

文章编号: 1000-5862(2013)04-0349-06

小立碗藓-灰霉菌互作过程中活性氧代谢及 病程相关蛋白 1 转录表达的变化

姜 山, 余治锦, 兰世超

(贵州师范大学生命科学学院, 贵州 贵阳 550001)

摘要: 为了解苔藓植物小立碗藓与病原真菌灰霉菌的互作关系, 观察了灰霉菌在小立碗藓配子体中的感染行为和小立碗藓受感染后的组织病理学变化. 另外, 还测定了接种灰霉菌后小立碗藓配子体的过氧化氢量、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性以及病程相关蛋白 1(PR1)基因转录表达变化. 结果表明: (i) 在灰霉菌接种早期小立碗藓出现类似维管束植物的过敏反应; (ii) 接种早期 PR1 基因表达上调和 POD 活性增高, 说明 PR1 和 POD 可能与小立碗藓对灰霉菌的早期防御反应有关; (iii) 病原菌侵染引起小立碗藓配子体内 CAT、SOD 活性下降和过氧化氢量升高, 说明小立碗藓与灰霉菌互作中出现了氧化还原态的变化.

关键词: 小立碗藓; 灰霉菌; 活性氧

中图分类号: S 432.1

文献标志码: A

0 引言

苔藓植物小立碗藓(*Physcomitrella patens*) 隶属葫芦藓科(Funariaceae) 小立碗藓属(*Physcomitrella*). 小立碗藓具有以下特点: (i) 个体较小, 再生能力强, 易于组织培养; (ii) 同源重组率高, 是迄今发现同源重组率最高的陆生植物, 可为基因敲出实验提供便利条件; (iii) 生活史中单倍体配子体占优势, 用于分子生物学和遗传学研究具有优越性; (iv) 已完成基因组测序工作. 上述特点使得小立碗藓被广泛用于植物基因组学的研究, 现已成为植物学研究的重要模式系统^[1-8].

小立碗藓拟叶和原丝体由单层细胞构成, 十分方便观察病原菌的感染情况, 是研究植物-病原微生物互作关系的理想实验材料^[9-11]. 但是, 目前关于植物与病原微生物互作关系的研究报道主要集中在维管束植物, 苔藓植物的相关报道较少. 苔藓植物是陆生植物登陆早期的代表, 是研究陆生植物进化的理想实验材料. 因此, 利用小立碗藓研究植物与病原体互作关系, 可丰富陆生植物与病原体互作关系的研究数据. 已有的研究揭示广谱病原真菌灰霉菌(*Botrytis cinerea*) 能感染小立碗藓, 并且诱导查尔酮合酶和苯丙氨酸脱氨酶等防卫相关基因上调表达^[11]. 虽

然活性氧及其清除酶过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)在维管束植物防御反应中发挥重要作用^[12-23], 但是灰霉菌感染对非维管束植物小立碗藓的过氧化氢产生、POD、CAT、SOD 活性的影响还未见报道. 本文通过形态学、生物化学和分子生物学手段研究灰霉菌感染后小立碗藓的生理生化变化, 旨在为进一步研究植物登陆早期与病原微生物的互作关系提供基础数据.

1 材料和方法

1.1 植物材料

植物材料小立碗藓由首都师范大学何奕骥教授提供. 小立碗藓用 PPNH₄ 培养基(葡萄糖 5 g · L⁻¹、酒石酸铵 0.5 g · L⁻¹、Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 0.8 g · L⁻¹、FeSO₄ · 7H₂O 0.012 5 g · L⁻¹、MgSO₄ · 7H₂O 0.25 g · L⁻¹、CuSO₄ · 5H₂O 0.055 mg · L⁻¹、ZnSO₄ · 7H₂O 0.055 mg · L⁻¹、H₃BO₃ 0.614 mg · L⁻¹、MnCl₂ · 6H₂O 0.389 mg · L⁻¹、CoCl₂ · 6H₂O 0.055 mg · L⁻¹、KI 0.028 mg · L⁻¹、NaMoO₃ · 2H₂O 0.025 mg · L⁻¹、磷酸缓冲液(KH₂PO₄ 0.25 g · L⁻¹ 4 mol · L⁻¹ KOH pH 值为 6.5)、琼脂 7 g · L⁻¹) 培养. 在 16 h 光照和 8 h 黑暗的光照周期及 25 °C 下培养 20 d 后用于本研究.

