

# 环腺苷酸对向日葵大丽轮枝菌生物学特性及致病力的影响

张 键,张 贵,张园园,景 岚,周洪友,赵 君\*

(内蒙古农业大学农学院,内蒙古 呼和浩特,010018)

**摘要:**为探究环腺苷酸(cAMP, cyclic AMP)对向日葵大丽轮枝菌生物学特性及致病力的影响,在实验室条件下研究了外源添加 cAMP(10mmol/L)后,向日葵大丽轮枝菌的菌落形态、生长速率、产孢量、分生孢子萌发率、微菌核数量、粗毒素分泌量以及致病力的变化。结果表明,外源 cAMP 使向日葵大丽轮枝菌分生孢子的产孢量提高了 55.45%;而在含有 cAMP 的水琼胶培养基上培养 24h 后,大丽轮枝菌的分生孢子萌发率降低了 69%;在含有 cAMP 的 PDA 上培养 25d 后,大丽轮枝菌微菌核形成的数量相比对照降低了 46.8%;在含有 cAMP 的液体培养基中振荡培养 15d 后,大丽轮枝菌粗毒素的含量仅为 0.156mg/mL,比对照培养液中毒素降低了 35.27%。向日葵接种 10mmol/L cAMP 处理的大丽轮枝菌后,其病情指数为 34.38,相比对照组降低了 7.28%。因此,外源添加 10mmol/L cAMP 除了能够提高向日葵大丽轮枝菌的产孢量外,对其生长速率、分生孢子萌发率、微菌核形成的数量、粗毒素分泌量以及致病力均有不同程度的抑制作用,尤其是对微菌核形成的抑制作用最为明显。

**关键词:**向日葵大丽轮枝菌;环腺苷酸(cAMP);生物学特性;致病力

**中图分类号:**S435.655 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-9084(2015)04-0532-07

## Effect of cAMP on biological characteristics and pathogenicity of sunflower *Verticillium dahliae*

ZHANG Jian, ZHANG Gui, ZHANG Yuan-yuan, JING Lan, ZHOU Hong-you, ZHAO Jun\*

(College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

**Abstract:** To unravel the effects of cAMP on biological characteristics and pathogenicity of sunflower pathogen *Verticillium dahliae*, growth rate, conidia production, germination rate of conidia spores, microsclerotia production, crude toxin and pathogenicity of *V. dahliae* were measured after *V. dahliae* cultured in medium with 10 mmol/L cAMP. Results showed that pathogen conidia was increased by 55.45% in the medium, but conidia germination rate, microsclerotia yield, crude toxin production and disease index were reduced by 69%, 46.8%, 35.27% and 7.28% respectively. In conclusion, exogenously cAMP promoted *V. dahliae* conidia yield, inhibited conidia germination rate, and reduced microsclerotia yield, crude toxin production and pathogenicity. Among them, cAMP inhibition effect on microsclerotia formation was greater.

**Key words:** *Verticillium dahliae*; cyclic AMP; Biological characteristics; Pathogenicity

向日葵黄萎病是向日葵上发生的一种系统性侵染的病害,1954 年曾在北美造成了大流行,导致减产 50% 以上<sup>[1]</sup>。近年来,由于向日葵种植面积的不不断扩大,轮作倒茬的困难,使得我国向日葵黄萎病的发生呈现日益加重的态势,如内蒙古地区向日葵黄萎病发生面积已经占到这一地区向日葵总种植面积

的 7% 左右<sup>[2]</sup>;宁夏固原地区该病害的发生面积占向日葵种植面积的 46.9%<sup>[3]</sup>,因此,向日葵黄萎病已经成为我国向日葵种植区继菌核病之后的又一大主要病害<sup>[4]</sup>。

向日葵黄萎病是由大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.)引起的一种土传性病害,其寄主范围

十分广泛,能够侵染 200 多种双子叶植物<sup>[5]</sup>。目前,已有该病原菌在朝鲜蓟、棉花、茄子、生菜、番茄、马铃薯以及向日葵等作物上造成严重危害的报道<sup>[6]</sup>。向日葵黄萎病发生后,首先在下层叶片出现褪绿和黄化的症状,随后叶片皱缩变形,焦脆坏死。随着时间的推移,中上层叶片也出现黄化的症状,最后整株呈现出枯死的症状。剖发病株的茎秆可见变褐的维管束组织。

