扩大的新功能,这 2 个突变体完全消除了蔓延型细胞死亡(runaway cell death, RCD)。

## 4 展望

虽然有些类病变坏死突变体的表型与细胞发育和生理有关,受光温诱导<sup>[46]</sup>,与植物抗病性反应无关。但这些突变体中的一部分基因发生了变异,而这些基因又直接或间接参与调控细胞凋亡和抗病性过程。另外一些 LMM 表型与抗病性有关,本实验室筛选出的水稻 LMM 农艺性状基本不变,但提高了水稻对纹枯病和稻瘟病的抗病性,具有一定的广谱抗性。随着基因芯片等技术的发展,可以对 LMM 进行全基因组扫描,对差异表达显著的基因进行鉴定和功能研究,也可以对其调控的蛋白进行功能研究,或者与已知的 LMM 基因相关蛋白

进行生理生化、亚细胞定位及其互作等研究,以便深入了解 LMM 在细胞凋亡、防卫或细胞发育中的作用。对于抗病性明显提高或者产生广谱抗性的 LMM,也可以开展相关的抗病分子育种研究,创制既高产又抗病的水稻材料。

#### 参考文献:

- [1] Hoisington D A. Linkage studies of lesion and necrotic mutants[J]. *Maize Genet*, 1985, 58: 52 – 84.
- [2] Dietrich R A, Delaney T P, Uknes S J, et al. *Arabidopsis* mutants simulating disease resistance response[J]. *Cell*, 1994, 77(4): 565 – 577.
- [3] Büschges R, Hollricher K, Panstruga R, et al. The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance[J]. *Cell*, 1997, 88(5): 695 – 705.
- [4] Singh K, Multani D S, Khush G S. A new spotted leaf mutant in rice[J]. *Rice Genetics Newsletter*, 1995, 12: 192 – 193.
- [5] Badigannavar A M, Kale D M, Eapen S, et al. Inheritance of disease lesion mimic leaf trait in groundnut[J]. *The Journal of Heredity*, 2002, 93(1): 50 – 52.
- [6] Kosslak R M, Dieter J R, Ruff R L. Partial resistance to root borne infection by phytophthora sojae in three allelic necrotic root mutants in soybean[J]. *The Journal of Heredity*, 1996, 87: 415 – 422.
- [7] Ryals J A, Neuenschwander U H, Willits M G. Systemic acquired resistance[J]. *Plant Cell*, 1996, 8: 1809 – 1819.
- [8] Hammond – Kosack K E, Jones J D. Resistance gene – dependent plant defense responses[J]. *Plant Cell*, 1996, 8(10): 1773 – 1791.
- [9] Dangl J L, Dietrich R A, Richberg M H. Death don't have no mercy: cell death programs in plant – microbe interactions[J]. *Plant Cell*, 1996, 8(10): 1793 – 1807.
- [10] Lorrain S, Vaillau F, Balagué C, et al. Lesion mimic mutants: keys for deciphering cell death and defense pathways in plants? [J]. *Trends in Plant Science*, 2003, 8(6): 263 – 271.
- [11] Mittler R, Rizhsky L. Transgene – induced lesion mimic[J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 44(3): 335 – 344.
- [12] Tang X, Xie M, Kim Y J, et al. Overexpression of Pto activates defense responses and confers broad resistance[J]. *The Plant Cell*, 1999, 11(1): 15 – 29.
- [13] Collins N, Drake J, Ayliffe M, et al. Molecular characterization of the maize Rpl – D rust resistance haplotype and its mutants[J]. *The Plant Cell*, 1999, 11(7): 1365 – 1376.
- [14] Jung Y H, Rakwal R, Agrawal G K, et al. Differential expression of defense/stress – related marker proteins in leaves of a unique rice blast lesion mimic mutant (blm)[J]. *Journal of Proteome Research*, 2006, 5(10): 2586 – 2598.
- [15] Jung Y H, Lee J H, Agrawal G K, et al. The rice (*Oryza sativa*) blast lesion mimic mutant, blm, may confer resistance to blast pathogens by triggering multiple defense – associated signaling pathways[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43(4): 397 – 406.
- [16] Greenberg J T, Guo A, Klessig D F, et al. Programmed cell death in plants: a pathogen – triggered response activated coordinately with multiple defense functions[J]. *Cell*, 1994, 77(4): 551 – 563.
- [17] Brodersen P, Petersen M, Pike H M, et al. Knockout of arabidopsis accelerated – cell – death11 encoding a sphingosine transfer protein causes activation of programmed cell death and defense[J]. *Genes & Development*, 2002, 16(4): 490 – 502.
- [18] Hu G, Yalpani N, Briggs S P, et al. A porphyrin pathway impairment is responsible for the phenotype of a dominant disease lesion mimic mutant of maize[J]. *The Plant Cell*, 1998, 10(7): 1095 – 1105.
