

AsSod 基因调控茄链格孢致病性及对胁迫的响应

赵冬梅, 侯晓丹, 东曼, 白家琪, 范莎莎, 杨志辉, 朱杰华*

(河北农业大学植物保护学院, 保定 071000)

摘要 由茄链格孢 *Alternaria solani* 引起的马铃薯早疫病是马铃薯生产上的重要病害之一, 可导致马铃薯大面积减产, 进而造成巨大的经济损失。本研究在获得缺失 *AsSod* 基因的茄链格孢突变株(Δ *AsSod*)的基础上, 对 Δ *AsSod* 进行了不同的胁迫处理。结果表明, 相比于野生型菌株和回复株, 突变株 Δ *AsSod* 对细胞壁胁迫因子 SDS 以及渗透胁迫因子 KCl、NaCl、山梨醇的耐受性均减弱。进一步分析发现, Δ *AsSod* 对外源过氧化物胁迫更敏感, 胞内过氧化物酶和漆酶活性均显著降低。在对突变株孢子萌发和致病力的研究中发现, 突变株 Δ *AsSod* 的孢子萌发率显著低于野生型菌株和回复株。同时, 突变株 Δ *AsSod* 的致病力也显著降低, 表明 *AsSod* 基因在茄链格孢对外界胁迫的耐受性、孢子萌发和致病性方面发挥重要的作用。

关键词 马铃薯早疫病; 茄链格孢; 超氧化物歧化酶(SOD); 致病性

中图分类号: S435.32 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2020564

AsSod gene regulates the pathogenicity of *Alternaria solani* and its response to stress

ZHAO Dongmei, HOU Xiaodan, DONG Man, BAI Jiaqi, FAN Shasha, YANG Zhihui, ZHU Jiehua*

(College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China)

Abstract Potato early blight caused by *Alternaria solani* is one of the most important diseases in potato production, which can greatly reduce the yield of potato. In the previous study, we obtained an *AsSod* deletion mutant of *A. solani* (Δ *AsSod*), and different stress treatments were carried out on Δ *AsSod*. It was found that the tolerance of Δ *AsSod* to cell wall stress factors SDS and osmotic stress factors KCl, NaCl and sorbitol was weaker than that of wild and complementation strains. Furthermore, it was found that Δ *AsSod* was more sensitive to exogenous peroxide stress, and the activities of intracellular peroxidase and laccase in Δ *AsSod* decreased significantly. The spore germination rate of Δ *AsSod* was significantly lower than that of wild and complementation strains. At the same time, the pathogenicity of the Δ *AsSod* also decreased significantly, indicating that the *AsSod* plays an important role in the tolerance to external stress, spore germination and pathogenicity of *A. solani*.

Key words potato early blight; *Alternaria solani*; superoxide dismutase (SOD); pathogenicity

茄链格孢 *Alternaria solani* 是引起马铃薯早疫病的主要病原菌, 其寄主范围广, 除马铃薯外还可侵染番茄、烟草等多种作物。马铃薯早疫病在马铃薯整个生育期都会发生, 对马铃薯的生产造成很大的危害, 严重时会导致大面积的减产, 是世界范围内一种常见的马铃薯病害^[1]。近年来早疫病在我国马铃薯产区频繁发生, 发生严重地块减产约 30%^[2]。分泌蛋白(secreted proteins)是指在细胞内合成后分泌到细胞外起作用的蛋白质, 参与生物体的发育及

防御、细胞分化和凋亡的调控、细胞信号传导等重要的生命活动^[3]。许多研究表明, 分泌蛋白在病原菌入侵、定殖和扩展过程中均发挥重要作用。何佳昱^[4]在茄链格孢全基因组测序的基础上, 应用 BLASTp 和病原菌-寄主互作蛋白数据库(PHI database), 从茄链格孢全基因组中预测得到 138 个潜在的病原菌寄主互作蛋白, 其中含有一个编码超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的基因。