微菌核是由单根或多根菌丝经分隔膨大、胞壁增厚(厚垣孢子化)并多方向芽殖而形成的大丽轮枝菌的主要田间越冬结构<sup>[7]</sup>。微菌核作为大丽轮枝菌的主要初侵染来源,可以被植物根系的分泌物所诱导,萌发形成菌丝体,进而侵染植物根部。菌丝体从植物根部通过维管束向上蔓延导致地上部叶片的坏死。微菌核在植物坏死组织内产生,随着植物病残体埋入土壤,并开始下一轮的侵染周期<sup>[8]</sup>。Subbarao<sup>[9]</sup>等人的研究表明,土壤中微菌核的数量和生菜黄萎病的发生程度呈现显著的正相关;因此,减少土壤中微菌核的数量对降低来年黄萎病发生的程度具有非常重要的意义<sup>[10]</sup>。目前,在分子水平上简析微菌核与大丽轮枝菌的致病力的相关性方面研究也有一定进展。例如,敲除大丽轮枝菌中与胁迫反应有关的谷氨酸富集蛋白编码基因 *VdGarp1* 后,能够显著降低该突变体的微菌核数量与致病力<sup>[11]</sup>;将大丽轮枝菌中的蔗糖非发酵蛋白激酶 SNF1 进行突变后,大丽轮枝菌在多种碳源培养基上均表现为微菌核产量显著减少,同时致病力也显著下降<sup>[12]</sup>。而大丽轮枝菌中的 *Vdh1* 基因的缺失突变体则表现为微菌核形成的数量减少,但对致病力却没有影响<sup>[13]</sup>;大丽轮枝菌中的 *Vta2* 基因是大丽轮枝菌的凝集素的转录调控因子,当超表达这一基因时,微菌核的形成受到明显的抑制,而致病力却没有变化<sup>[14]</sup>。上述的这些研究表明大丽轮枝菌微菌核的形成数量与致病力之间有着非常复杂的相关性。

环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)是由腺苷酸环化酶催化 ATP 环化形成的一种环状的核苷酸。它常以微量(1 pmol/g ~ 302.5 nmol/g)<sup>[15]</sup>存在于植物细胞中并调控着细胞的各种生理活动与物质代谢过程。作为细胞内第二信使,cAMP 在植物病原真菌与寄主互作的信号转导途径中的研究越来越多,如在稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)<sup>[16]</sup>、灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)<sup>[17]</sup>、玉米瘤黑粉菌(*Ustilago maydis*)<sup>[18]</sup>、新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)<sup>[19]</sup>、粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)<sup>[20]</sup>

等重要真菌中均已证明 cAMP 信号途径的存在,且与病原菌的致病力相关。在对稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)的研究中,利用基因敲除突变体验证 cAMP 信号途径与附着胞的形成有关<sup>[16]</sup>。在烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)中 cAMP 信号途径则对病菌生长发育、无性繁殖、次生代谢、对氧化损伤的敏感性以及毒力等具有一定的调控作用<sup>[21]</sup>,而在啤酒酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)中,cAMP 信号对酵母的杂交、孢子形成、糖原异生作用等起着重要的作用<sup>[22]</sup>。2010 年,Tzima 等<sup>[23]</sup>在研究番茄黄萎病时,首次克隆并报道了 cAMP 信号途径依赖蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 的 C 亚基。在对 C 亚基的编码基因 *VdPKAC1* 进行敲除后发现,敲除突变体表现出分生孢子减少、致病力减弱,微菌核形成增多等表型,因此可以推断在某种程度上,微菌核形成量可能受到蛋白激酶 A 介导的 cAMP 信号途径的负向调控。但外源添加 cAMP 对大丽轮枝菌的生物学特性以及致病力的影响并没有相关报道。

本文通过外源添加 cAMP,探究 cAMP 对向日葵大丽轮枝菌的生物学特性以及致病力的影响,这一研究结果不仅将填补我国向日葵大丽轮枝菌研究领域的空白,而且对向日葵黄萎病的防控具有一定的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

菌株:向日葵黄萎病菌菌株 VD33 采自黑龙江省甘南县,经过单孢分离和分子鉴定确定是大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.)。

