

水杨酸诱导普通菜豆镰孢菌枯萎病抗病性的研究

薛仁凤^{1,2}, 武 晶², 朱振东², 王兰芬², 王晓鸣², 葛维德¹, 王述民²

(¹辽宁省农业科学院作物研究所, 沈阳 110161; ²中国农业科学院作物科学研究所/农作物

基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081)

摘要: 普通菜豆是人类主要食用豆类之一, 其营养价值高、栽培面积大。镰孢菌枯萎病是普通菜豆典型的土传病害, 给普通菜豆生产带来严重损失。水杨酸(SA)被认为是诱导植物抗病反应的重要信号分子之一, 参与植物的过敏反应(HR)和系统获得性抗性反应(SAR)。本研究通过不同植物激素处理普通菜豆 BRB-130, 结果表明, SA 处理普通菜豆叶片使植株根中 SA 的含量升高, 并显著提高植株对枯萎病原菌 FOP-DM01 菌株的抗性。SA 诱导普通菜豆根组织中苯丙氨酸解氨酶、过氧化物酶活性及过氧化氢的含量显著升高, 从而诱导普通菜豆产生 HR 和 SAR。因此, SA 作为普通菜豆抗病信号途径中重要的化学激活因子, 能够显著提高普通菜豆对枯萎病原菌的抗病性, 为发展环境友好型化学农药提供新的思路。

关键词: 普通菜豆; 镰孢菌枯萎病; 水杨酸; 系统获得抗性

Salicylic Acid Increases Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.)

XUE Ren-feng^{1,2}, WU Jing², ZHU Zhen-dong², WANG Lan-fen²,

WANG Xiao-ming², GE Wei-de¹, WANG Shu-min²

(¹ Crop Research Institute, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110161;

² Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences / National Key Facility for

Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081)

Abstract: Common bean is one of major food legumes with high nutrition and large production area. *Fusarium* wilt has been a seriously soil-born disease and caused a great loss to the production of common beans. Salicylic acid (SA) is considered to be one of the important signaling molecules involved in plant defence reactions and has been proved to be involved in plant hypersensitive reaction (HR) and systemic acquired resistance (SAR). In this study, we treated the leaves of common bean cultivars BRB-130 by different plant hormones. The results indicated that the levels of endogenous SA in bean roots were increased when the leaves were treated by SA, the resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* isolate FOP-DM01 was significantly improved, the enhancements of PAL and POX activity and H₂O₂ level were all significantly up-regulated in roots. SA-treatment induced HR and SAR in common beans. Therefore, SA had the ability to improve resistance to *Fusarium* wilt of common beans as an important chemical activator in the resistant signaling pathways. This study provided a new idea for the development of environment-friendly fungicides.

Key words: common bean; fusarium wilt; salicylic acid; system acquired resistance

收稿日期: 2014-03-17 修回日期: 2014-04-10 网络出版日期: 2014-08-07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20140807.1022.024.html>

基金项目: 现代农业产业技术体系专项 (CARS-09-Z8, CARS-09-G12); 科技支撑计划 (2013BAD01B05-2-4)

第一作者从事食用豆抗病育种。E-mail: xuerf82@163.com

通信作者: 王述民, 主要从事普通菜豆优质资源的开发与利用。E-mail: wangshumin@caas.cn

葛维德, 主要从事食用豆优质品种的选育。E-mail: snowweide@163.com

镰孢菌枯萎病 (*Fusarium wilt*) 是普通菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 维管束类病害的一种,是由尖镰孢菌菜豆专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*) 引起的典型土传真菌病害,在适宜的发病年份和地区,给普通菜豆生产带来极大危害。该病害在我国北方俗称死秧,露地和保护地栽培中均可发生,发病后死苗率在 30% ~ 50% 以上,严重时高达 90%,给普通菜豆的生产带来严重威胁^[1]。