超氧化物歧化酶是生物体内重要的抗氧化酶,

广泛存在于各种生物体内,能够清除机体内的氧自由基,有助于提升微生物的抗逆性,延缓老化。SOD作为生物体抗氧化体系中最主要的成员,在真菌的生理过程中发挥着重要的作用。目前,随着真菌全基因组数据的不断丰富以及功能基因组学研究技术的不断发展,真菌 SOD 的生物学功能也不断被解析^[5]。研究表明,真菌 SOD 基因缺失的突变株对氧自由基产生、高温、高渗等胁迫条件的敏感性增强^[6-10]。Hwang 等^[6]发现白色念珠菌 *Candida albicans* 线粒体 Mn-SOD(*Sod2*)缺失会导致其对氧化胁迫、热胁迫、乙醇胁迫及高渗胁迫的耐受性降低,同时该基因的回复互补能恢复菌株的抗逆性。2007 年, Li 等^[7]在毕赤酵母 *Pichia pastoris* 中过表达酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* Cu, Zn-Sod (*Sod1*)基因增强了重组菌株对氧化胁迫的抗性。Giles 等^[8]发现新生隐球菌 *Cryptococcus neoformans* 中的 *Sod2* 基因是其应对高温及氧化胁迫下所必需的,同时, *Sod2* 基因的缺失会使新生隐球菌丧失毒力。Cortez^[9]在研究荚膜红细菌 *Rhodobacter capsulatus* 时发现 *sodB* 基因的表达量与氧气含量呈正相关,含氧环境下的表达量比缺氧条件下提高了 10 倍。2007 年,李森^[10]将 *Sod* 基因转化到哈茨木霉 *Trichoderma harzianum* 中,发现 *Sod* 基因的表达使哈茨木霉对高温和高盐环境的抗性增强。

真菌中抵抗寄主生物体内高温、高渗、高氧自由基等逆境相关的基因在一定程度上可影响真菌的侵染力,是潜在毒力影响因子。Rolke 等^[11]发现 *BC-Sod1* 基因的缺失会导致灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 对大豆的致病力减弱。Moore 等^[12]研究麦角菌 *Claviceps purpurea* 时发现,与野生型菌株相比,缺失 *Sod1* 基因的突变株在侵染初期致病性减弱,表明 *Sod1* 基因在病原菌的侵染前期发挥一定的作用。高士刚^[13]利用 qRT-PCR 研究玉米弯孢叶斑菌 *Curvularia lunata* 致病性分化相关基因时发现 *Sod* 基因在强、中等致病力菌株中表达量较高,在弱、特殊致病类型菌株中表达量相对较低,同时发现缺失 *Sod* 基因的突变株不仅影响黑色素的形成,在侵染初期致病力减弱。Zhang 等^[14]研究发现茄链格孢缺失 *AsSod* 基因的突变株产孢量下降,菌丝分支减少,与野生型菌株 HWC-168 和回复株相比, SOD 含量明显下降。

本研究前期通过同源重组和原生质体转化技术获得了茄链格孢 *AsSod* 基因缺失突变株,在此基础

上,为了探明基因缺失是否对早疫病菌应答胁迫产生影响,测定了不同胁迫因子下突变株生长的抑制率,胞外酶活性以及突变株的孢子萌发率与致病性,为进一步明确 *AsSod* 基因在茄链格孢中的功能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

茄链格孢 *A. solani* 野生型菌株 HWC-168, *AsSod* 基因缺失突变株 $\Delta AsSod$, 回补 *AsSod* 基因的回复株 $\Delta AsSod-C$, 均由河北农业大学马铃薯病害研究室分离、构建和保存。所有菌株在 PDA 培养基上 25℃ 黑暗培养备用。

1.2 *AsSod* 基因对茄链格孢氧化应激性的影响

将野生型菌株 HWC-168、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod-C$ 接种在含 30 mmol/L H_2O_2 的 PDA 平板上, 25℃ 培养 7 d, 测量菌落直径, 计算野生型菌株、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod-C$ 的相对生长抑制率。相对生长抑制率^[15]=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(处理菌落直径-菌饼直径)×100%。每个处理设置 3 个重复, 共进行 3 次生物学重复。

1.3 $\Delta AsSod$ 对细胞壁胁迫因子的敏感性测定

将野生型菌株 HWC-168、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod-C$ 接种在含 0.2 mg/mL SDS 的 PDA 平板上, 25℃ 培养 7 d, 测量菌落直径, 计算野生型菌株、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod-C$ 的相对生长抑制率。每个处理设置 3 个重复, 共进行 3 次生物学重复。

1.4 $\Delta AsSod$ 对渗透胁迫因子的敏感性测定

将野生型菌株 HWC-168、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod-C$ 接种在含 0.5 mol/L NaCl、0.5 mol/L KCl 和 0.3 mol/L 山梨醇的 PDA 平板上, 25℃ 培养 7 d, 测量菌落直径, 计算野生型菌株、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod-C$ 的相对生长抑制率。每个处理设置 3 个重复, 共进行 3 次生物学重复。

1.5 *AsSod* 基因对茄链格孢胞外酶活性的影响

漆酶活性的测定: 将野生型菌株 HWC-168、突变株 $\Delta AsSod$ 及回复株 $\Delta AsSod-C$ 接种到 80 mL PD 培养液中, 25℃, 120 r/min, 培养 48 h; 过滤收集菌丝, 并用吸水纸除去多余水分, 置于一 80℃, 冷冻 24 h, 冷冻抽干 24 h, 称量干重。取 1 mL 滤液, 4℃, 3 500 r/min, 离心 10 min; 在 2 mL EP 管中加入 100 μ L 500 mmol/L 的醋酸、100 μ L 10 mg/mL 的 ABTS、

