



陈 炎, 赵俊龙, 毛根林, 等. 三环唑诱导水稻抗性相关基因的表达分析[J]. 华南农业大学学报, 2016, 37(1): 35-40.

三环唑诱导水稻抗性相关基因的表达分析

陈 炎¹, 赵俊龙¹, 毛根林¹, 汪聪颖², 林 菲¹, 徐汉虹¹, 朱小源²

(1 华南农业大学 农学院/天然农药与化学生物学教育部重点实验室, 广东 广州 510642;

2 广东省农业科学院 植物保护研究所, 广东 广州 510640)

摘要:【目的】探讨三环唑处理下水稻抗性相关基因表达的动态变化及与抗瘟性的相关性。【方法】室内抑菌活性测定三环唑对稻瘟病菌丝生长和孢子萌发的抑制作用;温室不同时间点接种稻瘟病菌后施用三环唑,测定其防效;利用实时荧光定量 PCR 对水稻受三环唑处理后不同时间点诱导抗性相关基因进行表达分析。【结果】三环唑对水稻稻瘟病菌丝生长和孢子萌发无显著抑制作用;接种稻瘟病菌 24 h 后施用三环唑,仍然能够获得 87.2% 的防治效果。RT-qPCR 结果表明,三环唑能够诱导水稻防卫反应基因 *OsNHI-1*、*OsPRIa* 和 *OsPRI0* 的表达,进一步选取水杨酸和茉莉酸途径的关键基因进行检测,发现茉莉酸途径的关键基因 *OsLOX* 和 *OsAOS2* 的表达受到三环唑显著诱导。【结论】三环唑防治稻瘟病并非仅仅抑制了黑色素的合成,三环唑对水稻具有诱导抗性作用,三环唑主要通过茉莉酸途径起诱导抗性作用。

关键词:三环唑; 抑菌活性; 稻瘟病; 抗性相关基因; 基因表达

中图分类号:S511;S502

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2016)01-0035-06

Tricyclazole induced expression of genes associated with rice resistance

CHEN Yan¹, ZHAO Junlong¹, MAO Genlin¹, WANG Congying², LIN Fei¹, XU Hanhong¹, ZHU Xiaoyuan²

(1 College of Agriculture, South China Agricultural University/Key Laboratory of Natural Pesticide & Chemical Biology, Ministry of Education, Guangzhou 510642, China; 2 Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract:【Objective】This study aims at analyzing both the dynamics and the correlations with rice blast resistance of rice defense related gene expression under tricyclazole treatment. 【Method】Antifungal activity of tricyclazole was determined indoor under greenhouse conditions. Real-time PCR analysis was performed to monitor the expression levels of rice defense related genes after tricyclazole treatment. 【Result】Rice blast fungus mycelium growth and spore germination were not inhibited by tricyclazole. However, tricyclazole treatment 24 h after rice blast fungus inoculation could still help 87.2% of the rice strains to successfully defense the fungi. RT-qPCR results showed that rice defense related genes *OsNHI-1*, *OsPRIa* and *OsPRI0* were induced by tricyclazole. Moreover, by analyzing the expression of key genes in the salicylic acid and jasmonic acid pathways, the key genes of *OsLOX* and *OsAOS2* from the latter one were significantly induced by tricyclazole treatment. 【Conclusion】The prevention of rice blast by tricyclazole is not only by inhibiting the synthesis of melanin. RT-qPCR results show that tricyclazole can trigger rice resistance by inducing expression of key genes in the jasmonic acid pathway.