向日葵品种:食葵品种 LD5009(北京凯福瑞种业公司)。

化学试剂环腺苷酸(cAMP)购自 Sigma - Aldrich 公司(CAS:60 - 92 - 4)。用无菌水配置成 100mmol/L 的母液,分装在 2mL 的无菌离心管中,-20℃保存。

培养基 PDA:马铃薯 200g,葡萄糖 20g,琼脂 14g,蒸馏水 1L。Cazpek 培养基:每 1 000mL 培养基中含有 NaNO<sub>3</sub> 2g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1g、KCl 0.5g、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5g、FeSO<sub>4</sub> 0.01g、蔗糖 30g。

### 1.2 方法

1.2.1 向日葵大丽轮枝菌菌落形态及生长速率的测定 将单孢分离后的 VD33 在添加 cAMP(终浓度为 10mmol/L)<sup>[24]</sup>的 PDA 上 24℃培养,15d 后,观察其菌落形态,并测量记录菌落直径。在 PDA 培养基中加入无菌水作为对照。每个处理重复 3 次。

1.2.2 向日葵大丽轮枝菌产孢量的测定 将 VD33 接种到添加 cAMP(终浓度为 10mmol/L)的 PDA 培养基上,24℃ 培养 11d 后,用 10mL 无菌水冲洗菌落的分生孢子,用血球计数板计算分生孢子的浓度。未添加 cAMP 的培养基作为对照。

1.2.3 向日葵大丽轮枝菌分生孢子萌发率的测定 将 VD33 的分生孢子配置成  $1 \times 10^6$ /mL 浓度后,取 100 $\mu$ L 均匀涂布在添加 cAMP(终浓度为 10mmol/L)水琼脂上,24℃ 倒置培养。6、12、18 和 24h 后在显微镜下分别记录 100 个孢子中萌发孢子的数目,以芽管长度超过孢子长度 1/2 为标准,计算孢子萌发率。未添加 cAMP 的水琼脂玻片上的分生孢子作为对照。每组重复 3 次。

1.2.4 向日葵大丽轮枝菌分生孢子侵染垫观察 将 VD33 的分生孢子浓度配制成  $1 \times 10^5$ /mL。在 24 孔细胞培养板中加入 1mL 添加有 cAMP(终浓度为 10mmol/L)的无菌水。撕取 5mm  $\times$  5mm 洋葱表皮外层的内表皮,置于无菌水上,然后将 VD33 的孢子悬浮液(8 $\mu$ L)滴放在洋葱表皮上,24℃ 保湿培养。以无菌水作为对照。18h、24h 及 48h 后显微镜下观察侵染垫形成的情况。每个时间点重复 3 次。

1.2.5 向日葵大丽轮枝菌微菌核形成数量的检测 将 VD33 在铺有玻璃纸的添加 cAMP(终浓度为 10mmol/L)的 PDA 培养基上 24℃ 培养 25d 后,用无菌刀片将菌丝与微菌核轻轻刮下放进干净的研钵中,用力捣碎稀释。在显微镜下观察,直至微菌核与菌丝、微菌核之间完全分离。然后在上层孔径为 125 $\mu$ m,下层孔径为 38 $\mu$ m 目的筛子上过滤。再用蒸馏水冲洗孔径为 38 $\mu$ m 目筛子上的微菌核。用移液枪吸取微菌核与水的混合液转移至已知重量的 1.5mL 离心管中,8 000r/min 离心 5min,去掉上清,将离心管置于 28℃ 烘箱中烘烤 48h 后称重。未添加 cAMP 的培养基上的微菌核数量作为对照。实验进行 3 次重复。

1.2.6 向日葵大丽轮枝菌分泌的粗毒素量的测定 将 VD33 接种于添加 cAMP(终浓度为 10mmol/L)的 Czapek 液体培养基中,分别在培养 5、10、15 和 17d 后测定粗毒素的分泌量。具体测定方法如下:培养的菌液在 25℃ 黑暗条件下 120r/min 振荡培养 15d 后,用 4 层脱脂纱布过滤并在 15 000  $\times$  g 冷冻离心 20min。上清液经 0.22 $\mu$ m 的滤膜过滤后获得无菌的毒素粗滤液。采用紫外分光光度法测定毒素粗

