



## 过氧化物酶体增殖剂对稻瘟病菌生长发育及致病性的影响

陈海莉<sup>1,2</sup>, 李玲<sup>2,3</sup>, 王教瑜<sup>2\*</sup>, 张昕<sup>2</sup>, 孙国昌<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004

<sup>2</sup> 浙江省农业科学院, 植物保护与微生物研究所, 浙江 杭州 310021

<sup>3</sup> 浙江农林大学农业与食品科学学院, 浙江 临安 311300

**摘要:** 【目的】探索过氧化物酶体增殖剂(Peroxisome proliferators, PPs)对稻瘟病菌生长发育及致病性的影响。【方法】在6种不同的PPs诱导下, 观察比较稻瘟病菌过氧化物酶体数量及相关基因表达、生长速率、孢子萌发、附着胞形成与致病性的差异。【结果】在不同的PPs诱导下, 稻瘟病菌过氧化物酶体数量均呈现明显的增加, 同时过氧化物酶体形成相关基因*PEX8*、*PEX11*、*PEX14*的表达量升高; PPs影响病菌菌丝生长、分生孢子萌发及附着胞形成, 并导致致病性的减弱。其中, 2,4-D与阿司匹林的抑制效果最为显著。同时, 2,4-D与ASA对稻瘟病菌过氧化物酶体形成突变体 $\Delta pex5$ 和 $\Delta pex7$ 的生长抑制效果与野生菌株相比明显增加。【结论】首次将PPs类化合物用于模式丝状病原真菌稻瘟病菌的研究。研究发现6种PPs均能够引起过氧化物酶体的增殖, 并可抑制稻瘟病菌生长发育, 降低致病性。

**关键词:** 稻瘟病菌, 过氧化物酶体, PPs, *PEX*基因

过氧化物酶体是真核生物中普遍存在的细胞器, 是脂肪酸 $\beta$ -氧化及过氧化氢代谢的重要场所<sup>[1]</sup>。过氧化物酶体有一个重要特点, 即其数量和体积能随着培养条件、细胞内环境及生化代谢的需要而增加, 称为过氧化物酶体增殖(Peroxisome proliferation)。

1965年, Hess等首次发现, 降血脂药物氯苯丁酯可诱导小鼠肝薄壁组织细胞过氧化物酶体增殖<sup>[2]</sup>, 人们把这一类结构不同可诱导小鼠肝细胞

过氧化物酶体数量增加的化合物统称为过氧化物酶体增殖剂(Peroxisome proliferators, PPs)<sup>[3]</sup>, 包括工业化学品(如邻苯二甲酸盐和全氟脂肪酸)、农药(如苯氧基乙酸)和重要的临床药物[如阿司匹林(ASA)]和降血脂药物(如贝特类衍生物)等。1976年, Reddy等首次发现, 萘酚平(Nafenopin)可引起小鼠肝致癌<sup>[4]</sup>, 随后的研究也证实, PPs可通过非遗传途径引起啮齿类动物致癌<sup>[5-7]</sup>; PPs的潜在致癌性使PPs导致过氧化物酶体增殖的机制越来越

基金项目: 国家自然科学基金(31170136, 31470249)

\*通信作者。Tel: +86-571-86404228; E-mail: 王教瑜, jiaoyuwang1@gmail.com; 孙国昌, sungc01@sina.com

收稿日期: 2015-12-29; 修回日期: 2016-03-10; 网络出版日期: 2016-05-05

越受到关注<sup>[8]</sup>。1986年, Reddy等提出假设: PPs通过受体介导机制, 激活氧化系统基因的转录, 从而引发特异性的多效反应; 1990年, Issemann等首次从小鼠体内克隆到过氧化物酶体增殖剂激活受体(Peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)<sup>[10]</sup>。PPAR是一类转录调控因子, 既能被自身的脂肪酸激活, 又能被外来的PPs激活。PPAR的发现使PPs致癌机制的研究进入细胞和分子水平。过氧化物酶体产生相关的蛋白称为Peroxin, 其编码基因称为PEX。目前已报道的PEX基因已达30多种<sup>[1]</sup>。研究表明, PPs引起过氧化物酶体增殖的同时, 会诱导多种PEX基因的表达<sup>[11]</sup>。

目前, PPs的研究仅局限于啮齿类动物, PPs对丝状真菌的影响还未见报道。稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)是子囊菌, 巨座壳目(Magnaporthales)的一种丝状真菌, 可引起水稻上最重要的病害——稻瘟病<sup>[12]</sup>。同时, 稻瘟病菌还是植物病原真菌研究的模式生物, 其致病机理研究是植物病理学的重要组成部分<sup>[13]</sup>。本研究选用6种在哺乳动物中研究较多的典型PPs [苯扎贝特<sup>[14]</sup>(Bezafibrate)、三氯乙烯<sup>[15]</sup>(Trichloroethene, TCE)、阿司匹林<sup>[16]</sup>(Aspirin, ASA)、邻苯二甲酸二乙酯<sup>[17]</sup>(Diethyl phthalate, DEP)、邻苯二甲酸二甲酯<sup>[18]</sup>(Dimethyl phthalate, DMP)和2,4-D<sup>[19]</sup>(2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D)], 分析了PPs对稻瘟病菌的过氧化物酶体增殖、生长发育和致病性的影响, 旨在探明PPs对丝状真菌生长发育的作用, 同时为阐明过氧化物酶体与植物病原真菌致病性之间的关系提供参考, 并有可能为病害防治提供药物靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试菌株: 实验使用的稻瘟病菌(*Magnaporthe*