Key words:tricyclazole; antifungal activity; rice blast; resistance related genes; gene expression

收稿日期:2015-04-10 优先出版时间:2015-12-07

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20151207.1116.012.html>

作者简介: 陈 炎 (1992—), 女, 硕士研究生, E-mail: 1553637900@qq.com; 通信作者: 徐汉虹 (1961—), 男, 教授, 博士, E-mail: hhxu@scau.edu.cn; 朱小源 (1965—), 男, 研究员, 博士, E-mail: zhuxy@gdprii.com

基金项目: 国家现代农业产业技术体系专项 (CARS-01-24)

由稻瘟病菌 *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr 引起的水稻稻瘟病严重威胁着世界水稻生产。三环唑是防治稻瘟病的主要药剂之一,已有 20 多年的使用历史,被认为是低抗性风险类农药。目前,三环唑被认为主要通过 2 种途径起作用,一是抑制稻瘟病菌附着孢内黑色素合成^[1],二是抑制病菌对植株再侵染^[2]。然而,稻瘟病菌黑色素合成基因缺失突变体对水稻仍然具有致病性,暗示着三环唑对稻瘟病的防治存在着其他的机制^[3]。有研究表明,三环唑不仅可抑制病斑扩展及产孢,还可诱导水稻体内与抗病反应有关的酶活性的提高^[4]。

诱导抗性(Induced resistance)是指利用物理、化学或生物因子预先处理植物,激活植物对病虫害和逆境的反应而产生的局部或系统抗性^[5]。植物抗病信号传导途径目前已知的主要有 3 条:1)水杨酸(Salicylic acid, SA)信号传导途径;2)茉莉酸(Jasmonic acid, JA)信号传导途径;3)乙烯(Ethylene, ET)信号传导途径^[6-7]。不同的信号分子调控不同类型病原物产生的抗性^[8]。通常认为对活体或者半活体营养型病原物的抗性主要由 R 基因介导的抗病反应或者由 SA 介导,而对坏死营养型病原物的抗性主要来自 JA 和 ET 途径^[9-11]。

为了进一步证实和评价三环唑防治稻瘟病的作用机理,确定三环唑诱导寄主产生抗性的途径,本研究评价了三环唑对稻瘟菌的菌丝生长和孢子萌发的抑制作用;以及在稻瘟菌接种水稻后的不同时间点,施用三环唑对稻瘟病的防治效果。进一步检测了水稻诱导抗性相关基因的表达的动态变化,探索三环唑与诱导抗性信号传导途径的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2012 年 12 月在广东省农业科学院植物保护研究所稻瘟病接种温室进行。供试水稻品种为日本晴 *Oryza sativa* L. ssp. *japonica* cv. Nipponbare, 对广东省田间稻瘟病分离菌株 T13 易感病。三环唑为质量分数为 20% 可湿性粉剂,购自杭州南郊化学有限公司。

1.2 菌丝生长抑制率测定

用无菌水将三环唑配制成 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液后,用 0.02 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的过滤除菌器过滤,均匀涂在马铃薯培养基(PDA)平板上,晾干。稻瘟病菌在 PDA 平板上于 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d 后,用灭菌刀片在菌落

<http://xuebao.scau.edu.cn>

近边缘内侧切下边长为 5 mm 的菌块,放入上述晾干后的 PDA 平板的正中央,25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 10 d 后测量菌落直径,根据下列公式计算菌落生长抑制率:抑制率 = $(1 - \text{试验组菌落直径} / \text{对照组菌落直径}) \times 100\%$ 。用无菌水涂抹的 PDA 平板处理作为空白对照组。试验重复 3 次。

1.3 孢子萌发抑制率测定

稻瘟病菌在 PDA 平板 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d 后,加入 10 mL 左右的无菌水,用小药勺轻轻刮洗 2 遍,刮伤菌落,放在室温 25 $^{\circ}\text{C}$,紫光灯下产孢 2 d。用 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 三环唑配制成 $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 的孢子悬浮液,取 1 滴加入凹形载玻片,放入保湿培养皿置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中,24 h 后用 BX51 显微镜(奥林巴斯)检测,计算孢子萌发率和抑制率。用清水配制相同孢子数的孢子悬浮液为对照。试验重复 3 次。

萌发率 = $\text{萌发孢子数} / \text{总孢子数} \times 100\%$;
抑制率 = $(1 - \text{试验组萌发率} / \text{对照组萌发率}) \times 100\%$ 。