植物激素是调节植物应答病原菌侵染相关防御反应的重要信号分子,深入了解植株激素在植物信号传导过程中的作用,对了解植物抗病机理,提高植物的抗病性有重要的意义。水杨酸 (SA, salicylic acid) 是一种小分子酚类代谢物,是许多植物系统抗病反应的重要信号分子^[2],涉及并参与植物的过敏反应 (HR, hypersensitive reaction) 和系统获得性抗性反应 (SAR, systemic acquired resistance),在植物的抗病信号转导中起着关键作用^[3]。病原菌的侵染不仅导致植物被侵染部位 SA 的积累,同时也在未侵染的部位也积累了大量的 SA,从而最终诱导 SAR 的产生^[4-5],因此 SA 表现出对植物抗病性的调节作用在很久前就已经吸引了科学家的关注。苯丙氨酸解氨酶 (PAL, phenylalanine ammonia lyase) 是苯丙素途径的关键调控因子,在植物免疫应答反应中调节 SA 合成时发挥重要的作用^[2]。PAL 基因的表达在植物与病原菌互作过程中被快速诱导,而抑制 PAL 的活性直接导致了拟南芥 (*Arabidopsis*) 对 *Hyaloperonospora arabidopsidis* 抗病反应体系的瓦解^[6]。此外,活性氧的爆发 (Oxidative burst) 是植物与病原菌互作过程中的典型现象,主要表现为 H₂O₂ 等活性氧分子含量的突增。大量研究表明,活性氧的产生是植物 HR 反应诱导的细胞程序化死亡所必需的过程。尽管植物活性氧的产生机制尚不十分清楚,但植物中过氧化物酶 (POX, peroxidases) 被认为是活性氧的主要产生来源,而且已经被证明是调节胞外 H₂O₂ 水平的重要分子^[7-8]。

本研究通过外源植物激素处理的方法,分析普通菜豆应答不同激素处理而引起的镰孢菌枯萎病抗病性的变化,并对 SA 处理后普通菜豆根组织中 PAL、POX 活性和 SA、H₂O₂ 含量等植物抗病相关生理指标进行分析,通过体外试验验证不同植物激素对枯萎病原菌生长的直接抑制活性,

以期普通菜豆镰孢菌枯萎病抗病机理的研究奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

普通菜豆感病品种 BRB-130 由中国农业科学院作物科学研究所食用豆种质资源课题组提供,将普通菜豆种子播种于灭菌的营养土 (粘土:蛭石 = 1:3, V/V) 中,23 ~ 28℃ 温室条件下,12 h 光照,培养 7 ~ 10 d 的幼苗用于接种;枯萎病原菌尖镰孢菜豆专化型 FOP-DM01 菌株由中国农业科学院作物科学研究所作物资源抗病虫鉴定与检疫课题组保存,病原菌首先接种于 PDB (Potato dextrose broth) 培养基中,27℃,150 r/min 培养 3 d,培养基经过滤制备成孢子悬浮液,4℃ 保存备用。

1.2 植物激素处理

普通菜豆幼苗采用灌根法或喷雾法进行不同植物激素的处理,以 0.02% Tween 20 作为溶剂。水杨酸 (SA)、茉莉酸甲酯 (MeJA) 和乙烯利 (ETH) 浓度为 2 mmol/L,采用 0.02% Tween 20 作为对照。灌根法每日浇灌 50 mL,连续处理 7 d;喷雾法每日喷 1 次,连续处理 7 d。

1.3 病原菌的接种与检测样本的采集

采用薛仁凤等^[9]和 S. Mandal 等^[10]的方法接种病原菌,前者采用灌根法用于鉴定不同植物激素对普通菜豆抗病表型的影响;后者采用喷雾法用于研究外源激素对普通菜豆抗病生理生化指标的影响,将培养病原菌的 PDB 培养基用培养液稀释至浓度为 5.0×10^5 cfu/mL。营养液培养的普通菜豆植株分别用 0 mmol/L 和 2 mmol/L SA 连续处理叶片 7 d,在处理 48 h 后转移至病原菌孢子浓度为 5.0×10^5 cfu/mL 的营养液中继续培养,设对照和处理共 4 组:(1) 不接菌不用 SA 处理;(2) 接菌不用 SA 处理;(3) 不接菌仅用 SA 处理;(4) 接菌并用 SA 处理。植株放置于温室中培养,12 h 光照,温度 25 ± 2 ℃。分别在 SA 处理后 0 h、48 h、96 h 和 144 h 采集普通菜豆根组织样本作为试验材料。

