

郑雪芳, 王梓然, 朱育菁, 等. 不同致病力青枯雷尔氏菌诱导番茄防御相关信号途径基因的表达分析 [J]. 福建农业学报, 2022, 37 (1): 79-83.
ZHENG X F, WANG Z R, ZHU Y J, et al. Expressions of Defense Signal Pathway Genes in Tomato Plant Induced by *Ralstonia solanacearum* of Different Virulence [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 37 (1): 79-83.

不同致病力青枯雷尔氏菌诱导番茄防御相关信号途径基因的表达分析

郑雪芳¹, 王梓然², 朱育菁¹, 陈燕萍¹, 王阶平¹, 刘 波^{1*}

(1. 福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福建 福州 350003; 2. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361102)

摘 要:【目的】探究不同致病力青枯雷尔氏菌诱导番茄防御相关基因的表达水平, 为探明无致病力青枯雷尔氏菌的生防机制奠定基础。【方法】以无菌水为对照 (CK), 分别接种青枯雷尔氏菌强致病力菌株 FJAT91 和无致病力菌株 FJAT1458, 接种后不同时间 (0, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 72 h) 取样, 利用荧光定量 PCR 技术, 检测接种不同致病力青枯雷尔氏菌后番茄植株中水杨酸 (SA) 信号转导途径的 *gluA* 和 *PR-1a* 基因、茉莉酸 (JA) 信号转导途径的 *loxA* 和 *pin2* 基因及乙烯 (ET) 信号转导途径的 *Osm* 和 *PR-1a* 基因相对表达量的变化。【结果】菌株 FJAT1458 和 FJAT91 均能诱导番茄 *gluA*、*PR-1a*、*loxA*、*pin2*、*Osm* 和 *PR-1a* 基因的表达, 接种后期 (36 h 之后), 这些基因 (*PR-1a* 和 *Osm* 除外) 在 FJAT1458 处理组的表达量均比 FJAT91 处理组高; FJAT1458 和 FJAT91 诱导 *gluA* 和 *PR-1a* 基因表达量呈“先上升后下降”的趋势, 接种 12 h 表达量最大; FJAT1458 诱导番茄植株 *loxA* 和 *pin2* 基因表达量均显著高于 CK, FJAT91 诱导番茄植株 *loxA* 基因和 *pin2* 基因表达量在接种初期显著高于 CK 和 FJAT1458 处理组, 后期迅速降低; FJAT-91 诱导番茄植株 *Osm* 基因显著高于 FJAT1458 和对照处理 (72 h 除外), 该菌株诱导番茄植株 *PR-1b* 基因表达量变化较为强烈, 接种 3 h, 其诱导的 *PR-1b* 基因表达量为 CK 的 251.33 倍。【结论】不同致病力青枯雷尔氏菌诱导番茄防御相关基因表达量不同, 可以进一步通过转录组法挖掘更多差异表达的基因。

关键词: 青枯雷尔氏菌; 番茄青枯病; 水杨酸途径; 茉莉酸途径; 乙烯途径; 防御基因

中图分类号: S 436.8

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2022) 01-0079-05

Expressions of Defense Signal Pathway Genes in Tomato Plant Induced by *Ralstonia solanacearum* of Different Virulence

ZHENG Xuefang¹, WANG Zirang², ZHU Yujing¹, CHEN Yanping¹, WANG Jieping¹, LIU Bo^{1*}

(1. *Agrobiologic Resource Research Institute, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China;*
2. *Department of Biochemistry and Biotechnology, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361102, China*)

