

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201702009

引文格式: 孙淑豪, 胡彦如, 余迪求. HDA19 调控拟南芥对真菌 *Botrytis cinerea* 的抗性反应 [J]. 广西植物, 2017, 37(11):1355–1367
SUN SH, HU YR, YU DQ. Regulation of HDA19 on resistance of *Arabidopsis thaliana* to *Botrytis cinerea* [J]. *Guihaia*, 2017, 37(11):1355–1367

HDA19 调控拟南芥对真菌 *Botrytis cinerea* 的抗性反应

孙淑豪, 胡彦如, 余迪求*

(中国科学院西双版纳热带植物园 热带植物资源可持续利用重点实验室, 昆明 650223)

摘要: HDACs(Histone deacetylase)家族蛋白质负责组蛋白 H3K4 和 H4K19 脱乙酰化,并参与植物生长和应激反应的信号转导过程。茉莉酮酸酯 Jasmonates(JA)是一种重要的天然植物激素,不仅调节植物生长和发育而且还参与植物对多种逆境胁迫响应的信号转导和调控过程。但是,HDACs 在植物中参与 JA 信号转导的具体机制目前还不是很清楚。该研究以 HDA19(Histone deacetylase 19)为对象,探讨了 HDACs 在植物 JA 信号转导中的功能和作用。结果表明:HDA19 的 T-DNA 插入纯合突变体在 JA 处理条件下没有出现明显的 JA 根长反应。在相同处理条件下,hda19 的不同突变体株系与相同生态型背景的野生型植株(WT)花色苷含量无显著差异,但下游 JAZ1、VSP1 等 JA 信号通路的标记基因都显著上调表达。同时,hda19 相比于 WT 对真菌 *Botrytis cinerea* 的抗性显著增强,且 hda19 中下游基础防御标记基因 PDF1.2、Thi2.1、ERF1 等的表达水平显著高于 WT。基于上述研究结果,该研究认为 HDA19 通过 JA 信号通路负调控拟南芥对真菌 *B. cinerea* 的防御反应。

关键词: HDA19, JA, *Botrytis cinerea*, 生物胁迫

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2017)11-1355-13

Regulation of HDA19 on resistance of *Arabidopsis thaliana* to *Botrytis cinerea*

SUN Shu-Hao, HU Yan-Ru, YU Di-Qiu*

(Key Laboratory of Tropical Plant Resources and Sustainable Use, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: HDACs(Histone deacetylase) family proteins are responsible for the deacetylation of histones H3K4 and H4K19 and are involved in signal transduction processes of plant growth and stress. Jasmonates(JA) is an important natural plant hormone that not only regulates plant growth and development but also participates in the process of signal transduction and regulation of plant responses to multiple stress conditions. However, the specific mechanism by which HDACs participate in JA signal transduction is not very clear. We investigated the function and role of HDACs in plant

收稿日期: 2017-03-21 修回日期: 2017-04-30

基金项目: 国家自然科学基金(U1202264); 云南省创新研究团队项目(2014HC017) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (U1202264); Innovation Research Team of Yunnan Province (2014HC017)].

作者简介: 孙淑豪(1992-),女,河南开封人,硕士,研究方向为植物逆境信号转导,(E-mail)sunshuhao@xtbg.ac.cn。

*通信作者: 余迪求,博士,研究员,研究方向为植物逆境生理,(E-mail)ydq@xtbg.ac.cn。

JA signal transduction with *HDA19* (Histone deacetylase 19). In this study, we found that the *HDA19* T-DNA insertion homozygous mutant did not show a significant JA root length response treated by MeJA. Under the same conditions, there was no significant difference in anthocyanin content between different mutant lines of *hda19* and WT plants of the same ecotype background. However, *JAZ1*, *VSP1* and other downstream JA signaling pathway marker genes were significantly up-regulated expression. At the same time, the resistance of *hda19* to fungi *Botrytis cinerea* was significantly enhanced compared with WT, and the expression levels of basic defense marker genes *PDF1.2*, *Thi2.1* and *ERF1* were significantly higher than WT in *hda19*. Based on these results, we believe that *HDA19* negatively regulates *Arabidopsis thaliana* defense against *Botrytis cinerea* via JA signaling pathway.

Key words: *HDA19*, JA, *Botrytis cinerea*, biological stress

在自然界中,植物不仅受到非生物条件,如干旱、寒冷、冷冻、高温和洪水的威胁;而且还受到病毒、细菌、真菌和昆虫等病原体引起的生物胁迫的侵害。在长期的进化过程中,植物和病原体不断相互适应,使植物进化出一系列防御措施来抵抗病原体的侵染。植物针对细菌或真菌病原体的免疫应答,主要通过依赖于一组病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)来识别保守的病原体信号分子(Boller & He, 2009)。PTI(PAMP-triggered immunity)抗性病毒病原体的功能已在哺乳动物细胞中得到报道,但在植物中尚未完全了解(Calil & Fontes, 2016)。然而,最近的几项研究发现了PTI和其相关成分也参与植物抗病毒防御反应的证据(Korner et al, 2013; Nicaise, 2014; Iriti & Varoni, 2015; Calil & Fontes, 2016; Nicaise & Candresse, 2016; Niehl et al, 2016)。一般来说,植物主要基于RNA或蛋白质介导病毒病原体触发的防御反应的。其中,主要涉及宿主RNA介导的RNA沉默途径的抗性反应,这是病毒侵入触发的基础防御反应,这个途径通过对病毒RNA的切割达到抗病毒感染植物体的目的。除了这种基础防御反应外,还有宿主抗性(R)蛋白介导的针对病毒病原体的防御反应,这条途径能在大多数情况下限制病毒复制和传播(Zhou & Chai, 2008; Verlaan et al, 2013; Nakahara & Masuta, 2014)。R基因介导效应物触发的免疫(effector-triggered immunity, ETI)是PTI的高度扩增版本(Jones & Dangl, 2006)。PTI和ETI的开放转导可激活下游如茉莉酸(JA)、水杨酸(SA)、乙

烯(ET)等信号通路,调节免疫相关基因表达,达到帮助植物预防病原体感染的目的。

由脂质衍生的植物激素茉莉酮酸酯Jasmonates(JAs)不仅响应于植物生长和发展,同时也参与病原体和草食动物的防御反应。生物胁迫或非生物胁迫将促使植物茉莉酮酰-L-异亮氨酸(JA-Ile)含量的升高,被其共受体COI1-JAZ所感知,随后通过SCF^{COI1}-26S蛋白酶体途径降解抑制子JAZs蛋白(Xu et al, 2002; Chini et al, 2007; Thines et al, 2007; Yan et al, 2009; Sheard et al, 2010)。JAZs蛋白,具有Jas和ZIM结构域,通过与广泛的转录因子相互作用负调节茉莉酮酸信号;JAZs降解使这些调控因子释放,随后激活下游生长发育和应激反应相关的响应基因等下游信号。在这些下游调节因子中,bHLH家族转录因子JASMONATE INSENSITIVE1(JIN1/MYC2),MYC3和MYC4是JAZ蛋白质的直接靶标,调控例如抑制根伸长和防御反应等过程(Boyer et al, 2004; Lorenzo et al, 2004; Chini et al, 2007; Dombrecht et al, 2007; Fernández-Calvo et al, 2011)。此外,JA还负责植物繁殖、其他生长和发育过程;包括侧向和不定根形成,雄性能育性,花青素积累,种子萌发,叶片衰老,以及腺毛状体、树脂管和蜜腺的形成(Wasternack & Hause, 2013; Campos et al, 2014; Kazan, 2015; Wasternack & Strnad, 2016; Staswick et al, 1992; Feys et al, 1994; Pauwels et al, 2010; Mcconn & Browse, 1996; Sanders et al, 2000; Stintzi & Browse, 2000; Cheng et al, 2009; Franceschi & Grimes, 1991; Shan et al, 2009; Ueda & Kato, 1980; Schommer et al, 2008; Shan et al, 2011)。JAs还帮