滤液的 OD<sub>280</sub>,以牛血清蛋白(BSA)作标准曲线获得的曲线方程计算样品粗毒素的含量。未添加 cAMP 培养液中产生的毒素为对照。每组进行 3 次重复。

1.2.7 向日葵大丽轮枝菌致病力的测定 将 LD5009 的种子播种到装有高温灭菌土的营养钵中,置于温室中进行发芽。待向日葵幼苗长出 2~4 片真叶时,采用纸钵撕底蘸根法测定添加和未添加 cAMP 培养基上培养的大丽轮枝菌对向日葵幼苗的致病力。选择根系生长健壮的向日葵幼苗进行接种(孢子浓度为  $1.0 \times 10^7$ /mL),每个菌株接种 6 钵向日葵,每钵种植 6 株。接种后,每 2~3d 浇一次水。20d 后,采用表 1 的向日葵苗期分级标准进行病情调查,记载调查结果并按照下面的公式计算病情指数。

表 1 向日葵黄萎病病级标准<sup>[25]</sup>

Table 1 Criterion for sunflower yellow wilt identification

病级 Disease class	分级标准 Criterion
0	健株,无表观症状 No symptoms
1	植株 25% 以下叶片表现褪绿、黄化、萎蔫枯死等症状 Symptoms on less than 25% of the plant
2	25% ~ 50% 的植株叶片表现症状,植株矮化 Symptoms on 25% to 50% of the plant
3	50% ~ 75% 的植株叶片表现症状,植株矮化 Symptoms on 50% to 75% of the plant
4	75% 以上的叶片表现出严重症状,植株枯萎死亡 Symptoms on over 75% of plant, plant dead

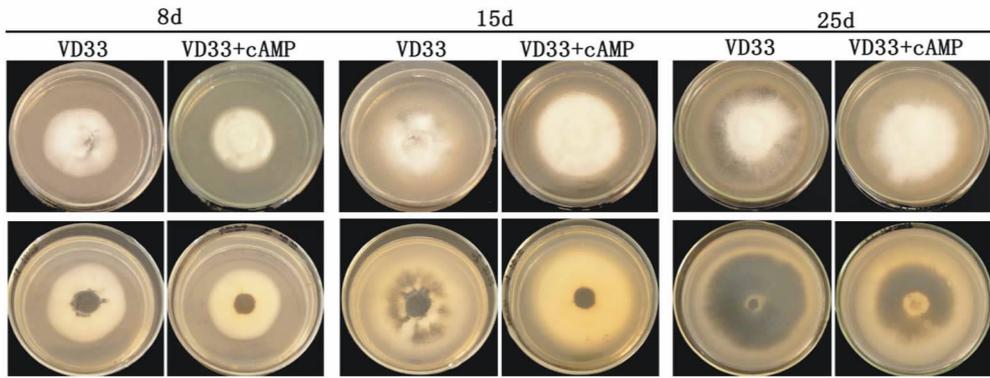
$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级代表数值} \times \text{各级病株数})}{\text{调查总数} \times \text{最高病级数}} \times 100$$

1.2.8 数据统计与分析 所有数据计算在 SPSS 18.0 专业版统计分析软件上完成,并计算方差检验处理间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源添加 cAMP 对向日葵大丽轮枝菌落形态的影响

在 PDA 培养基中外源添加 cAMP(终浓度为 10mmol/L)后的菌落形态如图 1 所示。未添加 cAMP 的大丽轮枝菌菌株 VD33 气生菌丝不发达,但能够形成大量的微菌核。但当在 PDA 培养基中添加外源 cAMP 后,VD33 则形成发达的密集型气生菌丝,微菌核形成量明显减少,只是在培养 25d 后才能观察到有很少量的微菌核形成。