Abstract: 【Objective】Expressions of the defense-related genes in tomato plant induced by *Ralstonia solanacearum* of varied pathogenicity were studied to understand the biocontrol mechanisms of the avirulent FJAT1458. 【Method】Real-time PCR was used to determine the expressions of *gluA* and *PR-1a* in the salicylic acid signal pathway, *loxA* and *pin2* in the jasmonic acid signal pathway, and *Osm* and *PR-1a* in the ethylene signal pathway in tomato plants inoculated with the virulent strain FJAT91, the avirulent strain FJAT1458, or sterile water (CK) for 0, 3, 6, 12, 24, 36, 48, and 72 h. 【Result】Both avirulent and virulent strains could induce expressions of *gluA*, *PR-1a*, *loxA*, *pin2*, *Osm*, and *PR-1a*. However, except for *PR-1a* and *Osm*, the gene expressions induced by FJAT1458 were significantly higher than those by FJAT91. Both FJAT1458 and FJAT91 inoculations raised the expressions of *gluA* and *PR-1a* to a peak followed by a decline in 12 h. The expressions of *loxA* and *pin2* induced by FJAT1458 induction were significantly higher than CK, but FJAT91 did only initially. On the other hand, FJAT91 produced a significantly higher *Osm* expression than either FJAT1458 or CK, excluding the 72 h inoculation. And in

收稿日期: 2021-08-12 初稿; 2021-12-21 修改稿

作者简介: 郑雪芳 (1977-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事植物病害生物防治的研究 (E-mail: zhengxuefangfz@163.com)

* 通信作者: 刘波 (1957-), 男, 博士, 研究员, 主要从事生物技术和生物农药的研究 (E-mail: fzliubo@163.com)

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2019J01117); 福建省农业科学院对外合作项目 (DWHZ2021-07); 福建省农业高质量发展超越“5511”协同创新工程项目 (XTCXGC2021019)

the 3 h inoculation it rendered a *PR-1b* expression significantly stronger than FJAT1458 at 260.46 times higher than CK.

【Conclusion】 Both avirulent and virulent *R. solanacearum* could induce expressions of the defense-related genes in tomato plants in varied degrees. The transcriptomic method applied in this study could conceivably be used to unveil additional differently expressed genes associated with the pathways in tomato plants in the future.

Key words: *Ralstonia solanacearum*; tomato bacterial wilt; salicylic acid pathway; jasmonic acid pathway; ethylene pathway; defense genes

0 引言

【研究意义】由青枯雷尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*, 简称青枯菌) 引起的番茄青枯病是一种毁灭性土传病害^[1], 在全国各番茄种植区域普遍发生, 尚无有效的药剂防治, 主要依靠抗病品种、嫁接苗、栽培措施等。青枯菌在自然界中存在致病力分化现象^[2-4], 其无致病力突变株可以侵染植株, 不引起寄主植物产生病害, 具有重要的生防应用潜力^[5]。

【前人研究进展】青枯菌无致病力菌株及其作用机制有许多报道^[6-9]。Frey 等^[6]用 *hrp*-突变体防治番茄青枯病, 病情指数比对照降低 80%, 并推迟 25 d 发病。杨宇红等^[7]研究表明, 无致病力青枯菌 *hrp*-突变体对致病性青枯菌虽无直接抑制作用, 但其可在寄主体内定殖, 阻止致病性青枯菌的增殖。刘波等指出, 病原菌弱毒株侵入植株体内, 诱导植物产生类似“弱菌株免疫保护”的防病作用^[8]。Feng 等^[9]报道预接种无致病力青枯菌 $\Delta hrpB$ 突变株, 可诱导拟南芥抗病相关基因表达, 其中 26% 上调表达的基因参与脱落酸 (ABA) 生物合成和信号传导。植物受到外界因子诱导, 体内基因会有不同的响应, 从而出现基因表达水平不同^[10]。植物激素, 如水杨酸 (salicylic acid, SA)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 和乙烯 (ethylene, ET) 信号转导途径及其交互作用在植物免疫应答中发挥极其重要的作用^[11-12]。【本研究切入点】目前青枯菌致病性菌株诱导番茄、马铃薯和花生等寄主信号转导途径相关基因表达的报道较多^[13-15], 但是, 无致病力青枯菌与番茄互作研究有待深入探讨。我们前期研究已筛选获得一株高防效 (番茄盆栽苗和田间防效分别为 100% 和 77.45%) 的青枯菌无致病力菌株 FJAT1458^[16-17], 但其诱导抗病机制未明确。【拟解决的关键问题】比较分析青枯菌无致病力菌株 FJAT1458 和强致病力菌株 FJAT91 对番茄 SA 信号转导途径防御相关基因 *gluA* 和 *PR-1a*, JA 信号转导途径防御相关基因 *pin2* 和 *loxA* 及 ET 信号转导途径防御相关基因 *PR-1b* 和 Osmotin-like 表达量的变化, 为探明菌株 FJAT-1458 诱导番茄系统防御反应的分子机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