助植物防御各种草食动物以及坏死性病原体的侵染 (Howe & Jander, 2008; Antico et al, 2012; Erb et al, 2012; Campos et al, 2014; Yan & Xie, 2015)。JA 参与植物防御叶食性昆虫, 如毛虫和甲虫; 以及穿刺吸食昆虫, 如蓟马、叶蝉、叶螨、真菌瘿和虫蛆; 防御利用管针器在韧皮部进食的蚜虫和白蛉, 以及在叶片上下表面之间软组织上进食的昆虫等 (Howe & Jander, 2008; Campos et al, 2014; Lu et al, 2015; Goossens et al, 2016)。除草食动物外, JA 信号介导植物对抗坏死性病原体的防御, 如细菌病原体红色腐质杆菌 (胡萝卜软腐欧文氏菌亚种)、真菌病原体如链格孢菌、*Botrytis cinerea*、*Plectosphaerella cucumerina* 和尖孢镰刀菌, 以及卵菌 (Campos et al, 2014; Yan & Xie, 2015)。

组蛋白乙酰化不仅是最早被研究报道的组蛋白化学修饰, 而且还是组蛋白翻译后修饰的表征之一 (Allfrey et al, 1964)。负责催化组蛋白乙酰化的酶称为组蛋白乙酰转移酶 (HAT) (Gallwitz, 1971), 相对的组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 基于其能从组蛋白中除去乙酰基的能力而命名。然而, 这些酶还利用除组蛋白之外的蛋白质作为催化底物, 如转录因子或基因转录的配体调节剂等 (Chen & Tian, 2007)。核小体的四种核心组蛋白均可被乙酰化/去乙酰化修饰, 且核小体已被报道包含 26 个确定的乙酰化位点。Lusser et al (2001) 发现在植物中, H3 的赖氨酸残基的第 9、第 14、第 18 和 23 位点以及 H4 的赖氨酸残基的第 5、8、12、16 和 20 位点都能够被乙酰化和脱乙酰化 (Fuchs et al, 2006) 修饰通过改变染色质结构调节基因转录、DNA 复制和 DNA 修复等过程 (Bertos et al, 2001)。组蛋白乙酰化可降低相邻核小体之间的相互作用, 并防止核小体压缩成 30 nm 染色质纤维, 从而松散染色质结构促进转录起始 (Shahbazian & Grunstein, 2007)。由 HDAC 介导的低乙酰化则是促进染色质丝螺旋化使结构更致密, 阻断转录因子到靶基因的接触导致基因的阻遏/沉默 (Hollender & Liu, 2008)。除了改变染色质结构, 组蛋白乙酰化还能改变核小体的表面活性, 并调控参与基因转录蛋白质的结合 (Berger, 2007; Shahbazian & Grunstein, 2007)。在过去 10 年中,

植物 HDACs 得到更多的关注, 许多 HDACs 家族成员从植物如玉米、拟南芥、水稻、大麦 (Demetriou et al, 2009)、马铃薯 (Lagace et al, 2003)、葡萄 (Busconi et al, 2009) 和烟草 (Bourque et al, 2011) 中分离鉴定。即使在木本植物山毛榉中, HDACs 也已被鉴定。基于和酵母 HDACs 的序列同源性, 植物 HDACs 被分为三个不同的亚家族, 其中两个主要的亚族为植物和其他真核生物共有: RPD3 (reduced potassium dependency protein 3)-HDA1 (HDAC1) 亚家族和 SIR2 (silent information regulator 2) 亚家族。第三个亚家族 HD2 家族在植物细胞中特异存在, 且至少在结构水平上严格区别于其他家族 (Fu et al, 2007)。第一个被分离的植物 HDACs-ZmRpd3-属于 RPD3-HDA1 超家族, 在玉米中被鉴定并发现其在功能上补充酵母 *rp3* 突变体 (Rossi et al, 1998)。在拟南芥中, 编码具有脱乙酰酶活性蛋白质的 18 个基因中, 根据聚类模式和引导支持, 鉴定了 12 个 ZmRPD3 的 HDACs 同源物并分类为三个不同的类别: I 类 (由 HDA6、7、9、10、17 和 19 组成也称为 HDA1) 由 RPD3 结构类似来限定; II 类 (包括 HDA5、15 和 18) 定义 HDA1 样组; IV 类 (仅由一个成员 HDA2 组成) 定义为 AtHDA2 组 (Alinsug et al, 2009, 2012), 后一类在一些其他研究中也称为 III 类 (Hollender & Liu, 2008)。其他 RPD3 HDACs 即 HDA8 和 HDA14 未分类。

在 RPD3/HDA1 家族的 12 个成员中, 只有 HDA6 和 HD1/HDA19 已经被广泛研究。同时人们发现在拟南芥中, 各种亚细胞区室中的大量非组蛋白也可以被乙酰化 (Finkemeier et al, 2011; Tran et al, 2012; Wu et al, 2011)。然而, 所有这些 HDACs 的分子靶点仍然很大程度上未知。HDACs 基因的表达响应于应激, 并且由应激相关激素如水杨酸 (SA)、茉莉酸 (JA) 或脱落酸 (ABA) 调节 (Fu et al, 2007; Hu et al, 2009; Xu et al, 2013)。SA 和 JA 介导植物防御反应, 而 ABA 则参与水胁迫反应调节植物水平衡和渗透胁迫耐受性。HDA6 在许多基本过程中起作用, 例如转录基因沉默 (Probst et al, 2004)、开花和衰老 (Wu et al, 2000) 或 ABA (脱落酸) 和盐信号传导 (Chen et al, 2010)。

据报道 HD1/HDA19 可以调节胚胎发育 (Tanaka et al, 2008), 也参与对生物和非生物胁迫的调控反应 (Song et al, 2005; Chen & Wu, 2010; Choi et al, 2012)。在拟南芥中, JA 信号诱导了 *AtHDA6* 和 *AtHDA19* 的表达 (Zhou et al, 2005)。HDACs 基因的表达可能影响植物生长和发育, 产生各种可见表型。RPD3 同源 HDACs 基因 (*AtHDA6*, *AtHDA9* 和 *AtHDA19*) 的表达谱高度相似 (Xu et al, 2013)。拟南芥 *AtHDA19* 定位于核独立区域, 负责全局转录调控 (Fong et al, 2006)。拟南芥 *AtHDA19* 可在整个胚胎发生过程中表达, 并与 Topless-1 (TPL-1) (转录共抑制子) 一起作用, 以确保枝杆的正确发育 (Long et al, 2006)。*AtHDA19* 的转录可被病原体相关激素 (如 JA 和乙烯) 和真菌病原体链格孢菌 (*Alternaria brassicicola*) 诱导 (Zhou et al, 2005)。研究发现 *AtHDA19* 与转录因子 WRKY38 和 WRKY62 相互作用, WRKY38 和 WRKY62 是植物病害抗性的负调节物, HDA19 可以消除它们靶基因激活物的活性。最近, Choi et al (2012) 报道在拟南芥中, *AtHDA19* 在由依赖 SA 信号传导途径介导的基础防御中起负调控作用。*AtHDA19* 也可以由另一种细菌病原体, 假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*) 诱导 (Kim et al, 2008)。

本研究发现, *HDA19* 受 JA 信号的调控。但是, 令人惊讶的是, *hda19* 在 JA 处理下没有显示明显的 JA 根长度反应。花青素含量测定结果显示, 不同突变体株系的 *hda19* 在相同的处理条件下与野生型相比没有显著差异, 但它们体内花色素苷的含量却都显著高于 *myc234*。然而, *hda19* 相比于野生型却增强了拟南芥对真菌 *B. cinerea* 的抗性, *hda19* 下游抗病相关标记基因 *PDF1.2*、*Thi2.1*、*ERF1* 的表达水平都高于 WT。本研究结果表明, *HDA19* 在 JA 调节的植物对真菌疾病抗性中发挥负调节作用。