1.4 普通菜豆发病情况的调查

参考王述民等^[11]普通菜豆枯萎病 1 ~ 9 级的病情分级标准,1 级:植株生长正常;3 级:植株上约 10% 叶片萎蔫或黄化;5 级:植株上约 25% 叶片萎蔫或黄化,植株轻度矮化;7 级:植株上 50% 叶片萎蔫或黄化,植株严重矮化;9 级:植株枯萎死亡。

1.5 PAL 和 POX 活性的测定

PAL 活性的测定参照 G. Z. Qin 等^[12]的方法,称取 100 ~ 150 mg 普通菜豆根组织,加入液氮研磨成粉末。用 50 mmol/L 硼酸钠缓冲液 (pH = 8.8, 含 5 mmol/L 巯基乙醇和 1% PVP) 溶解匀浆,使终浓度达到 0.1 mg/ μ L (FW/V),将混合物在 4 °C 下、12000 r/min 离心 30 min,取上清液测定酶活性。在 0.1 mL 粗酶液中加入 4 mL 硼酸缓冲液 (50 mmol/L, pH = 8.8),再加入 1 mL L-苯丙氨酸 (20 mmol/L),在 37 °C 水浴 60 min。反应用 0.2 mL 的 3 mol/L HCl 中止。以不加酶液为对照,在 290 nm 下比色。用肉桂酸作为标准品绘制标准曲线,酶活力变化以 nmol/min · mg FW 为单位表示,重复 3 次。

POX 活性的测定参照 R. Hammerschmidt 等^[13]方法,取普通菜豆根组织 100 ~ 150 mg,分别加入预冷 10 mmol/L 磷酸缓冲液 (137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, 9.8 mmol/L Na₂HPO₄, 1.7 mmol/L KH₂PO₄, pH = 7.4),充分匀浆,使各样品浓度均为 0.1 mg/ μ L (FW/V),4 °C 条件下静置 30 min,13800 r/min 离心 20 min。反应体系包括 2.9 mL 含有 1.25% (V/V) 愈创木酚和 0.1 mol/L H₂O₂ 的磷酸缓冲液,加入 100 μ L 酶粗提液,混合均匀后于 25 °C 条件下反应 5 min,470 nm 波长下读取吸光值 (OD 值)。1 个酶活力单位 (U) 定义为 1 min 内 1 μ mol 底物的减少量或产物的生成量。酶活力变化以 μ mol/min · mg FW 为单位表示,重复 3 次。

1.6 H₂O₂ 含量的测定

植物组织中 H₂O₂ 含量的测定参照 S. Sagisaka^[14]方法。100 ~ 150 mg 根或茎分别加入预冷的 0.01 mol/L 磷酸缓冲液 (pH = 7.4) 及 5% 三氯乙酸 (TCA) 的混合溶液 (V/V = 1/0.7) 匀浆,使终浓度为 0.1 mg/ μ L,4 °C 条件下,10625 r/min 离心 10 min。离心后取上清液 1.6 mL 加入 0.4 mL 50% TCA、0.4 mL 10 mol/L 硫酸亚铁铵和 0.2 mL 2.5 mol/L 硫氰酸钾,混合溶液离心后在 480 nm 波长紫外光下测定吸光值。用植物 H₂O₂ 标准品绘制标准曲线,计算待测样品中 H₂O₂ 的含量。

1.7 普通菜豆根中 SA 的定量分析

参照 Plant Salicylic Acid (SA) ELISA Kit (Rapid-bio, USA) 说明书进行。

1.8 化学信号分子抑菌活性的测定

参考 S. Mandal 等^[10]方法,在含有 PDA 的直径 9 cm 培养皿中分别涂布浓度为 1.0 mmol/L、

2.0 mmol/L、3.0 mmol/L 的 SA、MeJA 和 ETH 溶液各 100 μ L,以灭菌水和 0.02% Tween 20 作为对照,每个培养皿接种 1 个直径为 5 mm 的病原菌菌饼,7 d 后测量并记录菌落直径。