200 μL 离心后的滤液、600 μL ddH₂O, 室温放置 5 min, 立即插入冰上终止反应, 用分光光度计测定其在 420 nm 的吸光值, 将最终单位换算为吸光值/g, 用以表示漆酶活性。共进行 3 次生物学重复。

过氧化物酶活性测定: 在上述步骤 2 mL EP 管中再加入 3.4 μL 30% H₂O₂ (m/m), 测定其在 420 nm 处的吸光值, 再将最终单位换算成吸光值/g, 用以表示过氧化物酶的活性。共进行 3 次生物学重复。

1.6 *AsSod* 基因对茄链格孢分生孢子萌发的影响

茄链格孢在人工培养条件下不易产孢, 本研究参考刘丽丽^[16]的方法对 HWC-168、 ΔAsSod 及 $\Delta\text{AsSod-C}$ 进行诱导产孢。将得到的孢子配制成 1×10^3 个/mL 的孢子悬浮液, 取 500 μL 均匀地涂抹在 1% 的水琼脂培养基上, 放置在 25℃ 恒温培养箱中黑暗培养 2 h 后观察分生孢子萌发情况, 若 1 个孢子产生多个芽管或芽管与孢子等长时认为分生孢子萌发。同时对孢子悬浮液进行热胁迫处理, 42℃ 水浴 15 min, 再将孢子悬浮液均匀地涂抹在 1% 的水琼脂平板上, 2 h 后观察热胁迫后 HWC-168、 ΔAsSod 及 $\Delta\text{AsSod-C}$ 分生孢子的萌发情况。每个处理统计的孢子数为 50 个, 每个菌株设置 3 个重复, 共进行 3 次生物学重复, 计算分生孢子的萌发率。萌发率 = 萌发孢子数/统计孢子数 $\times 100\%$ 。

1.7 *AsSod* 基因对茄链格孢致病力的影响

采用离体叶片接种法测定茄链格孢野生型菌株 HWC-168、突变株 ΔAsSod 及回复株 $\Delta\text{AsSod-C}$ 的致病力。取叶龄、叶位、大小一致的马铃薯健康叶片, 使叶片正面向上, 将叶柄插入含有 10.7 $\mu\text{mol/L}$

萘乙酸(NAA)和 10 $\mu\text{g/mL}$ 盐酸四环素的 1% 水琼脂平板中。将野生型菌株 HWC-168、突变株 ΔAsSod 和回复株 $\Delta\text{AsSod-C}$ 分生孢子悬浮液的浓度均调整至 1×10^4 个/mL, 用移液枪吸取 25 μL 孢子悬浮液, 接种在叶片正面中部的主脉附近, 盖上皿盖, 在 25℃ 光照培养箱中 L//D=12 h//12 h 条件下培养 5 d, 用十字交叉法测量病斑的长度和宽度, 并观察病斑特征。共进行 3 次生物学重复, 每个重复接种 5~8 个叶片。

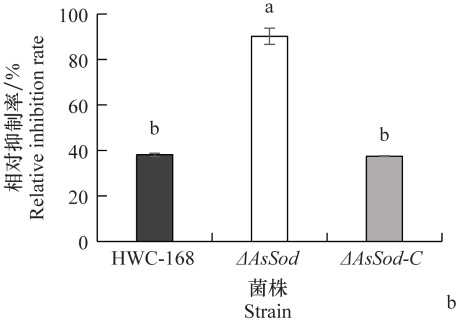
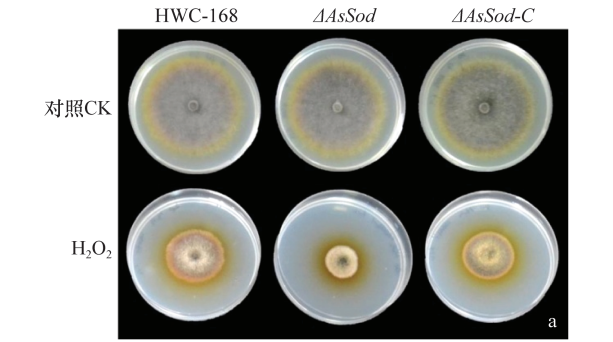
1.8 数据统计

本研究中, 所有试验均进行 3 次生物学重复, 每次重复设置 3 个平行处理(致病力测定试验中每个重复接种 5~8 片叶片)。本试验所有数据均使用 DPS 数据处理软件中的 Duncan 氏新复极差法进行统计分析, 显著水平设置为 0.05。用 Excel 对统计结果绘制柱状图。