1 材料与方法

1.1 材料和植物生长条件

所有 *hda19* 的纯合 T-DNA 插入突变体都是 Columbia-0 遗传背景。从 Arabidopsis Biological Re-

source Center 购买 *hda19-4* (SALK _ 139443)、*hda19-5* (CS370961) 和 *hda19-6* (SALK _ 027241C), 并通过两对引物筛选, 见表 1。突变体 *myc234*、*myc2* 已在 Patricia et al (2011) 中报道。在本研究中, 野生型和突变植物用于 Columbia-0 遗传背景, 先进行种子表面灭菌 [20% (v/v) 漂白 15 min], 然后播种在半倍 Murashige 和 Skoog (1/2 MS) 培养基并在 4 °C 下保持 3 d。将一周龄的植物转移到土壤中。将该植物在 22 °C 下 10 h 光/14 h 暗光周期下的人工生长室中生长。植物激素 MeJA 购自 Sigma-Aldrich。Taq DNA 聚合酶由 Takara Biotechnology 提供, 其他常用化学品从上海 Sangon 购买。

1.2 JA 处理

为了测量茉莉酮酸处理的幼苗根长度的变化, 将拟南芥种子在不含或具有 1、10 或 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeJA 的 Murashige 和 Skoog (MS) 琼脂培养基上播种, 在 4 °C 下储存 3 d, 并在 22 °C 垂直生长, 1 周后测量幼苗根长度并进行统计分析。对于每个样品, 用于 JA 处理分析的生物重复不少于 3 次, 并且对于每个试验重复不少于 3 次。

1.3 花青素含量的测定

为了测量花青素含量, 在包含 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeJA 的 MS 琼脂培养基表面生长的 7 d 龄幼苗 WT 和 *hda19-4/5/6* 和 *myc234* [在称重 W (g)] 各加入 1 mL 盐酸甲醇提取物 (甲醇: 盐酸体积比为 99 : 1), 保持在 4 °C 暗处并连续振荡 24 h。13 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取浸出液在 530 nm 波长和 600 nm 波长处测量吸光度, 花色素苷的相对含量用公式 $(\text{OD}_{530} - 0.25 \times \text{OD}_{600}) / W$ 计算。

1.4 RNA 提取和 qRT-PCR

使用 Trizol 试剂 (Invitrogen) 从拟南芥幼苗中提取总 RNA。如 Hu et al (2012) 所述进行 qRT-PCR。简言之, 第一链 cDNA 使用具有 oligo (dT) 18 引物的 M-Mu LV 逆转录酶 (Fermentas), 其在 20 mL 反应体系中由 1.5 mg DNA 酶处理的 RNA 合成。在 Roche Light Cycler 480 实时 PCR 仪上, 根据制造商的说明书使用 2 $\times$ SYBR Green I master mix 进行 qRT-PCR。在本研究中, 每个样品用于 qRT-PCR 分析的生物学重复多于 3 次, 并且对每

表 1 HDA19 突变体编号及鉴定引物

Table 1 HDA19 mutant codes and identification of primers

突变体株系 Mutant line	T-DNA 编号 Code of T-DNA	左端引物 Left primer	右端引物 Right primer
<i>hda19-4</i>	SALK_139443	GGCAATTACTACTATGGCCAAGG	TGCGGATAGTGTAACCAACCAC
<i>hda19-5</i>	CS370961	TGCTGCTCTAGTGCTCTGTTTC'	CACCATCAGGTCCGGACG
<i>hda19-6</i>	SALK_027241C	CTGTAGCCTAGCTTCCTTGTTAAC	CATAGAAATAACAACTTTCCTCTTCAC

表 2 qRT-PCR 引物

Table 2 Primers of qRT-PCR

基因 Gene	左端引物 Left primer	右端引物 Right primer
<i>ACTIN2</i>	TGTGCCAATCTACGAGGGTTT	TTTCCCGCTCTGCTGTTGT
<i>UF3GT</i>	CGATGTGGGAGTCGTTGATG	TCACAGCATTCTCCAAGCTTTG
<i>DFR</i>	CCAAATTTCTCAGGCCAAAATA	TCAGCTTCTTGAACTGAATTCA
<i>LOX2</i>	ATGAGCCTGTTATCAATGCTGC	AACACCAGCTCCAGCTCTATTCTT
<i>LOX3</i>	AAGTTTATGGCCGTGCTTGATAC	AATCTCTTTCTCTATCCGTCGGAT
<i>JAZ1</i>	TATATTCTACGCCGGGCAAGT	TGCGATAGTAGCGATGTTGC
<i>VSP1</i>	GTCAGAAAGTCACTGTCGAGAATCTC	CCTTCTCTCACAAAGGCTATT CCTA
<i>β-tubulin</i>	CCCCCTGCATTCTACGTCTC	CGTGAGTAACTCCGTCACCG
<i>ERF1</i>	TGGTTGTTCTCCGTTGTGG	CGGAGCGGTGATCAAAGTCA
<i>PR5</i>	TTGTCTCCCACGGACTACT	TCCGTACAAGTGAAGGTGC
<i>VSP2</i>	GCTCGGGATTGAACCCATCA	ATGCTTCCAGTAGGTCACGC
<i>PDF1.2</i>	AGGGGTTTGCGGAAACAGT	ACTTGTGTGCTGGGAAGACAT
<i>Thi 2.1</i>	CGAGGTTGGGTAAACGCCAT	AGTGTTTCATGGCACCACACA

个生物学重复分析至少有两个技术重复。拟南芥 *ACTIN2* 基因用作基因表达的内部对照。用于检测转录物的基因特异性引物,见表 2。

1.5 病原体感染试验

如先前所述, *B. cinerea* 在 2×V8 琼脂上生长 (Mengiste et al,2003)。为了感染植物,从 10 d 龄的真菌培养物收集分生孢子,并在 Sabouraud Maltose Broth 中调节孢子密度,使用 Preval 喷雾器喷雾。将接种的植物在生长室中保持在黑暗高湿度下,并观察从 3~5 dpi 的症状发展。通过从接种的植物分离的总 RNA 的 qRT-PCR 定量真菌病原体的生物量。

1.6 统计分析

基于通过 Sigma Plot 10.0 计算的 Student's 检验的统计学显著性差异 (* $P<0.05$, 或 ** $P<0.01$, *** $P<0.001$) 数据是五个独立实验重复的平均值 ± 标准差。

1.7 登录号

本研究讨论的拟南芥基因组基因登录号如下: HDA19, AT4G38130; MYC2, AT1G32640; MYC3, AT5G46760; MYC4, AT4G17880; LOX2, AT3G45140; LOX3,AT1G17420; JAZ1,AT1G19180; DFR,AT5G42800 UF3GT, AT5G54060; VSP1, AT5G24780; VSP2, AT5G24770; ERF1,AT3G23240; JR1,AT3G16470; PR4,

AT3G04720; PR5, AT1G75040; PDF1. 2, AT5G44420; Thi2.1, AT1G72260 和 ACTIN2, AT3G18780。

2 结果与分析

2.1 HDA19 不参与 JA 调节的根长反应

HDA19 是受植物激素信号 JA 的诱导表达的, 我们怀疑 *hda19* 是否具有典型的 JA 根长反应。和不含 MeJA 的 1/2 MS 培养基上生长的幼苗相比, 在含有 MeJA 的 1/2MS 培养基上生长的野生型拟南芥幼苗具有典型的根长变短的表型。功能缺失的 JA 相关突变体如 *coi1-2* 和 *myc2* 对 MeJA 信号不敏感, 在含有 JA 的条件下根长并没有受抑制, 显示出了比 WT 显著变长的根长表型。

为了检测 *hda19* 突变体是否影响 JA 信号传导过程, 我们在同一批次中收获 *hda19-4*, *hda19-5* 和 *hda19-6* 种子, 播种到具有不同 MeJA 浓度的 1/2 MS 培养基表面, Columbia 生态型背景野生型种子 WT 和 *myc234* 三突变体拟南芥种子作为对照。结果表明, 三种不同的突变株 *hda19-4*, *hda19-5* 和 *hda19-6* 与野生型一样对 JA 信号敏感(图 1)。同时, 对不同浓度下幼苗的根长进行了统计分析, *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6* 和 WT 相比没有显著差异, 但它们与 *myc234* 的根长有显著差异(图 2)。本研究重复 6 次, 每次都得到相同的实验结果。