1.4 菌株培养及三环唑防效检测

菌株培养、致病性测试及病级调查参照朱小源等^[12]的方法。水稻秧苗单棵种植于一次性塑料饮水杯中。人工喷雾 $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 的接种菌液于杯栽水稻 3.5 ~ 4 叶期秧苗上。分别于接种后 0、1、2、4、6、8、10、12、14、16、24 h 喷雾施用 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的三环唑,每杯 5 mL,每个处理 5 棵秧苗,重复 3 次,施用清水的植株作为对照。7 d 后调查水稻叶片病斑数,记录病株数并计算防效。

1.5 基因表达分析材料

水稻材料催芽后穴播于 30 cm $\times$ 20 cm $\times$ 5 cm 规格的搪瓷盘里,每盘播 24 穴,每穴播种量为 8 ~ 10 粒种子,秧苗采取早育栽培,长至“一叶一心”期,用硫酸铵进行施肥,每盘施用 0.5 g,共施 3 次。待秧苗长至 3.5 ~ 4 叶龄,用 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的三环唑喷雾施药,施药量为每盘 20 mL。以清水喷施为对照,分别于施药后 0、6、12 h 采集叶片,每个时间点采集 5 片叶,用锡箔纸包好并做标签,立即投入液氮中,于 -70 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,待提取 RNA。设定 3 次独立生物学重复。

1.6 总 RNA 的提取和 cDNA 第一链的合成

采用 Trizol 法提取三环唑处理后不同时段样品的总 RNA,并用微量分光光度计(NanoDorp 2000C)检测 RNA 的 $D_{260 \text{ nm}}$ 和 $D_{280 \text{ nm}}$ 、样品的 $D_{260 \text{ nm}} / D_{280 \text{ nm}}$ 以及 $D_{260 \text{ nm}} / D_{230 \text{ nm}}$,确定 RNA 的浓度和纯度,同时用含体积分数为 12.5% 甲醛的琼脂糖凝胶电泳检测

RNA 的完整性。随后 RNA 用 RQ1 RNase-free DNase 处理,并用反转录试剂盒 M-MLV kit 进行 cDNA 的反转录,方法按照说明书进行。

1.7 实时荧光定量 PCR

分别选取代表水稻不同诱导抗性通路的基因 9 个,分别为水稻 SA-诱导抗性基因(*OsEDS1*、*OsPAD4*、*OsPAL* 和 *OsICS1*)、水稻诱导抗性基因(*OsLOX* 和 *OsAOS2*)和诱导抗性下游基因(*OsNHI-1*、*OsPRIa* 和 *OsPRI0*),参照 Qiu 等^[13]的序列(表 1),委托华大科

技(北京)有限公司进行引物合成。以反转录获得的 cDNA 稀释 2 倍为模板,在 ABI 7500 荧光定量仪上进行实时荧光定量 PCR 反应。20 μL 反应体系包括 SYBR Premix Ex Taq (2 ×) 10 μL,上、下游引物各 0.4 μL,ROX Reference Dye II 0.4 μL,模板 2 μL,加 ddH₂O 至 20 μL。Real-Time PCR 反应程序为:95 ℃ 预变性 60 s; 95 ℃ 变性 5 s,60 ℃ 退火 34 s,72 ℃ 延伸 45 s (收集荧光信号),40 个循环;PCR 反应结束后进行溶解曲线分析。每个样品重复测定 3 次。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物表
Tab.1 List of primers for RT-PCR analysis