2 结果与分析

2.1 *AsSod* 基因对茄链格孢氧化应激性的影响

25℃ 下, 野生型菌株 HWC-168、突变株 ΔAsSod 、回复株 $\Delta\text{AsSod-C}$ 在含 30 mmol/L H₂O₂ 的 PDA 平板上的生长均受到抑制。培养 7 d 后, 野生型菌株 HWC-168、突变株 ΔAsSod 、回复株 $\Delta\text{AsSod-C}$ 的相对生长抑制率分别为 38.11%, 90.21% 和 37.49%, 突变株 ΔAsSod 的相对生长抑制率显著大于野生型菌株和回复株(图 1), 由此推测, *AsSod* 基因的缺失导致突变株对过氧化物的耐受力降低。



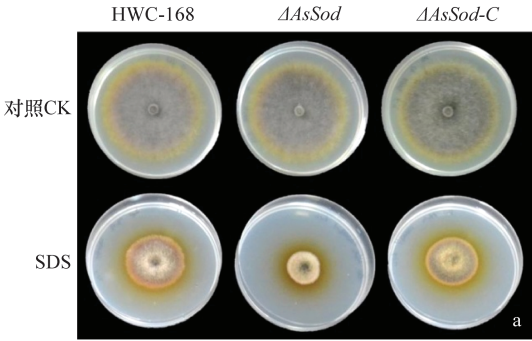
a: *AsSod* 突变株对氧化胁迫因子的敏感性; b: 氧化胁迫对菌株的相对抑制率。数据为平均值 $\pm$ 标准差, 不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 0.05 水平差异显著。图 2 同
a: Sensitivity of *AsSod* mutant to oxidative stress; b: Relative inhibition rate of the tested strains under oxidative stress. Data are presented as the mean $\pm$ SD from three independent experiments. Different letters on the bars indicate significant difference at 0.05 level by Duncan's new multiple range test. The same applies in Fig.2

图 1 HWC-168、 ΔAsSod 和 $\Delta\text{AsSod-C}$ 对 H₂O₂ 的耐受性

Fig. 1 Tolerance of HWC-168, ΔAsSod and $\Delta\text{AsSod-C}$ to H₂O₂

2.2 *AsSod* 参与调控茄链格孢对细胞壁胁迫的应答

野生型菌株 HWC-168、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod$ -C 在含 0.2 mg/mL SDS 的 PDA 平板上生长受到抑制,25℃,培养 7 d,其相对生长抑制率分别

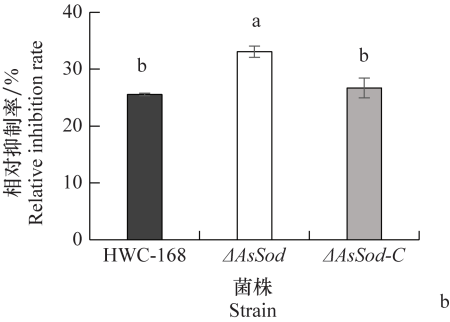


a: *AsSod* 突变株对细胞壁胁迫因子的敏感性; b: 细胞壁胁迫因子对菌株的相对抑制率
a: Sensitivity of *AsSod* mutant to cell wall damaging agents; b: Relative inhibition rate of the tested strains under SDS stress

图 2 HWC-168、 $\Delta AsSod$ 和 $\Delta AsSod$ -C 对 SDS 的耐受性

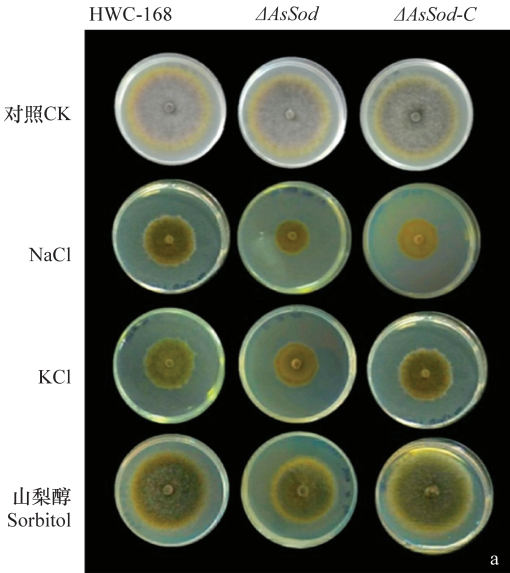
Fig. 2 Tolerance of HWC-168, $\Delta AsSod$ and $\Delta AsSod$ -C to SDS