2.2 *hda19* 的花色素含量明显高于 *myc234*

JA 浓度增加能诱导植物体积累大量的花色素苷, 表现为植物体颜色加深, 植株显示出紫红色的表型。本研究测量了不同 JA 处理时间 *hda19* 突变体株系体内的花色素苷含量。结果表明 *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6* 的花青素含量显著高于 *myc234*, 但 *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6* 的花色苷含量与 WT 差异并不显著(图 3:A)。为在分子水平上验证这一结果, 我们对拟南芥花青素生物合成基因 *UF3GT*, *DFR* 的表达量进行 qRT-PCR 分析。分别对用 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeJA 处理的 7 d 龄幼苗 *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6*, WT, *myc234* 在不同处理时间进行采样。在 *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6* 和 WT 中花青素生物合成基因的转录水平显著高于 *myc234*, 但是 *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6* 与 WT 相比, 花青素生物

合成基因在幼苗中的表达差异并不显著。定量结果与本研究观察到的表型结果一致, 该实验重复了至少 3 次(图 3:B)。

2.3 *hda19* 突变体中的 JA 下游基因表达量显著增加

在这些突变体中, 测定了 JA 信号传导途径中标记基因的表达水平。对不同处理时间 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeJA 处理的 7 d 龄的 *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6*, WT, *myc234* 幼苗进行取样, 提取这些样品的 RNA, 并通过 qRT-PCR 测量它们 JA 相关标记基因的相对表达。图 4 显示在 *hda19-4*, *hda19-5* 和 *hda19-6* 中的 JA 合酶基因 *LOX2* 和 *LOX3* 表达水平显著高于 WT 和 *myc234* 中的表达水平, 并且在 *myc234* 三突变体中, *LOX2* 和 *LOX3* 的转录水平最低。*JAZ1* 的转录水平与 *LOX2* 和 *LOX3* 的表达情况相似。*JAZ1* 是 MeJA 信号存在后 JA 信号通路开始转导的标志。*JAZ1* 基因表达的显著增加表明 *hda19-4*, *hda19-5* 和 *hda19-6* 突变体内的 JA 信号通路被激活, 这意味着 JA 下游的调节基因将发生转录水平的增加或降低。另外, 在 *hda19-4/5/6* 中 *VSP1* 基因的表达也显著高于 WT 和 *myc234*。这表明 *hda19* 突变体中的防御反应开启且高于 WT 中相关基因的表达水平。

2.4 HDA19 功能的丧失增强了拟南芥对 *Botrytis cinerea* 的基础防御

为检查 HDA19 是否在植物的基础防御过程中起作用, 使用 *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6*, WT 来观察用营养性坏死真菌 *B. cinerea* 处理下它们的表型情况。将这些拟南芥的种子用 20% 消毒剂灭菌, 然后播种至 0.7% Ager 含量的 1/2MS 培养基表面, 在 4 °C 保持 3 d, 然后置于短日照条件下发芽生长 7 d, 并移植到灭菌的土壤中, 培养在恒温 21 °C 的短日培养室生长至 4 周龄。选择生长状态一致的幼苗进行 *B. cinerea* 侵染处理。

用含有 tuwen80 的 SMB 培养基悬浮新培养的 *B. cinerea* 孢子, 并将孢子浓度调整为 5×10^4 个/mL 用于幼苗处理。将孢子均匀地喷洒在植物叶片的表面上, 然后置于高湿度和黑暗条件下培养 3 d, 以观察叶表面上的菌斑生长情况。从图 5:A 可以看出, 在相同的处理条件下, 与所有 WT 死亡的情况相比, *hda19-4*, *hda19-5*, *hda19-6* 突变体对 *B. ci-*

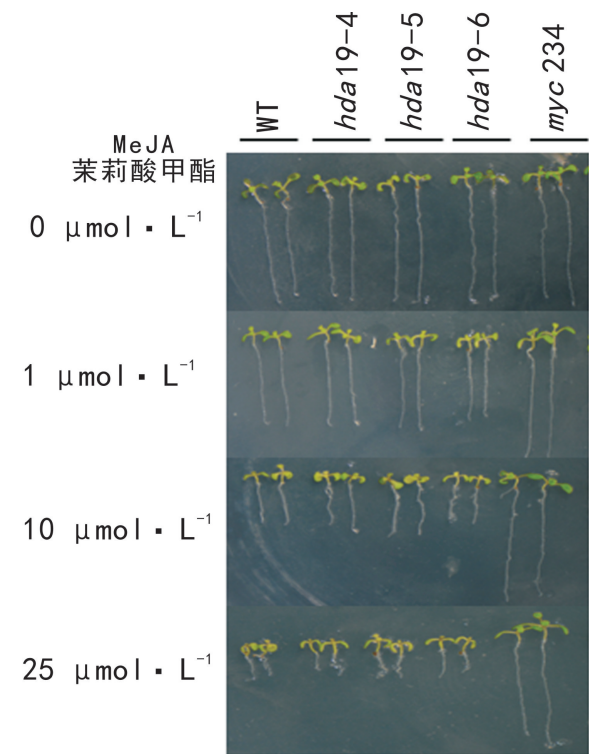


图 1 HDA19 的不同株系的 T-DNA 插入突变体没有典型的 JA 根长反应

Fig. 1 T-DNA insertion mutants of HDA19 without typical JA root length response

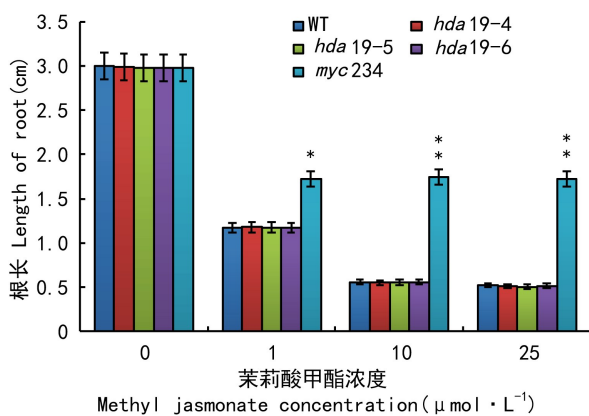


图 2 HDA19 的不同株系的 T-DNA 插入突变体在 JA 处理下的根长统计

Fig. 2 T-DNA insertion mutants of HDA19 root length statistics under JA treatment

nerea 显示出更强的抗性。*hda19-4/5/6* 植株的叶表面菌斑数量和大小明显比 WT 低得多,表明在

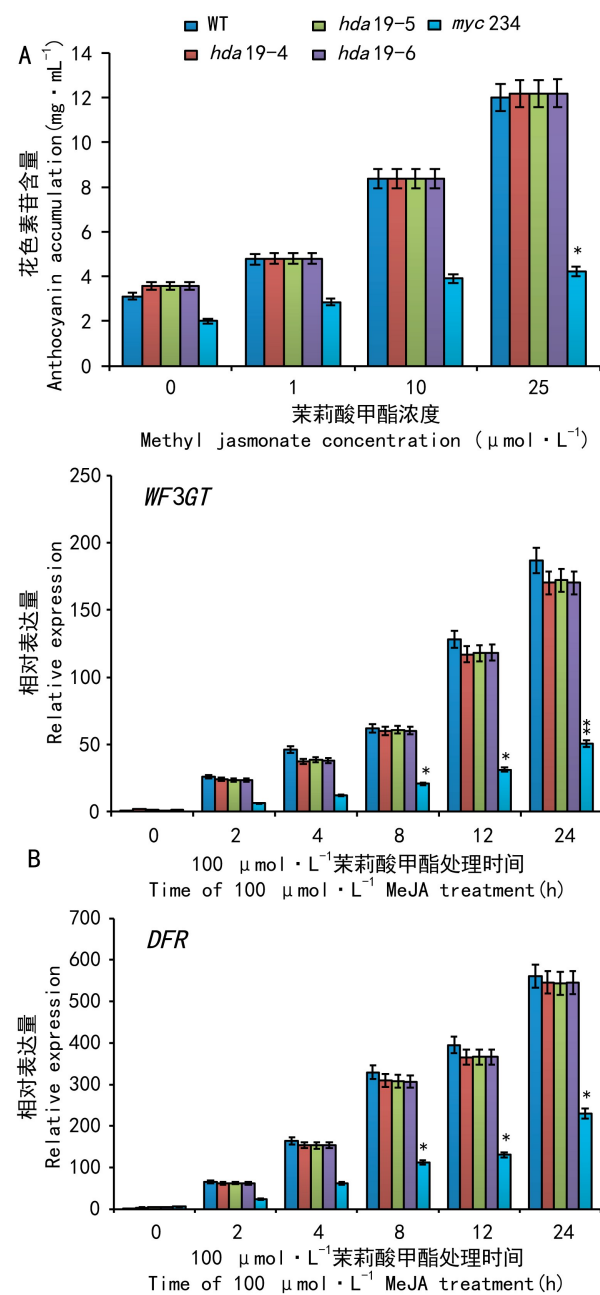


图 3 *hda19* 突变体中的花色素苷含量显著高于 *myc234*

Fig. 3 Anthocyanin content of *hda19* mutant was significantly higher than that of *myc234*