基因类型	基因名称	GeneBank 登录号	上游引物 (5'→3')	下游引物 (5'→3')	产物长度/bp
诱导抗性	<i>OsNHI-1</i>	AY923983	CACGCCTAAGCCTCGGATTA	TCAGTGAGCAGCATCCTGACTAG	120
下游基因	<i>OsPRIa</i>	AJ278436	CGTCTTCATCACCTGCAACTACTC	CATGCATAAACACGTAGCATAGCA	130
	<i>OsPRI0</i>	D38170	CCCTGCCGAATACGCCTAA	CTCAAACGCCACGAGAATTTG	120
SA-途径	<i>OsEDS1</i>	AK100117	TCAGTTGGATCCCCAGCAA	TCCCAAGTAATCCACGCAAAC	120
	<i>OsPAD4</i>	CX118864	GCCAGCTCCCTACGACTTC	CGTGTGCGGTGTAGGTTGTT	120
	<i>OsPAL</i>	X87946	AGCACATCTTGGAGGGAAGCT	GCGCGGATAACCTCAATTTG	120
	<i>OsICS1</i>	AK120689	TATGGTGCTATCCGCTTCGAT	CGAGAACCGAGCTCTCTTCAA	120
JA-途径	<i>OsLOX</i>	D14000	GCATCCCCAACAGCACATC	AATAAAGATTTGGGAGTGACATATTGG	110
	<i>OsAOS2</i>	AY062258	CAATACGTGTACTGGTCGAATGG	AAGGTGTCGTACCGGAGGAA	120
内参基因	<i>Actin</i>	X15865	TGTATGCCAGTGGTCTGACC	CCAGCAAGGTCGAGACGAA	120
	<i>eEF1a</i>	AB013606	TTTCACTCTTGGTGTGAAGCAGAT	GACTTCCTTCACGATTTTCATCGTAA	120
	<i>UBQ5-2</i>	XM_006654016	ACCACTTCGACGCCCACTACT	ACGCCTAAGCCTGCTGGTT	200

1.8 相对定量表达分析

按照 Bustin 等^[14]建立的方法确定引物的扩增特异性和效率。利用 RefFinder 软件对常用的水稻内参基因 *eEF1a*、*Actin* 和 *UBQ5-2* 进行稳定性分析,从而选出在此试验条件下稳定性最好的基因作为内参基因。目的基因表达量以选出的内参基因作为标准进行相对定量,相对表达量的计算采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法: $相对表达量 = 2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-[(Ct_E - Ct_F) - (Ct_A - Ct_B)]} = 2^{(Ct_F - Ct_B) - (Ct_E - Ct_A)}$ 。其中, Ct_A 为处理前待测基因 Ct 值; Ct_B 为处理前参照基因 Ct 值; Ct_E 为处理后待测基因 Ct 值; Ct_F 为处理后参照基因 Ct 值。

1.9 统计分析

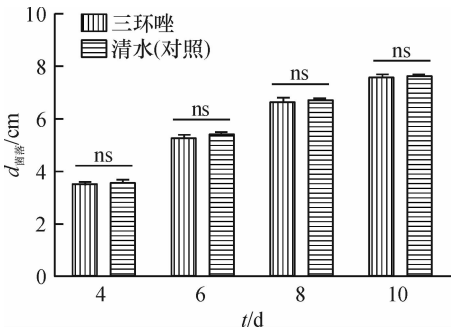
利用 IBM SPSS statistics 20 软件进行 t 检验,比较试验组与对照组平均数之间的差异,判断差异显著性。

2 结果与分析

2.1 三环唑对水稻稻瘟病菌丝的生长抑制率

三环唑对水稻稻瘟病菌菌落生长抑制率试验结

果表明,20 μg · mL⁻¹的三环唑对水稻稻瘟病菌落的生长无明显的抑制作用(图 1)。10 d 后,测量三环唑试验组的菌落直径平均为 7.57 cm,用无菌水处理的对照组菌落直径为 7.60 cm。三环唑对稻瘟病菌丝生长抑制率仅为 0.39%,抑制作用不明显($P > 0.05$,图 1)。



ns 表示与对照组无显著差异($P > 0.05$, t 检验)。

图 1 三环唑对稻瘟病菌丝生长的影响

Fig.1 Effect of tricyclazole on the hyphal growth of *Magnaporthe oryzae*

2.2 三环唑对水稻稻瘟病菌的孢子萌发抑制率

用 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的三环唑对水稻稻瘟病孢子悬浮液处理 24 h 后进行显微观察。镜检结果显示,三环唑试验组的孢子平均萌发率为 95%,对照组的萌发率平均为 100%。三环唑对水稻稻瘟病菌的孢子萌发无显著抑制作用($P>0.05$)。

2.3 三环唑对水稻稻瘟病的防治效果

抗性调查结果表明,水稻接种稻瘟病菌后 0、1、2、4、6、8、10、12 h 后,施用 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 三环唑,均能达到 100% 的防效。接种后 14、16 和 24 h 也仍分别有 91.2%、90.3% 和 87.2% 的防效。

