

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.00067

小麦 *Pm21* 基因调控的白粉菌早期侵染抑制和寄主细胞反应

章 珍 刘新红 翟洪翠 王华忠*

天津师范大学生命科学学院 / 细胞遗传与分子调控天津市重点实验室, 天津 300387

摘 要: 携带抗白粉病基因 *Pm21* 的小麦材料对白粉病免疫, 叶片可见坏死斑。苗期人工接种小麦白粉菌(*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)和病原侵染初期的细胞学观察表明, 在互作位点, 携带 *Pm21* 基因的抗病材料上表皮细胞乳突形成时间与感病对照差异不明显, 但乳突的大小、致密度、持续时间及乳突中 H_2O_2 染色较对照有明显差异, 并由此显著降低白粉菌的侵入频率。抗病材料上发生多次侵染未成功导致白粉菌附着胞畸形。对于少数成功侵入并形成吸器的白粉菌, 抗病材料表皮细胞发生过敏性反应, 限制白粉菌吸器和二级菌丝的发展。因此, *Pm21* 调控的白粉病抗病反应在细胞水平上表现为细胞壁加固和过敏性反应的发生。

关键词: 小麦白粉病; *Pm21*; 细胞壁加固; 过敏性反应

Primary Infection Suppression of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and Host Cell Responses Regulated by *Pm21* Gene in Wheat

ZHANG Zhen, LIU Xin-Hong, ZHAI Hong-Cui, and WANG Hua-Zhong*

School of Life Sciences / Tianjin Key Laboratory of Cyto-genetical & Molecular Regulation, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China

Abstract: *Pm21* is a wide-spectrum resistance gene to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, *Bgt*) in wheat (*Triticum aestivum* L.), which originates from *Haynaldia villosa*. To reveal the mechanism of *Pm21*-mediated *Bgt* resistance in wheat at early infection stage, we carried out the cytological observations using wheat line 92R137, carrying *Pm21* gene and presenting immunity (but with visible spots on leaves) to *Bgt* after artificial inoculation with the prevalent *Bgt* race 15. Chinese Spring (CS) was used as the susceptible control. In wheat-*Bgt* interaction sites on leaves, papillae formed at a similar time in challenged epidermal cells in both 92R137 and CS. However, the papillae were larger and more compact and persisted in longer time in 92R137 than in CS, resulting in effectively blocking the penetration of *Bgt*. Accumulation of H_2O_2 was observed in the papillae of 92R137 by DAB staining. Appressorium malformation occurred in 92R137, which was probably caused by the failure of multiple penetration attempts of *Bgt*. For the small number of *Bgt* that successfully penetrated the epidermal cells of 92R137, haustorium-dependent hypersensitive reactions were induced to suppress further development of haustoria and secondary hyphae, arresting onset of powdery mildew. Therefore, the major mechanism of *Pm21*-mediated *Bgt* resistance involves challenged host cell wall reinforcement and hypersensitive reaction.

Keywords: Wheat powdery mildew; *Pm21* gene; Cell wall reinforcement; Hypersensitive reaction

白粉病是小麦、大麦等禾谷类作物的重要病害, 寄主-白粉菌互作系统也是研究植物与病原互作及植物抗病机制的模式系统。能够与寄主建立寄生关系的白粉菌首先要克服寄主对白粉病的抗性, 成功地侵入寄主叶片表皮细胞并形成吸收营养的吸器。其次, 由于是活体寄生真菌, 所以白粉菌在完成一个生活周期前必须确保宿主细胞的存活^[1]。植物抗白粉病机制主要表现为互作位点被侵染细胞的细胞壁加固(乳突和晕圈)^[2]和过敏性反应(hypersensitive

reaction, HR)^[3]。乳突是白粉菌侵染后, 诱导被侵染的寄主细胞在细胞质膜和细胞壁之间分泌形成类似于乳头状的细胞壁沉积物, 阻止白粉菌的侵入, 是基础抗性(basal resistance)和诱导抗性(induced resistance)的主要表现形式。HR 表现为被侵染表皮细胞甚至下方叶肉细胞主动死亡, 限制活性寄生病原的进一步发展^[4]。此外活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)在细胞壁物质交联^[5]、抗性基因的激活^[6]以及直接抗菌^[7]等方面具有非常重要的作用^[8], ROS

本研究由天津市自然科学基金项目(08JCYBJC05000)和天津市高等学校科技发展基金项目(20070916)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 王华忠, E-mail: hxywhz@mail.tjnu.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: zhangzhen300@163.com

Received(收稿日期): 2010-04-28; Accepted(接受日期): 2010-07-30.