收稿日期: 2013-03-06

基金项目: 国家自然科学基金(30860158, 31260426) 和贵州省科学技术基金(黔科合 J 字[2008]2264) 资助项目.

作者简介: 姜 山(1967-), 男, 贵州贵阳人, 副教授, 博士, 主要从事植物与病原菌互作关系研究.

1.2 病原菌

灰霉菌 c023 菌株由华东师范大学许玲教授提供。灰霉菌在 PDA 固体培养基(马铃薯 300 g · L⁻¹、葡萄糖 40 g · L⁻¹、琼脂 20 g · L⁻¹) 上培养 10 d 后用于本实验。用无菌蒸馏水冲洗长有菌丝的 PDA 平板,过滤于离心管中离心(4 000 r · min⁻¹, 10 min),去上清液,重复离心 3 次后加入 PDB 培养基(马铃薯 300 g · L⁻¹、葡萄糖 40 g · L⁻¹) 制备成灰霉菌孢子悬浮液,孢子浓度调整为 5 × 10⁵ 个 · mL⁻¹。

1.3 接种

前期实验发现,因小立碗藓个体较小,如将灰霉菌直接接种在生长于 PPNH₄ 培养基的小立碗藓上会导致菌丝在培养基表面大量繁殖并覆盖植株,不利于病程观察和试验材料采集。因此,本实验接种时将培养 20 d 的小立碗藓浸入灰霉菌孢子悬浮液后,转移到盛有珍珠岩和适量无菌蒸馏水的培养皿中培养。同时将对照组植株浸入 PDB 培养基后转入盛有珍珠岩的培养皿。对照组和实验组的小立碗藓在 16 h 光照和 8 h 黑暗的光照周期及 25 °C 下培养。取接种灰霉菌后 1、2、3、5、7 和 9 d 的小立碗藓用于外观和细胞内菌丝的观察;取接种后 6、12、24、48、72 和 120 h 的小立碗藓用于酶活性及 H₂O₂ 含量测定;取接种 1、2、3 d 的小立碗藓用于病程相关蛋白 1 (PR1) 基因转录表达量的测定。

1.4 小立碗藓拟叶细胞内菌丝的观察

小立碗藓配子体用台盼兰染色 1 min,脱色剂(2.5 g 水合三氯乙醛,蒸馏水 1 mL) 脱色 30 min 后,在解剖镜下把拟叶剥下并制成装片,于光学显微镜下观察感染情况。

1.5 POD、CAT、SOD 酶活性及 H₂O₂ 含量测定

参照王爱国等^[24]的方法,分别取小立碗藓 0.26 g 加入预冷的酶提取液 3 mL,在液氮中充分研磨,离心(4 °C, 12 000 r · min⁻¹, 20 min),上清液存于 -20 °C 低温保存箱中供酶活性、H₂O₂ 量及蛋白浓度测定。

POD 测定试剂盒、CAT 测定试剂盒、总 SOD 测定试剂盒、H₂O₂ 测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)购自碧云天生物技术研究。POD、CAT、SOD、H₂O₂ 及 BCA 蛋白浓度的测定均根据试剂盒说明书进行。

根据浓度 = 吸光度值 × 比色光径,蛋白浓度按如下公式计算:

样本蛋白浓度

$C/(mgprot \cdot mL^{-1}) = C_1 p(OD - OD_0)/(OD_1 - OD_0)$, 其中 OD_0 、 OD_1 、 OD 分别为空白管、标准管、样本管的吸光度值; C_1 为标准蛋白浓度,单位为 mgprot ·

mL⁻¹; p 为稀释倍数。

酶活性按如下公式计算:

$$POD \text{ 活力}/(U \cdot mgprot^{-1}) = \frac{1\,000(OD_2 - OD_1) V_t}{12LV_1 C},$$

$$CAT \text{ 活力}/(U \cdot mgprot^{-1}) = 271(OD_1 - OD_2)/(60V_1 C),$$

$$\text{总 SOD 活力}/(U \cdot mgprot^{-1}) = \frac{2(OD_1 - OD_2) V}{OD_1 V_1 C},$$

其中 OD_1 、 OD_2 分别为对照管、测定管的吸光度值; C 为样本蛋白浓度,单位为 mgprot · mL⁻¹; L 为比色光径,单位为 cm; t 为反应时间,单位为 min; V 、 V_1 分别为反应液总体积和样本量,单位为 mL。

H₂O₂ 含量的计算:

$$H_2O_2 \text{ 含量}/(mmol \cdot gprot^{-1}) = \frac{163(OD_2 - OD_0)}{(OD_1 - OD_0) C},$$

其中 OD_0 、 OD_1 、 OD_2 分别为空白管、标准管、测定管的吸光度值; C 为样本蛋白浓度,单位为 gprot · L⁻¹。

1.6 病程相关蛋白 1 (PR1) 基因转录表达量测定

RAN 提取参照张梅娟等^[25]的方法。取 400 μL 水饱和酚、600 μL SDS 提取液和 60 μL β-巯基乙醇于离心管中备用。将小立碗藓 130 mg 和 100 mg PVP 于液氮中研磨,转至上述离心管,加 200 μL 氯仿,剧烈震荡 3 ~ 5 min 后,加 200 μL 醋酸钾,冰浴 15 min,离心 10 min(4 °C, 12 000 r · min⁻¹);将水相转移至离心管,加 1/2 体积的水饱和酚和 1/2 体积的氯仿,混匀并离心 10 min;取水相加等体积 CI 抽提;水相加 1/10 体积的醋酸钠(pH 值为 5.2)和 2.5 体积的无水乙醇,-20 °C 沉淀 25 min,离心 15 min;用 500 μL 醋酸钠(pH 值为 5.6)洗涤沉淀;沉淀溶于 200 μL DEPC 水后,加入 20 μL 醋酸钠(pH 值为 5.2)和 500 μL 无水乙醇,-20 °C 沉淀 20 min,离心 15 min;所得 RNA 加入 500 μL 75% 的乙醇,离心 10 min(4 °C, 12 000 r · min⁻¹),去上清液,将沉淀物溶于 DEPC 水中,测定 RNA 浓度。用 Prime Script RT reagent Kit With gDNA Eraser 试剂盒(购自宝生物工程(大连)有限公司)反转录。

以小立碗藓 *actin3* 作为内参照基因对 PR1 基因进行实时荧光定量 PCR。根据已知小立碗藓 PR1^[10] 和 *actin3*^[26] 序列,应用 Primer Premier 5.0 软件设计 PR1 和 *actin3* 基因引物。PR1 正向引物序列: 5'-CGCCGATATGCTTTGACT-3', PR1 反向引物序列: 5'-GTACTGATCCGCGATGCT-3'。 *actin3* 正向引物序列: 5'-CGGAATGCTGAAGGTATGAT-3', *actin3* 反向引物序列: 5'-CACGATGTGAAGAAGACGAT-3'。引物由宝生物工程(大连)有限公司合成。扩增产物分别为 142 bp 和 140 bp。扩增采用 SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒,条件为:95 °C 预变性 30 s 后,95 °C、5 s、60 °C、34 s PCR 反应,共 40 个循环。PR1 基因表

达量以参照基因 *actin3* 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^[27]。

目的基因相对表达量按如下公式进行计算:

相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-(E-F)-(A-B)} = 2^{(F-B)-(E-A)}$ 其中 *A* 为对照组待测基因 *Ct* 值; *B* 为对照组参照基因 *Ct* 值; *E* 为接种植株待测基因 *Ct* 值; *F* 为接种植株参照基因 *Ct* 值。 *Ct* 值为 3 个平行试验的平均数, 3 个实验数据间相差不超过 0.5。