*oryzae*)菌株为Guy11、*Δpex5*<sup>[20]</sup>和*Δpex7*<sup>[20]</sup>, Guy11-GA<sup>[21]</sup>, 由浙江省农业科学院真菌病害实验室提供。其中*Δpex5*和*Δpex7*是分别敲除PEX5和PEX7的稻瘟病菌突变菌株。Guy11-GA是利用GFP-PTS1对过氧化物酶体进行荧光定位的稻瘟病菌菌株。使用大麦品种为ZJ-8。

**1.1.2 培养基:** CM培养基<sup>[22]</sup>, MM培养基(g/L): Glucose 10, 0.1% (V/V) trace elements, 0.1% (V/V) vitamin supplement, NaNO<sub>3</sub> 6.0, KCl 0.5, MgSO<sub>4</sub> 0.5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5, ddH<sub>2</sub>O 1 L, pH 6.5。

**1.1.3 主要试剂和仪器:** PPs试剂包括苯扎贝特(Bezafibrate)、三氯乙烯(Trichloroethene, TCE)、阿司匹林(Aspirin, ASA)、邻苯二甲酸二乙酯(Diethyl phthalate, DEP)、邻苯二甲酸二甲酯(Dimethyl phthalate, DMP)和2,4-D(2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D), 均购买于SIGMA公司; 总RNA提取试剂(Trizol Reagent)购自Invitrogen公司; 反转录酶(Reverse Transcriptase XL, AMV)、RNA酶抑制剂(Ribonuclease inhibitor)、荧光定量试剂盒SYBR Premix Ex Taq™ II等生化试剂购买于TaKaRa生物工程(大连)有限公司。使用仪器有德国莱卡荧光显微镜(Leica DM2500); 实时荧光定量PCR仪(7500型Real time PCR仪)等。

**1.1.4 引物:** PCR引物合成由上海生工完成(表1)。

### 1.2 稻瘟病菌过氧化物酶体数量观察

取28 °C 12 h/12 h光暗交替培养10 d的Guy11-GA菌株, 加入适量无菌水, 用毛笔轻刷菌落表面, 两层滤纸过滤, 取滤液用血球计数板计数, 调孢子浓度至 $1 \times 10^5$ 个/mL。向孢子悬浮液中分别加入PPs母液, 调终浓度分别至2,4-D 300 mg/L、ASA 450 mg/L、Bezafibrate 850 mg/L、DEP 300 mg/L、DMP 450 mg/L和TCE 4000 mg/L, 设置空白对照。分别取20 μL滴于疏水膜上, 28 °C黑暗培养2 h后利用荧光显微镜观察孢子中绿色荧光点的数量, 进行统计分析。

表1. 引物列表  
Table 1. Primers applied in the research

Name	Sequence (5'→3')	Function
Tubulin-up	GGCCAATGCGGCAACCAA	Used for Reference gene
Tubulin-down	AGGACAGCACGGGAACA	Used for Reference gene
PEX8-up	GATTCGCTCCCATTTCTGC	Used for amplifying the <i>PEX8</i> gene
PEX8-down	CTGCTTCACCACCTCCCTC	Used for amplifying the <i>PEX8</i> gene
PEX11-up	CGCCATCAAGAAGCAGTT	Used for amplifying the <i>PEX11</i> gene
PEX11-down	CGTCAAAGGTCAGGTAGC	Used for amplifying the <i>PEX11</i> gene
PEX14-up	TGGAATTGACCAAGCGCTAC	Used for amplifying the <i>PEX14</i> gene
PEX14 -down	CGCCTTGAGGGCTTCTGTAT	Used for amplifying the <i>PEX14</i> gene

1.3 Real time PCR分析

收集稻瘟病菌Guy11的孢子液，接种于CM液体培养基，28 °C、100 r/min振荡培养2 d。收集菌丝体，无菌水冲洗3次，将菌丝体分别转入含有PPs终浓度为2,4-D 300 mg/L、ASA 450 mg/L、Bezafibrate 850 mg/L、DEP 300 mg/L、DMP 450 mg/L和TCE 4000 mg/L的液体MM培养基，100 r/min振荡培养24 h。常规的Trizol法提取菌丝中的总RNA<sup>[23]</sup>。Real time PCR分析，以提取RNA为模板，利用表1引物，按RNA PCR Kit (AMV)试剂盒说明进行。

1.4 接种与致病性观察

收集稻瘟病菌菌株Guy11孢子悬浮液，调浓度至 $1\times10^5$ 个/mL。根据哺乳动物中的相关研究和前期实验，分别配置不同浓度PPs孢子悬浮液(表2)。

表2. PPs浓度梯度设置范围  
Table 2. The range of PPs gradient concentration

PPs	2,4-D	ASA	Bezafibrate	DEP	DMP	TCE
Gradient	100	300	150	100	300	1000
Concentration/ (mg/L)	200	450	300	200	450	2000
	300	600	450	300	600	3000
	400	750	600	400	750	4000
	500	900	750	500	900	5000

取20 μL孢子悬浮液接种于离体大麦叶片，28 °C黑暗保湿培养24 h，转移至相对湿度为90%、28 °C、12 h/12 h光暗交替培养，4 d后观察并统计大麦的发病情况。

1.5 稻瘟病菌生长速率观察

将MM培养基121 °C、15 min高温灭菌，待冷却至60 °C左右，加入无菌PPs母液，配置成含不同浓度的PPs培养基(浓度同表2)，倒入9 cm培养皿冷却待用。用5 mm的打孔器在生长6 d的稻瘟病菌菌落边缘打孔，接于含不同浓度的PPs的MM培养基上。28 °C黑暗培养10 d，十字交叉法测菌落直径并拍照记录。