注:上图为菌落正面;下图为菌落背面

Note: 1st row: surface of the colony; 2nd row: from underneath vision

图1 外源添加 cAMP 后大丽轮枝菌的菌落形态

Fig. 1 Effects of exogenous cAMP on colonial morphology of *V. dahliae*

## 2.2 外源添加 cAMP 对向日葵大丽轮枝菌生长速度和产孢量的影响

在 PDA 培养基中外源添加 cAMP (终浓度为

10mmol/L)后,大丽轮枝菌的生长速率和产孢量如图 2 所示。

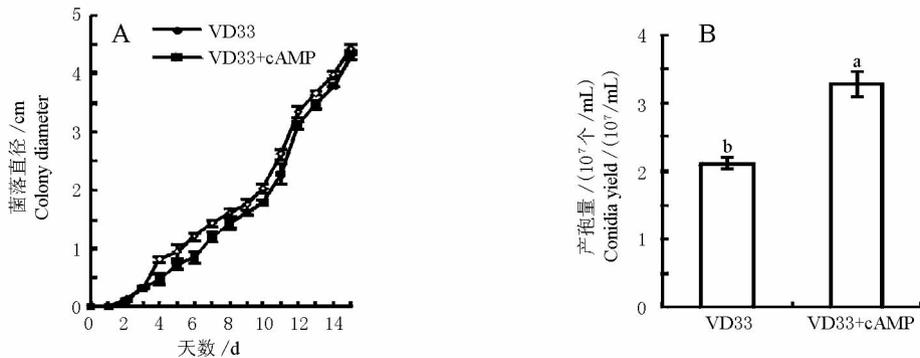


图2 外源添加 cAMP 对大丽轮枝菌生长速率 (A) 及产孢量 (B) 的影响

Fig. 2 Effects of exogenous cAMP on growth speed (A) and conidia yield (B) of *V. dahliae*

与对照菌株相比,外源添加 cAMP 后大丽轮枝菌的生长速率有所下降,但差异不显著;但外源添加 cAMP 培养 11d 后的大丽轮枝菌的产孢量为  $3.28 \times 10^7/\text{mL}$ , 相比对照产孢量  $2.11 \times 10^7/\text{mL}$ , 增加了 55.45%, 说明外源添加 cAMP 能够促使大丽轮枝菌分生孢子的产生。

## 2.3 外源添加 cAMP 后对分生孢子萌发率和附着胞形成的影响

外源添加 cAMP 后对大丽轮枝菌分生孢子萌发率的影响结果如图 3A 所示。外源添加 cAMP 后,大丽轮枝菌的分生孢子 24h 时的萌发率仅为 31%, 相比对照在 18h 时 100% 萌发率降低了 69%。利用洋葱表皮细胞观察了外源添加 cAMP 后对大丽轮枝菌分生孢子附着胞形成的影响, 结果如图 3B 所示, 在接种 0、6、12 和 18h 后添加和未添加 cAMP 的培养基上生长的大丽轮枝菌的分生孢子, 在洋葱表皮细胞上均没有形成附着胞; 但是接种 24h 后, 外源添加

cAMP 后的大丽轮枝菌分生孢子形成附着胞的比率为 14.33%, 而对照仅为 1.67%; 48h 后, 外源添加 cAMP 后其形成附着胞的比率为 41.33%, 而对照仅为 14%。相比对照, 在接种 24 和 48h 后, cAMP 处理使得大丽轮枝菌附着胞形成比率分别增加了 12.66% 和 27.33%。

## 2.4 外源添加 cAMP 对向日葵大丽轮枝菌微菌核形成的影响

由于外源添加 cAMP 后会不同程度地抑制大丽轮枝菌微菌核的形成, 因此实验定量测定了外源添加 cAMP 后微菌核的数量。称重的结果表明, 培养 25d 后对照菌株微菌核的重量为 1.53g, 而在添加有 cAMP 培养基上相同培养时间所形成的微菌核重量为 0.814g, 相比对照降低了 46.8% (图 4A)。此外, 显微镜下定性观察的结果表明添加 cAMP 后培养基上微菌核形成数量明显少于对照 (图 4B)。