hda19-4/5/6 中的 *B. cinerea* 的菌丝体生长被抑制 (图 5:B)。我们重复这个处理实验至少 3 次,结果是一致的。

2.5 HDA19 功能丧失使抗病相关基因上调表达

为了在分子水平上观察到表型结果,检测了处理植株叶片中 β -tubulin的表达量, β -tubulin是

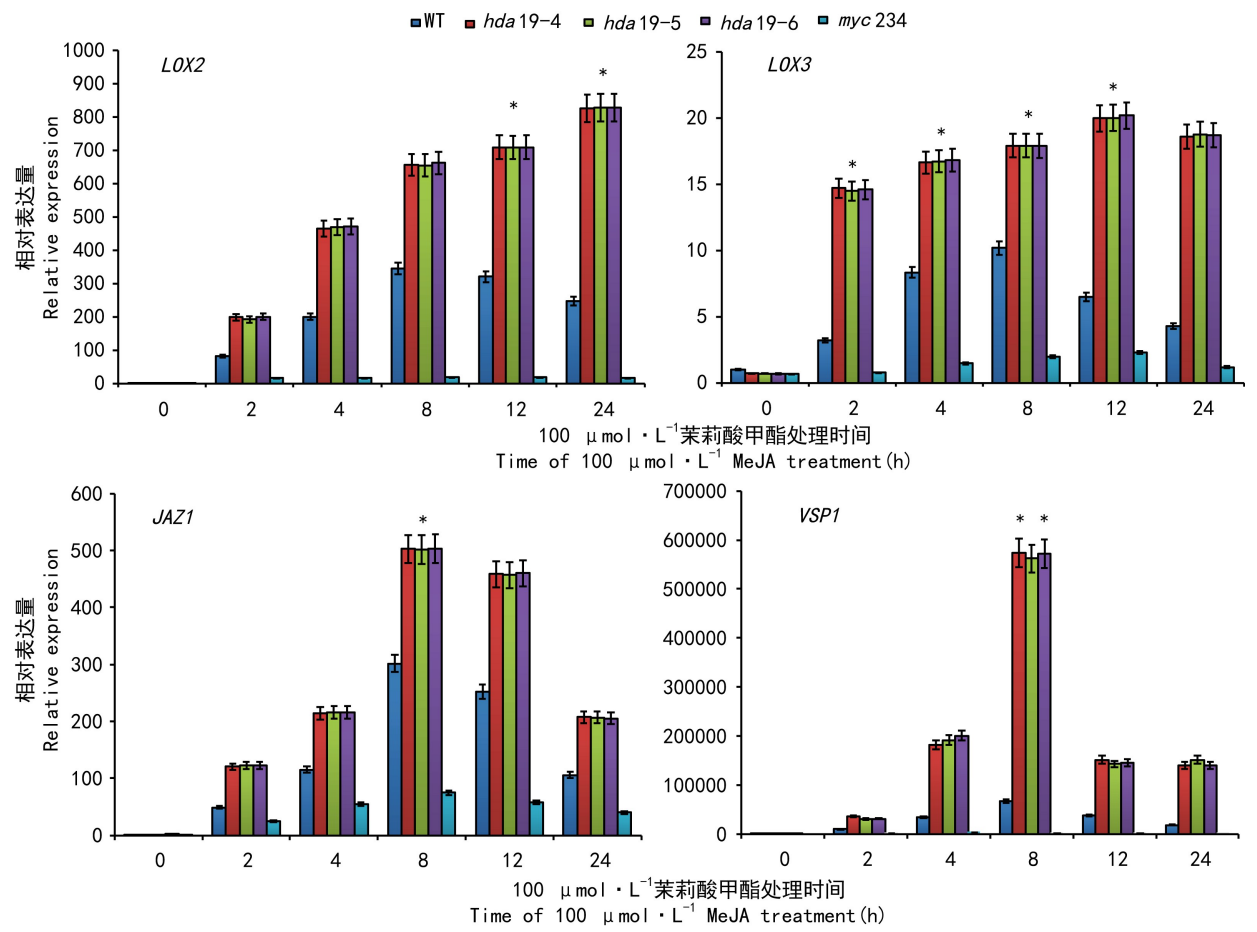


图 4 *hda19* 突变体中的 JA 下游基因表达量显著增加
Fig. 4 Significant increase in JA downstream gene expression in *hda19* mutant

B. cinerea 菌丝体生长量的标记基因。我们在不同的处理时间取样,用未处理的突变体和 WT 作为对照。从图 6 可以看出, *hda19-4*、*hda19-5*、*hda19-6* 中的 β -*tubulin* 表达水平显著低于 WT,表明菌株菌丝体在 WT 中快速生长,而在 *hda19-4/5/6* 植物体内生长受阻,表明 HDA19 损失功能突变增强拟南芥对 *B. cinerea* 的抗性。此外,还测量了下游标记基因 *PDF1.2*、*Thi2.1*、*ERF1*、*VSP2*、*PR5* 等的表达,如图 7 所示,这些基因在 *hda19-4*、*hda19-5* 和 *hda19-6* 中的表达水平,3 个 *hda19* 突变株系中抗性基因的表达量明显高于野生型。这进一步证实, *hda19* 突变体表现出对真菌 *B. cinerea* 的抗性比 WT 更强,且暗示 HDA19 在拟南芥中对病原体胁迫响应的负调节作用。

3 讨论与结论

在本研究中, HDA19 属于拟南芥的组蛋白脱乙酰酶家族的第二亚家族成员,并且据报道它参与到了对细菌 DC300 的抗性反应中 (Sun-Mee et al, 2012)。HDA19 也参与其他生物或非生物胁迫反应以及植物激素 JA/SA/ET 等的信号转导 (Zhou et al, 2005),但具体的调节机制尚未阐述清楚。已经报道 HDA19 确实参与 JA 信号转导过程,我们就怀疑 HDA19 突变体是否有经典的 JA 根长反应。本研究使用 3 个具有不同插入位点的 *hda19* T-DNA 纯合突变体作为对象,来观察当用 JA 处理时它们根长度的变化,结果表明在相同的处理条件