1.6 稻瘟病菌孢子萌发及附着胞形成的观察

收集Guy11孢子，调至 $1\times10^5$ 个/mL。向孢子悬浮液中分别加入PPs母液，配置PPs梯度浓度孢子液(表3)，取20 μL于疏水膜，28 °C 12 h/12 h培养。2、4、8、12、24 h观察孢子萌发及附着胞形成情况，并拍照记录。

2 结果和分析

2.1 PPs对稻瘟病菌过氧化物酶体的影响

2.1.1 PPs诱导稻瘟病菌过氧化物酶体增殖：为明确不同PPs对稻瘟病菌过氧化物酶体数量的影

表3. 孢子萌发附着胞形成PPs浓度梯度设置范围  
Table 3. The range of PPs gradient concentration in spore germination and appressoria formation

PPs	2,4-D	ASA	Bezaflubate	DEP	DMP	TCE
Gradient	100	300	150	100	200	1500
Concentration/ (mg/L)	200	450	300	200	350	2500
	300	600	450	300	500	3500
	400	750	600	400	650	4500

响, 不同PPs诱导下, 观察并统计Guy11-GA细胞中荧光点的数量。结果如图1所示, 与对照相比, 不同PPs均可以诱导稻瘟病菌过氧化物酶体数量增加。对照条件下细胞中过氧化物酶体数量为30个, 而在2,4-D诱导下, 细胞中过氧化物酶体数高达62个; 在DMP诱导下, 细胞中过氧化物酶数高达69个, 差异极显著( $P<0.01$ ); ASA、Bezaflubate、DEP和TCE诱导下细胞内过氧化物酶体数量分别为51, 42, 49, 41个, 差异显著( $P<0.05$ )。

**2.1.2 PPs诱导稻瘟病菌 $PEX8$ 、 $PEX11$ 和 $PEX14$ 基因表达:**  $PEX8$ ,  $PEX11$ ,  $PEX14$ 基因在过氧化物酶体增殖和合成有重要作用<sup>[24-26]</sup>。为明确3个基因在PPs诱导增殖过程中的表达情况, 我们分别检测了6种PPs诱导下, 菌丝中3个基因的相对表达量(图2)。结果表明, 6种PPs诱导后, 均可引起

$PEX8$ 、 $PEX11$ 和 $PEX14$ 相对表达量的显著提高( $P<0.05$ )。

## 2.2 PPs对稻瘟病菌致病性的影响

为明确不同PPs对稻瘟病菌致病性的影响, 将含PPs的孢子悬浮液接种于大麦叶片。结果如图3所示, 与不含有PPs的对照比较, 750 mg/L Bezaflubate、500 mg/L DEP、900 mg/L DMP和5000 mg/L TCE处理后的孢子液接种的叶片病斑明显减小。2,4-D、ASA诱导过的孢子悬浮液接种的叶片上无典型病斑, 但由于2,4-D、ASA对大麦叶片具有毒害作用, 导致接种点发白。上述结果表明, 不同PPs对稻瘟病菌致病性均有抑制作用, 随着PPs浓度的增加, 抑制作用增强。

## 2.3 PPs对稻瘟病菌生长速率, 孢子萌发及附着胞形成的影响

为进一步明确PPs对稻瘟病菌致病相关过程的影响, 我们对PPs处理后的稻瘟病菌生长及分生孢子萌发与附着胞形成情况进行了观察。

**2.3.1 不同PPs对稻瘟病菌的生长均有抑制作用:** 测定Guy11在不同PPs平板上生长速率结果如图4所示, 在不含有PPs的MM培养基上(CK), Guy11的菌落直径为4.02 cm, 在含500 mg/L 2,4-D的培养基上仅为0.14 cm; 在含850 mg/L Bezaflubate培养基上为1.67 cm; 在含500 mg/L DEP培养基上

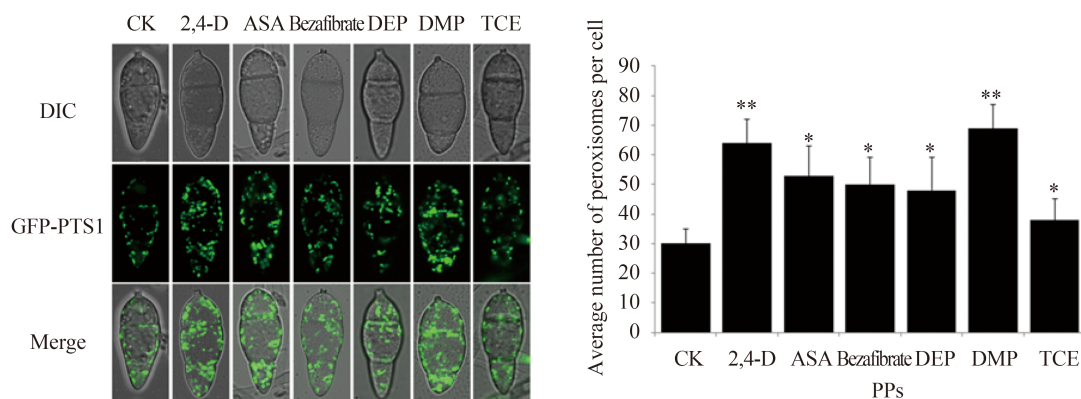


图 1. 不同PPs对稻瘟病菌过氧化物酶体数量的影响

Figure 1. The peroxisome number of *M. oryzae* induced by different PPs.