2 结果与分析

2.1 不同植物激素对普通菜豆抗病性的影响

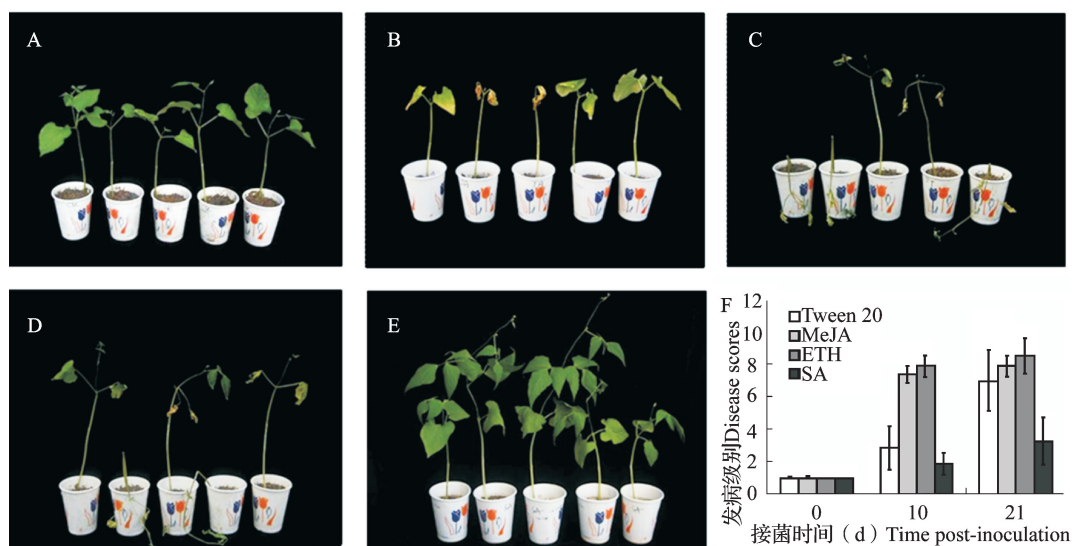
SA、MeJA 和 ETH 处理普通菜豆幼苗,并观察其对枯萎病抗性的影响。结果表明,MeJA、ETH 处理降低普通菜豆枯萎病的抗性,接种病原菌 10 d 后,对照植株发病级数为 2.8 (图 1A、F),SA 处理的普通菜豆植株发病级数为 1.8 (图 1F),SA 处理和对照植株的发病症状均不明显;MeJA 和 ETH 处理的普通菜豆植株叶片明显褪绿变黄,发病级数分别达到 7.3 和 7.8 (图 1B、C、F);MeJA 和 ETH 处理的未接病原菌植株的生长未受影响;外源 SA 处理能够显著提高普通菜豆枯萎病抗性,接种病原菌 21 d 后,未经 SA 处理的植株叶片萎蔫变黄,根和茎的维管束变褐,发病级别达到 7.0 (图 1D、F),而用 SA 处理的普通菜豆植株叶片枯萎和维管束变褐程度较轻,发病级别为 3.3 (图 1E、F),经过 SA 处理的未接病原菌植株的生长情况同样未受影响。

2.2 PAL 和 POX 酶活的测定

PAL 和 POX 与普通菜豆应答枯萎病原菌 FOP-DM01 菌株侵染密切相关。结果表明,在接种枯萎病原菌后 48 h、96 h、144 h,2 mmol/L SA 处理的普通菜豆根中 PAL 和 POX 活性均显著高于未经 SA 处理和未接种病原菌的对照。PAL 和 POX 活性同在 144 h 达到最高值,分别为 0.066 nmol/min · mg FW 和 18.1 μ mol/min · mg FW (图 2A、B),差异均为极显著 ($P < 0.01$)。本研究表明,SA 显著诱导普通菜豆根中 PAL 和 POX 活性的升高,从而增强了普通菜豆对病原菌的抗病性。

2.3 H₂O₂ 含量的测定

普通菜豆根中 H₂O₂ 含量受 SA 诱导发生不同程度的变化 (图 2C)。在 SA 处理后 48 h 和 144 h,接种病原菌的普通菜豆根中 H₂O₂ 含量显著高于未经 SA 处理和未接种病原菌的对照,其中 144 h 时达到最高,为 0.113 ng/mg FW,差异显著 ($P < 0.05$)。研究表明,在普通菜豆激发的防御反应中 H₂O₂ 发挥着重要的作用,通过提高根组织内 H₂O₂ 的水平显著增强了寄主对枯萎病原菌的抗性。