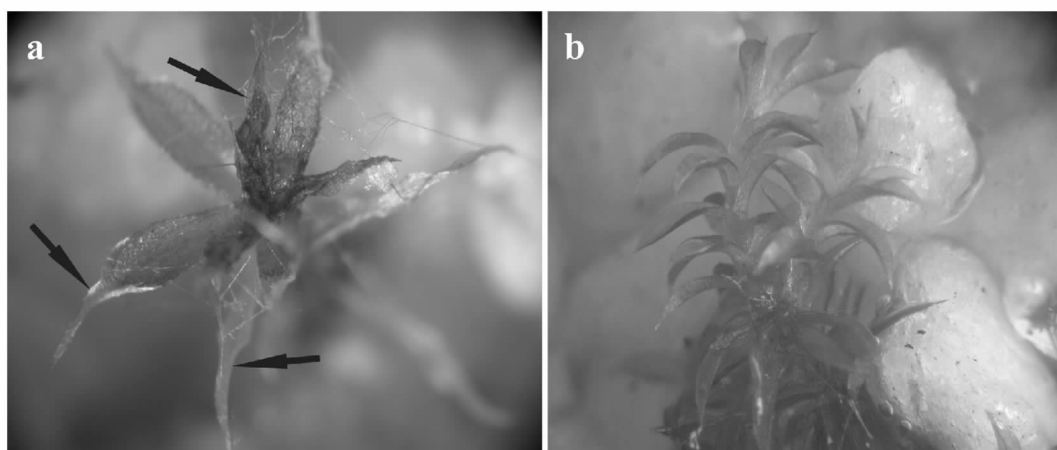
1.7 数据统计及分析

以上实验重复 3 次, 数据均为 3 次实验的平均值。使用 SPSS 软件对数据进行统计分析。

2 结果

2.1 小立碗藓接种灰霉菌后的形态学和组织病理学研究

接种灰霉菌后 1 d, 小立碗藓的配子体上出现褐色斑点。褐色病斑首先出现在拟叶基部或边缘, 然后逐渐扩展到整个植株(见图 1(a))。在接种后 9 d, 小立碗藓配子体出现萎黄并死亡。未接种灰霉菌的对照组小立碗藓配子体上未见明显褐色斑点(见图 1(b))。



(a) 接种灰霉菌 5 d 的小立碗藓拟叶出现褐变(箭头); (b) 未接种灰霉菌的小立碗藓配子体未见褐色病斑。

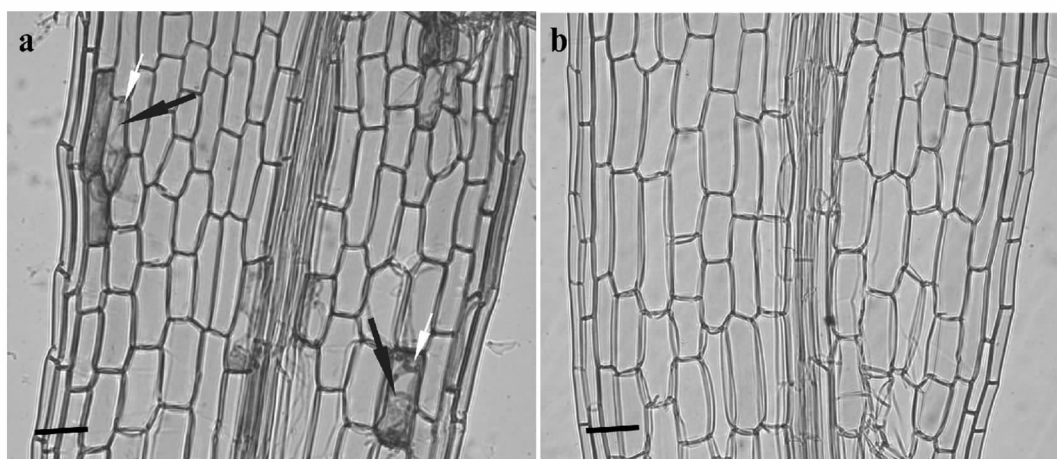
图1 小立碗藓接种灰霉菌后的外观变化

接种后的小立碗藓拟叶置于光学显微镜下观察, 发现接种灰霉菌后 12 h, 在小立碗藓拟叶上灰霉菌孢子开始萌发形成发芽管, 然后在发芽管前端形成附着胞。从接种第 2 天开始在拟叶细胞内发现侵入菌丝(见图 2(a)), 并且感染后期菌丝在细胞内大量扩增。另外, 在有侵入菌丝的细胞上观察到侵入孔(见图 2(a))。说明灰霉菌侵入小立碗藓细胞是