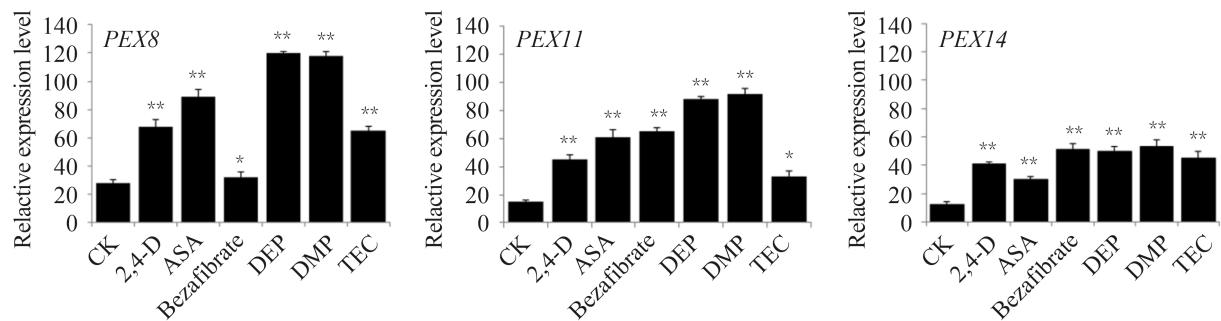


图 2. PPs对稻瘟病菌过氧化物酶体相关基因表达的影响

Figure 2. The expression of peroxisome biogenesis related genes in *M. oryzae* induced by different PPs.

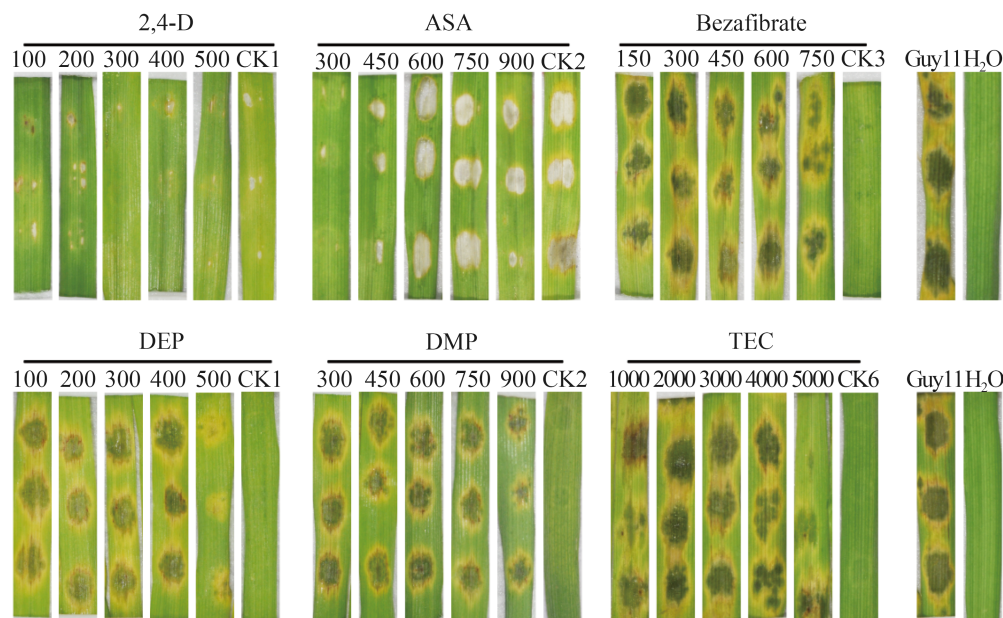


图 3. 不同浓度PPs诱导下稻瘟病菌对大麦的致病性

Figure 3. Pathogenicity of *M. oryzae* affected by different concentrations of PPs on barley. Drop inoculation with 20  $\mu$ L conidia suspension supplemented with serial diluted PPs on barley. CK1-CK6 is inoculated with 20  $\mu$ L serial diluted PPs without conidia. CK1: 2,4-D 500 mg/L, CK2: ASA 900 mg/L, CK3: Bezafibrate 750 mg/L, CK4: DEP 500 mg/L, CK5: DMP 900 mg/L, CK6: TCE 5000 mg/L.

为0.48 cm；在含750mg/L ASA、750 mg/L DMP和6000 mg/L TCE的培养基上不能生长。结果表明，6种PPs对Guy11生长都有抑制作用，且随着PPs浓度的增加，抑制作用增强。

**2.3.2 不同PPs对稻瘟病菌孢子萌发的影响：**孢子萌发测定结果如图5所示，对照条件下，24 h的孢子萌发率为99%；2,4-D和ASA对孢子萌发抑制

作用最强，100 mg/L 2,4-D处理下，24 h的孢子萌发率只有1%；300 mg/L ASA处理下，24 h的孢子萌发率为18%；750 mg/L ASA处理后，24 h孢子萌发率为4%；而其余4种PPs处理后，孢子萌发率在2 h和4 h显著低于对照，但24 h后孢子萌发率仍能达到99%。由此得出结论，不同PPs对稻瘟病菌孢子萌发均有抑制作用，其中2,4-D和ASA抑制作用最强，其余4种PPs能显著延迟孢子萌发。