的积累也是触发过敏性细胞坏死反应的因素之一^[9]。

禾谷类作物抗病基因调控的抗白粉病形式通常为细胞壁加固(大麦 *mlo*^[10], 百农 3217 背景的小麦 *Pm2*^[11])和 HR(大麦 *Mla12*^[12])两者之一, 或兼而有之(大麦 *Mlg*^[13], 小麦 *Pm2+Pm6*、*Pm16* 和 *Cc* 背景的 *Pm2*^[11])。此外, 乳突形成快^[14]、超大型乳突^[15]和致密乳突^[16]也是某些抗病基因的表现形式。HR 的发生由白粉菌初生芽管和附着胞芽管诱导, 但在有的材料上却需要吸器的预先形成^[17]。在作物抗白粉菌反应中可以观察到 H_2O_2 在有效乳突及其周围运输泡、HR 细胞和临近叶肉细胞内的积累^[18]。

Pm21 是一个小麦广谱抗白粉病基因, 转移自小麦近缘种簇毛麦(*Haynaldia villosa*)^[19]。关于该基因的抗病机制, 尤其是白粉菌侵染早期的细胞学研究还鲜有报道。本研究在白粉菌侵染初期, 通过对白粉菌侵染结构(吸器和二级菌丝等)和寄主细胞反应(乳突和 HR 等)的显微观察, 初步分析了 *Pm21* 基因调控的白粉病抗性的细胞学机制。

1 材料与方法

1.1 植物材料及白粉菌

携带 *Pm21* 基因的小麦-簇毛麦 6VS/6AL 易位系 92R137 引自南京农业大学, 其系谱为扬麦 5 号/4/ γ 80-1/簇毛麦//宁麦 6 号/3/扬麦 2 号。小麦品种中国春作为感病对照。白粉菌为北方地区流行的 15 号小种, 由中国农业大学农学与生物技术学院提供, 在密植盆栽的感病品种上繁殖, 接种前 24 h 抖去老孢子。

1.2 白粉菌人工接种

92R137 和中国春各 30 粒种子播于培养皿中, 每个品种播两个培养皿。罩以筒状透明投影胶片, 上覆 3 层滤纸, 与外界隔离, 防止空气中白粉菌孢子及其他杂菌落入, 然后于人工培养箱中按光照 16 h、黑暗 8 h 光周期, 25℃下培养。在幼苗长至一叶一心时, 将第 1 片叶片剪下, 取中部 3 cm 左右的叶段, 置垫有蒸馏水(含浓度为 20 mg L⁻¹ 6-BA)润湿滤纸的托盘内, 叶片背面朝上, 两端切口用湿润的棉花封口。用抖落法高密度均匀接种白粉菌分生孢子(40~50 个孢子 mm⁻²), 置人工培养箱中, 22~25℃弱光培养。接种后不同时间取样进行固定和染色。

1.3 侵染初期的显微观察

考马斯亮蓝可将蛋白质成分染成深蓝色, 苯胺蓝可将胼胝质(callose)成分染成浅蓝色。接种白粉菌

后不同时间取出叶片分别用 2 种染色法染色。前法将叶片在含 0.15%三氯乙酸的乙醇-三氯甲烷(75:25, V/V)脱色液中脱色 48 h, 中间更换 2 次脱色液, 使叶段透明, 再用考马斯亮蓝染色液(0.15%三氯乙酸水溶液:0.6%考马斯亮蓝 R-250 甲醇溶液=1:1, V/V)染色 4 h, 之后用自来水漂洗, 在冰醋酸-甘油-水(1:4:15, V/V/V)混合液中保存; 后法将叶片浸没在 0.05%苯胺蓝染色液(溶于乳酚油, pH 6.8)中染色 8 h, 然后放在乳酚油中透明。在显微镜下观察染色后的叶片, 记录 150~200 个互作位点的乳突、吸器和二级菌丝等的形成情况。使用荧光显微镜(Nikon i80, excitation filter 330~380 nm, dichoric mirror 400 nm, barrier filter 420 nm)观察表皮细胞自发荧光以确定 HR 的发生^[20]。

1.4 H_2O_2 的检测

二氨基联苯胺(DAB)法可以检测 H_2O_2 , 在显微镜下乳突和 HR 细胞中 H_2O_2 的积累处呈红褐色。接种白粉菌后在规定取样前 8 h, 将叶片切口插入 1 mg mL⁻¹ DAB (pH 3.8)的溶液中 8 h。然后在含有 0.15%三氯乙酸的乙醇-三氯甲烷(75:25, V/V)混合液中脱色, 叶片透明后在显微镜下观察。