通过侵入孔直接进入细胞内部。

2.2 灰霉菌侵染对小立碗藓配子体内过氧化氢量以及 POD、SOD 和 CAT 活性的影响

接种后 6、12、24、48 h, 小立碗藓的过氧化氢量与对照组植株相比没有显著差异, 但是接种 72 h 后小立碗藓的过氧化氢量增高并显著高于未接种的对照组(见图 3)。



(a) 接种 2 d 的小立碗藓拟叶细胞内的侵入菌丝(黑色箭头)和侵入孔(白色箭头);

(b) 未接种灰霉菌的小立碗藓拟叶细胞中, 未见侵入菌丝。样品均经台盼蓝染色。Bar = 10 μm 。

图2 灰霉菌在小立碗藓中的感染行为

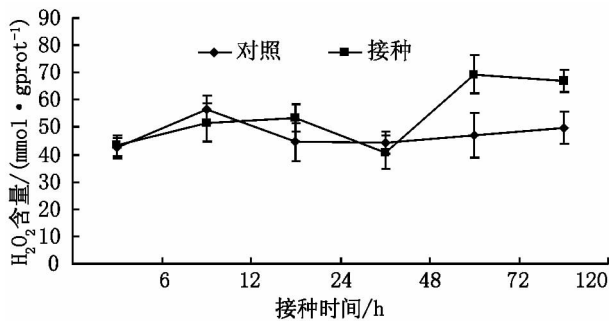


图3 灰霉菌侵染对小立碗藓配子体内过氧化氢量的影响

接种后 12 h, 小立碗藓 POD 活性显著高于未接种的植株, 但接种后 120 h 其活性明显下降(见图 4)。

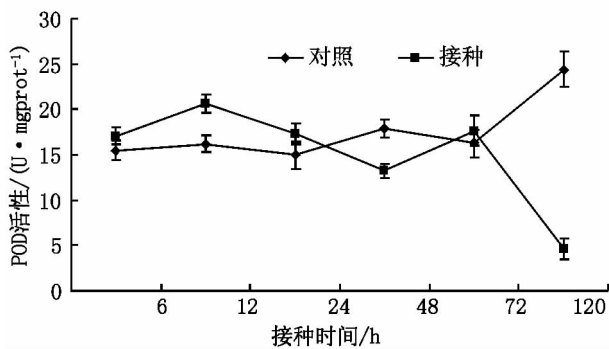


图4 灰霉菌侵染对小立碗藓配子体内过氧化物酶活性的影响

接种后 6、12 和 24 h, 小立碗藓的 CAT 活性与未接种植株无显著差异, 但从接种 48 h 开始其活性呈现下降趋势并显著低于未接种植株, 直至接种后 120 h 其活性接近零(见图 5)。