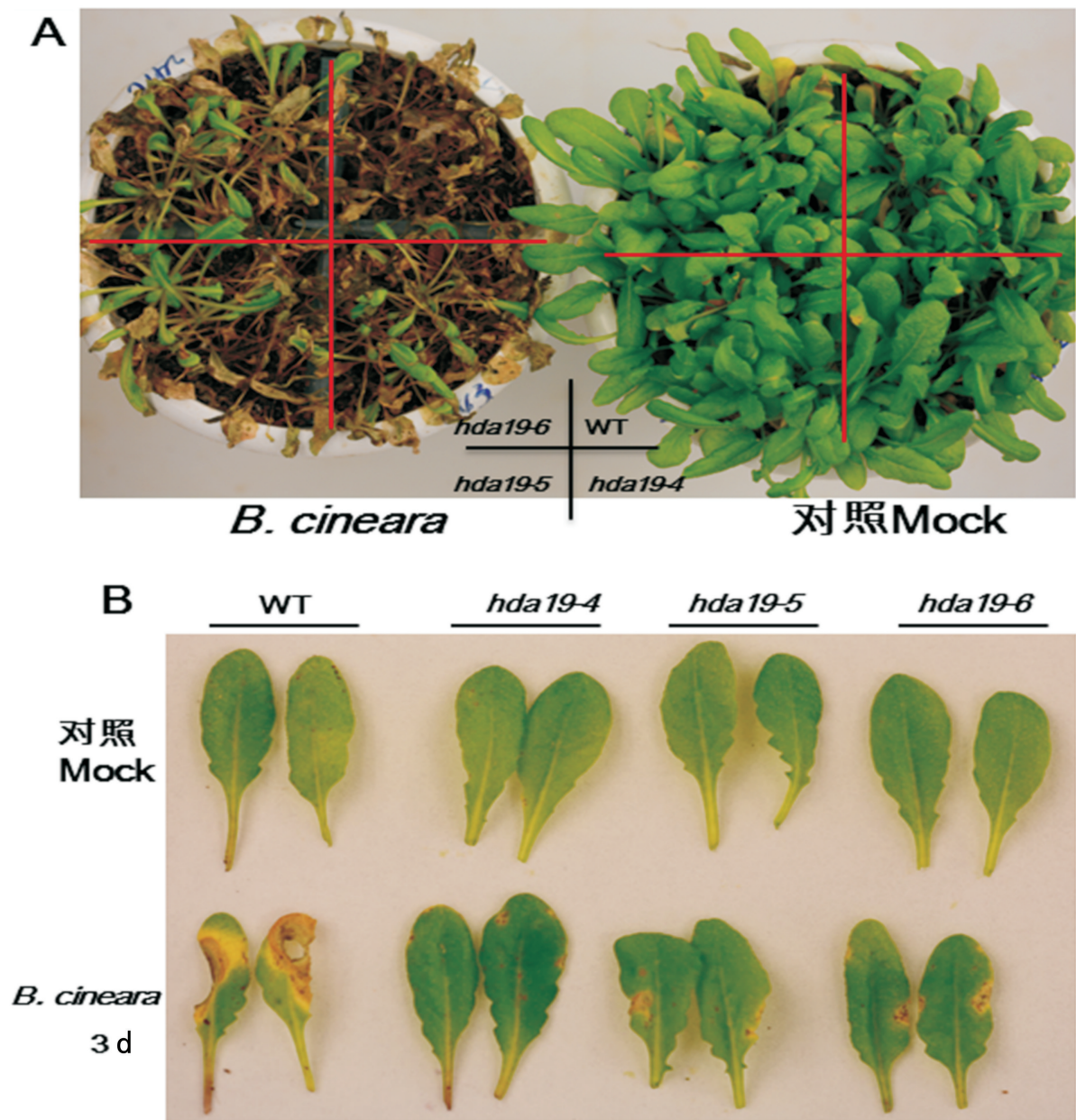


图 5 HDA19 功能的丧失增强了拟南芥对 *B. cinerea* 的基础防御
Fig. 5 Function loss of *HDA19* enhances the basal defense of *B. cinerea* in *Arabidopsis*

下,*hda19-4/5/6* 的根长不显著短于或长于野生型,根长的统计学分析也得到了同样的结论。另外,本研究还测试了该突变体株系中的花色素苷的含量,结果显示与 WT 相比,*hda19-4/5/6* 中的花青素含量没有显著变化。同时还进行了 JA 下游标记基因表达水平的定量分析,以观察 *hda19-4/5/6* 在分子水平是否会响应 JA 信号。花青素合

成酶基因 *UF3GT* 和 *DFR* 的转录水平与 WT 在不同处理时间的转录水平没有显著差异。本研究中 JA 合成相关基因 *LOX2* 和 *LOX3* 的表达水平在 *hda19-4/5/6* 中比 WT 中高得多,表明 *hda19-4/5/6* 突变体中的 JA 合成将显著增加,相应的 JA 信号传导途径也被强烈激活引起下游 JA 相关通路的转导激活或抑制。*hda19-4/5/6* 中 *JAZ1* 和 *VSP2*

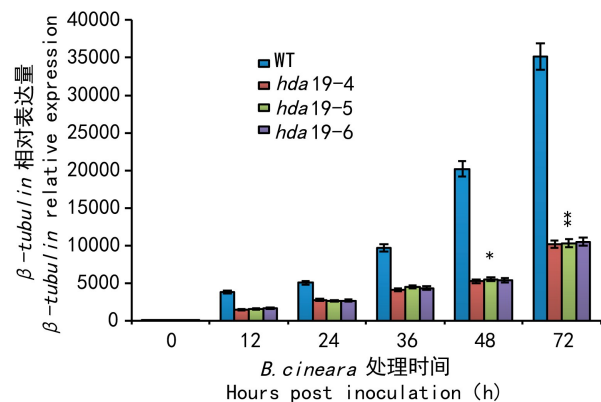


图6 *HDA19* 功能丧失抑制菌丝的生长

Fig. 6 Function loss of *HDA19* inhibits mycelial growth

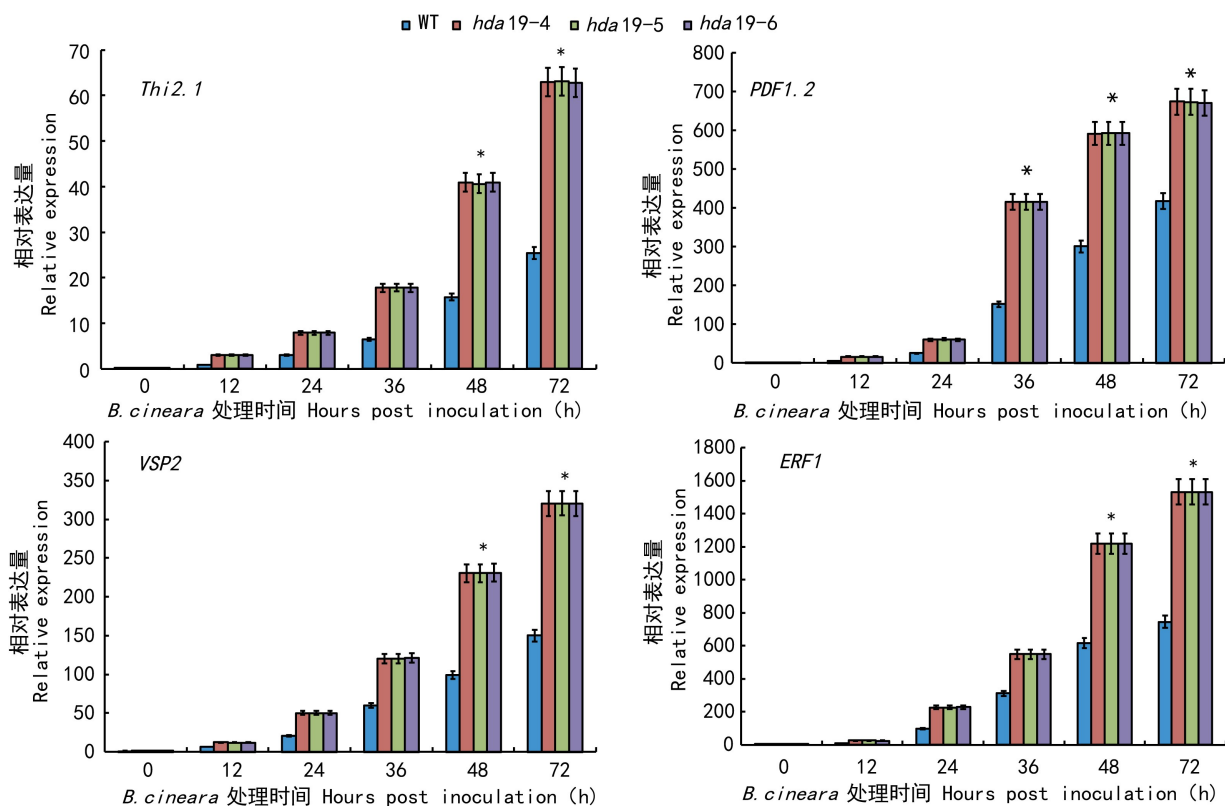


图7 *HDA19* 功能丧失使抗病相关基因上调表达

Fig. 7 Function loss of *HDA19* results in up-regulate expression of disease-related genes