1.5 数据分析

使用软件 Microsoft Excel 2003 进行数据整理, 使用软件 SAS 8.01 进行统计分析和差异显著性测验。

2 结果与分析

2.1 抗、感材料的发病症状

接种后 1 周充分发病后, 中国春幼苗叶片上有明显的白粉菌菌落; 92R137 无明显的白粉病症状, 但幼苗叶片上有肉眼可见的坏死斑, 表明 *Pm21* 调控的白粉病抗性可能经历寄主细胞 HR。

2.2 寄主细胞反应

2.2.1 乳突和细胞侧壁沉积 接种白粉菌后 16 h, 92R137 和中国春上与白粉菌互作位点的表皮细胞在侵染点下方均出现乳突(图 1-a, b), 抗、感材料在乳突产生的时间上无明显差异, 抗、感材料均具有基础抗性所调控的乳突形成。随侵染时间的延长, 抗、感材料的乳突形成百分率都有增加的趋势, 并于接种后 25 h 达到峰值, 但感病材料不如抗病材料增加明显, 此时 92R137 上的乳突形成百分率已接近 100% (图 2-A); 峰值过后的乳突形成百分率, 感病材料明显减少, 而抗病材料下降缓慢(考马斯亮蓝染色)或维持在较高水平(苯胺蓝染色), 抗、感之间呈

现显著差异(图 2-A)。抗、感材料上白粉菌诱导的乳突形态和变化也有差别。根据着色程度(致密度)和大小将乳突分成 5 个级别。两种染色方法均显示, 早在接种后 16 h, 92R137 上的乳突就已表现出比中国春大而致密。随后, 两种材料上的乳突级别均有增加的趋势, 但乳突形态在抗、感材料上始终存在差异(图 1-a, b, c, d 和图 2-B)。经 DAB 染色, 92R137 的乳突中积累的 H_2O_2 呈明显的红褐色, 而且染色形态较大(图 1-e), 而在中国春中很少见该现象。

在互作位点上, 还观察到被侵染细胞在乳突附近与一侧或两侧细胞相邻处的细胞壁有深染线条(图 1-f), 推测可能是晕圈和加固的细胞壁顶面观察导致的线状深染, 称之为细胞侧壁沉积(cell sidewall appositions, CSA)。由于其在显微镜下的典型特征有别于乳突, 也对其进行了观察和统计分析。经考马斯亮蓝染色后, 中国春互作位点上这种 CSA 较 92R137 出现早, 但在接种后 25 h 迅速下降至较低水平(10.3%~11.7%)。而在 92R137 互作位点上, CSA 的形成百分率在接种后 25 h 之前不及中国春, 但在接种后 25~30 h 则显著高于中国春, 并维持在较高水平(66.4%~47.3%), 与乳突的变化特征一致(图 2-C)。

苯胺蓝染色后乳突形成百分率和 CSA 形成百分率在抗感材料中均比考马斯亮蓝染色的多, 且峰值出现的时间也较早, 说明抗、感材料的乳突和 CSA 中都有胼胝质和蛋白质的累积, 但胼胝质出现的时间比蛋白质早。考马斯亮蓝染色的蛋白质集中在乳突的中间位置(图 1-c, d), 而苯胺蓝染色的胼胝质的分布范围较大, 且染色也较浅(图 1-a, b)。

2.2.2 HR 全细胞自发荧光是确认细胞发生过敏性坏死的可靠依据。接种后 30~38 h, 92R137 被侵染的表皮细胞 HR 发生百分率处于较低水平(2%~8%), 且变化不大; 从接种后 39 h 开始, HR 发生百分率迅速增加, 到接种后 45 h 时达 18.5% (图 2-F)。而感病品种中国春中很难观察到 HR。92R137 上发生 HR 的细胞内常能观察到近似成熟的分支吸器存在, 且能够从附着胞上伸出生长非常缓慢的一小段二级菌丝(图 1-i), 明显区别于被有效乳突阻止未能侵入的情况。除自发荧光外, 发生 HR 的细胞也能被考马斯亮蓝和苯胺蓝染色, 说明发生 HR 的细胞中有蛋白质和胼胝质的累积(图 1-g, h)。

2.3 白粉菌吸器及二级菌丝生长

经考马斯亮蓝染色, 抗、感材料均在接种后 16 h 出现吸器中心体(图 1-j)。此后, 中国春吸器形成百

分率迅速增加, 而 92R137 增长缓慢。接种后 30 h, 中国春上的吸器形成百分率稳定在 50%左右; 而 92R137 在接种后 25 h 达峰值 26%, 至接种后 39 h 降低到 3% (图 2-D)。吸器形态在抗、感材料间也有明显差异。中国春在接种后 25 h 开始出现指状吸器(图 1-c), 而 92R137 的吸器发育受阻, 接种后 35 h 在发生 HR 的细胞内才偶见指状吸器。