- [19] Kojo K, Yaeno T, Kusumi K, et al. Regulatory mechanisms of ROI generation are affected by rice spl mutations[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2006, 47(8): 1035 – 1044.
- [20] Jabs T, Dietrich R A, Dangl J L. Initiation of runaway cell death in an *Arabidopsis* mutant by extracellular superoxide [J]. *Science*, 1996, 273(5283): 1853 – 1856.
- [21] Jabs T, Tschope M, Colling C, et al. Elicitor – stimulated ion fluxes and O<sub>2</sub> – from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(9): 4800 – 4805.
- [22] Ordog S H, Higgins V J, Vanlerberghe G C. Mitochondrial alternative oxidase is not a critical component of plant viral resistance but may play a role in the hypersensitive response[J]. *Plant Physiology*, 2002, 129: 1858 – 1865.
- [23] Sugie A, Naydenov N, Mizuno N, et al. Overexpression of wheat alternative oxidase gene Waox1a alters respiration capacity and response to reactive oxygen species under low temperature in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Genes & Genetic Systems*, 2006, 81(5): 349 – 354.
- [24] Dong X. SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 1998, 1(4): 316 – 323.
- [25] Després C, DeLong C, Glaze S, et al. The arabidopsis NPR1/NIM1 protein enhances the DNA binding activity of a subgroup of the TGA family of bZIP transcription factors[J]. *Plant Cell*, 2000, 12(2): 279 – 290.
- [26] Asai T, Stone J M, Heard J E, et al. Fumonisin B1 – induced cell death in *Arabidopsis* protoplasts requires jasmonate –, ethylene –, and salicylate – dependent signaling pathways[J]. *Plant Cell*, 2000, 12(10): 1823 – 1836.
- [27] Pilloff R K, Devadas S K, Enyedi A, et al. The arabidopsis gain – of – function mutant dll1 spontaneously develops lesions mimicking cell death associated with disease[J]. *The Plant Journal*, 2002, 30(1): 61 – 70.
- [28] Devadas S K, Enyedi A, Raina R. The arabidopsis hrl1 mutation reveals novel overlapping roles for salicylic acid, jasmonic acid and ethylene signalling in cell death and defence against pathogens[J]. *The Plant Journal*, 2002, 30(4): 467 – 480.
- [29] Sasabe M, Takeuchi K, Kamoun S, et al. Independent pathways leading to apoptotic cell death, oxidative burst and defense gene expression in response to elicitor in tobacco cell suspension culture [J]. *European Journal of Biochemistry/FEBS*, 2000, 267(16): 5005 – 5013.
- [30] Devadas S K, Raina R. Preexisting systemic acquired resistance suppresses hypersensitive response – associated cell death in *Arabidopsis* hrl1 mutant[J]. *Plant Physiology*, 2002, 128(4): 1234 – 1244.
- [31] Ueno M, Kihara J, Honda Y, et al. DNA fragmentation in Sekiguchi lesion mutants of rice infected with *Magnaporthe grisea*[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2004, 70: 321 – 328.
- [32] Ueno M, Shibata H, Kihara J, et al. Increased tryptophan decarboxylase and monoamine oxidase activities induce Sekiguchi lesion formation in rice infected with *Magnaporthe grisea*[J]. *The Plant Journal*, 2003, 36(2): 215 – 228.
- [33] Yamanouchi U, Yano M, Lin H, et al. A rice spotted leaf gene, *Spl7*, encodes a heat stress transcription factor protein[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(11): 7530 – 7535.
- [34] Greenberg J T, Silverman F P, Liang H. Uncoupling salicylic acid – dependent cell death and defense – related responses from disease resistance in the *Arabidopsis* mutant acd5[J]. *Genetics*, 2000, 156(1): 341 – 350.

齐善厚. 不同药剂对三七灰霉病菌的抑制效果[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(2): 97-98.