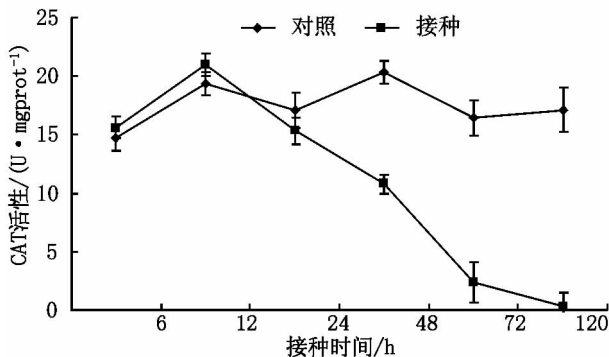


图5 灰霉菌侵染对小立碗藓配子体内 CAT 活性的影响

接种 24 h 前, 小立碗藓 SOD 活性与未接种植株无显著差异, 但从接种 48 h 后呈现下降趋势, 并显著低于未接种植株(见图 6)。

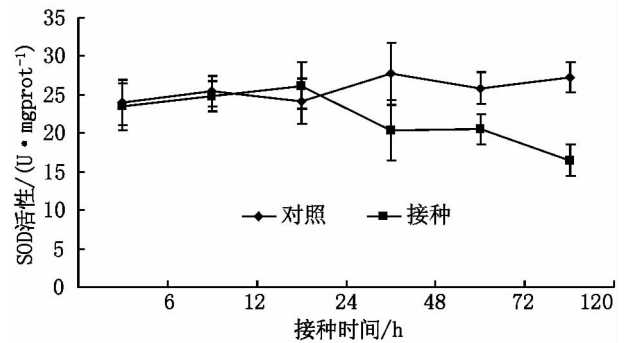


图6 灰霉菌侵染对小立碗藓配子体内 SOD 活性的影响

2.3 灰霉菌感染对小立碗藓体内 PR1 转录表达的影响

以 PR1 基因的正向引物/反向引物为引物, 接种和未接种灰霉菌的小立碗藓配子体的 cDNA 为模版进行实时定量 PCR. 结果表明, 接种后 1、2、3 d, PR1 基因表达量分别明显高于未接种的对照组(见图 7)。

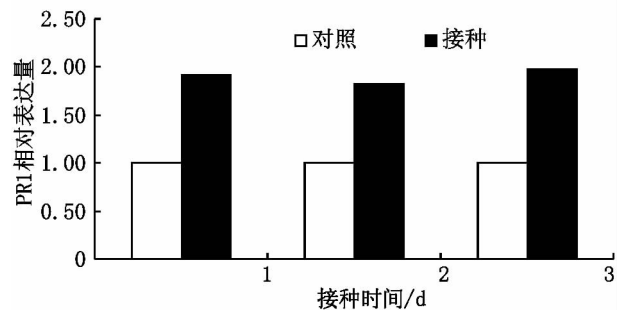


图7 灰霉菌侵染对小立碗藓配子体内 PR1 蛋白转录表达的影响

3 讨论

虽然接种灰霉菌后 1 d 就在小立碗藓拟叶上发现了褐色的斑点, 但是在接种后 2 d 才在拟叶细胞中发现侵入菌丝. 说明早期的褐色病斑不是由灰霉菌入侵寄主细胞所引起, 而可能是由类似维管束植物过敏反应所致. 在维管束植物和病原菌的非亲和关系中, 活性氧的产生往往是第一个被检测到的植物体反应. H_2O_2 作为活性氧中的一类, 低浓度时能够强化细胞壁, 同时也可作为信号分子参与植物的防卫反应^[12-15]. 虽然维管束植物的过敏反应往往伴随活性氧产生, 但是本实验结果显示, 在接种病原菌早期苔藓植物过氧化氢量相对未接种植株并没有显著增高, 说明苔藓植物过敏反应产生机制可能与维管束植物的有所不同。

在接种后期小立碗藓细胞内菌丝大量扩增可能

与过氧化氢量显著增高有关,因为高浓度的活性氧具有较高的氧化还原活性,可引起细胞内大分子氧化损伤,最终抑制植物的多种生理生化反应,从而影响植物体内抗病性表达^[14-15]。

POD及其同工酶在维管束植物防御体系中起重要作用。POD不仅参与了木质素单体的聚合过程,而且是细胞内重要的过氧化氢清除剂,因此POD活性与植物防御反应有着密切的关系^[12-13,16-19]。本实验结果显示,在接种灰霉菌早期(接种后12 h)小立碗藓的POD活性显著高于未接种植株,这可能与苔藓植物早期防御反应有关。在接种后期小立碗藓POD活性下降并显著低于未接种植株,可能与大量菌丝侵入造成细胞内酶活降低有关。