考马斯亮蓝染色显示, 中国春二级菌丝形成百分率在接种后 35 h 稳定在 70%左右(图 2-E), 而 92R137 中很难观察到二级菌丝的形成, 这与较低的吸器形成频率一致。92R137 上被有效乳突成功阻止侵入的白粉菌常常出现附着胞分瓣的现象。分瓣是附着胞畸形的主要形式, 分瓣的附着胞丧失了入侵能力, 是一种重要的抗病形式^[21]。在显微镜下附着胞分瓣与刚形成的二级菌丝容易被混淆, 但鉴于其不能进一步伸长, 结合吸器形成情况分析, 应该不是二级菌丝, 而是一种侵染失败后的再次或多次尝试。

3 讨论

尽管有学者认为细胞壁加固即有效乳突的形成是广谱抗病基因和数量性状抗性的主要形式, 如大麦 *mlo* 基因^[22], 而 HR 则是小种专一性抗病基因的典型特征, 如大麦 *Mla12*、*Mlg* 基因^[23]和小麦 *Pm16* 基因^[11], 但进一步的研究结果揭示了植物—病原菌互作过程中抗病基因调控抗病机制的复杂性, 尤其是关键生理生化事件的发生情况及出现时间点具有抗病基因特异性。大麦 *Mla12* 基因调控的 HR 发生可能需要白粉菌吸器的诱导, 而 *Mlg* 则不需要^[24]。小麦 *Pm2* 基因在不同遗传背景中表现也不同, 在百农 3217 背景中的 *Pm2* 调控的抗病形式以有效乳突为主, 很少发生 HR; 而换成 Cc 背景或者 *Pm2* 和 *Pm6* 共存, 则两种抗病形式都能够观察到, 但在同一互作位点两种情况不同时发生^[11]。被侵染表皮细胞下方叶肉细胞的 HR 也是某些抗病基因调控抗病的表现形式之一。小麦 *Pm21* 基因是目前所发现的一个对所有白粉菌小种表现免疫的广谱抗病基因。由基础抗性控制的侵染早期乳突形成(接种后 25 h 内)在 92R137 和感病材料中国春间没有显著差异。随后白粉菌-*Pm21* 的互作使乳突得以维持和加固, 明显不同于中国春接种 25 h 后迅速下降的乳突频率, 而且抗病材料上的乳突形态始终比感病材料大而致密, 说明 *Pm21* 基因的关键作用不在于启动乳突的