青枯菌无致病力菌株 FJAT1458 和强致病力菌株 FJAT91 分别分离自健康番茄和青枯病发病植株, 由福建省农业科学院农业生物资源研究所菌种库收集保存。青枯菌培养的固体培养基 TTC 的配制参照 Kelman 的方法^[18], 液体培养基为 SP (蔗糖 20 g, 蛋白胨 5 g, KH_2PO_4 0.5 g, MgSO_4 0.025 g, 定容至 1 L, pH 7.0)。番茄品种为金石王 1 号, 购自厦门如意集团开发有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株活化和接种处理 青枯菌无致病力菌株 FJAT1458 和强致病力菌株 FJAT91 在 TTC 平板上活化, 30 ℃、48 h 后, 转接至 SP 培养基, 于 170 r·min⁻¹、30 ℃ 培养 24 h, 两种菌液均稀释至 10⁸ CFU·mL⁻¹, 分别灌根接种于 5~6 叶龄的番茄盆栽苗上, 100 mL·盆⁻¹, 每处理 20 盆 (1 株·盆⁻¹), 设 3 个重复。接种无菌水为对照 (CK)。接种处理后的 0、3、6、12、24、36、48、72 h 进行取样, 随机采取 500 mg 左右的番茄叶片, 放入液氮中速冻, 之后迅速放入 -80 ℃ 冰箱备用。

1.2.2 总 RNA 的提取 采用 Transzol Up Plus RNA 提取试剂盒 (北京全式金生物技术有限公司) 提取番茄叶片总 RNA。参照说明书进行提取。提取的 RNA 用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 并用紫外分光光度计检测 RNA 的纯度及浓度。

1.2.3 cDNA 的合成 按照 RevertAid First Stand cDNA Synthesis Kit (Thermo) 反转录试剂盒的操作方法, 将各处理番茄叶片总 RNA 进行反转录合成 cDNA。获得的 cDNA 产物直接用于 PCR 或 -80 ℃ 保存备用。

1.2.4 防御基因荧光定量 PCR RT-PCR 采用 10 μL 反应体系: 5.0 μL TransStart[®] Top/Tip Green qPCR Super-Mix (2×), 正反向引物各 0.5 μL, cDNA 模板 1 μL, 加水至 10 μL; RT-PCR 的反应程序为 95 ℃ 预变性 30 s, 94 ℃ 5 s, 60 ℃ 退火/延伸 30 s, 45 个循环。荧光定量引物见表 1, 由上海生工生物工程股份有限公司合成。

表 1 RT-PCR 检测基因的特异引物序列
Table 1 Specific primer sequences used for RT-PCR

检测基因 Tested gene	信号通路 Signal pathways	基因库 登记号 GenBank accession no.	引物序列 Primer sequence
<i>gluA</i>	SA	M80604	F: TCAGCAGGGTTGCAAAATCA R: CTCTAGGTGGTAGGTGTTGGTTAA
<i>PR-1a</i>	SA	M69247	F: TCT TGT GAG GCC CAA AAT TC R: ATA GTC TGG CCT CTC GGA CA
<i>loxA</i>	JA	U09026	F: TGGTAGACCACCAACACGAA R: GACCAAAACGCTCGTCTCTC
<i>pin2</i>	JA	AY129402	F: TGATGCCAAGGCTTGACTAGAGA R: AGCGGACTTCCTTCTGAACGT
<i>PR-1b</i>	ET	X14065	F: CCA AGA CTA TCT TGC GGT TC R: GAA CCT AAG CCA CGA TAC CA
Osmotin-like	ET	M21346	F: TGTACCACGTTTGAGGACA R: ACCAGGGCAAGTAAATGTGC