CAT是植物细胞内过氧化氢清除剂,其生理作用是将 H_2O_2 还原为 H_2O 和 O_2 。因此,CAT对维持细胞内过氧化氢的正常生理水平起到重要作用^[19-22]。本实验结果显示,接种早期小立碗藓CAT活性与未接种植株没有显著差异,但是接种48 h后其活性显著下降并低于未接种植株。CAT的活性下降可能直接导致感染后期小立碗藓过氧化氢量升高,进而使得植物细胞受到氧化伤害而丧失抗病性,造成大量菌丝侵入。

SOD是植物体内防御氧化损伤的重要酶,它的生理作用是歧化 O_2^- 产生 H_2O_2 和 O_2 。在不同的植物病害系统和互作关系中其活性变化不同^[19-23]。接种灰霉菌后小立碗藓体内SOD活性在接种48 h后下降,这样的下降可能与菌丝侵入造成的细胞损伤有关。

PRs基因是植物防卫反应基因中的一员,与过敏反应和系统获得性抗性密切相关,它的诱导表达常作为系统获得性抗性建立的标志^[28-30]。本文研究表明,接种灰霉菌诱导了小立碗藓PR1基因的转录表达。因此灰霉菌的侵入可能诱导了小立碗藓系统获得性抗病性。

综上所述,本文研究结果揭示过敏反应、POD活性升高和PR1蛋白的产生可能作为保守的防卫反应机制,在植物登陆早期就已存在。同时病原微生物的侵入导致了苔藓植物细胞内氧化还原态的变化。

4 参考文献

- [1] 刘艳,曹同,陈静文.有前景的模式植物小立碗藓的研究新进展[J].广西植物,2007,27(1):90-94.
- [2] Schaefer D,Zryd J P,Knight C D. Stable transformation of the moss *Physcomitrella patens* [J]. Molecular and Gen-

- al Genetics MGG,1991,226(3):418-424.
- [3] 赵英,赵晓刚,何奕昆,等.植物分子生物学研究极具前景的模式系统:小立碗藓[J].植物学通报,2004,21(2):129-138.
- [4] Quatrano R S,McDaniel S F,Khankelwal A,et al. *Physcomitrella patens*: mosses enter the genomic age [J]. Current Opinion in Plant Biology,2007,10:182-189.
- [5] Schaefer D G,Zryd J P. Efficient gene targeting in the moss *Physcomitrella patens* [J]. Plant J,1997,11(6):1195-120.
- [6] Cove D J,Knight C D,Lamparter T. Mosses as model systems [J]. Trends in Plant Science,1997,2(3):99-105.
- [7] 董文,李卫,郭光沁,等.苔藓植物小立碗藓功能基因组研究的新模式系统[J].遗传,2004,26(4):560-566.
- [8] Rensing S A,Lang D,Zimmer A Z,et al. The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants [J]. Science,2008,319:64-69.
- [9] Davey M L,Tsuneda A,Currah P S. Pathogenesis of bryophyte hosts by the ascomycete *Atradiidymella muscivora* [J]. American Journal of Botany,2009,96(7):1274-1280.
- [10] Oliver J P,Castro A,Gaggero C,et al. *Pythium* infection activates conserved plant defense responses in mosses [J]. Planta,2009,230(3):569-579.
- [11] Ponce de León I,Oliver J,Castro A,et al. *Erwinia carotovora* elicitors and *Botrytis cinerea* activate defense responses in *Physcomitrella patens* [J]. BMC Plant Biology,2007,7(1):52.
- [12] Mehdy M C. Active oxygen species in plant defense against pathogens [J]. Plant Physiol,1994,105:467-472.
- [13] Bolwell G P. Role of active oxygen species and NO in plant defense responses [J]. Current Opinion in Plant Biology,1999,2(4):287-294.
- [14] 苗雨晨,董发才,宋纯鹏.过氧化氢:植物体内的一种信号分子[J].生物学杂志,2001,18(2):4-6.
- [15] 张立军,魏颖,宋广周,等. H_2O_2 信号在植物理化胁迫反应中的作用[J].辽宁农业科学,2008(2):33-37.
- [16] Lurie S,Fallik E,Handros A,et al. The possible involvement of peroxidase in resistance to *Botrytis cinerea* in heat treated tomato fruit [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology,1997,50(3):141-149.
- [17] Hammerschmidt R,Nuckles E M,Kuc J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium* [J]. Physiological Plant Pathology,1982,20(1):77-82.
- [18] 陈宗懋.茶树过氧化物酶和对云纹叶枯病抗性的关系[J].中国茶叶,2006,28(3):47-48.