稻瘟菌孢子的附着胞在 24 h 内已全部黑色素化。如果三环唑仅为抑制黑色素合成的抗侵入剂,那么在黑色素已完全形成后用药应无明显的防病效果。从本试验接种后 24 h 用药的效果来看,三环唑防病并非仅仅抑制黑色素的合成。

2.4 水稻内参基因的稳定性分析

为了确定三环唑处理条件对水稻内参基因稳定性的影响,为基因表达分析奠定基础。选择了已知常用的水稻内参基因 *eEF1a*、*Actin* 和 *UBQ5-2* 进行了基因稳定性分析。RefFinder 在线分析工具表明,三环唑和清水对照的处理下,3 个内参基因表达稳定性

由高到低依次为:*eEF1a* > *Actin* > *UBQ5-2*(图 2)。因此,选定 *eEF1a* 作为下一步诱导抗性相关基因表达分析的内参基因。

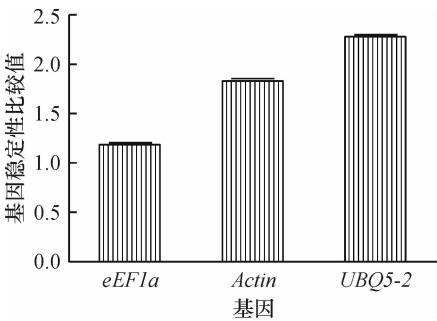
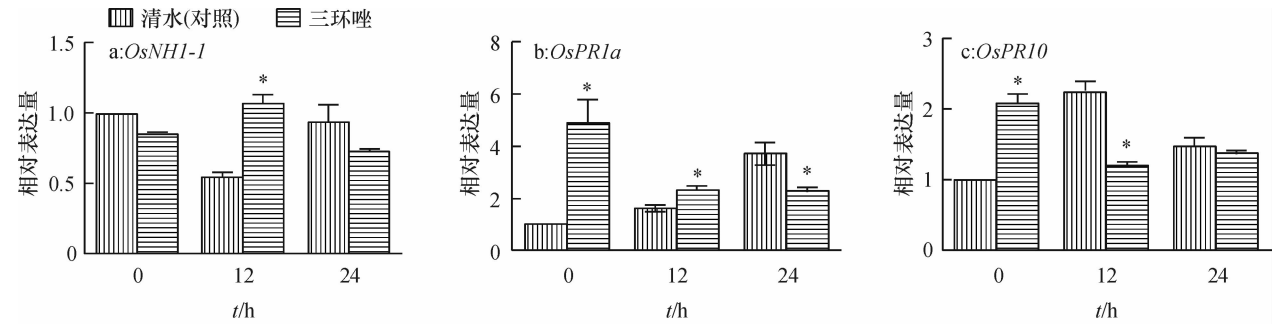


图 2 3 个水稻候选内参基因稳定性的比较分析

Fig. 2 Expression stability values of three rice candidate reference genes

2.5 三环唑处理对水稻防卫反应下游基因表达的影响

选取水稻防卫反应 3 个下游基因 *OsNHI-1*、*OsPR1a* 和 *OsPR10* 进行表达分析,结果表明:三环唑处理水稻 12 h 后,*OsNHI-1* 基因表达量显著提高;三环唑处理水稻 0 和 12 h 后,*OsPR1a* 基因表达量也显著提高,随后出现降低;*OsPR10* 基因表达量在 0 h 出现显著升高,而后在 12 h 降低,24 h 与对照无显著差别(图 3)。以上结果说明,三环唑对水稻幼苗具有诱导抗病性的作用。