为 25.54%、33.06% 和 26.68%, SDS 对突变株 $\Delta AsSod$ 的生长较野生型菌株和回复株具有更显著的抑制效果(图 2)。由此推测:*AsSod* 参与调控茄链格孢对细胞壁胁迫的应答。



2.3 *AsSod* 参与调控茄链格孢对渗透胁迫的应答

野生型菌株 HWC-168、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod$ -C 在含 NaCl(0.5 mol/L)、KCl(0.5 mol/L)和山梨醇(0.3 mol/L)的 PDA 平板上生长均受到了抑制。25℃,培养 7 d,NaCl 和 KCl 对突变株 $\Delta AsSod$



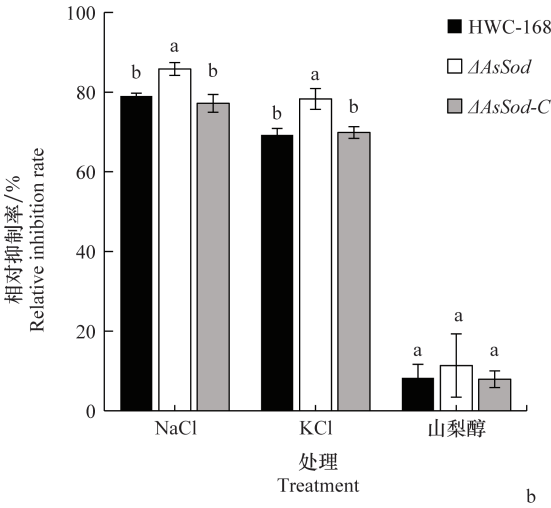
a: *AsSod* 突变株对渗透胁迫因子的敏感性; b: 渗透胁迫对菌株的相对抑制率。数据为平均值±标准差,不同字母表示相同处理不同菌株的耐受性经Duncan氏新复极差法检验在0.05水平差异显著

a: Sensitivity of *AsSod* mutant to osmotic stress agents; b: Relative inhibition rate of the tested strains under osmotic stress. Data are presented as the mean ± SD from three independent experiments. Different letters on the bars indicate significant difference of tolerance among different stains in same treatment at 0.05 level by Duncan's new multiple range test

图 3 HWC-168、 $\Delta AsSod$ 和 $\Delta AsSod$ -C 对渗透胁迫因子的耐受性

Fig. 3 Tolerance of HWC-168, $\Delta AsSod$ and $\Delta AsSod$ -C to osmotic stress

的抑制明显高于野生型菌株和回复株(图 3)。与 NaCl 和 KCl 相比,山梨醇对野生型菌株、突变株和回复株的相对生长抑制率差异较小,野生型菌株 HWC-168、突变株 $\Delta AsSod$ 、回复株 $\Delta AsSod$ -C 的相对生长抑制率分别为 8.29%、11.34%和 7.94%。

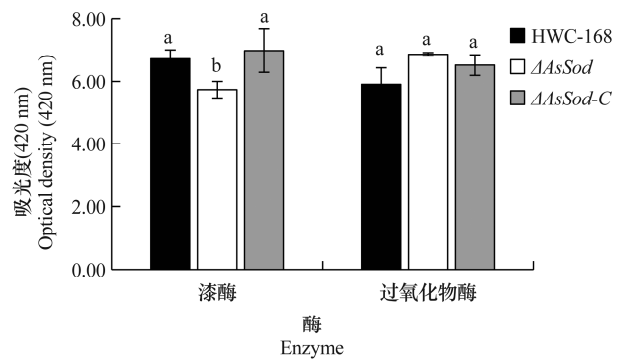


2.4 *AsSod* 调控茄链格孢漆酶的分泌

为了进一步验证 *AsSod* 是否参与调控马铃薯

早疫病菌过氧化物酶和漆酶的分泌,检测液体培养 $\Delta AsSod$ 滤液中过氧化物酶及漆酶活性的变化情

况,发现 $\Delta AsSod$ 滤液中漆酶的活性低于 HWC-168 及 $\Delta AsSod$ -C(图 4),但 $\Delta AsSod$ 滤液中过氧化物酶的活性与 HWC-168 及 $\Delta AsSod$ -C 没有显著差异,表明 *AsSod* 可能参与调控茄链格孢漆酶的分泌。



数据为平均值±标准差,不同字母表示不同菌株间同一个酶的活性经 Duncan 氏新复极差法检验在 0.05 水平差异显著
Data are presented as the mean ± SD from three independent experiments. Different letters on the bars indicate significant difference of enzyme activity among different stains in same treatment at 0.05 level by Duncan's new multiple range test

