

文章编号:1001-1498(2014)06-0752-06

三年桐、千年桐感染枯萎病病原菌后的生理反应

杨素素, 高 暝, 朱慧萍, 刘英冠, 汪阳东, 陈益存*

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

摘要:枯萎病是油桐毁灭性病害。中国广泛种植的油桐有三年桐和千年桐,三年桐易感枯萎病,千年桐抗枯萎病。为探讨三年桐与千年桐在枯萎病应答过程中的差异,在对油桐枯萎病灾区调研的基础上,进行枯萎病病原菌的分离、鉴定,并进一步探讨三年桐、千年桐接种枯萎病病原菌后超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量的变化。结果表明:油桐枯萎病病原菌为尖孢镰刀菌,接种试验显示千年桐在接种尖孢镰刀菌后 SOD、POD、CAT 较三年桐均呈现较高活性,在接种后 SOD、POD 活性先升高后降低,CAT 活性升高并维持高活性,MDA 含量变化不明显;三年桐 SOD 活性和 MDA 含量均先升高后降低,POD 活性先降低再升高,CAT 活性先降低后升高又降低。千年桐作为抗病种,其抗病性可能与其本身具有较高的 SOD、POD、CAT 活性有关,并且和病原菌感染后酶活上升有关;三年桐为易感病种,接种后 SOD、POD、CAT 活性有变化,但仍不能抵御病原菌的危害。

关键词:油桐枯萎病;尖孢镰刀菌;三年桐;千年桐

中图分类号:S763.1

文献标识码:A

Physiological Response of *Vernicia fordii* and *V. montana* upon Inoculation with *Fusarium oxysporum*

YANG Su-su, GAO Ming, ZHU Hui-ping, LIU Ying-guan, WANG Yang-dong, CHEN Yi-cun

(Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China)

Abstract: Tung wilt is a devastating disease for tung tree, which is regarded as the tung plague. *Vernicia fordii* and *V. montana* are two Chinese native tung species. *V. fordii* is susceptible to tung wilt disease while *V. montana* is resistant. To explore the difference of the two species responding to the pathogen, the research focused on the isolation and identification of the pathogen, and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) content of the two species after inoculation with the pathogen were measured. It turned out that the tung wilt pathogen was *Fusarium oxysporum*. The infection experiment revealed that the activities of SOD, POD and CAT in *V. montana* were higher than that of *V. fordii* after inoculation with *F. oxysporum*. In *V. montana*, the activities of SOD and POD increased at first and then decreased, the activity of CAT increased at first and maintained at a high level, the MDA content had no significant change. In *V. fordii*, both SOD activity and MDA content went up at the beginning and then down, the POD activity reduced at first and then increased, the CAT activity decreased at first and then rose and decreased at last. In conclusion, the resistant *V. montana* owned higher level activities of SOD, POD, CAT, and showed more increasing upon infection with the pathogen *F. oxysporum* than that of susceptible *V. fordii*.

Key words: Tung wilt; *Fusarium oxysporum*; *Vernicia fordii*; *Vernicia montana*.

收稿日期:2014-04-25

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(31200485)

作者简介:杨素素(1991—),女,浙江衢州人,在读硕士研究生,主要研究方向:油料植物抗病分子机制。

* 通讯作者:女,副研究员,博士,主要研究方向:油料植物分子育种。E-mail:yicun_chen@163.com

通常所说的油桐,即狭义的油桐,为三年桐(*Vernicia fordii* (Hemsl.) Airy Shaw),广义的油桐是大戟科(Euphorbiaceae)油桐属(*Vernicia* Lour.)植物的统称,包括三年桐、千年桐(*V. montana* (Lour.))和日本油桐(*V. cordata* (Thunb.) Airy Shaw)。油桐是我国四大木本油料植物之一,其种子可提炼桐油,桐油是一种优良的干性植物油,在工业上有广泛的用途^[1],可用于制漆、塑料、人造橡胶、油墨等,同时还是重要的生物柴油原料^[2-3],具有可再生、安全、无污染的特点,其发展前景十分广阔^[4]。