1.3 数据分析

数据分析以管家基因 *actin* 作为内参，采用公式 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法计算防御基因的表达量^[19]。计算公式如下：目的基因相对表达量= $2^{-\Delta\Delta C_T}$ ， $\Delta\Delta C_T = (C_{T \text{ 目的基因}} - C_{T \text{ 管家基因}})_{\text{实验组}} - (C_{T \text{ 目的基因}} - C_{T \text{ 管家基因}})_{\text{对照组}}$ 。数据分析采用 Excel 2010、DPS 16.05 和 Graphpad Prism 7.0 软件。

2 结果与分析

2.1 不同致病力青枯菌诱导 SA 途径防御基因 *gluA* 和 *PR-1a* 的表达结果分析

青枯菌无致病力菌株 FJAT1458 和强致病力菌株 FJAT91 均诱导番茄 *gluA* 和 *PR-1a* 基因的表达量呈先上升后下降的趋势，接种 12 h，两种基因在强或无致病力菌株诱导下表达量均达最大值。在观察期内（3 h 除外），无致病力菌株 FJAT1458 诱导番茄 *gluA* 基因的表达量均显著大于对照组，而接种强致病力菌株 FJAT91 初期（3~24 h）诱导番茄 *gluA* 基因表达量显著高于对照组，接种 72 h 后则显著低于对照（ $P < 0.05$ ）。接种初期（12 h 前），强致病力菌株 FJAT91 诱导 *gluA* 基因的表达量显著高于无致病力菌株 FJAT1458（ $P < 0.05$ ），后期（24 h 后）则相反（图 1-A）。此外，接种后 3~36 h，强致病力菌株 FJAT91 诱导 *PR-1a* 基因表达量均显著高于无致病力菌株 FJAT1458 和对照组（图 1-B）。

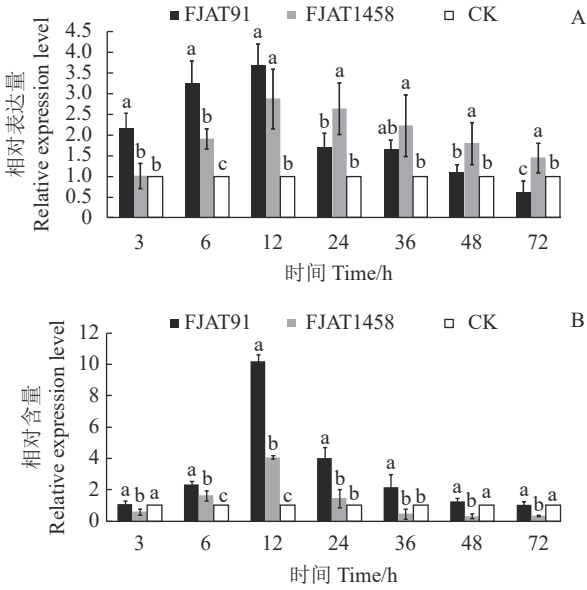


图 1 接种青枯菌不同时间番茄叶片 *gluA* 基因 (A) 和 *PR-1a* 基因 (B) 相对表达量
Fig. 1 Relative expressions of *gluA* (A) and *PR-1a* (B) in tomato leaves after *R. solanacearum* inoculation for different time lengths