图 4 *AsSod* 对茄链格孢漆酶和过氧化物酶分泌的影响

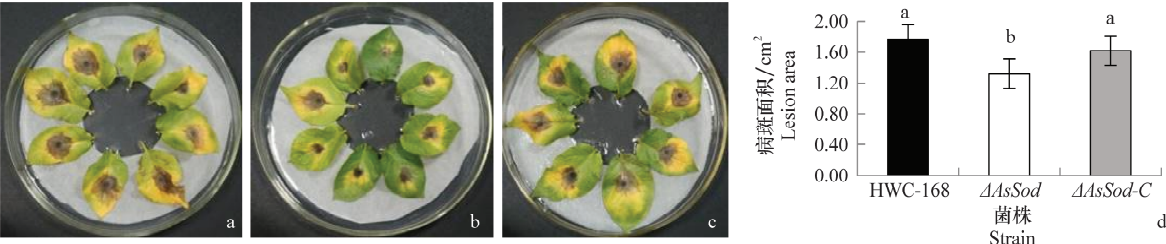
Fig. 4 Effects of *AsSod* on laccase and peroxidase secreted by *Alternaria solani*

表 1 常温及热处理后茄链格孢分生孢子萌发率($n=50$)¹⁾

Table 1 Germination rates of *Alternaria solani* conidia at room temperature and after heat treatments ($n=50$)

菌株 Strain	25℃培养 2 h Cultured at 25℃ for 2 h		42℃热激 15 min, 25℃培养 2 h Heat shock at 42℃ for 15 min, cultured at 25℃ for 2 h	
	孢子萌发数/个 Number of germinated spores	孢子萌发率/% Germination rate of conidia	孢子萌发数/个 Number of germinated spores	孢子萌发率/% Germination rate of conidia
HWC-168	(26.67±2.54)a	53.33	(15.33±3.00)a	30.67
$\Delta AsSod$	(15.78±2.60)b	31.56	(8.78±2.00)b	17.56
$\Delta AsSod$ -C	(26.11±1.55)a	52.22	(16.11±2.47)a	32.22

1) 数据为平均值±标准差,同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 0.05 水平差异显著。
Data are presented as the mean±SD from three independent experiments. Different letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level by Duncan's new multiple range test.



a-c: 马铃薯叶片接种HWC-168、 $\Delta AsSod$ 和 $\Delta AsSod$ -C; d: 病斑面积柱状图。数据为平均值±标准差,不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在0.05水平差异显著
a-c: Potato leaves inoculated with HWC-168, $\Delta AsSod$ and $\Delta AsSod$ -C, respectively; d: Histogram of lesion area. Data are presented as the mean ± SD from three independent experiments. Different letters on the bars indicate significant difference at 0.05 level by Duncan's new multiple range test

图 5 HWC-168、 $\Delta AsSod$ 和 $\Delta AsSod$ -C 对马铃薯叶片的致病力

Fig. 5 Pathogenicity of HWC-168, $\Delta AsSod$ and $\Delta AsSod$ -C to potato leaves

3 讨论

病原菌在生长和侵染寄主植物过程中会受到环境及寄主细胞防卫反应产生的过氧化物等因素的胁迫,而病原菌对于胁迫的应答与其生长发育及致病力有着重要的联系。为了探明 *AsSod* 基因缺失是否影响茄链格孢对外界胁迫的应答,本研究测定了不同胁迫因子对突变株的生长抑制率。结果表明,*AsSod* 基因缺失后茄链格孢对渗透胁迫、氧化胁迫及细胞壁胁迫更加敏感,表明 *AsSod* 参与茄链格孢对外界胁迫的应答。

细胞壁在维持病原菌细胞形态、信号传递及生长分化中起重要作用^[17]。本研究发现,在细胞壁胁迫因子 SDS 的作用下,茄链格孢菌落生长受到了抑制,而且对突变株的抑制大于野生型菌株和回复株,这可能是由于 *AsSod* 的缺失影响了茄链格孢细胞壁的完整性,进而影响了菌株对胁迫因子的耐受能力。张小华等^[18]研究表明,*Sod1* 基因编码的铜锌超氧化物歧化酶是酵母细胞中最重要的抗氧化酶,*Sod1* 基因缺失导致酵母细胞对真菌细胞壁抑制剂刚果红的敏感性增加,表明 *Sod1* 基因的缺失影响了酵母细胞壁的稳定。同时本研究中也发现,突变株 $\Delta AsSod$ 相比野生型菌株和回复株对于渗透胁迫因子的敏感性增强,这可能也是由于 *AsSod* 的缺失影响了细胞壁的完整性所导致的。