油桐枯萎病有“桐瘟”之称,1939年在广西壮族自治区首次被发现,并确定其病原菌为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schlecht)^[5],此后20多年中油桐枯萎病给油桐产业造成了毁灭性的灾害。油桐枯萎病机理及防治难题也一直未能得到有效解决,1991—2011年间油桐枯萎病相关文献鲜少。2009年广西壮族自治区田林县发生大面积油桐(三年桐)枯萎并死亡,同时表现出多发病症。作者研究发现,当地枯萎病、叶枯病均有发生^[6],给油桐产业带来了极大的危害。油桐枯萎病是一种维管束病害,病原菌由根部入侵,沿木质部导管向上蔓延,造成油桐半株或全株枯萎,主要危害3、4年生以上的三年桐,最高危害率高达90%。油桐感染枯萎病之后的主要病症为根部腐烂、枝干黑褐色、叶片黄化^[7]。由于油桐枯萎病致病机理尚不明确,以不感病的千年桐为砧木,三年桐为接穗进行嫁接,是目前最有效的防治方法^[7]。

为进一步确认油桐枯萎病再度泛滥的病原菌,本文从广西田林县油桐枯萎病灾区连续两年采集样本,进行病原菌分离、纯化、鉴定,测定了三年桐、千年桐在病原菌侵染后的生理指标,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)含量的变化,为进一步研究油桐抗感枯萎病机理及病害防治提供思路。

1 材料与方 法

1.1 样品采集

供试材料取自广西壮族自治区田林县油桐主产区,在2009和2010年8月分别采集发病植株茎干部部位。样品现场采集后存放于封口袋中,置于低温保鲜盒,带回实验室进行病原物分离、鉴定。

1.2 病原物分离、纯化

用自来水将感病叶片表面的颗粒污染物清洗干

净,在75%乙醇(V/V)中浸泡约40 s,随后在1%次氯酸钠溶液中表面消毒4 min,在75%乙醇中漂洗30 s(去除残余的次氯酸钠),最后用无菌蒸馏水清洗多次(3次以上)并用无菌滤纸吸干水分。用无菌手术刀片在茎秆病健交界处切取约0.5 cm²的组织块,移植于麦芽粉琼脂培养基(malt extract agar, MEA)平板上,26℃黑暗条件下培养。培养基中预先加入硫酸链霉素(50 mg·L⁻¹)和盐酸四环素(20 mg·L⁻¹)以防止细菌的污染。培养4 d后,将从组织块边缘长出的菌丝转接至新鲜马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)中进行纯化^[7]。

1.3 病原物形态学与分子鉴定

将病原物分别接种在PDA中观察培养性状和特征。病原物总基因组提取采用Multisource Genomic DNA Miniprep试剂盒(Axygen公司)。利用核糖体DNA内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS1-5.8S-ITS2)和翻译延长因子 α (translation elongation factor alpha, EF-1 α)两个保守基因对病原菌进行分子鉴定。ITS基因扩增引物(5'-TCCG-TAGGTGAACCTGCGG-3')和ITS4(5'-TCCTC-CGCTTATTGATATGC-3')^[8],PCR扩增反应条件为:94℃预变性4 min后,94℃变性40 s,55℃退火50 s,72℃延伸60 s,共35个循环,最后在72℃终延伸10 min。EF-1 α 基因扩增用引物EF-1 α -F(5'-ATGGGTAAGGAAGACAAGAC-3')和EF-1 α -R(5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3'),PCR扩增反应条件为:94℃预变性4 min后,94℃变性45 s,60℃退火45 s,72℃延伸90 s,共35个循环,最后在72℃终延伸10 min。利用1%的琼脂糖电泳后,经DNA Gel Extraction试剂盒(Axygen公司)纯化后送上海生工生物工程技术有限公司测序。

病原物ITS和EF-1 α 基因序列分别进行BLAST比对后获得多个匹配的序列记录,用CLUSTAL X软件包进行多序列比对,用GENEDOC软件进行适当修正并去除序列两端不准确部分。用MEGA6.06软件分析系统发育关系,以Kimura 2参数计算遗传距离,采用邻接法(neighbor joining analysis, NJ)构建进化树,重复次数为1 000次。