A: Tween 20 处理接菌后 10 d; B: MeJA 处理接菌后 10 d; C: ETH 处理接菌后 10 d;

D: Tween 20 处理接菌后 21 d; E: SA 处理接菌后 21 d; F: 普通菜豆病情级数

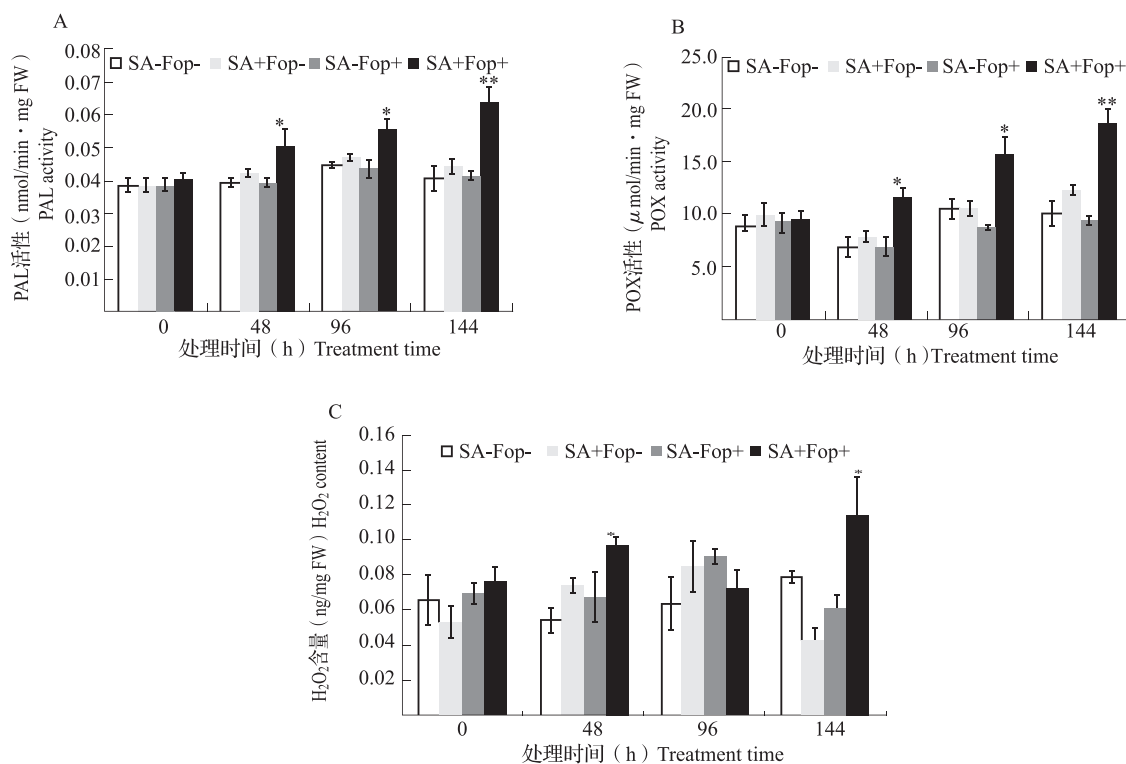
A: Plants treated by Tween 20 at 10 d post-inoculation, B: Plants treated by MeJA at 10 d post-inoculation,

C: Plants treated by ETH at 10 post-inoculation, D: Plants treated by Tween 20 at 21 d post-inoculation,

E: Plants treated by SA at 21 d post-inoculation, F: Disease scores in common bean

图 1 灌根法不同植物激素处理后普通菜豆抗病表型的鉴定

Fig. 1 Phenotypic identification of common bean plant by adding different chemicals into the mediums



*、** 代表显著 ($P < 0.05$) 和极显著差异 ($P < 0.01$), 下同

* and ** represent a significant difference in the level of $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively. The same as below