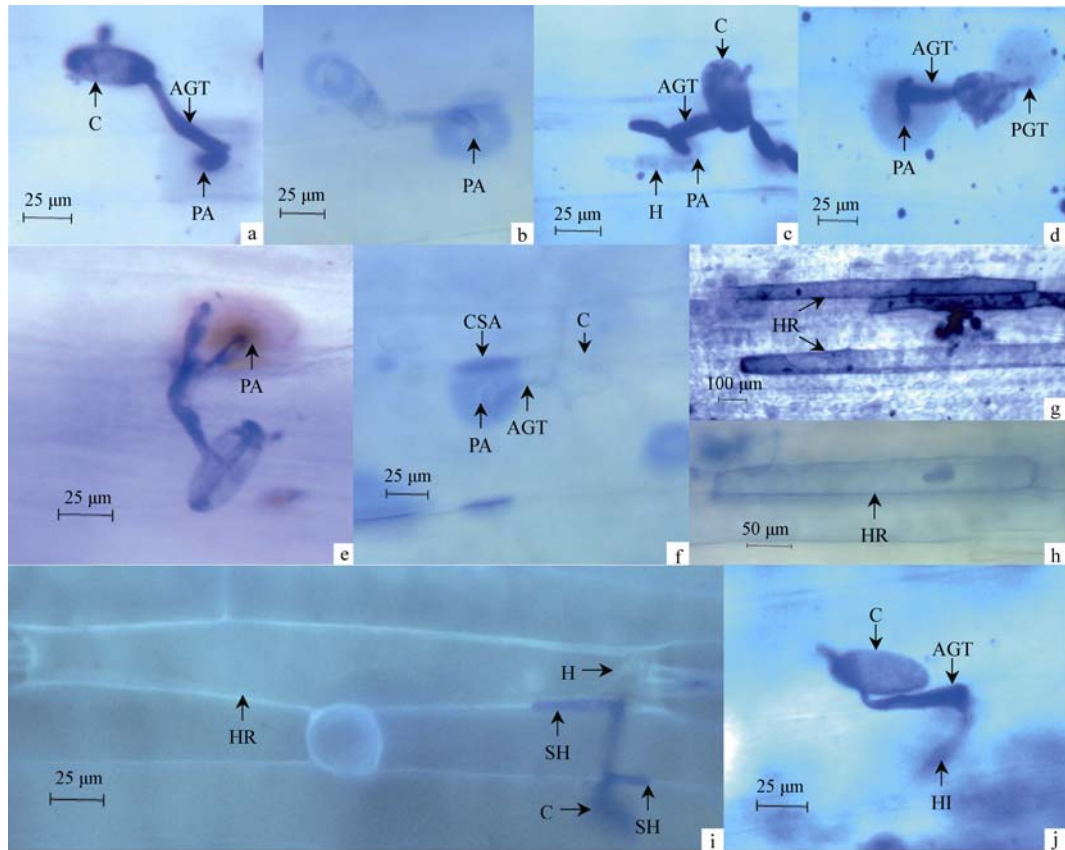


图 1 小麦和白粉病互作的细胞学显微观察

Fig. 1 Cytological microscopic observation of wheat-*Bgt* interaction sites

a, b: 接种后 19 h, 苯胺蓝染色的中国春(a)和 92R137(b)上表皮细胞, 示乳突形成; c, d: 接种后 25 h, 考马斯亮蓝染色的中国春(c)和 92R137 (d)上表皮细胞, 示乳突形成; e: 接种后 48 h, DAB 染色的 92R137 上表皮细胞, 红褐色区域示 H_2O_2 积累; f: 接种后 18 h, 苯胺蓝染色的 92R137 上表皮细胞, 示细胞侧壁沉积; g, h: 接种后 30 h 考马斯亮蓝染色(g)和 35 h 苯胺蓝染色(h)的 92R137 上表皮细胞, 示过敏反应; i: 接种后 48 h, 92R137 过敏反应细胞的荧光显微照片; j: 接种后 20 h, 中国春上表皮细胞中形成吸器中心体。

C: 分生孢子; PA: 乳突; AGT: 附着胞芽管; H: 吸器; PGT: 初生芽管; CSA: 细胞侧壁沉积; HR: 过敏反应细胞; SH: 二级菌丝; HI: 吸器中心体。

a, b: papilla formations in epidermal cells of Chinese Spring (a) and 92R137 (b) at 19 h after inoculation (HAI) stained with Aniline blue; c, d: papilla formations in epidermal cells of Chinese Spring (c) and 92R137 (d) at 25 HAI stained with Coomassie brilliant blue; e: H_2O_2 accumulation in papilla of 92R137 (light brown area) at 48 HAI stained with DAB; f: cell sidewall apposition in epidermal cell of 92R137 at 18 HAI stained with Aniline blue; g, h: HR cell of 92R137 at 30 h HAI stained with Coomassie brilliant blue(g) and at 35 HAI stained with Aniline blue (h); i: HR cells of 92R137 at 48 HAI under fluorescence microscopy; j: haustorial initial formation in epidermal cell of Chinese Spring at 20 HAI stained with Coomassie brilliant blue.

C: conidium; PA: papilla; AGT: appressorium germ tube; H: haustorium; PGT: primary germ tube; CSA: cell sidewall apposition; HR: hypersensitive reaction cell; SH: secondary hypha; HI: haustorial initial.

形成, 而是诱导了一系列反应, 从而更迅速地加固和稳定乳突。吸器是白粉菌唯一侵入寄主体内并能从中获取养分的器官, 吸器的发育情况在一定程度上反映整个病菌的生长与代谢状态, 因而又是评价寄主细胞抗性的重要性状^[25]。本研究中的吸器形成情况也表明, 92R137 上致密和稳定的乳突对于阻止白粉菌的侵入更有效。92R137 上的乳突中有明显的 H_2O_2 积累, 乳突下方可见围绕乳突的含 H_2O_2 的运输泡, 表明 *Pm21* 调控的细胞壁加固有 H_2O_2 的参与。

对于一小部分能够成功穿透乳突的白粉菌,

92R137 细胞内抗性物质的产生和 HR 的发生限制了吸器的发展。白粉菌的成功侵入(无效乳突)和吸器的形成可能是 92R137 上 HR 发生的前提, 且 HR 发生迟缓(集中在接种 39 h 后), 导致 HR 细胞内的吸器部分成熟, 二级菌丝能有限伸长(图 1-i)。92R137 上 HR 发生的频率较低, 不是 *Pm21* 调控的主要抗病形式。*Pm21* 在不同的背景下 HR 的情况有所不同, 孙晓丽等^[26]使用 TUNEL 法未检测到百农 3217 背景的 *Pm21* 具有 HR 的抗病形式。本研究中, 自发荧光观察方法检测到 92R137(扬麦 5 号/4/γ80-1/簇毛麦//宁