Sod 基因除了调控病原菌对外界胁迫的应答外,对病原菌的致病力也有一定的影响。缺失 *Sod* 基因对病原菌致病力的影响在灰葡萄孢和麦角菌中均有报道^[11-12]。本研究中,突变株 $\Delta AsSod$ 在马铃薯叶片上引起的病斑面积显著小于野生型菌株和回复株。在玉米大斑病菌 *Setosphaeria turcica*^[19] 和稻瘟病菌 *Magnaporthe oryzae*^[20] 侵染寄主植物的研究中发现,病原菌在寄主表面萌发后形成附着孢,附着孢再形成侵染钉,然后侵染钉利用附着孢内部的膨压穿透表皮角质层,完成侵染过程。在本研究中发现,突变株 $\Delta AsSod$ 的分生孢子萌发率较野生型菌株和回复株显著下降,这可能是导致 $\Delta AsSod$ 突变株致病力减弱的原因之一。

植物在受到病原菌的侵染时,表面会产生大量的活性氧来抵抗病原菌的侵染,而此时病原菌通过产生大量的过氧化物酶降解植物表面的活性氧,从而达到成功侵染的目的^[21-23]。在本试验中,突变株

$\Delta AsSod$ 中胞外漆酶活性降低,我们推测 *AsAod* 影响了胞外漆酶的分泌,进而干扰了突变株降解寄主木质素的能力,导致突变株致病性降低。具体如何调控还需要进一步的研究。

参考文献

- [1] 高玉林,徐进,刘宁,等.我国马铃薯病虫害发生现状与防控策略[J].植物保护,2019,45(5):106-111.
- [2] 刘玉华,王文桥.河北省-季作区马铃薯病虫害发生及综合防控[J].中国马铃薯,2010,24(3):159-164.
- [3] KRAUSE C, RICHTER S, KNÖLL C, et al. Plant secretome—from cellular process to biological activity [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2013, 1834(11): 2429-2441.
- [4] 何佳昱.茄链格孢全基因组测序及 SSR 分子标记的开发[D].保定:河北农业大学,2015.
- [5] MILLER A. Superoxide dismutases: Ancient enzymes and new insights [J]. FEBS Letters, 2012, 586(5): 585-595.
- [6] HWANG C S, BAEK Y U, YIM H S, et al. Protective roles of mitochondrial manganese-containing superoxide dismutase against various stresses in *Candida albicans* [J]. Yeast, 2003, 20(11): 929-941.
- [7] LI Jianrong, YU Ping. Expression of Cu, Zn-superoxide dismutase gene from *Saccharomyces cerevisiae* in *Pichia pastoris* and its resistance to oxidative stress [J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2007, 136(1): 127-139.
- [8] GILES S S, BATINIC-HABERLE I, PERFECT J R, et al. *Cryptococcus neoformans* mitochondrial superoxide dismutase: an essential link between antioxidant function and high-temperature growth [J]. Eukaryotic Cell, 2005, 4(1): 46-54.
- [9] CORTEZ N, CARRILLO N, PASTERNAK C, et al. Molecular cloning and expression analysis of the *Rhodobacter capsulatus sodB* gene, encoding an iron superoxide dismutase [J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(20): 5413.
- [10] 李森.哈茨木霉 SOD 基因的克隆及功能研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2007.
- [11] ROLKE Y, LIU Songji, QUIDDE T, et al. Functional analysis of H₂O₂-generating systems in *Botrytis cinerea*: the major Cu-Zn-superoxide dismutase (BCSOD1) contributes to virulence on French bean, whereas a glucose oxidase (BCGOD1) is dispensable [J]. Molecular Plant Pathology, 2004, 5(1): 17-27.
- [12] MOORE S, VRIES O M H D, TUDZYNSKI P. The major Cu, Zn SOD of the phytopathogen *Claviceps purpurea* is not essential for pathogenicity [J]. Molecular Plant Pathology, 2010, 3(1): 9-22.
- [13] 高士刚.玉米弯孢叶斑病菌全基因组序列分析与致病性分化相关基因的研究[D].上海:上海交通大学,2014.
- [14] ZHANG Dai, YU Shuiqing, YANG Yiping, et al. Antifungal effects of volatiles produced by *Bacillus subtilis* against *Alter-*