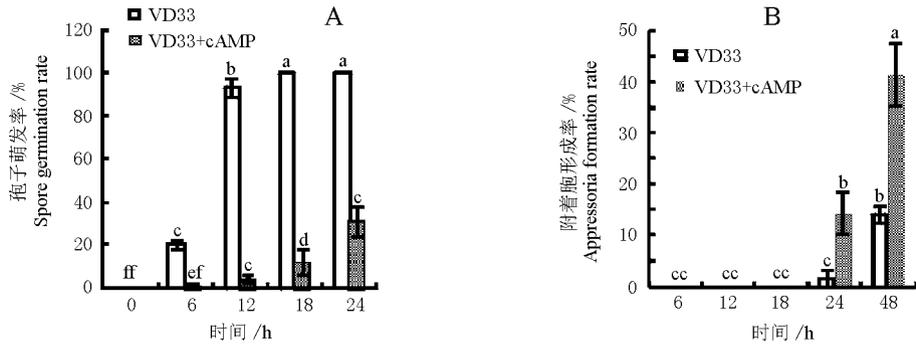
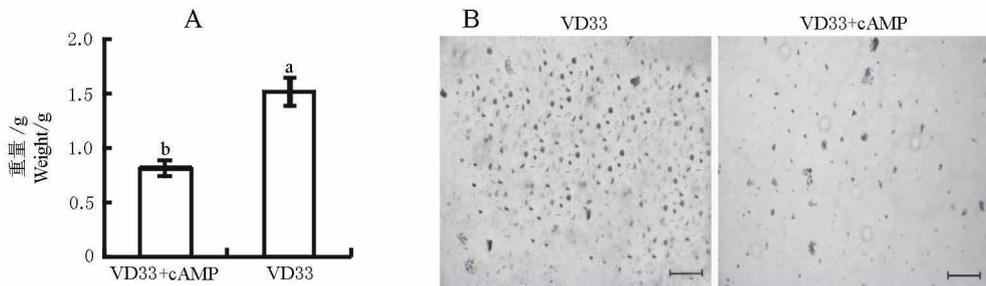


图3 外源添加 cAMP 对大丽轮枝菌分生孢子萌发率 (A) 及附着胞形成 (B) 的影响  
Fig. 3 Effects of exogenous cAMP on spore germination rate (A) and appressorium formation (B) of *V. dahliae*



注:A:微菌核的重量; B:20×10 显微镜下观察到的微菌核的数量。标尺 100μm  
Note: A: Microsclerotia weight; B: Microsclerotia quantity under 20×10 microscope. Bar = 100μm

图4 外源添加 cAMP 后对大丽轮枝菌微菌核形成的影响

Fig. 4 Effects of exogenous cAMP on microsclerotia formation of *V. dahliae*

## 2.5 外源添加 cAMP 对向日葵大丽轮枝菌产毒能力和致病力的影响

为了确定外源添加 cAMP 对大丽轮枝菌产毒能力是否有影响,实验测定了大丽轮枝菌在添加和未添加 cAMP 的液体培养基中培养 15d 后分泌的粗毒

素含量。结果如图 5A 所示,外源添加 cAMP 的液体培养基中,大丽轮枝菌分泌的粗毒素含量为 0.156 mg/mL,比对照的粗毒素含量 0.241 mg/mL 降低了 35.27%,说明外源添加 cAMP 能够抑制大丽轮枝菌毒素的产生。

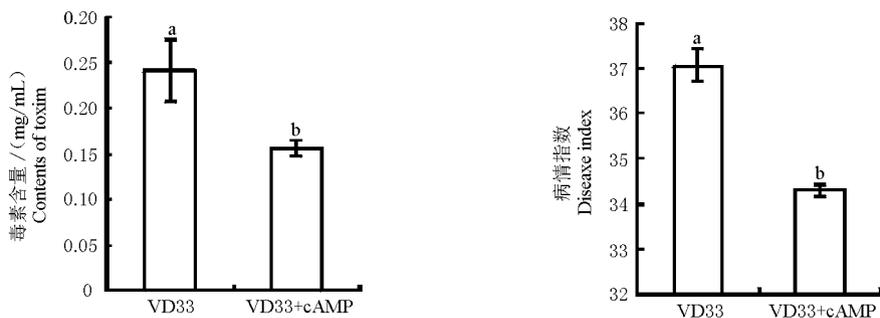


图5 外源 cAMP 对大丽轮枝菌产毒能力及致病力的影响  
Fig. 5 Effects of exogenous cAMP on toxin production and pathogenicity of *V. dahliae*

由于大丽轮枝菌粗毒素的分泌量反映其致病力的水平,因此实验测定了外源添加 cAMP 后对向日葵大丽轮枝菌的致病力影响。结果如图 5 所示,接种 20d 后,接种添加和未添加 cAMP 培养基上培养的大丽轮枝菌后的向日葵幼苗均表现出黄萎病的典型病状,下部叶片边缘出现褪绿黄化的枯斑,并逐渐向上部的叶片扩展。接种 20d 后调查病级并计算了病情指数,结果表明接种 cAMP 处理的大丽轮枝菌