*表示与对照组相比在0.05水平差异显著(t检验)。

图 3 三环唑处理对水稻防卫反应下游基因表达的影响

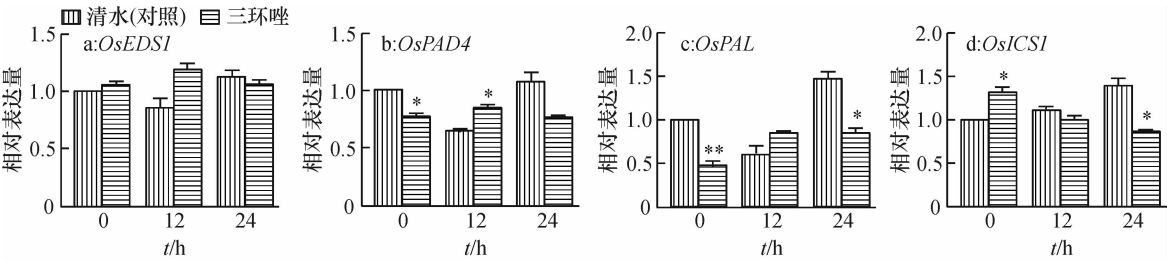
Fig. 3 Effect of tricyclazole on the expression of rice downstream defense response gene

2.6 三环唑处理对水稻 SA 诱导抗性途径基因表达的影响

为了确定三环唑对水稻诱导抗性的途径,选取了 4 个 SA 途径相关基因进行表达分析(图 4)。结果表明,除了 *OsPAD4* 基因在三环唑处理后 12 h 和 *OsICS1* 基因在三环唑处理后 0 h 表现微弱升高之外,其他基因和时间点均表现显著下降或者表达差异不显著,说明三环唑对水稻的诱导抗性作用通过 SA 途径起作用的可能性非常小。

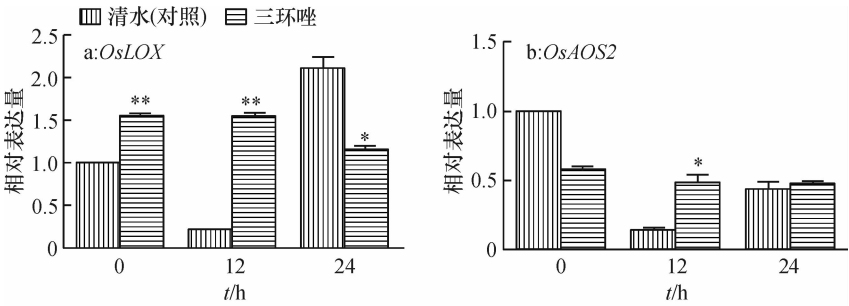
2.7 三环唑处理对水稻 JA 诱导抗性途径基因表达的影响

选取了 2 个 JA 途径相关基因进行了表达分析(图 5)。结果发现,*OsLOX* 基因在三环唑处理 0 和 12 h 后,出现了表达量极显著提高($P<0.01$)。*OsAOS2* 基因在三环唑处理 12 h 后也出现显著性提高($P<0.05$)。说明三环唑对水稻的诱导抗性作用主要通过 JA 途径起作用。



*表示与对照组相比在0.05水平差异显著(t检验)。
图 4 三环唑对水稻 SA 抗性途径相关基因表达的影响

Fig. 4 Effect of tricyclazole on the expression of rice SA signaling pathway gene



*, **分别表示与对照组相比在0.05、0.01水平差异显著 (t检验)。
图 5 三环唑对水稻 JA 诱导抗性途径相关基因表达的影响

Fig. 5 Effect of tricyclazole on the expression of rice JA signaling pathway gene

3 讨论与结论

三环唑是防治水稻稻瘟病的特效药。一直以来,对三环唑作用机理的研究主要集中于其对稻瘟病菌的抑制作用^[2, 15-16]。本研究的试验结果证明,三环唑对稻瘟菌菌丝生长、孢子萌发均没有抑制效果。水稻接种稻瘟菌 24 h 后施用三环唑,仍然能够达到 87.2% 的防治效果,这与杨荣明等^[17]的研究结果是一致的。而稻瘟病菌的附着胞在 24 h 内已经全部黑色素化,说明三环唑防病并非仅仅是抑制黑色素的形成^[2, 18]。本研究对三环唑是否同时激发了水稻的诱导抗性问题进行探讨和证明。诱导抗性是一种普遍存在的现象,其内在的信号途径以及在植物保护中的潜在应用价值已经得到深入的研究。