1.4 病原物接种方法

健康植物材料源自栽培于温室中的油桐实生苗,三年桐和千年桐各45株,每组15株,分为3组重复。取长满平皿的培养物菌块(直径1 cm),置于PDB液体培养基中,160 rpm,5 d,在荧光显微镜

下用细胞计数板计数,当孢子达到 6×10^6 个 \cdot mL^{-1} 后,备用。取健康油桐材料,挖开根部土壤,用自来水冲洗干净后,根部于 75% 乙醇中浸泡 1 min,0.5% 次氯酸钠浸泡 3 min,90% 乙醇中浸泡 30 s,无菌水冲洗 3 次以上,在根部用无菌刀轻轻切伤,淋上述孢子液 100 mL^[9],后植入土壤中。感染后的油桐植株在人工气候箱(RTOP-500D,托普仪器公司)中 26℃ 恒温培养(8 h 光照/16 h 黑暗),保持 95% 相对湿度,定期观察植株发病情况并记录病症。根据病症情况,分别采集侵染前以及侵染后不同时期,即侵染前(0 d)、侵染前期(2 d)、侵染中期(5 d)和侵染后期(8 d)的油桐根部进行生理指标的测定。

1.5 植株生理指标的测定

取上述不同时期的油桐植株根部,剪碎,各称取 0.5 g,用锡箔纸包裹,迅速置于液氮中冷冻,并放于 -70℃ 冰箱中保存。待进行生理指标测定时将其取出,提前将植物组织研磨机(JXFSTPRP,上海净信实业发展有限公司)用液氮预冷,迅速将上述样品在冷冻研磨机中进行研磨 30 s,连续进行两次,在研磨完

的样品中加入提前预冷的 pH 值为 7.8 的磷酸缓冲液,上下颠倒混匀,置于冰上,作生理指标的测定。

用氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)的活性^[10],用愈伤木酚显色法测定过氧化物酶(POD)的活性^[11],用过氧化氢(H_2O_2)分解法测定过氧化氢酶(CAT)的活性^[11],采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定丙二醛(MDA)含量^[10]。

1.6 数据处理与分析

获得油桐植株不同侵染时期根部的 3 次以上酶活性测定数据,取其平均值作为 1 个生物学重复的结果,共进行 3 次生物学重复,并用 SPSS19.0 软件计算标准偏差。

2 结果与分析

2.1 病原物的分离培养

茎部病症组织在 PDA 平板上培养 3 d 后即可见菌丝在边缘切口处长出。经 PDA 培养基纯化后获得若干纯培养物(图 1-E),根据培养性状(包括生长速度和菌落特征等)将菌株初步划分为若干分类单元。

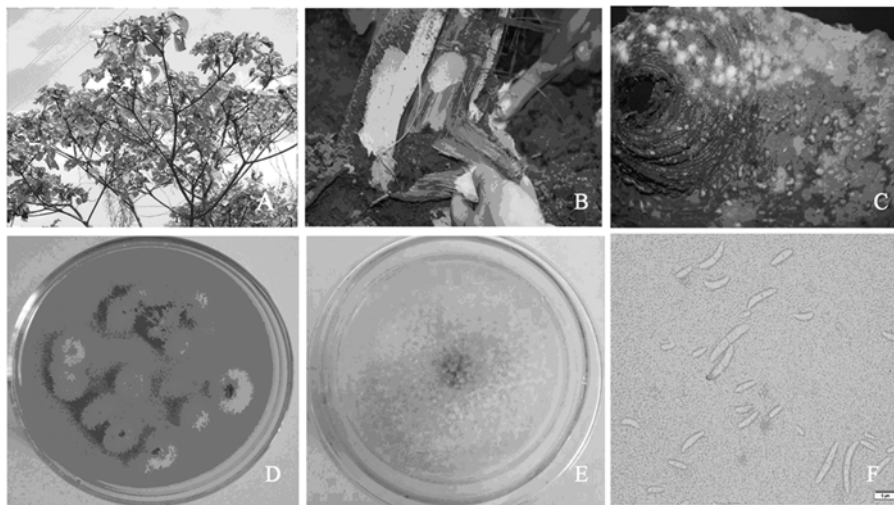


图 1 油桐(三年桐)枯萎病病原菌分离、纯化、形态学鉴定
A: 油桐枯萎病株; B: 油桐枯萎病株枝干; C: 油桐枯萎病株树皮; D: PDA 平板上分离病原菌;
E: PDA 平板上纯化菌株; F: 大分生孢子及小分生孢子(标尺 = 5 μm)