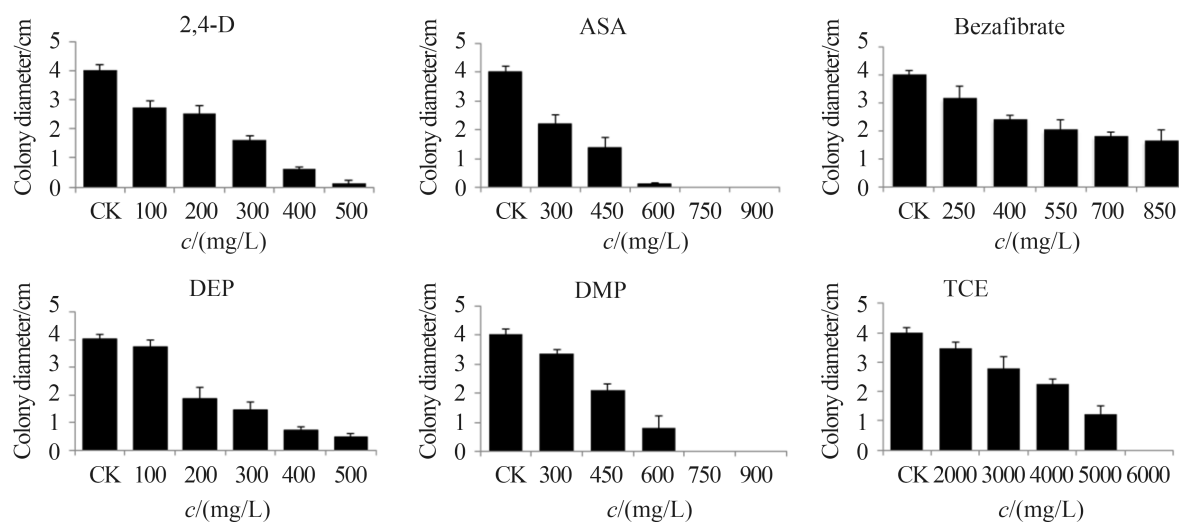


图 4. 不同PPs培养基上稻瘟病菌的生长速率

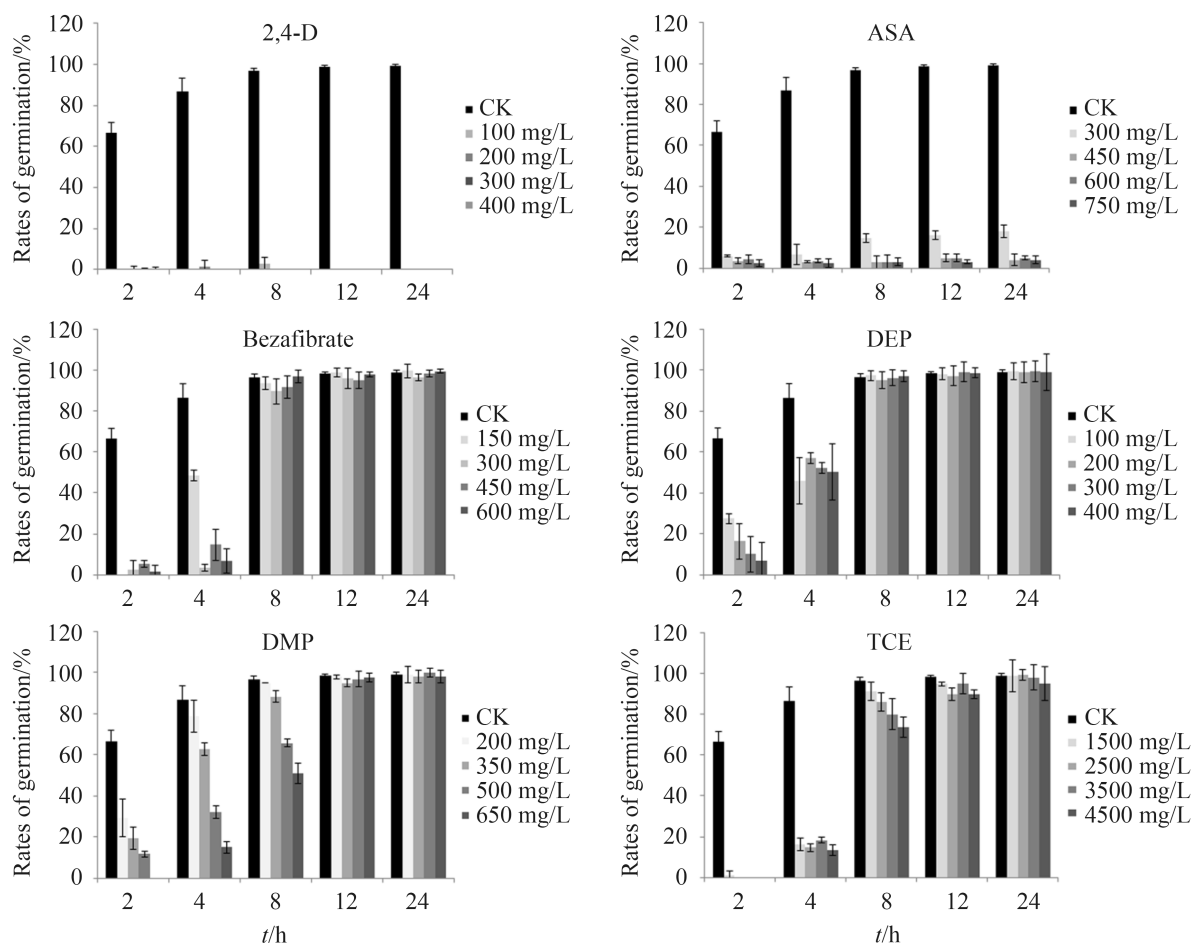
Figure 4. Growth rate of *M. oryzae* on media containing different PPs.

图 5. PPs诱导下的稻瘟病菌孢子萌发速率

Figure 5. The germination rate of *M. oryzae* strains induced by different PPs.