虽然大量试验证实诱导抗性是一种控制植物病害的有效方法,但投入到生产实际应用得还较少,主要原因是对诱导抗性的认识不够全面,对引起诱导抗性的机理了解不深入。本文对水稻应答三环唑处理后,诱导抗性相关基因进行表达分析。*OsNHI-1* 是水稻中与拟南芥 *NPR1* 同源的基因,被认为是 SA 和 JA 途径交叉的关键节点,是植物系统性抗性的重要调节中心^[19]。*OsPR1a* 和 *OsPR10* 是抗性表达的标志性基因,由于无论是 PTI 还是 ETI 抗性,均表现出这 2 个基因表达量的提高^[20],因此,*OsPR1a* 和 *OsPR10* 被认为是防卫反映下游基因^[21]。本研究结果发现,三环唑诱导了水稻防卫反应下游基因 *OsNHI-*

1、*OsPR1a* 和 *OsPR10* 的表达,说明三环唑对水稻具有诱导抗性作用。

SA 可以经由异分支酸合成酶途径和苯丙途径合成^[22-23]。*ICS1* 为在异分支酸途径中 SA 合成的关键基因。所需抗病基因介导抗性的 2 个其他基因是 *OsPAD4* 和 *OsEDS1*,以正反馈回路功能调节 SA 上游 *OsICS1* 基因的合成^[24-25]。本研究选取了 4 个 SA 途径相关基因 (*OsICS1*, *OsEDS1*, *OsPAD4* 和 *OsPAL*) 进行表达分析,结果显示,这 4 个基因的表达量变化不明显,说明三环唑不是通过 SA 途径起诱导抗性的作用。

JA 合成途径开始于 α 亚麻酸,*LOX* 和 *AOS* 是该途径的 2 个重要的基因^[26]。本研究发现受三环唑处理后,*OsLOX* 和 *OsAOS2* 基因的表达量显著提高,三环唑主要通过 JA 途径起作用。JA 途径是植物抗病信号传导的主要途径之一,主要介导坏死营养型病原物产生的抗性^[9-11]。稻瘟病菌是兼性营养病原菌,侵入水稻细胞的初始阶段,主要以活体营养为主,随后初次侵染细胞死亡,病原菌转化为死体营养方式,同时以活体营养方式继续侵染下一个临近的细胞^[8]。本研究的结果从另一个角度说明,三环唑可能通过 JA 途径介导的诱导抗性,阻止病原菌在植株体内的再侵染,从而延长了药物的持效期。可能是三环唑不易使稻瘟病产生抗性,属于低抗性风险类农药的原因之一。深入研究水稻植株内三环唑受体分子,对于开发水稻稻瘟病菌诱抗剂具有重要的意义。

参考文献:

- [1] WOLOSHUK C P, SISLER H D, VIGIL E L. Action of the antipenetrant, tricyclazole, on appressoria of *Pyricularia oryzae*[J]. *Physiol Plant Pathol*,1983, 22(2): 221-245.
- [2] KUNOVA A, PIZZATTI C, CORTESI P. Impact of tricyclazole and azoxystrobin on growth, sporulation and secondary infection of the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*[J]. *Pest Manag Sci*, 2013, 69(2): 278-284.
- [3] BASHYAL B M, CHAND R, KUSHWAHA C, et al. Association of melanin content with conidiogenesis in *Bipolaris sorokiniana* of barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. *World J Microb Biot*, 2010, 26(2): 309-316.
- [4] KUMAR M, CHAND R, DUBEY R S, et al. Effect of Tricyclazole on morphology, virulence and enzymatic alterations in pathogenic fungi *Bipolaris sorokiniana* for management of spot blotch disease in barley[J]. *World J Microb Biot*,2015, 31(1): 23-35.
- [5] CHOUDHARY D K, JOHRI B N. Interactions of *Bacillus* spp. and plants-with special reference to induced systemic resistance (ISR) [J]. *Microbiol Res*, 2009, 164(5): 493-513.
- [6] DONG X N. SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants[J]. *Curr Opin Plant Biol*,1998, 1(4): 316-323.
- [7] THATCHER L F, ANDERSON J P, SINGH K B. Plant defence responses: What have we learnt from *Arabidopsis*? [J]. *Funct Plant Biol*,2005, 32(1): 1-19.
- [8] THOMMA B P H J, EGGERMONT K, PENNINCKX I A M A, et al. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,1998, 95(25): 15107-15111.
- [9] GLAZEBROOK J. Genes controlling expression of defense responses in *Arabidopsis*: 2001 status[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4(4): 301-308.
- [10] HAMMOND-KOSACK K E, PARKER J E. Deciphering plant-pathogen communication: Fresh perspectives for molecular resistance breeding [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 14(2): 177-193.
- [11] FELTON G W, KORTH K L. Trade-offs between pathogen and herbivore resistance[J]. *Curr Opin Plant Biol*,2000, 3(4): 309-314.
- [12] 朱小源,杨健源,刘景梅,等. 广东水稻品种抗稻瘟病性分析与利用策略[J]. *广东农业科学*,2006,33(5): 34-37.
- [13] QIU D Y, XIAO J, DING X H, et al. OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate- and jasmonate-dependent signaling [J]. *Mol Plant Microbe In*, 2007, 20(5): 492-499.
- [14] BUSTIN S A, VANDESOMPELE J, PFAFFL M W. Standardization of qPCR and RT-qPCR [J]. *Genet Eng Biotechn N*,2009, 29(14): 40-43.
- [15] NIKOLAEV O N, AVER'YANOV A A, LAPIKOVA V P, et al. Possible involvement of reactive oxygen species in action of some anti-blast fungicides [J]. *Pestic Biochem Phys*, 1994, 50(3): 219-228.
- [16] INOUE S, KATO T, JORDAN V W L, et al. Inhibition of appressorial adhesion of *Pyricularia oryzae* to barley leaves by fungicides [J]. *Pest Manag Sci*,1987, 19(2): 145-152.
- [17] 杨荣明,周明国,叶钟音. 三环唑防治稻瘟病的作用机制[J]. *南京农业大学学报*,1998,21(2): 37-40.
- [18] HOMMA Y, ARIMOTO Y, TAKAHASHI H, et al. Observation of the various growth stages of rice blast fungus (*Pyricularia oryzae* Cavara) by onion epidermal strip method[J]. *J Pestic Sci*,1983, 8(3): 371-377.
- [19] CHEN Y C, CHANG H S, LAI H M, et al. Characterization of the wound-inducible protein ipomoelin from sweet potato[J]. *Plant Cell Environ*,2005, 28(2): 251-259.
- [20] AGRAWAL G K, RAKWAL R, JWA N. Differential induction of three pathogenesis-related genes, PR10, PR1b and PR5 by the ethylene generator ethephon under light and dark in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[J]. *J Plant Physiol*,2001, 158(1): 133-137.
- [21] LI J, BRADER G, PALVA E T. The WRKY70 transcription factor: A node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense[J]. *Plant Cell*, 2004, 16(2): 319-331.
- [22] LEE H, LEON J, RASKIN I. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(10): 4076-4079.
- [23] MAUCH F, MAUCH-MANI B, GAILLE C, et al. Manipulation of salicylate content in *Arabidopsis thaliana* by the expression of an engineered bacterial salicylate synthase [J]. *Plant J*, 2001, 25(1): 67-77.
- [24] FEYS B J, MOISAN L J, NEWMAN M, et al. Direct interaction between the *Arabidopsis* disease resistance signaling proteins, EDS1 and PAD4 [J]. *EMBO J*,2001, 20(19): 5400-5411.
- [25] FALK A, FEYS B J, FROST L N, et al. EDS1, an essential component of R gene-mediated disease resistance in *Arabidopsis* has homology to eukaryotic lipases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,1999, 96(6): 3292-3297.
- [26] ZHAO J, DAVIS L C, VERPOORTE R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites[J]. *Biotechnol Adv*,2005, 23(4): 283-333.

【责任编辑 柴 焰】