图 1 油桐(三年桐)枯萎病病原菌分离、纯化、形态学鉴定

2.2 病原物致病性测定

利用上述分类单元中的代表性菌株进行致病性测定(回接试验),其中某一菌株能引起茎部病斑进而呈现褐色,叶片萎黄,在 26℃ (8 h 光照/16 h 黑暗)和 95% 相对湿度条件下孵育 5 d 后,茎部病斑长度即可达到 20~30 mm,宽度 10~20 mm。茎部经再分离试验,所获分离物与菌株完全一致,符合柯赫

法则。

2.3 病原物的培养性状

病原菌在 PDA 培养基上生长迅速,28℃ 生长 4 d 后,菌落直径可达 3~5 cm,菌丝茂密,棉絮状,气生菌丝白色,菌落基座大多带有不同程度的紫色(图 1-D),纯化培养菌株见图 1-E,孢子形态见图 1-F。

2.4 病原物的系统发育分析

PCR产物琼脂糖电泳结果显示,EF-1 α 和ITS基因片段的大小均在500 bp左右。序列经BLAST比对后发现这两个基因序列与GenBank数据库中多个*F. Oxysporum*(尖孢镰刀菌)菌株的相似性均达到100%。系统发育分析也表明病原菌株与已报道的

F. oxysporum(尖孢镰刀菌)均在一个分支内(自展支持率分别达64%和100%),与镰孢属(*Fusarium* Link ex Fr.)其它种类遗传关系相对较远(图2),结合形态学鉴定结果,确定该菌株为*F. oxysporum*(尖孢镰刀菌)。

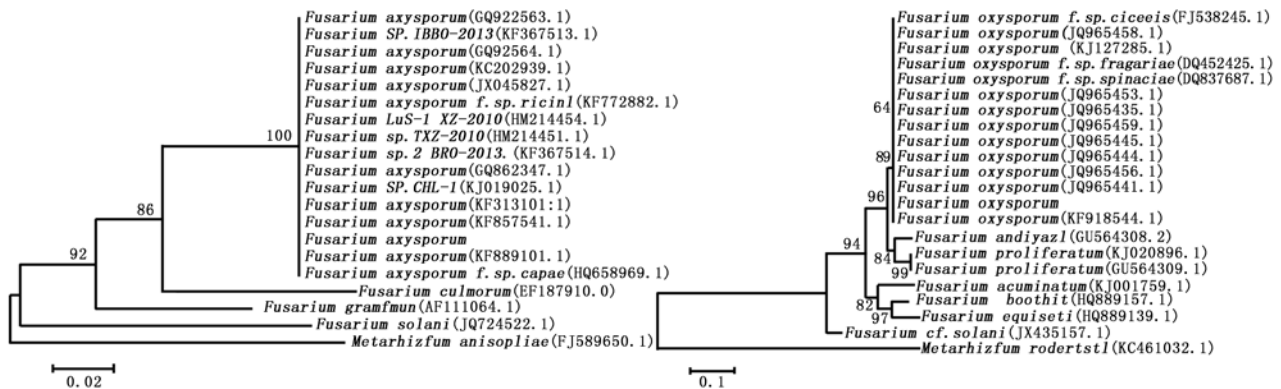


图2 基于核糖体 rDNA 基因转录间隔区(ITS)和翻译延长因子 α (EF-1 α)序列构建的*F. oxysporum*及该属其它真菌的系统发育树(自展支持值(Bootstrap) > 50%的显示在各个进化分支节点上。*Metarhizium anisopliae*(FJ589650.1)和*Metarhizium roberisii*(KC461032.1)分别作为外群)