**2.3.3 不同PPs对稻瘟病菌附着胞形成的影响：**诱导4 h后统计附着胞形成发现，由于2,4-D和ASA孢子萌发受到强烈抑制，无附着胞形成。其余4种PPs处理后附着胞形成情况如图6所示，不同PPs处理后，4 h的附着胞形成率均显著低于未处理的

CK，且随着PPs浓度的增加，附着胞形成率依次降低。诱导4 h后，CK的附着胞形成率为63%，而DEP处理后，4 h的附着胞形成率仅为1%。然而24 h后，4种PPs处理过的孢子附着胞形成率仍达到99%与CK无显著差别。

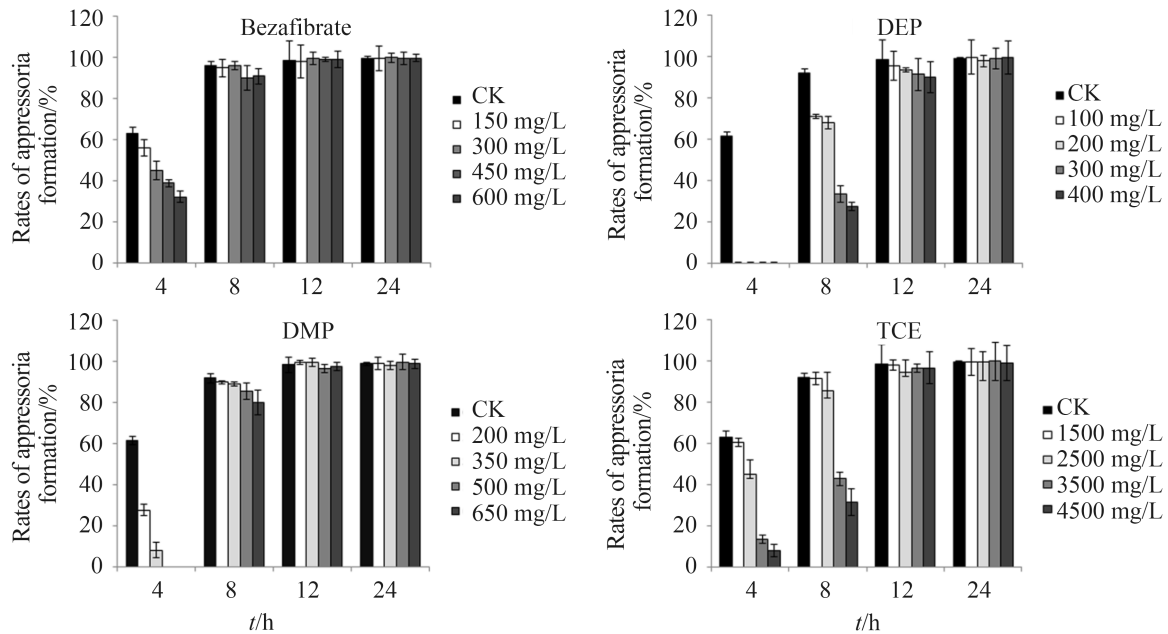


图 6. PPs诱导下的稻瘟病菌孢子附着胞形成率

Figure 6. The rate of appressoria formation of *M. oryzae* strains induced by different PPs.

## 2.4 PPs对PEX突变体生长速率的影响

以上实验结果表明2,4-D与ASA对稻瘟病菌致病性、生长速率和孢子萌发影响最为严重。为了进一步验证PPs对稻瘟病菌的作用，我们比较了稻瘟病菌野生型Guy11与过氧化物酶体形成突变体 $\Delta pex5$ 与 $\Delta pex7$ 在含有2,4-D与ASA培养基上的生长情况。结果显示(图7)，300 mg/L 2,4-D对Guy11的生长抑制率为18%，而对 $\Delta pex5$ 和 $\Delta pex7$ 的生长抑制率分别为27%和29%，显著高于Guy11；450 mg/L ASA对Guy11生长抑制率为9%，对 $\Delta pex5$ 和 $\Delta pex7$ 的生长抑制率分别为27%和29%，显著高于Guy11 ( $P < 0.05$ )。

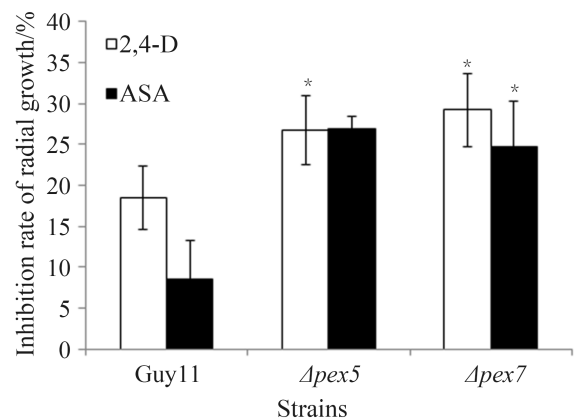


图 7. 2,4-D和ASA对稻瘟病菌的生长抑制率

Figure 7. The growth inhibition rate of *M. oryzae* induced by 2,4-D and ASA.  $P < 0.05$ .

### 3 讨论

本研究发现6种PPs均可以诱导稻瘟病菌过氧化物酶体的增殖和过氧化物酶体形成相关基因 $PEX8$ 、 $PEX11$ 和 $PEX14$ 的表达量升高;同时,6种PPs对稻瘟病菌的生长发育(包括菌落生长、孢子萌发、附着胞形成、致病性等)均具有抑制作用。本研究首次将PPs用于模式病原丝状真菌稻瘟病菌,对明确病原丝状真菌的代谢机理、解毒机制及致病机制具有重要意义,可为PPs的研究提供参考,并可能为稻瘟病防治提供依据。