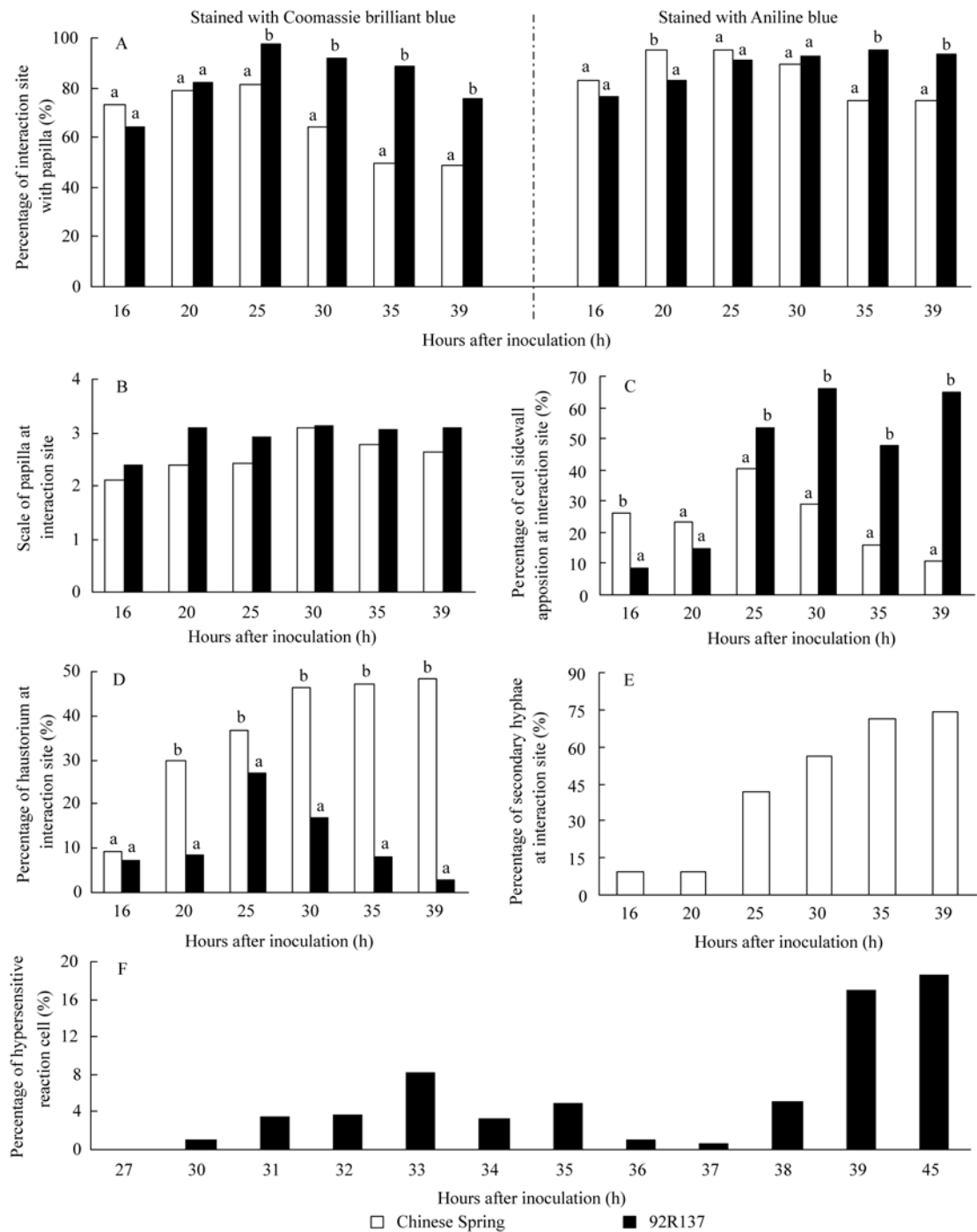


图 2 92R137 和中国春与白粉菌互作位点的病原结构和寄主反应

Fig. 2 Pathogen structures and host cell reactions at interaction sites of 92R137 and Chinese Spring

A: 乳突形成百分率(考马斯亮蓝和苯胺蓝染色); B: 乳突级别(苯胺蓝染色); C: 细胞侧壁沉积形成百分率(考马斯亮蓝染色); D: 吸器形成百分率(考马斯亮蓝染色); E: 中国春二级菌丝形成百分率(考马斯亮蓝染色); F: 92R137 过敏反应发生百分率。同一指标内标注不同字母的柱形在抗、感材料间有显著差异($P < 0.05$)。

A: percentage of papilla stained with Coomassie brilliant blue and Aniline blue; B: scale of papilla stained with aniline blue; C: percentage of cell sidewall apposition stained with Coomassie brilliant blue; D: percentage of haustorium stained with Coomassie brilliant blue; E: percentage of secondary hyphae stained with Coomassie brilliant blue in Chinese Spring; F: percentage of hypersensitive reaction cell in 92R137. In each chart, bars marked with different letters are significantly different between 92R137 and Chinese Spring at $P < 0.05$.