的转录水平显著高于 WT。这些基因的转录使我们更加确信植物中的 JA 信号传导途径被激活,并启动一系列 *HDA19* 突变的 JA 应答基因的转录改变。

早在 2005 年就有 *HDA19* 能由 JA 信号诱导表达的报道 (Zhou et al, 2005)。据报道, *HDA19* 参与植物对细菌 *Pst.* DC3000 的防御功能的调控,我们怀疑其是否参与植物对真菌的抗性过程。在 4 周龄的 *hda19-4/5/6* 和 WT 幼苗上均匀喷洒新培养的 *B. cinerea* 的孢子 (Song et al, 2005; Chen & Wu, 2010; Choi et al, 2012), 并在黑暗和潮湿的环境中处理 3 d 后观察叶片表面菌斑的生长情况。

本研究在相同的处理条件下, WT 植物的所有叶片均已死亡, 且只有 *hda19-4/5/6* 的叶片表面没有或只有少量的菌斑。与 WT 对照组相比, *hda19-4/5/6* 叶片上斑块的数量和大小显著减少, 这些突变体

中的 *B. cinerea* 菌丝的生长受到严重抑制。在这些处理的植物中 β -tubulin 的转录水平的定量分析显示, 与 WT 相比 *hda19-4/5/6* 突变体内的 β -tubulin 的转录水平显著降低。 *HDA19* 的功能缺失

突变增强拟南芥对真菌 *B. cinerea* 的抗性。为了观察 HDA19 突变体中分子水平的表达变化,我们在不同的 MeJA 处理时间点对 JA 和抗病性相关的下游标记基因进行了 qRT-PCR 分析。与 WT 相比, *hda19-4/5/6* 突变体中 *Thi2.1*, *PDF1.2*, *VSP2*, *ERF1* 和 *PR5* 的转录水平显著提高。这些标记基因的定量结果还显示了 HDA19 在分子水平上在植物对真菌感染的抗性的负调节中的作用。基于上述的研究结果,本研究推测 HDA19 通过 JA 信号来负调控拟南芥对真菌 *B. cinerea* 的抗性反应。

参考文献:

- ALINSUG M, YU CW, WU K, 2009. Phylogenetic analysis, subcellular localization, and expression patterns of RPD3/HDA1 family histone deacetylases in plants [J]. *BMC Plant Biol*, 9:37.
- ALINSUG MV, CHEN FF, LUO M, et al, 2012. Subcellular localization of Class II HDAs in *Arabidopsis thaliana*; nucleocytoplasmic shuttling of HDA15 is driven by light [J]. *PLoS ONE*, 7:e30846.
- ALLFREY VG, FAULKNER R, MIRSKY AE, 1964. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 51:786-794.
- ANTICO CJ, COLON C, BANKS T, et al, 2012. Insights into the role of jasmonic acid-mediated defenses against necrotrophic and biotrophic fungal pathogens [J]. *Front Biol*, 7: 48-56.
- BERGER SL, 2007. The complex language of chromatin regulation during transcription [J]. *Nature*, 447: 407-412.
- BERTOS NR, WANG AH, YANG XJ, 2001. Class II histone deacetylases: structure, function, and regulation [J]. *Biochem Cell Biol*, 79:243-252.
- BOLLER T, HE SY, 2009. Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens [J]. *Science*, 324: 742-744.
- BOTER M, RUÍZ-RIVERO O, ABDEEN A, et al, 2004. Conserved MYC transcription factors play a key role in jasmonate signaling both in tomato and *Arabidopsis* [J]. *Genes Dev*, 18: 1577-1591.
- BOURQUE S, DUTARTRE A, HAMMOUDI V, et al, 2011. Type-2 histone deacetylases as new regulators of elicitor-induced cell death in plants [J]. *New phytol*, 192: 127-139.
- BUSCONI M, REGGI S, FOGHER C, et al, 2009. Evidence of a sirutin gene family in grapevine (*Vitis vinifera* L.) [J]. *Plant Physiol Biochem*, 47:650-652.
- CALIL IP, FONTES EP, 2016. Plant immunity against viruses: antiviral immune receptors in focus [J]. *Ann Bot*, doi: 10.1093/aob/mcw200 [Epub ahead of print].
- CAMPOS ML, KANG JH, HOWE GA, 2014. Jasmonate-triggered plant immunity [J]. *J Chem Ecol*, 40: 657-675.
- CHEN LT, WU K, 2010. Role of histone deacetylases HDA6 and HDA19 in ABA and abiotic stress response [J]. *Plant Sign Behav*, 5: 1318-1320.
- CHEN LT, LUO M, WANG YY, et al, 2010. Involvement of *Arabidopsis* histone deacetylase HDA6 in ABA and salt stress response [J]. *J Exp Bot*, 61: 3345-3353.
- CHEN ZJ, TIAN L, 2007. Roles of dynamic and reversible histone acetylation in plant development and polyploidy [J]. *Biochem Biophys Acta Gene Struct Expr*, 1769: 295-307.
- CHENG H, SONG S, XIAO L, et al, 2009. Gibberellin acts through jasmonate to control the expression of *MYB21*, *MYB24*, and *MYB57* to promote stamen filament growth in *Arabidopsis* [J]. *PLoS Genet*, 5: e1000440.
- CHINI A, FONSECA S, FERNÁNDEZ G, et al, 2007. The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signalling [J]. *Nature*, 448: 666-671.
- CHOI SM, SONG HR, HAN SK, et al, 2012. HDA19 is required for the repression of salicylic acid biosynthesis and salicylic acid-mediated defense responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 71(1):135-146.
- DEMETRIOU K, KAPAZOGLU A, TONDELLI A, et al, 2009. Epigenetic chromatin modifiers in barley: I. Cloning, mapping and expression analysis of the plant specific HD2 family of histone deacetylases from barley, during seed development and after hormonal treatment [J]. *Physiol Plant*, 136:358-368.
- DOMBRECHT B, XUE GP, SPRAGUE SJ, et al, 2007. MYC2 differentially modulates diverse jasmonate dependent functions in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 19: 2225-2245.
- ERB M, MELDAU S, HOWE GA, 2012. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions [J]. *Trends Plant Sci*, 17: 250-259.
- FERNÁNDEZ-CALVO P, ANDREA C, GEMMA FERNÁNDEZ B, et al, 2011. The *Arabidopsis* bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses [J]. *Plant Cell*, 23: 701-715.
- FEYS B, BENEDETTI CE, PENFOLD, et al, 1994. *Arabidopsis* mutants selected for resistance to the phytotoxin coronatine are male sterile, insensitive to methyl jasmonate, and resistant to a bacterial pathogen [J]. *Plant Cell*, 6: 751-759.
- FINKEMEIER I, LAXA M, MIGUET L, et al, 2011. Proteins of diverse function and subcellular location are lysine acetylated in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 155:1779-1790.
- FONG PM, TIAN L, CHEN ZJ, 2006. *Arabidopsis thaliana* histone deacetylase 1 (AtHD1) is localized in euchromatic regions and demonstrates histone deacetylase activity *in vitro* [J]. *Cell Res*, 16: 479-488.