2.5 感染尖孢镰刀菌后三年桐、千年桐生理指标的变化

2.5.1 对 SOD 活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)作为氧清除剂能有效地清除体内破坏力极强的活性氧 $O_2^{\cdot-}$ 等物质。正常情况下,植物体内的活性氧物质的产生和清除处于平衡的状态。但是在逆境胁迫下,植物呼吸作用迅速增强,细胞渗透势大幅降低,体内的活性氧会大量产生,打破这个平衡。SOD活性测定结果表明(图3),感染尖孢镰刀菌后千年桐和三年桐活性均先升高后降低,并且都在感染前期达到峰值。抗病的千年桐在感染前、感染前期、感染中期SOD活性均高于三年桐,而在感染后期低于三年桐。

2.5.2 对 POD 活性的影响

过氧化物酶(POD)是以铁卟啉为辅基,可催化 H_2O_2 氧化酚类和胺类化合物,具有消除 H_2O_2 和酚类、胺类毒性的双重作用。从图3中可以看出千年桐POD维持较高活性,其活性先上升后降低,在感染中期达到活性最高值。而三年桐在接种后POD活性先降低再升高,在感染中期达到活性最低值。POD活性测定结果表明,在整个感染过程中,千年桐POD活性均高于三年桐。

2.5.3 对 CAT 活性的影响

过氧化氢酶(CAT)是催化 H_2O_2 分解成氧和水的酶。通过图3可以看出千年桐的CAT始终维持较高活性,在接种后,酶活

性迅速上升,并在侵染前期、侵染中期和侵染后期均保持较高活性。三年桐在接种前与千年桐酶活性相近,而在接种后CAT活性先降低后升高又降低,在侵染前期达到活性最低值,侵染中期达到活性最高值。CAT活性测定结果表明,在接种后,千年桐CAT活性均高于三年桐。

2.5.4 对 MDA 含量的影响

植物器官衰老或在逆境下遭受伤害,往往发生膜脂过氧化作用,丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的最终分解产物,其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度。通过图3可以看出千年桐的起始MDA含量比三年桐的高,千年桐接种后的MDA含量呈现缓慢上升过程,变化并不明显,并且都低于三年桐MDA含量。而三年桐在受到感染之后MDA含量极速上升,在感染后期下降,在感染中期、感染后期MDA含量均较高。MDA含量测定结果表明,在接种后,三年桐体内累积的MDA含量高于千年桐。

3 讨论

三年桐和千年桐是我国油桐的主要栽培种,两者在形态学、解剖结构、染色体数目($2n = 22$)上非常相似。三年桐结实早、单位面积产量和子仁含油率高、油质较好^[12],但在病灾区的三年桐盛果期,枯萎病原菌尖孢镰刀菌往往造成毁灭性的病害,且