我们的结果表明,6种PPs均能引起稻瘟病菌致病性不同程度的减弱,其中2,4-D和ASA两种PPs对稻瘟病菌致病性影响最为显著。同时,PPs不仅抑制稻瘟病菌的生长,同时抑制并延迟孢子萌发、附着胞形成,且PPs浓度越高,抑制作用越强。其中,2,4-D和ASA对孢子萌发抑制程度最为严重,使其不能形成附着胞,导致稻瘟病菌不能侵染寄主,无法致病;另外4种PPs(Bezafibrate、DEP、DMP和TCE)能显著延迟稻瘟病菌孢子萌发及附着胞形成,但24 h后,病菌附着胞形成率仍可达正常水平,因此,推测这4种PPs对稻瘟病菌的致病性的影响是因为对附着胞形成时间的延迟造成的,或是干扰了侵入后的扩展过程。

$PEX5$ 和 $PEX7$ 是控制过氧化物酶体基质蛋白运输的重要基因,稻瘟病菌中 $\Delta pex5$ 和 $\Delta pex7$ 分别表现出基质蛋白运输异常,脂肪代谢受阻等现象<sup>[20]</sup>。研究发现,2,4-D和ASA对稻瘟病菌突变体菌株 $\Delta pex5$ 和 $\Delta pex7$ 的抑制显著高于野生型菌株Guy11,表明2,4-D和ASA在稻瘟病菌中的降解与 $PEX5$ 和 $PEX7$ 相关。由此我们推测,在稻瘟病菌中, $\Delta pex5$ 和 $\Delta pex7$ 由于基因 $PEX5$ 和 $PEX7$ 的缺失,导致过氧化物酶体功能异常,从而影响了脂肪代谢包括对PPs的降解代谢能力<sup>[11,27]</sup>。

$PEX8$ 、 $PEX11$ 和 $PEX14$ 是另外3个与过氧化物酶体形成和增殖相关的重要基因。PPs不仅可以诱导稻瘟病菌过氧化物酶体增殖,也引起上述基因

的表达量升高,这一结果与Qian等在小鼠细胞内的发现相近。在小鼠细胞内,PPs通过调节PPAR来调控过氧化物酶体相关基因的转录表达<sup>[11]</sup>。因此稻瘟病菌中PPs的代谢机制可能与哺乳动物类似,也存在一类感知PPs的受体。然而利用哺乳动物PPAR蛋白序列进行同源检索,并未在稻瘟病菌中发现其同源蛋白。由此我们推测,稻瘟病菌细胞内可能存在另外的受体来感知PPs,从而引发一系列代谢来应对外来PPs。

综上所述,PPs不仅可以引起啮齿类动物致癌,也能够对稻瘟病菌产生毒害作用,且其作用过程与 $PEX$ 基因密切相关。但PPs在稻瘟病菌中如何被感知,如何调控 $PEX$ 基因表达及其具体代谢过程有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] Platta HW, Erdmann R. Peroxisomal dynamics. *Trends in Cell Biology*, 2007, 17(10): 474–484.
- [2] Hess R, Stäubli W, Riess W. Nature of the hepatomegalic effect produced by ethyl-chlorophenoxy-isobutyrate in the rat. *Nature*, 1965, 208(5013): 856–858.
- [3] Reddy JK, Krishnakantha TP. Hepatic peroxisome proliferation: induction by two novel compounds structurally unrelated to clofibrate. *Science*, 1975, 190(4216): 787–789.
- [4] Reddy JK, Rao S, Moody DE. Hepatocellular carcinomas in acatalasemic mice treated with nafenopin, a hypolipidemic peroxisome proliferator. *Cancer Research*, 1976, 36(4): 1211–1217.
- [5] Lake BG. Peroxisome proliferation: current mechanisms relating to nongenotoxic carcinogenesis. *Toxicology Letters*, 1995, (82/83): 673–681.
- [6] Reddy JK, Azarnoff DL, Hignite CE. Hypolipidaemic hepatic peroxisome proliferators form a novel class of chemical carcinogens. *Nature*, 1980, 283(5745): 397–398.
- [7] Reddy JK, Rao MS. Peroxisome proliferation and hepatocarcinogenesis. *IARC Scientific Publications*, 1992, (116): 225–235.
- [8] Cattley RC, DeLuca J, Elcombe C, Fenner-Crisp P, Lake BG, Marsman DS, Pastoor TA, Popp JA, Robinson DE, Schwetz B, Tugwood J, Wahli W. Do peroxisome proliferating compounds pose a hepatocarcinogenic hazard to humans. *Regulatory*