- naria solani* in potato [J/OL]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1196. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01196.
- [15] HUANG Shuaishuai, HE Zhangjiang, ZHANG Shiwei, et al. Interplay between calcineurin and the Slt2 MAP-kinase in mediating cell wall integrity, conidiation and virulence in the insect fungal pathogen *Beauveria bassiana* [J]. *Fungal Genetics & Biology*, 2015, 83: 78–91.
- [16] 刘丽丽. 马铃薯早疫病病菌产孢诱导、嗜菌酯敏感性及品种抗病性的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2013.
- [17] YIN Ziyi, TANG Wei, WANG Jingzhen, et al. Phosphodiesterase MoPdeH targets MoMck1 of the conserved mitogen-activated protein (MAP) kinase signalling pathway to regulate cell wall integrity in rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2016, 17(5): 654–668.
- [18] 张小华, 刘向勇, 卞伟华, 等. 酵母 *SOD1* 基因缺失突变体应答刚果红胁迫的转录组学分析[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(9): 960–966.
- [19] 宋文静, 董金皋. 玉米大斑病菌孢子萌发和附着胞形成的影响因素研究[J]. *植物病理学报*, 2008, 38(5): 536–539.
- [20] TALBOT N J. On the trail of a cereal killer: Exploring the biology of *Magnaporthe grisea* [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2003, 57(1): 177–202.
- [21] CHI M H, PARK S Y, KIM S, et al. A novel pathogenicity gene is required in the rice blast fungus to suppress the basal defenses of the host [J/OL]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(4): e1000401. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000401.
- [22] LIU Guosheng, GREENSHIELDS D L, SAMMYNAIKEN R, et al. Targeted alterations in iron homeostasis underlie plant defense responses [J]. *Journal of Cell Science*, 2007, 120(4): 596–605.
- [23] LÁZARO M, REGINE K. An *Ustilago maydis* gene involved in H₂O₂ detoxification is required for virulence [J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(7): 2293–2309.
- (责任编辑: 杨明丽)
-
- (上接 6 页)
- [53] BASKIN B. Solar bagging: putting sunlight to work to eliminate insect infestations in mere hours [J]. *Western Association for Art Conservation Newsletter*, 2001, 23(2): 20–21.
- [54] NEVEN L G, MITCHAM E J. CATTS (controlled atmosphere/temperature treatment system): A novel tool for the development of quarantine treatments [J]. *American Entomologist*, 1996, 42(1): 56–59.
- [55] NEVEN L G, REHFIELD-RAY L M. Combined heat and controlled atmosphere quarantine treatments for control of western cherry fruit fly in sweet cherries [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2006, 99(3): 658–663.
- [56] OBENLAND D, NEIPP P, MACKEY B, et al. Peach and nectarine quality following treatment with high-temperature forced air combined with controlled atmosphere [J]. *HortScience*, 2005, 40(5): 1425–1430.
- [57] HAREIN P K, PRESS A F. Mortality of stored-peanut insects exposed to mixtures of atmospheric gases at various temperatures [J]. *Journal of Stored Products Research*, 1968, 4(1): 77–82.
- [58] ALINIAZEE M T. Susceptibility of the confused and red flour beetles to anoxia produced by helium and nitrogen at various temperatures [J]. *Journal of Economic Entomology*, 1972, 65(1): 60–64.
- [59] STOREY C L. Mortality of adult stored-product insects in an atmosphere produced by an exothermic inert atmosphere generator [J]. *Journal of Economic Entomology*, 1975, 68(3): 316–318.
- [60] WANG Jinjun, TSAI J H, ZHAO Zhimo, et al. Interactive effects of temperature and controlled atmosphere at biologically relevant levels on development and reproduction of the psocid, *Liposcelis bostrychophila* Badoonell (Psocoptera: Liposcelidae) [J]. *International Journal of Pest Management*, 2001, 47(1): 55–62.
- [61] SODERSTROM E L, MACKEY B E, BRANDL D G. Interactive effects of low-oxygen atmospheres, relative humidity, and temperature on mortality of two stored-product moths (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. *Journal of Economic Entomology*, 1986, 79(5): 1303–1306.
- [62] ARTHUR F H, DOWDY A K. Impact of high temperature on efficacy of cyfluthrin and hydroprene applied to concrete to control *Tribolium castaneum* (Herbst) [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2003, 39(2): 193–204.
- [63] DOWDY A K. Mortality of red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) exposed to high temperature and diatomaceous earth [J]. *Journal of Stored Products Research*, 1999, 35(2): 175–182.
- [64] 左太强, 张彬, 张绍婷, 等. 高温和啮虫脲处理西花蓟马对其 F₁ 代生命表参数的联合作用[J]. *昆虫学报*, 2015, 58(7): 767–775.
- [65] 王殿轩, 石云庆, 吴小平. 高温对磷化氢和二氧化碳混合熏蒸杀虫增速增效作用的试验研究[J]. *植物检疫*, 2000, 14(5): 261–266.
- [66] 奚家勤, 尹启生, 宋纪真, 等. 高温、真空回潮及烟叶复烤杀虫工艺研究[J]. *烟草科技*, 2009, 42(1): 60–63.
- [67] 秦国勋, 姜良郎, 周弘, 等. 冷热处理巴西豆象效果的研究[J]. *植物检疫*, 2001, 15(3): 129–131.
- (责任编辑: 杨明丽)