# 不同药剂对三七灰霉病菌的抑制效果

齐善厚

(衡水学院疾病预防控制中心, 河北衡水 053000)

**摘要:**对 12 种药剂对三七灰霉病菌的抑菌效果进行了评价。结果表明, 腐霉利对三七灰霉病菌抑菌效果最佳, 并且药效持久。戊唑醇、百菌清、氨基寡糖素 3 种药剂也表现出一定的抑菌效果, 但百菌清与氨基寡糖素药效持久性差, 建议优先选用腐霉利防治三七灰霉病菌。

**关键词:**药剂; 三七; 灰霉病菌; 抑菌效果

**中图分类号:** S481<sup>+</sup>.9; S435.672 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)02-0097-02

三七 [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen] 别称血参、盘龙七、金不换等, 属五加科人参属假人参种三七亚种, 为多年生草本植物<sup>[1]</sup>。三七的各个部位均可入药, 其主要药用成分为皂苷类、黄酮类化合物, 此外还含有生物碱、胡萝卜素、挥发油等物质<sup>[2]</sup>, 主要产自我国云南、广西等地区, 目前以人工栽培为主。灰霉病 (*Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.) 是三七栽培中一种常见的病害<sup>[3]</sup>。灰霉病菌主要以分孢梗随病残体遗落在土中越冬或越夏, 条件适宜时菌丝萌发, 产生分生孢子, 借助气流、雨水、人类生产活动进行传播<sup>[4]</sup>。目前该病害的防治方法主要有抗病育种、农业防治、化学防治、生物防治等几种。目前我国三七栽培中存在用药不规范等现象, 导致三七产量损失严重。本研究对 12 种药剂对三七灰霉病菌的

抑菌效果进行评价, 旨在为防治灰霉病提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

2012 年 6 月进行取样, 采用柯赫氏法<sup>[5]</sup>进行灰霉病病原菌分离、鉴定及致病性测定, 将得到的菌株置于 4 ℃ 冰箱中备用。

### 1.2 供试药剂

以无菌水为对照, 对 12 种供试杀菌剂进行比较(表 1)。

### 1.3 抑菌圈测定

将无菌滤纸片浸泡于药液中备用, 每个 PDA 平板上均匀涂布 0.1 mL 孢子悬浮液, 孢子悬浮液密度为  $1 \times 10^8$  个/mL, 将浸泡过药液的滤纸片置于平板中间, 将平板置于培养箱中 28 ℃ 下分别培养 3、7 d, 采用十字交叉法测定抑菌圈直径, 每处理重复 3 次<sup>[5]</sup>。

收稿日期: 2013-07-16

基金项目: 河北省科学技术研究与发展计划 (编号: 12212702)。

作者简介: 齐善厚 (1976—), 男, 河北枣强人, 从事临床医学研究。

E-mail: hsqyqsh@163.com。

[35] Li Y, Yang S, Yang H, et al. The TIR - NB - LRR gene *SNCL* is regulated at the transcript level by multiple factors [J]. *Molecular Plant - Microbe Interactions*, 2007, 20(11): 1449 - 1456.

[36] Yang S, Hua J. A haplotype - specific resistance gene regulated by BONZAI1 mediates temperature - dependent growth control in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2004, 16(4): 1060 - 1071.

[37] Yang H, Yang S, Li Y, et al. The *Arabidopsis* *BAP1* and *BAP2* genes are general inhibitors of programmed cell death [J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(1): 135 - 146.

[38] Lee T F, McNellis T W. Evidence that the BONZAI1/COPINE1 protein is a calcium - and pathogen - responsive defense suppressor [J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(1/2): 155 - 166.

[39] Kunkel B N, Brooks D M. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5: 325 - 331.

[40] Shirano Y, Kachroo P, Shah J, et al. A gain - of - function mutation in an *Arabidopsis* toll interleukin1 receptor - nucleotide binding site - leucine - rich repeat type *R* gene triggers defense responses and results in enhanced disease resistance [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(12): 3149 - 3162.

[41] Thomma B P, Eggermont K, Penninckx I A, et al. Separate jasmonate -

dependent and salicylate - dependent defense - response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(25): 15107 - 15111.

[42] Xie D X, Feys B F, James S, et al. *COI1*: an arabidopsis gene required for jasmonate - regulated defense and fertility [J]. *Science*, 1998, 280(5366): 1091 - 1094.

[43] sensitive Y E. SA - dependent defense responses in the cpr22 mutant of *Arabidopsis* [J]. *Plant Journal*, 2001, 26: 447 - 459.

[44] Aarts N, Metz M, Holub E, et al. Different requirements for EDS1 and NDR1 by disease resistance genes define at least two *R* gene - mediated signaling pathways in *Arabidopsis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(17): 10306 - 10311.

[45] Rustérucci C, Aviv D H, Holt B F, et al. The disease resistance signaling components EDS1 and PAD4 are essential regulators of the cell death pathway controlled by LSD1 in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2001, 13(10): 2211 - 2224.

[46] 王建军, 张礼霞, 王林友, 等. 水稻类病变 (Lesion Resembling Disease) 突变体对光照和温度的诱导反应 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43(10): 2039 - 2044.