2.2 不同致病力青枯菌诱导 JA 途径防御基因 *loxA* 和 *pin2* 的表达结果分析

观察期内（3 h 除外）无致病力菌株 FJAT1458 诱导番茄植株 *loxA* 和 *pin2* 基因表达量均显著高于对照组（ $P < 0.05$ ）。接种初期（3~24 h）无致病力菌株 FJAT1458 诱导番茄植株 *loxA* 基因表达量显著低于强致病力菌株 FJAT91，接种后期（48 h 后），FJAT1458 诱导番茄植株 *loxA* 基因表达量显著高于 FJAT91 处理（ $P < 0.05$ ）（图 2-A）。菌株 FJAT1458 和 FJAT-91 诱导番茄植株 *pin2* 基因表达量最大值分别出现在接种后 12 h 和 6 h，分别为 CK 的 131.36 倍和 186.69 倍；FJAT-91 诱导番茄植株 *pin2* 基因相对表达量在 12~24 h 骤降，接种 12 h 后，其诱导 *pin2* 基因相对表达量均显著低于 FJAT1458 处理（ $P < 0.05$ ）。

2.3 不同致病力青枯菌诱导 ET 途径抗性基因 *PR-1b* 和 *Osm* 的表达结果分析

观察期内（48 h 除外），无致病力菌株 FJAT1458 诱导番茄植株 *Osm* 基因表达量均显著高于 CK，接种 12 h，FJAT1458 诱导 *Osm* 基因表达量达到最大值，为 CK 的 7.68 倍。强致病力菌株 FJAT-91 诱导番茄植株 *Osm* 基因表达量呈现“先上升后下降”趋势，接种 12 h 达最大值，为对照组 13.86 倍，接种 72 h，其诱导 *Osm* 基因表达量与对照组相当，显著低于 FJAT1458 处理组（图 3-A）。接种 3~24 h，FJAT1458 诱导 *PR-1b* 基因表达量显著低于 FJAT-91 处理组，接种 36 h 后则相反，*PR-1b* 基因在 FJAT1458 处理组的表达量显著高于 FJAT-91 处理组（ $P < 0.05$ ）（图 3-B）。

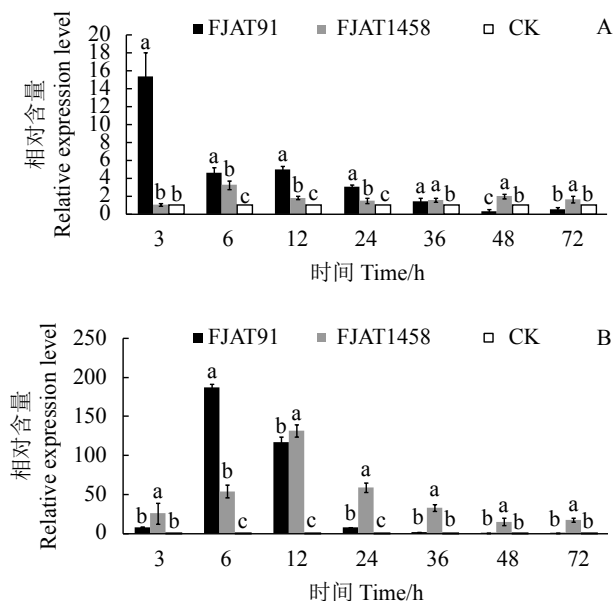


图2 接种青枯菌不同时间番茄叶片 *loxA* 基因 (A) 和 *pin2* 基因 (B) 相对表达量

Fig. 2 Relative expressions of *loxA* (A) and *pin2* (B) in tomato leaves after *R. solanacearum* inoculation for different time lengths