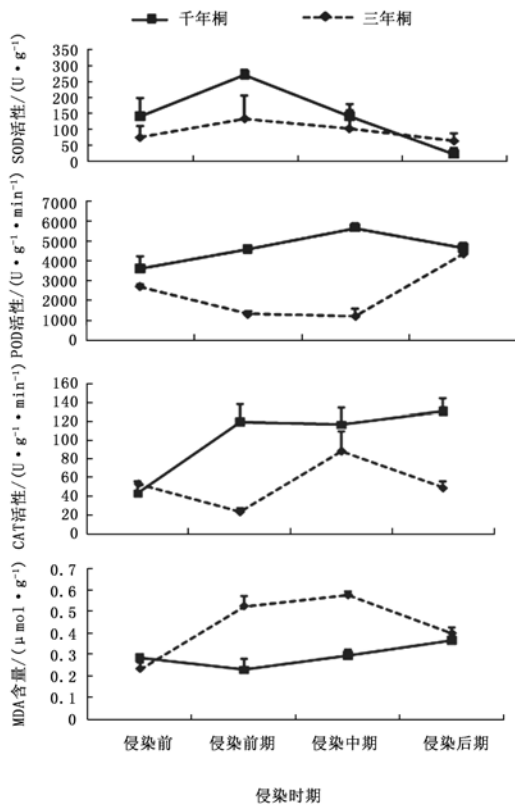


图3 三年桐、千年桐感染尖孢镰刀菌后 SOD、POD、CAT 活性及 MDA 含量的变化

该病在全国大面积分布,长期以来毁灭了大批的油桐种苗^[12]。而尖孢镰刀菌对千年桐基本不致病,但千年桐结果年限长、结实期晚、油质差^[12]。以千年桐为砧木,三年桐为接穗进行嫁接后的油桐树抗病性强,但仍发现尖孢镰刀菌沿着树干蔓延至嫁接接口产生危害^[13]。因此,研究千年桐、三年桐抗感病机理并有效减缓枯萎病病害成为一个亟待解决的难题。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)被认为是植物的三大保护酶,其活性不仅反映寄主对病原菌的抗性反应,而且可以大致判断病原菌的侵害程度。在正常生长条件下,SOD、POD及CAT等和非保护酶系统如抗坏血酸和谷胱甘肽等可以有效清除植物体内产生的活性氧自由基,从而不会伤害植物^[14]。但当受到环境胁迫时,上述酶的活性会发生变化。

在感染尖孢镰刀菌之后的表型特征上看,三年桐出现明显病症,千年桐无明显病症,因此千年桐不仅自然抗病,并且在接种病原菌之后仍不易感病。三年桐不仅自然条件下感病率高,人工接种后也易感病。

三年桐、千年桐感染尖孢镰刀菌后生理变化完全不同。总体来看,抗病的千年桐在接种后三大保护酶活性均较三年桐高,可能像一些常见的抗性植物一样,在受到外界胁迫之后迅速产生防卫反应,利用急剧上升的SOD、POD、CAT活性来清除体内的氧自由基、 H_2O_2 等有毒物质;MDA含量变化不明显,表明在感染尖孢镰刀菌之后,膜脂过氧化作用不明显,对植物细胞膜危害不大。因此,千年桐本身较高的保护酶活性一定程度上影响了病原菌的致病力,同时影响了寄主-寄生物的共存,研究表明,千年桐在尖孢镰刀菌的刺激下产生了自卫机制并有效抵抗病原菌的危害。

相对而言,在接种后三年桐的三大保护酶活性均较低。在感染尖孢镰刀菌的前期,三年桐SOD活性迅速上升,但在侵染中期、侵染后期活性下降,表明随着胁迫时间的延长,三年桐体内产生的自由基未能被有效清除,生成 H_2O_2 ,对植株伤害加剧;而此时CAT、POD活性也相继升高,清除过剩的 H_2O_2 ;MDA含量在侵染前期、侵染中期上升而侵染后期下降,其较高的MDA含量对细胞膜产生大量的伤害。因此三年桐虽然在病原菌侵染之后体内也产生了自卫机制,但在病原菌的长时间胁迫下,最终处于不平衡的状态,受到了严重危害。

植物通过一系列复杂机制来保护自身而免受病原菌的危害,这种机制可能是自身存在的,或者是受病原菌刺激而引发的机制^[15-16]。根据文献报道,植物和其它有机体一样,有区分自身(Self)和非自身(Non-self)的能力,植物细胞表面的模式识别受体(PRRs)可以特异性识别不同的病原菌分子结构,导致转录重排(transcriptome reprogramming),引发了复杂的信号传导途径,使植物可以产生多种防卫反应来阻止病原菌的侵入^[16-18]。已有研究证实激发植物产生防卫机制的信号传导途径涉及多种酶和激素,包括裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase)、水杨酸(salicylic acid)、乙烯(ethylene)、茉莉酸(jasmonic acid)^[15, 19-21]等,这些信号途径相关的突变体植株表现出更明显的致病病症^[15],而施加特定的外源激素则可以诱导植株抗病基因的表达,因此植株表现出更强的抗病性^[22]。