病情指数为 34.38,而对照组的病情指数为 37.08,降低了 7.28%。显著性测定的结果表明二者差异在 0.05 水平上显著,说明外源添加 cAMP 能够不同程度地降低向日葵大丽轮枝菌的致病力。

## 3 讨论与结论

在病原真菌中,cAMP 介导的信号途径调控着细胞生命的各种生理过程,如在新型隐球菌中,

cAMP 信号途径调控囊泡的产生、黑色素的形成、有性交配以及毒性的强弱等<sup>[26]</sup>。在粗糙脉孢菌中,cAMP 信号途径调控病菌的形态、分生孢子的生成、有性交配以及胁迫应答反应等过程<sup>[17]</sup>。在玉米瘤黑粉病菌和稻瘟病菌中,cAMP 信号途径对菌丝生长和附着胞的形成发育则有着重要的调控作用<sup>[16,18]</sup>。本试验通过外源添加 cAMP 来探究 cAMP 对向日葵大丽轮枝菌的生物学特性以及致病力的影响,结果表明外源添加 cAMP 后能够促进大丽轮枝菌分生孢子的产生,抑制分生孢子的萌发,延缓微菌核的形成,并降低粗毒素的产生能力进而影响其对向日葵的致病力,这一研究结果与 Tzima 等<sup>[23]</sup>的研究结果一致,即 cAMP 信号途径影响大丽轮枝菌的致病力并且负向调控微菌核的形成。然而,本研究中还发现向日葵大丽轮枝菌的分生孢子在侵染寄主的过程中往往不形成明显的侵染结构,但是,cAMP 处理后的菌株形成的分生孢子在洋葱表皮细胞上有明显的附着胞形成,但是其致病力降低的结果预示着附着胞的数量和病原菌的成功入侵没有显著的相关性。

在本试验中,外源添加 cAMP 后抑制了向日葵大丽轮枝菌微菌核的形成,预示着 cAMP 信号路径对大丽轮枝菌微菌核形成具有一定的负向调控作用。而在培养 20d 后,大丽轮枝菌开始逐渐产生微菌核的结果说明微菌核的形成可能会通过不同于 cAMP 信号路径的其它信号路径进行调控。当其中某一关键的路径被封闭后会开启其他旁路信号路径进而导致微菌核形成速度的大大降低。因此,今后的研究还需在转录和蛋白水平解析 cAMP 对向日葵黄萎病菌微菌核的抑制机制,以及寻找 cAMP 抑制黄萎病菌微菌核形成的靶标等方面。这些研究结果将对解析向日葵黄萎病菌微菌核的形成机制以及研发防控向日葵黄萎病菌的有效药剂奠定坚实的理论基础。

## 参考文献:

[1] 商鸿生,胡小平. 向日葵的检疫性有害生物[J]. 植物检疫,2001,15(3):152-154.

[2] 曹丽霞,徐利敏,云晓鹏,等. 内蒙古地区向日葵主要病虫害发生现状及研究建议[J]. 内蒙古农业科技,2009(6):83-85.

[3] 王 玲,王淑红,何建国,等. 向日葵病害发生原因与防治对策[J]. 甘肃科技,2010(7):162-163.

[4] 王玉杰,裴 旭,高凤竹,等. 不同向日葵品种对黄萎病的抗性[J]. 植物保护,2011,37(4):120-123.

[5] Pegg G F, Brady B L. *Verticillium* wilts[M]. Walling-

ford, UK: CABI Publishing, 2002.