麦 6 号/3/扬麦 2 号)中 *Pm21* 调控的抗性有 HR 的发生。
成功侵染的白粉菌能够在一定程度上解除小麦

对白粉菌的防卫, 改变侵入细胞的基因表达和生理
状态, 使之有利于白粉菌寄生。Lyngkjær 等^[27]报道

了白粉菌第一次成功侵染能够显著提高被侵染细胞及附近细胞对第二次侵染的感病性,被侵染细胞乳突及细胞壁中参与木质素合成的酚类物质合成和积累下降。由此推测,本研究中接种 25 h 后感病材料上乳突频率逐渐下降的原因可能是白粉菌成功侵染后,无效乳突的加固和维持过程被解除,密度和大小逐渐减小。

经苯胺蓝染色后,抗、感材料上的白粉菌孢子均有脱落的现象,但 92R137 较中国春脱落的多,可能原因是 92R137 上的不亲和互作使孢子与叶片的结合力较低,不能稳定固着在叶表皮上,其机制有待进一步研究。

4 结论

Pm21 基因调控的白粉病抗病反应主要表现为互作位点的细胞壁加固抑制白粉菌侵入,HR 的发生限制了小部分成功侵入白粉菌的吸器和二级菌丝的发展。 H_2O_2 参与了抗病反应过程。白粉菌孢子多次不成功的侵染尝试常常导致附着胞分瓣的发生。

References

- [1] Frye C A, Innes R W. An *Arabidopsis* mutant with enhanced disease resistance to powdery mildew. *Plant Cell*, 1998, 10: 947–956
- [2] Collinge D B. Cell wall appositions: the first line of defence. *J Exp Bot*, 2009, 60: 351–352
- [3] Aist J R, Israel H W. Auto fluorescent and ultraviolet absorbing components in cell walls and papillae of barley coleoptiles and their relationship to disease resistance. *Can J Bot*, 1986, 64: 266–272
- [4] Carver T L W, Carr A J H. Effects of host resistance on the development of haustoria and colonies of oat mildew. *Annu Appl Biol*, 1978, 88: 171–178
- [5] Brisson L F, Tenhaken R, Lamb C J. Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance. *Plant Cell*, 1994, 6: 1703–1712
- [6] Dixon R A, Harrison M J, Lamb C J, Dixon R A, Harrison M J, Lamb C J. Early events in the activation of plant defense responses. *Annu Rev Phytopathol*, 1994, 32: 479–501
- [7] Baker C J, Orlandi E W. Active oxygen in plant pathogenesis. *Annu Rev Phytopathol*, 1995, 33: 299–321
- [8] Tzeng D D, DeVay J E. Role of oxygen radicals in plant disease development. *Adv Plant Pathol*, 1993, 10: 1–34
- [9] Levine A, Tenhaken R, Dixon R A, Lamb C J. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 1994, 79: 583–593
- [10] Wolter M, Hollricher K, Salamini F, Schulze-Lefert P. The *mlo* resistance alleles to powdery mildew infection in barley trigger a developmentally controlled defense mimic phenotype. *Mol Gen Genet*, 1993, 239: 122–128
- [11] Li A L, Wang M L, Zhou R H, Kong X Y, Huo N X, Wang W S, Jia J Z. Comparative analysis of early H_2O_2 accumulation in compatible and incompatible wheat–powdery mildew interactions. *Plant Pathol*, 2005, 54: 308–316
- [12] Freialdenhoven A, Seherag B, Hollricher K, Collinge D B, Thorald-Christensen H, Schulze-Lefert P. *Nar-1* and *Nar-2*, two loci required for Mla-12 specified race resistance to powdery mildew in barley. *Plant Cell*, 1994, 6: 983–994
- [13] Koga H, Bushnell W R, Zeyen R J. Specificity of cell type and timing of events associated with papilla formation and the hypersensitive reaction in leaves of *Hordeum vulgare* attacked by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Can J Bot*, 1990, 68: 2344–2352
- [14] Wen C-J(文成敬), Tao J-F(陶家凤). Relationship of papilla formation and successful infection by powdery mildew fungus on wheat. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 1989, 19(1): 17–20 (in Chinese with English abstract)
- [15] Aist J R, Israel H W. Papilla formation: timing and significance during penetration of barley coleoptiles by *Erysiphe graminis hordei*. *Phytopathology*, 1977, 67: 455–461
- [16] Wang Z-M(王彰明), Chen H-D(陈厚德), Bi H-S(毕华松), Fang Z(方正). Studies on haustorium's development of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and papillae formation of host cell. *J Yangzhou Univ* (Agric Life Sci Edn) (扬州大学学报·生命科学版), 2003, 24(2): 64–67 (in Chinese with English abstract)
- [17] Hu D-W(胡东维), Li Z-Q(李振岐), Kang Z-S(康振生). Cytological studies on hypersensitive responses of wheat against primary infection by *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*. *J Zhejiang Agric Univ* (浙江农业大学学报), 1997, 23(4): 399–404 (in Chinese with English abstract)
- [18] Hückelhoven R, Kogel K H. Tissue-specific superoxide generation at interaction sites in resistant and susceptible near-isogenic barley lines attacked by the powdery mildew fungus (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). *Mol Plant-Microbe Interact*, 1998, 11: 292–300
- [19] Qi L-L(齐莉莉), Chen P-D(陈佩度), Liu D-J(刘大钧), Zhou B(周波), Zhang S-Z(张守中), Sheng B-Q(盛宝钦), Xiang Q-J(向齐君), Duan X-Y(段霞瑜), Zhou Y-L(周益林). The gene *Pm21*: a new source for resistance to wheat powdery mildew. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1995, 21(3): 257–262 (in Chinese with English abstract)
- [20] Koga H, Zeyen R J, Bushnell W R, Ahlstrand G G. Hypersensitive cell death, autofluorescence, and insoluble silicon accumulation in barley leaf epidermal cells under attack by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1988, 32: 395–409
- [21] Yao J-Q(姚技强), Shang H-S(商鸿生), Li Z-Q(李振岐). On irregular appressoria of *Blumeria graminis*. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 1998, 28(3): 215–219 (in Chinese with English abstract)
- [22] Büschges R, Hollricher K, Panstruga R, Simons G, Wolter M,