图 2 SA 处理叶片后普通菜豆根 PAL 和 POX 活性及 H₂O₂ 含量的测定

Fig. 2 PAL and POX activity and H₂O₂ quantification in roots of common bean after the plants were treated with SA through foliar spray

2.4 普通菜豆根中游离 SA 的定量分析

参照 Plant Salicylic Acid(SA)ELISA Kit(Rapid-bio, USA)说明,检测鲜重普通菜豆根中 SA 含量(图 3)。结果表明,SA 处理后 48 h 普通菜豆根中 SA 含量没有明显差异。接种病原菌后,在 96 h 和 144 h,经 SA 处理并接种病原菌的普通菜豆根中 SA 含量显著高于未经 SA 处理和未接种病原菌的对照,平均值分别达到 0.76 ng/g FW 和 0.86 ng/g FW ($P < 0.05$),而经过 SA 处理的未接种病原菌植株根中 SA 含量虽高于其他 2 组未经 SA 处理的植株,但差异并不显著,说明在接种病原菌后,外源 SA 的诱导显著提高了普通菜豆根中的 SA 含量,从而激活了寄主内 SA 介导的相关防御反应,增强了普通菜豆的免疫力。

2.5 植物激素抑菌活性的测定

FOP-DM01 菌株在 PDA 培养基上的生长不受 Tween 20、SA、MeJA 和 ETH 的影响(图 4A),并且灭菌水和 Tween 20 以及浓度分别为 1.0 mmol/L、

2.0 mmol/L 和 3.0 mmol/L 的植物激素对病原菌菌落直径的变化也没有明显的影响(图 4B)。研究结果表明,SA、MeJA 和 ETH 对 FOP-DM01 菌株的生长没有直接抑制作用。

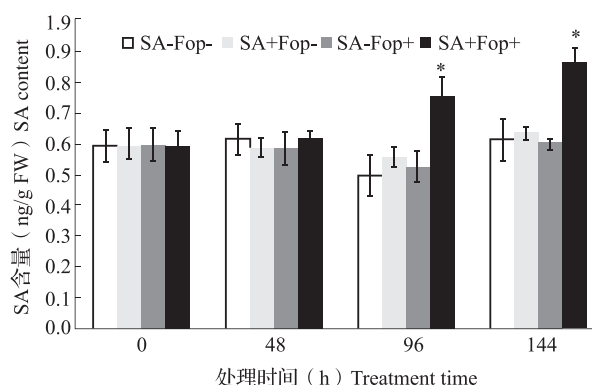
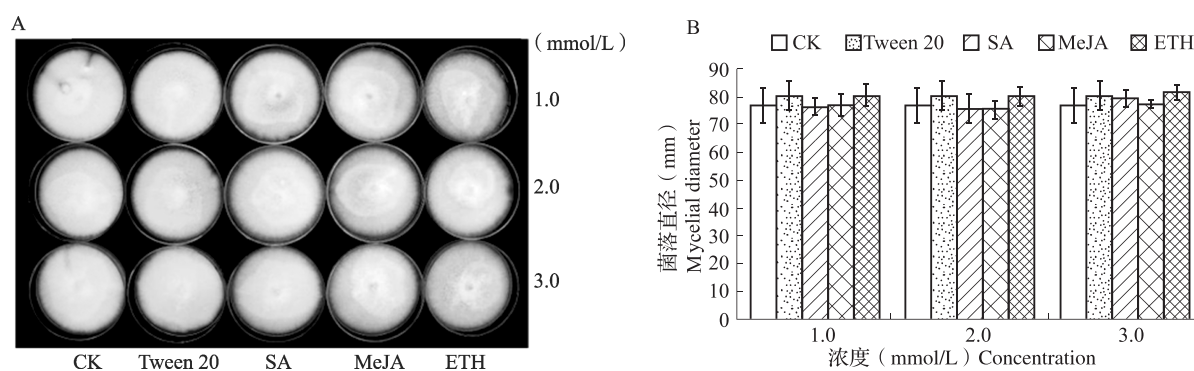


图 3 SA 处理叶片对普通菜豆根中 SA 含量的积累

Fig. 3 Accumulation of SA in roots of common bean plants treated with SA through foliar spray