综上所述,千年桐可能也是通过复杂的自卫机制保护自身免受病原菌危害,已有文献报道千年桐根部具有较三年桐更厚的表皮细胞和木栓层,较高的单宁、钾含量^[13],以及较高的多元酚氧化酶活

性^[13],这可能和千年桐抗病性有关。本文的研究结果表明千年桐具有较高的SOD、POD、CAT活性,千年桐受病原菌刺激引发的机制也存在,但这种自卫机制是如何刺激引发的有待今后研究。

三年桐与千年桐抗感病机理比较复杂,可能涉及物理防御、化学防御、抗病基因等综合结果,因此从不同研究水平探讨三年桐和千年桐对尖孢镰刀菌的应答反应,包括研究比较尖孢镰刀菌侵染后植株根、茎的解剖结构,分析抗毒素(主要为酚类及萜类)的产生与否,检测植物激素变化,分离抗病基因等,对揭示油桐抗感枯萎病机理及病害防治具有重要意义。

参考文献:

- [1] 方嘉兴,何方. 中国油桐[M]. 北京:中国林业出版社,1998: 285-331.
- [2] Park J Y, Kim D K, Wang Z M, *et al.* Production and characterization of biodiesel from tung oil [J]. *Appl Biochem Biotechnol*,2008, 148(1-3):109-117.
- [3] Chen Y H, Chen J H, Chang C Y, *et al.* Biodiesel production from tung (*Vernicia montana*) oil and its blending properties in different fatty acid compositions [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(24): 9521-9526.
- [4] 李永梅,魏远新,周大林,等. 油桐的价值及其发展途径[J]. *现代农业科技*, 2008, 16(8): 113-113.
- [5] 陈温舒,蒙美琼. 油桐枯萎病的初步研究[J]. *林业科学*,1965, 10(4):362-363.
- [6] 袁志林,陈益存,汪阳东. 一种新发生的油桐叶枯病病原真菌[J]. *菌物学报*, 2011, 30(4): 658-662.
- [7] 秦正学. 油桐枯萎病的发病原因及防治措施[J]. *现代园艺*, 2012,(12):159-163.
- [8] White T J, Bruns T, Lee S, *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal genes for phylogenetics[M] // Innis M A, Gelfand D H, Sninsky J J, *et al.* PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego, USA: Academic Press, 1990:315-322.
- [9] 花锁龙. 油桐主要品种(类型)对枯萎病的抗性及其测定方法[J]. *林业科技通讯*, 1983, (8): 13-15.
- [10] 蒋德安,朱诚. 植物生理学实验指导[M]. 成都:成都科技大学出版社,1999: 83-87.
- [11] 郝建军,刘延吉. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2001: 162-168.
- [12] 孙青缙. 油桐的嫁接[J]. *林业科技通讯*, 1965, (12): 4-5.
- [13] 吴光金,林雪坚,张宏业,等. 千年桐抗枯萎病的研究[J]. *中南林学院学报*, 1988, 8(1): 28-34.
- [14] Suzuki N, Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction [J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 126(1): 45-51.
- [15] Glazebrook J. Genes controlling expression of defense responses in *Arabidopsis* - 2001 status [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2001, 4(4): 301-308.
- [16] Holt III B F, Hubert D A, Dangl J L. Resistance gene signaling in plants-complex similarities to animal innate immunity[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2003, 15(1): 20-25.
- [17] Dangl J L, Jones J D G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection [J]. *Nature*, 2001, 411(6839): 826-833.
- [18] Nürnberger T, Scheel D. Signal transmission in the plant immune response [J]. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(8): 372-379.
- [19] Andreasson E, Ellis B. Convergence and specificity in the *Arabidopsis* MAPK nexus [J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(2): 106-113.
- [20] Dong X. SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 1998, 1(4): 316-323.
- [21] Thomma B P, Penninckx I A, Cammue B P, *et al.* The complexity of disease signaling in *Arabidopsis* [J]. *Current Opinion in Immunology*, 2001, 13(1): 63-68.
- [22] Durner J, Shah J, Klessig D F. Salicylic acid and disease resistance in plants [J]. *Trends in Plant Science*, 1997, 2(7): 266-274.