- Frijters A, van Daelen R, van der Lee T, Diergaarde P, Groenendijk J, Töpsch S, Vos P, Salamini F, Schulze-Lefert P. The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell*, 1997, 88: 596–705
- [23] Marco T, Kogel K H, Hückelhoven R. Superoxide and hydrogen peroxide play different roles in the nonhost interaction of barley and wheat with inappropriate formae speciales of *Blumeria graminis*. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2004, 17: 304–312
- [24] Hückelhoven R, Fodor J, Preis C, Kogel K H. Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxide but not with salicylic acid accumulation. *Plant Physiol*, 1999, 119: 1251–1260
- [25] Bracket C E. The ultrastructure of the haustorial apparatus of *Erysiphe graminis* and its relationship to the epidermal cell of barley. *Phytopathology*, 1968, 58: 12–30
- [26] Sun X-L(孙晓丽), Zhou R-H(周荣华), Jia J-Z(贾继增). Programmed cell death induced by powdery mildew in wheat (*Triticum aestivum*) leaves. *J Yangzhou Univ (Agric Life Sci Edn)* (扬州大学学报·生命科学版), 2006, 27(2): 22–25 (in Chinese with English abstract)
- [27] Lyngkjær M F, Carver T L W. Conditioning of cellular defence responses to powdery mildew in cereal leaves by prior attack. *Mol Plant Pathol*, 2000, 1: 41–49

科学出版社生物分社新书推介

《生物工程上游技术实验手册》

“十一五”国家重点图书出版规划项目

应用生物技术大系

田长恩 主编

2010 年 11 月出版

定价: ¥ 30.00

ISBN 978-7-03-029405-0

开本: B5

营销分类: 生物科学

装帧: 平装

本书将分子生物学实验、基因工程实验以及微生物遗传育种实验等多门实验课程有机地统一成一体, 整合出若干个不同层次的实验, 形成了一个较为完整的实验技术体系, 既能节约教学成本, 又能使学生更加系统地掌握实验的基本技术和理解基本原理, 还能使本实验技术更加接近本学科的前沿。内容包括菌种的理化诱变、工程菌的培养和保藏、基因组 DNA 和 RNA 的分离纯化、质粒 DNA 的制备、基因克隆、表达载体构建、遗传转化和转化子的筛选、表达蛋白的检测等。所开设的实验主要为基础性实验, 学生通过实验熟悉实验的基本原理, 掌握实验的基本技术。在此基础上, 再开设综合性实验, 侧重于培养学生的综合能力和创新能力。本书可以作为大专院校开设生物工程上游技术实验、分子生物学实验或基因工程实验等课程的教材或参考用书, 也可以作为研究生和初级科研工作者分子生物学实验技术的参考用书。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书

联系人: 科学出版社科学销售中心 周文宇 电话: 010-64031535 E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购: <http://shop.sciencepress.cn>

联系科学出版中心生物分社: 010-64012501 <http://www.lifescience.com.cn> E-mail: lifescience@mail.sciencep.com

更多精彩图书请登陆网站, 欢迎致电索要书目