- [6] Qin Q M, Vallad G E, Wu B M, et al. Phylogenetic analyses of phytopathogenic isolates of *Verticillium* spp[J]. *Phytopathology*, 2006, 96(6):582-592.
- [7] Huisman O C. Interrelations of root growth dynamics to epidemiology of root - invading fungi[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1982, 20(1):303-327.
- [8] Klosterman S J, Atallah Z K, Vallad G E, et al. Diversity, pathogenicity, and management of *Verticillium* species[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2009, 47:39-62.
- [9] Subbarao K V, Hubbard J C. Interactive effects of broccoli residue and temperature on *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil and on wilt in cauliflower[J]. *Phytopathology*, 1996, 86(12):1303-1310.
- [10] Gordee R S, Porter C L. Structure, germination, and physiology of microsclerotia of *Verticillium albo - atrum* [J]. *Mycologia*, 1961, 53(2):171-182.
- [11] Gao F, Zhou B J, Li G Y, et al. A glutamic acid - rich protein identified in *Verticillium dahliae* from an insertional mutagenesis affects microsclerotial formation and pathogenicity[J]. *PLoS One*, 2010, 5(12):e15319.
- [12] Tzima A K, Paplomatas E J, Rauyaree P, et al. *Vd-SNF1*, the sucrose nonfermenting protein kinase gene of *Verticillium dahliae*, is required for virulence and expression of genes involved in cell - wall degradation[J]. *Molecular Plant - Microbe Interactions*, 2011, 24(1):129-142.
- [13] Klimes A, Dobinson K F. A hydrophobin gene, *VDH1* is involved in microsclerotial development and spore viability in the plant pathogen *Verticillium dahliae*[J]. *Functional Genetics and Biology*, 2006, 43(4):283-294.
- [14] Tran V T, Braus - Stromeyer S A, Kusch H, et al. *Verticillium* transcription activator of adhesion *Vta2* suppresses microsclerotia formation and is required for systemic infection of plant roots[J]. *New Phytologist*, 2014, 202(2):565-581.
- [15] 刘孟军,王永蕙. 枣和酸枣等 14 种园艺植物 cAMP 含量的研究[J]. 河北农业大学学报, 1991(4):20-23.
- [16] Kulkarni R D, Dean R A. Identification of proteins that interact with two regulators of appressorium development, adenylate cyclase and cAMP - dependent protein kinase A, in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2004, 270(6):497-508.
- [17] Pandey A K, Jain P, Podila G K, et al. Cold induced *Botrytis cinerea* enolase (BcEnol - 1) functions as a transcriptional regulator and is controlled by cAMP[J].

- Molecular Genetics and Genomics,2009,281(2):135 – 146.
- [18] Martínez – Espinoza A D, Ruiz – Herrera J, León – Ramírez C G, et al. MAP kinase and cAMP signaling pathways modulate the pH – induced yeast – to – mycelium dimorphic transition in the corn smut fungus *Ustilago maydis* [J]. Current Microbiology, 2004, 49 (4) : 274 – 281.
- [19] Kronstad J W, Hu G, Choi J. The cAMP/protein kinase A pathway and virulence in *Cryptococcus neoformans* [J]. Mycobiology, 2011, 39(3) :143 – 150.
- [20] Freitas F Z, Paula R M, Barbosa L C B, et al. cAMP signaling pathway controls glycogen metabolism in *Neurospora crassa* by regulating the glycogen synthase gene expression and phosphorylation [J]. Fungal Genetics and Biology, 2010, 47(1) :43 – 52.
- [21] Liebmann B, Gattung S, Jahn B, et al. cAMP signaling in *Aspergillus fumigatus* is involved in the regulation of the virulence gene *pksP* and in defense against killing by macrophages [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2003, 269(3) :420 – 435.
- [22] Borges – Walmsley M I, Walmsley A R. cAMP signaling in pathogenic fungi: control of dimorphic switching and pathogenicity [J]. Trends in Microbiology, 2000, 8 (3) :133 – 141.
- [23] Tzima A, Paplomatas E J, Rauiyaree P, et al. Roles of the catalytic subunit of cAMP – dependent protein kinase A in virulence and development of the soilborne plant pathogen *Verticillium dahliae* [J]. Fungal Genetics and Biology, 2010, 47(5) :406 – 415.
- [24] Rollins J A, Dickman M B. Increase in endogenous and exogenous cyclic AMP levels inhibits sclerotial development in *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(7) :2 539 – 2 544.
- [25] Flood J, Isaac I, Milton J M. Reactions of some cultivars of lucerne to various isolates of *Verticillium albo – atrum* [J]. Plant Pathology, 1978, 27(4) :166 – 169.
- [26] Alspaugh J A, Perfect J R, Heitman J. *Cryptococcus neoformans* mating and virulence are regulated by the G – protein  $\alpha$  subunit GPA1 and cAMP [J]. Genes & Development, 1997, 11(23) :3 206 – 3 217.

(责任编辑:郭学兰)