A: FOP-DM01 菌株的形态; B: FOP-DM01 菌株的菌落直径

A: Phenotypes of FOP-DM01 isolate, B: Diameters of FOP-DM01 isolate

图 4 不同植物激素对 FOP-DM01 菌株生长的影响

Fig. 4 Effect of differet chemicals on mycelial growth of FOP-DM01 isolate

3 讨论与结论

SA 作为典型的植物信号分子在植物系统抗性体系中具有非常重要的作用^[15]。相关研究表明,200 $\mu\text{mol/L}$ SA 处理番茄显著地提升了寄主叶中 SA 的含量,从而激发了寄主对 *Alternaria solani* 的系统抗性^[16];外源 SA 预处理拟南芥植株能够有效地提高寄主对 *F. oxysporum* 的抗病性^[17];外源 SA 激发了鹰嘴豆对尖镰孢枯萎病原菌的系统抗性,显著降低了寄主的发病级别^[18];此外,SA 同样被证明在番茄中对 *Botrytis cinerea* 的基础抗性也具有非常重要的作用^[19]。本研究直接在普通菜豆叶片表面喷施 2 mmol/L SA,从而显著提高了植株根中 SA 的含

量,增强了植株对枯萎病原菌 FOP-DM01 菌株的抗病性。体外试验结果表明,SA 对 *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* 并没有直接的抑菌活性,这说明 SA 是通过激活植株 SA 介导的相关信号传导途径,从而诱导抗病相关基因的表达。C. Y. He 等^[20]观察到 SA 对 *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* 没有直接的抗菌活性,植物抗病性的提高是寄主本身防御反应被 SA 激活的结果,该结论进一步证明了 SA 是通过激活植物 SAR 反应达到抵抗病原菌侵染的目的。

PAL 参与了植物免疫系统中许多重要化合物的合成,标志着植物抗病反应发生^[21]。当植物受病原物侵染或受激发子诱导时,组织中 PAL 和 POX 活性会迅速升高,如:番茄根组织在受 *F. oxysporum* f. sp.

lycopersici 激发子诱导条件下, PAL 和 POX 的活性显著升高^[22]。SA 诱导芦笋 PAL 和 POX 活性的升高使寄主的细胞壁增厚从而抑制了 *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* 的侵入^[20]。本研究通过 SA 处理普通菜豆叶片, 诱导根组织中 PAL 和 POX 活性显著升高, 从而增强了普通菜豆对 FOP-DM01 菌株的防御能力。此外, 植物中 H_2O_2 、 O_2^- 、 $OH\cdot$ 和 HO_2 等活性氧(ROS) 的爆发已经被证明是发生在植物体受病原物侵染的早期抗性反应过程中^[23]。N. Doke^[24] 最早观察到马铃薯与 *Phytophthora infestans* 互作的过程中有 ROS 的产生。本研究通过外源 SA 的诱导使普通菜豆根组织中 H_2O_2 的含量显著升高, 从而激活了植物早期应答病原菌侵染的 HR, 进而诱导整株普通菜豆 SAR 的发生。因此, 伴随剧烈氧化反应而释放的大量 ROS 是植物细胞应对外界病原物侵染而激发的快速反应的标志。

本研究利用植物激素 SA、MeJA、ETH 通过体外处理的方法研究普通菜豆镰孢菌枯萎病抗病相关信号传导途径。本试验中普通菜豆对枯萎病菌的抗性被 SA 显著诱导增强, 而 MeJA 与 ETH 处理则降低了寄主的抗性, 并且 SA、MeJA 和 ETH 在体外对病原菌的生长没有明显的抑制作用。此外, SA 处理普通菜豆叶片使植株根中 SA 的含量升高, 诱导普通菜豆根组织中 PAL 和 POX 活性以及 H_2O_2 的含量也显著升高, 从而激发了寄主早期应答病原菌侵染的 HR, 诱导整株普通菜豆产生 SAR, 从而增强了普通菜豆对 FOP-DM01 菌株的抗性。因此, SA 是普通菜豆镰孢菌枯萎病抗病反应中潜在的重要信号分子, 能够显著提高普通菜豆对镰孢菌枯萎病的抗病性, 为普通菜豆枯萎病抗病机理的研究奠定基础。