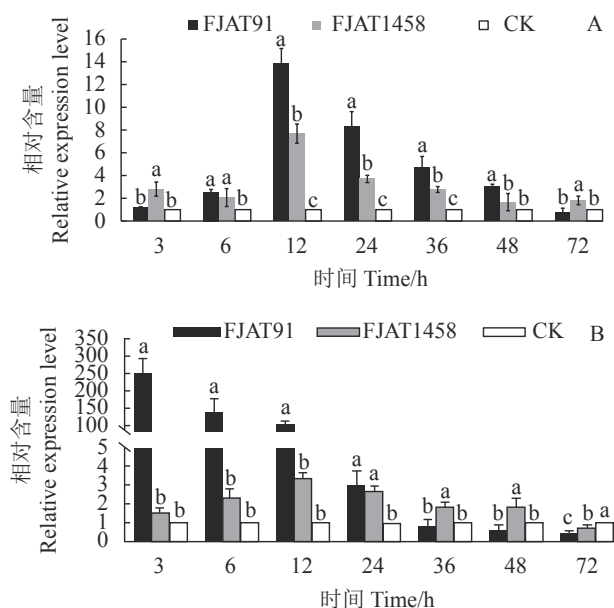


图3 接种青枯菌不同时间番茄叶片 *Osm* 基因 (A) 和 *PR-1b* 基因 (B) 相对表达量

Fig. 3 Relative expressions of *Osm* (A) and *PR-1b* (B) in tomato leaves after *R. solanacearum* inoculation for different time lengths

3 讨论与结论

许多研究表明, 青枯菌的无致病力突变株能够诱导植物各个信号途径的系统防御基因的表达^[20-21]。陈达^[20]研究表明, 青枯菌 *phcA*-突变株接种 3 d, 其对番茄 SA、JA 和 ET 信号途径防御基因都有不同程度的诱导, 而青枯菌 *phcA*-突变株和 *hrp*-突变株能有

效诱导烟草 SA 和 JA 信号途径防御基因的表达。本研究发现, 青枯菌强弱菌株均能诱导番茄植株 SA 信号转导途径 *gluA* 和 *PR-1a* 基因、JA 信号转导途径 *pin2* 和 *loxA* 基因及 ET 信号转导途径 *PR-1b* 和 *Osmotin-like* (*osm*) 基因的相对表达, 表明接种青枯菌能够激活番茄植株系统防御反应。

刘俊平等^[21]比较了青枯菌 GMI1000 的 *hrp*-突变株与出发菌株 GMI1000 对 *PR-1a* 基因的诱导情况, 发现在接种 GMI1000 菌株 12 h 时 *PR-1a* 的表达量最高, 之后, 表达量降低, 本研究同样发现青枯菌强致病力菌株 FJAT91 接种番茄植株 12 h 时诱导 *PR-1a* 表达量达到最高值, 随后降低。Milling 等^[22]研究发现, 番茄感病品种接种 GMI1000 和 GMI1000 Δ *epsB* 突变株后, GMI1000 诱导番茄植株 SA、JA 和 ET 途径的防御基因的相对表达量均高于 GMI1000 Δ *epsB* 突变菌株。本研究同样发现, 强致病力菌株 FJAT91 诱导 SA 途径的防御基因 *PR-1a* 表达量显著高于无致病力菌株 FJAT1458。然而, Chen 等^[23]报道, 青枯菌 *phcA* 基因突变的弱毒株诱导番茄 *gluA* 和 *PR-1a* 基因表达量显著高于野生型强致病力菌株, 究其原因可能与菌株来源及番茄品种有关, 不同抗性的番茄品种对同一病原菌的诱导抗性存在差异^[22]。此外, 本研究发现, 接种初期, 强致病力菌株 FJAT91 诱导番茄 *gluA*、*loxA* 和 *PR-1b* 显著高于无致病力菌株 FJAT1458, 而接种后期则相反, 如 *PR-1b* 基因在接种前 12 h, 其表达量在 FJAT91 处理组显著高于 FJAT1458 处理组, 而接种 36 h 后, *PR-1b* 基因在 FJAT91 处理组的表达量显著低于 FJAT1458 处理组, 可能正是由于强致病力菌株接种后期番茄植株这些防御基因表达量降低, 最终导致植株发病死亡。接种后期 (36 h 之后), 无致病力菌株 FJAT1458 诱导番茄植株防御基因 (*PR-1a* 和 *Osm* 除外) 表达量均显著大于强致病力菌株和对照处理, 表明, 接种无致病力菌株能够激发番茄植株防御基因表达, 从而诱导植株免疫抗病反应。