- FRANCESCHI VR, GRIMES HD, 1991. Induction of soybean vegetative storage proteins and anthocyanins by low-level atmospheric methyl jasmonate [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88: 6745–6749.
- FU W, WU K, DUAN J, 2007. Sequence and expression analysis of histone deacetylases in rice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 356:843–850.
- FU W, WU K, DUAN J, 2007. Sequence and expression analysis of histone deacetylases in rice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 356: 843–850.
- FUCHS J, DEMIDOV D, HOUBEN A, et al, 2006. Chromosomal histone modification patterns-from conservation to diversity [J]. *Trends Plant Sci*, 11:199–208.
- GALLWITZ D, 1971. Organ specificity of histone acetyltransferases [J]. *FEBS Letters*, 13: 306–308.
- GOOSSENS J, FERNÁNDEZ-CALVO P, SCHWEIZER F, et al, 2016. Jasmonates: signal transduction components and their roles in environmental stress responses [J]. *Plant Mole Biol*, 91: 673–689.
- HOLLENDER C, LIU Z, 2008. Histone deacetylase genes in *Arabidopsis* development [J]. *J Integr Plant Biol*, 50: 875–885.
- HOWE GA, JANDER G, 2008. Plant immunity to insect herbivores [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 59: 41–66.
- HU Y, QIN F, HUANG L, et al, 2009. Rice histone deacetylase genes display specific expression patterns and developmental functions [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 388:266–271.
- IRITI M, VARONI EM, 2015. Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants [J]. *Environ Sci Poll Res Int*, 22: 2935–2944.
- JONES JD, DANGL JL, 2006. The plant immune system [J]. *Nature*, 444:323–329.
- KAZAN K, 2015. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance [J]. *Trends Plant Sci*, 20: 219–229.
- KIM KC, LAI Z, FAN B, et al, 2008. *Arabidopsis* WRKY38 and WRKY62 transcription factors interact with histone deacetylase 19 in basal defense [J]. *Plant Cell*, 20:2357–2371.
- KORNER CJ, KLAUSER D, NIEHL A, et al, 2013. The immunity regulator BAK1 contributes to resistance against diverse RNA viruses [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 26: 1271–1280.
- LAGACE M, CHANTHA SC, MAJOR G, et al, 2003. Fertilization induces strong accumulation of a histone deacetylase (HD2) and of other chromatin-remodeling proteins in restricted areas of the ovules [J]. *Plant Mol Biol*, 53: 759–769.
- LONG JA, OHNO C, SMITH ZR, et al, 2006. TOPLESS regulates apical embryonic fate in *Arabidopsis* [J]. *Science*, 312: 1520–1523.
- LORENZO O, CHICO JM, SÁNCHEZ SERRANO JJ, et al, 2004. JASMONATE-INSENSITIVE1 encodes a MYC transcription factor essential to discriminate between different jasmonate-regulated defense responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 16: 1938–1950.
- LU J, ROBERT CA, RIEMANN M, et al, 2015. Induced jasmonate signaling leads to contrasting effects on root damage and herbivore performance [J]. *Plant Physiol*, 167: 1100–1116.
- LUSSER A, KOLLE D, LOIDL P, 2001. Histone acetylation: lessons from the plant kingdom [J]. *Trends Plant Sci*, 6:59–65.
- MCCONN M, BROWSE J, 1996. The critical requirement for linolenic acid is pollen development, not photosynthesis, in an *Arabidopsis* mutant [J]. *Plant Cell*, 8: 403–416.
- NAKAHARA KS, MASUTA C, 2014. Interaction between viral RNA silencing suppressors and host factors in plant immunity [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 20:88–95.
- NICAISE V, 2014. Crop immunity against viruses: outcomes and future challenges [J]. *Front Plant Sci*, 5: 660.
- NICAISE V, CANDRESSE T, 2016. Plum pox virus capsid protein suppresses plant pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity [J]. *Mol Plant Pathol*, doi: 10.1111/mp.12447 [Epub ahead of print].
- NIEHL A, WYRSCH I, BOLLER T, et al, 2016. Double-stranded RNAs induce a pattern-triggered immune signaling pathway in plants [J]. *New Phytol*, 211:1008–1019.
- PAUWELS L, et al, 2010. NINJA connects the co-repressor TOPLESS to jasmonate signalling [J]. *Nature*, 464: 788–791.
- PROBST AV, FAGARD M, PROUX F, et al, 2004. *Arabidopsis* histone deacetylase HDA6 is required for maintenance of transcriptional gene silencing and determines nuclear organization of rDNA repeats [J]. *Plant Cell*, 16: 1021–1034.
- ROSSI V, HARTINGS H, MOTTO M, 1998. Identification and characterisation of an RDP3 homologue from maize (*Zea mays* L.) that is able to complement an *rdp3* null mutant of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Gene Genom*, 258: 288–296.
- SANDERS PM, LEE, et al, 2000. The *Arabidopsis* DELAYED DEHISCENCE1 gene encodes an enzyme in the jasmonic acid synthesis pathway [J]. *Plant Cell*, 12: 1041–1061.
- SCHOMMER C, PALATNIK JF, AGGARWAL P, et al, 2008. Control of jasmonate biosynthesis and senescence by miR319 targets [J]. *PLoS Biol*, 6: e230.
- SHAHAZIAN MD, GRUNSTEIN M, 2007. Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation [J]. *Ann Rev Biochem*, 76:75–100.
- SHAN X, WANG J, CHU A, et al, 2011. The role of *Arabidopsis* Rubisco activase in jasmonate-induced leaf senescence [J]. *Plant Physiol*, 155: 751–764.
- SHAN X, ZHANG Y, PENG W, et al, 2009. Molecular mechanism for jasmonate-induction of anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* [J]. *Exp Bot*, 60: 3849–3860.
- SHEARD LB, XU T, HAIBIN M, et al, 2010. Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor [J]. *Nature*, 468: 400–405.

- SONG CP, AGARWAL M, OHTA M, et al, 2005. Role of an *Arabidopsis* AP2/EREBP-type transcriptional repressor in abscisic acid and drought stress responses [J]. *Plant Cell*, 17: 2384–2396.
- STASWICK PE, SU WP, HOWELL SH, et al, 1992. Methyl jasmonate inhibition of root growth and induction of a leaf protein are decreased in an *Arabidopsis thaliana* mutant [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89: 6837–6840.
- STINTZI A, BROWSE J, 2000. The *Arabidopsis* male-sterile mutant, *opr3*, lacks the 12-oxophytodienoic acid reductase required for jasmonate synthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 10625–10630.
- TANAKA M, KIKUCHI A, KAMADA H, 2008. The *Arabidopsis* histone deacetylases HDA6 and HDA19 contribute to the repression of embryonic properties after germination [J]. *Plant Physiol*, 146: 149–161.
- THINES B, KATSIR L, MELOTTO, et al, 2007. JAZ repressor proteins are targets of the SCF(COI1) complex during jasmonate signalling [J]. *Nature*, 448: 661–665.
- TRAN HT, NIMICK M, UHRIG G, et al, 2012. *Arabidopsis thaliana* histone deacetylase 14 (*hda14*) is an alpha-tubulin deacetylase that associates with Pp2a and enriches in the microtubule fraction with the putative histone acetyltransferase Elp3 [J]. *Plant J*, 71(2): 263–272.
- UEDA J, KATO J, 1980. Isolation and identification of a senescence-promoting substance from wormwood (*Artemisia absinthium* L.) [J]. *Plant Physiol*, 66: 246–249.
- VERLAAN MG, HUTTON SF, IBRAHEM RM, et al, 2013. The tomato yellow leaf curl virus resistance genes Ty-1 and Ty-3 are allelic and code for DFDGD-class RNA-dependent RNA polymerases [J]. *PLoS Genet*, 9:e1003399.
- WASTERNAK C, HAUSE B, 2013. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *annals of botany* [J]. *Ann Bot*, 111: 1021–1058.
- WASTERNAK C, STRNAD M, 2016. Jasmonate signaling in plant stress responses and development-active and inactive compounds [J]. *New Biotechnol*, 33: 604–613.
- WU K, TIAN L, ZHOU C, et al, 2000. Repression of gene expression by *Arabidopsis* HD2 histone deacetylases [J]. *Plant J*, 34: 241–247.
- WU X, OH MH, SCHWARZ EM, et al, 2011. Lysine acetylation is a widespread protein modification for diverse proteins in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 155: 1769–1778.
- XU L, LIU F, LECHNER E, et al, 2002. The SCF(COI1) ubiquitin-ligase complexes are required for jasmonate response in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 14: 1919–1935.
- MA XJ, LÜ SB, ZHANG C, et al, 2013. Histone deacetylases and their functions in plants [J]. *Plant Cell Rep*, 32: 465–478.
- YAN C, XIE D, 2015. Jasmonate in plant defence: sentinel or double agent? [J]. *Plant Biotechnol J*, 13: 1233–1240.
- YAN J, ZHANG C, GU M, et al, 2009. The *Arabidopsis* CORONATINE INSENSITIVE1 protein is a jasmonate receptor [J]. *Plant Cell*, 21: 2220–2236.
- ZHOU C, ZHANG L, DUAN J, et al, 2005. HISTONE DEACETYLASE19 is involved in jasmonic acid and ethylene signaling of pathogen response in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 17: 1196–1204.
- ZHOU JM, CHAI J, 2008. Plant pathogenic bacterial type III effectors subdue host responses [J]. *Curr Opin Microbiol*, 11: 179–185.