参考文献

- [1] 杜永刚, 李昶. 菜豆枯萎病的发生与综合防治[J]. 吉林蔬菜, 2008(4): 89
- [2] Vlot A C, Dempsey D A, Klessig D F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease [J]. Ann Rev Phytopathol, 2009, 47: 177-206
- [3] Durrant W E, Dong X. Systemic acquired resistance [J]. Annu Rev Phytopathol, 2004, 42: 185-209
- [4] Malamy J, Carr J P, Klessig D F, et al. Salicylic acid: A likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection [J]. Science, 1990, 250: 1002-1004
- [5] Métraux J P, Signer H, Ryals J A, et al. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber [J]. Science, 1990, 250: 1004-1006
- [6] Mauch-Mani B, Slusarenko A J. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica* [J]. Plant Cell, 1996, 8: 203-212
- [7] Bindschedler L V, Dewdney J, Blee K A, et al. Peroxidase-dependent apoplastic oxidative burst in *Arabidopsis* required for pathogen resistance [J]. Plant J, 2006, 47: 851-863
- [8] Bolwell G P, Bindschedler L V, Blee K A, et al. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three component system [J]. J Exp Bot, 2002, 53: 1367-1376
- [9] 薛仁凤, 朱振东, 黄燕, 等. 应用荧光定量 PCR 技术分析普通菜豆品种中央镰孢菜豆专化型定殖量 [J]. 作物学报, 2012, 38(5): 791-799
- [10] Mandal S, Mallick N, Mitra A. Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato [J]. Plant Physiol Bioch, 2009, 47: 642-649
- [11] 王述民, 张亚芝, 魏淑红. 普通菜豆种质资源描述规范和数据标准 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 64
- [12] Qin G Z, Tian S P. Enhancement of biocontrol activity of *Cryptococcus laurentii* by silicon and the possible mechanisms involved [J]. Phytopathology, 2005, 95: 69-75
- [13] Hammerschmidt R, Nuckles E M, Kué F. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium* [J]. Physiol Plant Pathol, 1982, 20: 73-82
- [14] Sagisaka S. The occurrence of peroxide in perennial plant *Populus gebrica* [J]. Plant Physiol, 1976, 57: 308-309
- [15] Dempsey D A, Shah J, Klessig D F. Salicylic acid and disease resistance in plants [J]. Crit Rev Plant Sci, 1999, 18: 547-575
- [16] Spletzer M E, Enyedi A J. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato [J]. Phytopathology, 1999, 89: 722-727
- [17] Edgar C I, McGrath K C, Dombrecht B, et al. Salicylic acid mediates resistance to the vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum* in the model host *Arabidopsis thaliana* [J]. Australas Plant Path, 2006, 35: 581-591
- [18] Saikia S, Singh T, Kumar R, et al. Role of salicylic acid in systemic resistance induced by *Pseudomonas fluorescens* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in chickpea [J]. Res Microbiol, 2003, 158: 203-213
- [19] Achuo E A, Audenaert K, Meziane H, et al. The salicylic acid dependent defense pathway is effective against different pathogens in tomato and tobacco [J]. Plant Pathol, 2004, 53: 65-72
- [20] He C Y, Wolyn D J. Potential role for salicylic acid in induced resistance of asparagus roots to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Asparagi* [J]. Plant Pathol, 2005, 54: 227-232
- [21] Klarzynski O, Plesse B, Joubert J M, et al. Linear b-1, 3-glucans are elicitors of defense responses in tobacco [J]. Plant Physiol, 2000, 124: 1027-1037
- [22] Mandal S, Mitra A. Reinforcement of cell wall in roots of *Lycopersicon esculentum* through induction of phenolic compounds and lignin by elicitors [J]. Physiol Mol Plant Pathol, 2007, 71: 201-209
- [23] Mehdy M C. Active oxygen species in plant defense against pathogens [J]. Plant Physiol, 1994, 105: 467-472
- [24] Doke N. Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal cell wall components [J]. Physiol Plant Pathol, 1983, 23: 359-367