- [19] 周晓慧, Wolukau J N, 李英, 等. 甜瓜蔓枯病抗性与 SOD、CAT 和 POD 活性变化的关系 [J]. 中国瓜菜, 2007 2: 4-6.
- [20] Ryals J A, Neuenschwander U H, Willits M G. Systemic acquired resistance [J]. The Plant Cell, 1996, 8: 1809-1819.
- [21] 魏颖颖, 王凤龙, 钱玉梅, 等. 烟草和黄瓜花叶病毒互作中过氧化氢酶的动态变化 [J]. 植物病理学报, 2005, 35(4): 359-361.
- [22] Mittler R, Lam E, Shulaev V, et al. Signals controlling the expressing of cytosolic ascorbate peroxidase during pathogen-induced programmed cell death in tobacco [J]. Plant Molecular Biology, 1999, 39(5): 1025-1035.
- [23] 孙世利, 骆耀平. 壳聚糖对茶树抗性酶调节作用的研究 [J]. 浙江大学学报: 自然科学版, 2009, 35(1): 84-88.
- [24] 王爱国, 罗广华, 邵从本, 等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究 [J]. 植物生理学报, 1983, 9(1): 77-84.
- [25] 张梅娟, 沙伟, 都艳霞, 等. 几种提取苔藓植物总 RNA 方法的比较 [J]. 齐齐哈尔大学学报: 自然科学版, 2009, 25(1): 51-53.
- [26] Sun Mingming, Li Linhui, Xie Hua, et al. Differentially expressed genes under cold acclimation in *Physcomitrella patens* [J]. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2007, 40(6): 986-1001.
- [27] 韦靖鸾, 陈深, 曾列先, 等. 水稻白叶枯病抗性基因 *Xa7* 候选基因的实时荧光定量表达分析 [J]. 分子植物育种, 2011, 9(1): 9-16.
- [28] Broekaert W F, Terras F R G, Cammue B P A. Mechanisms of resistance to plant diseases [M]. Dordrecht: Kluwer Academic, 2000: 371-477.
- [29] Devadase S K, Enyedi A, Raina E. The *Arabidopsis* hr11 mutation reveals novel overlapping roles for salicylic acid, jasmonic acid and ethylene signalling in cell death and defence against pathogens [J]. Plant J, 2002, 30: 467-480.
- [30] Metraux J P, Nawrath C, Genoud T. Systemic acquired resistance [J]. Euphytica, 2002, 124: 237-243.

The Changes on Metabolism of Reactive Oxygen Species and Expression of Pathogenesis Related Protein 1 During Interaction of *Physcomitrella patens* with *Botrytis cinerea*

JIANG Shan, YU Zhi-jin, LAN Shi-chao

(School of Life Science, Guizhou Normal University, Guiyang Guizhou 550001, China)

Abstract: To understand histopathology changes during interaction of *Physcomitrella patens* with *Botrytis cinerea*, the infection behavior of *B. cinerea* and the lesion on *P. patens* were observed by microscopes. In addition, H_2O_2 generation was detected, transcription expression of PR1 gene and activity of peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in *P. Patens* after inoculation with *B. cinerea* by biochemical and molecular biological methods. The results showed that: (i) a disease resistance response which is similar to hypersensitive response in vascular plants occurred in *P. patens* during early stages of the pathogen infection; (ii) the enhanced PR1 gene expression of *P. patens* and promoted POD activity of *P. patens* after inoculation with *B. cinerea* suggested that PR1 and POD might involved in defense response of bryophyte against *B. cinerea*. (iii) the increase of H_2O_2 generation and decrease of CAT and SOD activity caused by *B. cinerea* infection suggested that *P. patens* occurred changes of redox status after inoculation with *B. cinerea*.

Key words: *Physcomitrella patens*; *Botrytis cinerea*; reactive oxygen species

(责任编辑: 刘显亮)