Ciardi 等^[24]和 Block 等^[11]报道无致病力野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*) 比致病的野油菜黄单胞菌对番茄系统抗性的诱导更快、更强。本研究结果与之相反, 青枯菌强致病力菌株 FJAT91 诱导番茄抗性反应更为强烈, 在不同的信号途径中, FJAT91 菌株诱导番茄植株抗性基因的最大表达量均大于无致病力菌株 FJAT1458, 特别是 ET 途径中的 *PR-1b* 基因, 感染初期 (3-12 h) 的表达量是 FJAT1458 处理组的 30.53-165.35 倍, 说明番茄寄主抗性反应的强弱与病原菌致病力强弱呈正相关。本研究中 *GluA*、*PR-1a*、*pin2*、*loxA*、*PR-1b* 和 *Osm* 这些防御基因只是 SA、JA 和 ET 信号途径防御调节基

因中的一部分, 今后应在这3条信号途径中其他重要防御基因在时间和空间表达量变化开展进一步的研究。

综上, 青枯菌的强、弱菌株均能诱导番茄植株中SA信号转导途径的 *gluA* 和 *PR-1a* 基因、JA信号转导途径的 *loxA* 和 *pin2* 基因及ET信号转导途径的 *Osm* 和 *PR-1a* 基因表达, 从而激活番茄植株系统防御反应。总体来看, 强致病力菌株诱导番茄防御基因表达量变化幅度大于无致病力菌株诱导的番茄植株防御基因表达量变化, 但在侵染后期(36 h之后), 多数基因在无致病力菌株中的诱导表达量比强致病力菌株高。

参考文献:

- [1] HAYWARD A C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1991, 29: 65–87.
- [2] PRIOR P, AILLOUD F, DALRING B L, et al. Genomic and proteomic evidence supporting the division of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* into three species [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17: 90.
- [3] SUGA Y, HORITA M, UMEKITA M, et al. Pathogenic characters of Japanese potato strains of *Ralstonia solanacearum* [J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2013, 79 (2): 110–114.
- [4] CELLIER G, PRIOR P. Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato [J]. *Phytopathology*, 2010, 100 (11): 1250–1261.
- [5] BALABEL N M, EWED W E, MOSTAPHA M I, et al. Some epidemiological aspects of *Ralstonia solanacearum* [J]. *Egypt Journal of Agriculture Research*, 2005, 83 (4): 1547–1563.
- [6] FREY P, PRIOR P, MARIE C, et al. Hrp mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60 (9): 3175–3181.
- [7] 杨宇红, 刘俊平, 杨翠荣, 等. 无致病力 *hrp*-突变体防治茄科蔬菜青枯病 [J]. *植物保护学报*, 2008, 35 (5): 433–437.
YANG Y H, LIU J P, YANG C R, et al. Control of Solanacearum vegetable bacterial wilt with avirulent *hrp*- mutants [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2008, 35 (5): 433–437. (in Chinese)
- [8] 刘波, 蓝江林, 朱育菁, 等. 植物免疫系统的应用 [J]. *中国农学通报*, 2007, 23 (S): 163–172.
LIU B, LAN J L, ZHU Y J, et al. Study and application of Plant immune system [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23 (S): 163–172. (in Chinese)
- [9] FENG D X, TASSET C, HANEMIAN M, et al. Biological control of bacterial wilt in *Arabidopsis thaliana* involves abscissic acid signalling [J]. *The New Phytologist*, 2012, 194 (4): 1035–1045.
- [10] PARROTT D L, HUANG L, FISCHER A M. Downregulation of a barley (*Hordeum vulgare*) leucine-rich repeat, non-arginine-aspartate receptor-like protein kinase reduces expression of numerous genes involved in plant pathogen defense [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 100: 130–140.
- [11] BLOCK A, SCHMELZ E, O'DONNELL P J, et al. Systemic acquired tolerance to virulent bacterial pathogens in tomato [J]. *Plant Physiology*, 2005, 138 (3): 1481–1490.
- [12] THALER J S, OWEN B, HIGGINS V J. The role of the jasmonate response in plant susceptibility to diverse pathogens with a range of lifestyles [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135 (1): 530–538.
- [13] ISHIHARA T, MITSUHASHI I, TAKAHASHI H, et al. Transcriptome analysis of quantitative resistance-specific response upon *Ralstonia solanacearum* infection in tomato [J]. *Plos One*, 2012, 7 (10): e46763.
- [14] CHEN Y N, REN X P, ZHOU X J, et al. Dynamics in the resistant and susceptible peanut (*Arachis hypogaea* L.) root transcriptome on infection with the *Ralstonia solanacearum* [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 1078.
- [15] ZULUAGA A P, SOLÉ M, LU H B, et al. Transcriptome responses to *Ralstonia solanacearum* infection in the roots of the wild potato *Solanum commersonii* [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 246.
- [16] 郑雪芳, 刘波, 林乃铨, 等. 青枯雷尔氏菌无致病力突变菌株的构建及其防效评价模型分析 [J]. *植物病理学报*, 2013, 43 (5): 518–531.
ZHENG X F, LIU B, LIN N Q, et al. Construction of *Ralstonia solanacearum* avirulent mutants and evaluation model of their control efficacy against tomato bacterial wilt disease [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2013, 43 (5): 518–531. (in Chinese)
- [17] 郑雪芳, 朱育菁, 刘波, 等. 番茄青枯病植物疫苗胶悬菌剂的制备及其对病害的防治效果 [J]. *植物保护*, 2017, 43 (2): 208–211.
ZHENG X F, ZHU Y J, LIU B, et al. Preparation of colloidal suspension agent used as plant vaccine against tomato bacterial wilt disease and its control efficacy [J]. *Plant Protection*, 2017, 43 (2): 208–211. (in Chinese)
- [18] KELMAN A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium [J]. *Phytopathology*, 1954, 44: 693–695.
- [19] SCHMITTGEN T D, LIVAK K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method [J]. *Nature Protocols*, 2008, 3 (6): 1101–1108.
- [20] 陈达. 拮抗菌和青枯菌无致病力突变株防治茄科作物青枯病的效应和机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
CHEN D. The control efficacy of bacterial wilt in solanaceae crops by antagonistic bacterium and avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and mechanisms [D]. Nanjing: Nanjing agricultural university, 2014. (in Chinese)
- [21] 刘俊平. 无致病力 *hrp*-突变体防治番茄青枯病作用研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2006.
LIU J P. Study on the control effect against tomato bacterial wilt with avirulent *hrp*- mutants [D]. Beijing: Chinese academy of agricultural sciences, 2006. (in Chinese)
- [22] MILLING A, BABUJEE L, ALLEN C. *Ralstonia solanacearum* extracellular polysaccharide is a specific elicitor of defense responses in wilt-resistant tomato plants [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (1): e15853.
- [23] CHEN D, LI C, WU K, et al. A *PhcA* marker-free mutant of *Ralstonia Solanacearum* as potential biocontrol agent of tomato bacterial wilt [J]. *Biological Control*, 2015, 80: 96–102.
- [24] CIARDI J A, TIEMAN D M, LUND S T, et al. Response to *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* in tomato involves regulation of ethylene receptor gene expression [J]. *Plant Physiology*, 2000, 123 (1): 81–92.

(责任编辑: 林海清)