- Toxicology and Pharmacology*, 1998, 27(1): 47–60.
- [9] Reddy JK, Goel SK, Nemali MR, Carrino JJ, Laffler TG, Reddy MK, Sperbeck SJ, Osumi T, Hashimoto T, Lalwani ND. Transcription regulation of peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase and enoyl-CoA hydratase/3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase in rat liver by peroxisome proliferators. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1986, 83(6): 1747–1751.
- [10] Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 1990, 347(6294): 645–650.
- [11] Qian G, Fan W, Ahlemeyer B, Karnati S, Baumgart VE. Peroxisomes in different skeletal cell types during intramembranous and endochondral ossification and their regulation during osteoblast differentiation by distinct peroxisome proliferator-activated receptors. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0143439.
- [12] Couch BC, Kohn LM. A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. *Mycologia*, 2002, 94(4): 683–693.
- [13] Dean RA, Talbot NJ, Ebbole DJ, Farman ML, Mitchell TK, Orbach MJ, Thon M, Kulkarni R, Xu JR, Pan HQ, Read ND, Lee YH, Carbone I, Brown D, Oh YY, Donofrio N, Jeong JS, Soanes DM, Djonovic S, Kolomiets E, Rehmeier C, Li WX, Harding M, Kim S, Lebrun MH, Bohnert H, Coughlan S, Butler J, Calvo S, Ma LJ, Nicol R, Purcell S, Nusbaum C, Galagan JE, Birren BW. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Nature*, 2005, 434(7036): 980–986.
- [14] Tenenbaum A, Fisman EZ. Balanced pan-PPAR activator bezafibrate in combination with statin: comprehensive lipids control and diabetes prevention. *Cardiovascular Diabetology*, 2012, 11(1): 140.
- [15] Chiu WA, Jinot J, Scott CS, Makris SL, Cooper GS, Dzubow RC, Bale AS, Evans MV, Guyton KZ, Keshava N, Lipscomb JC, Barone S Jr, Fox JF, Gwinn MR, Schaum J, Caldwell JC. Human health effects of trichloroethylene: key findings and scientific issues. *Environmental Health Perspectives*, 2013, 121(3): 303–311.
- [16] Yang Q, Xie Y, Depierre JW. Effects of peroxisome proliferators on the thymus and spleen of mice. *Clinical & Experimental Immunology*, 2000, 122(2): 219–226.
- [17] Leitz J, Kuballa T, Rehm J, Lachenmeier DW. Chemical analysis and risk assessment of diethyl phthalate in alcoholic beverages with special regard to unrecorded alcohol. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8127.
- [18] Ji DR, Chang CC, Chen SY, Chiu CY, Tseng JY, Chang CY, Chang CF, Chiang SW, Hung ZS, Shie JL, Chen YH, Yuan MH. Decomposition and mineralization of dimethyl phthalate in an aqueous solution by wet oxidation. *The Scientific World Journal*, 2015, 2015: 164594.
- [19] Elliott B. Review of the genotoxicity of 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid. *Mutagenesis*, 2005, 20(1): 3–13.
- [20] Wang JY, Zhang Z, Wang YL, Li L, Chai RY, Mao XQ, Jiang H, Qiu HP, Du XF, Lin FC, Sun GC. PTS1 peroxisomal import pathway plays shared and distinct roles to PTS2 pathway in development and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae*. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55554.
- [21] Wang JY, Wu XY, Zhang Z, Du XF, Chai RY, Liu XH, Mao XQ, Qiu HP, Wang YL, Lin FC, Sun G C. Fluorescent co-localization of PTS1 and PTS2 and its application in analysis of the gene function and the peroxisomal dynamic in *Magnaporthe oryzae*. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 2008, 9(10): 802–810.
- [22] Talbot NJ, Ebbole DJ, Hamer JE. Identification and characterization of MPG1, a gene involved in pathogenicity from the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *The Plant Cell*, 1993, 5(11): 1575–1590.
- [23] Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*, 1987, 162(1): 156–159.
- [24] Agne B, Meindl NM, Niederhoff K, Einwächter H, Rehling P, Sickmann A, Meyer HE, Girzalsky W, Kunau WH. Pex8p: an intraperoxisomal organizer of the peroxisomal import machinery. *Molecular Cell*, 2003, 11(3): 635–646.
- [25] Holroyd C, Erdmann R. Protein translocation machineries of peroxisomes. *FEBS Letters*, 2001, 501(1): 6–10.
- [26] Wang JY, Li L, Zhang Z, Qiu HP, Li DM, Fang Y, Jiang H, Chai RY, Mao XQ, Wang YL, Sun GC. One of three Pex11 family members is required for peroxisomal proliferation and full virulence of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0134249.
- [27] Peeters A, Fraisl P, van den Berg S, van Themaat EVL, Van Kampen A, Rider MH, Takemori H, van Dijk KW, Van Veldhoven PP, Carmeliet P, Baes M. Carbohydrate metabolism is perturbed in peroxisome-deficient hepatocytes due to mitochondrial dysfunction, AMP-activated protein kinase (AMPK) activation, and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) suppression. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(49): 42162–42179.

# Effect of peroxisome proliferators to growth and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae*

Haili Chen<sup>1,2</sup>, Ling Li<sup>2,3</sup>, Jiaoyu Wang<sup>2\*</sup>, Xin Zhang<sup>2</sup>, Guochang Sun<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang Province, China

<sup>2</sup> Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, Zhejiang Province, China

<sup>3</sup> College of Agriculture and Food Science, Zhejiang A&F University, Lin'an 311300, Zhejiang Province, China

**Abstract:** [Objective] To study the effect of peroxisome proliferations (PPs) on the development and pathogenicity of rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. [Methods] The peroxisomal proliferation and the expression of peroxisomal biogenesis related genes were detected in *M. oryzae* strain Guy11 under the induction of 6 PPs. Vegetative growth, conidial germination, appressoria formation and pathogenicity of the strain treated with PPs were compared with those of the control. [Results] Induced by 6 PPs, the quantity of peroxisome and the expression of *PEX14*, *PEX8* and *PEX11* were significantly increased. Vegetative growth, conidial germination, appressorial formation and pathogenicity were inhibited by the majority of the PPs. Of them, 2, 4-D and aspirin (ASA) exhibited higher inhibition rates than others. Further, the inhibition of 2, 4-D and Aspirin to the vegetative growth of *Apex5* and *Apex7* mutants of *M. oryzae* was found significantly increased than that of the wild type strain. [Conclusion] PPs could induce peroxisome proliferation in *M. oryzae*, inhibit the growth and development and reduce the pathogenicity of the fungus. This is the first investigation on the effects of PPs to filamentous fungi.

**Keywords:** *Magnaporthe oryzae*, peroxisome, PPs, *PEX* gene

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31170136, 31470249)

\*Corresponding author. Tel: +86-571-86404228; E-mail: Jiaoyu Wang, jiaoyuwang1@gmail.com; Guochang Sun, sungc01@sina.com

Received: 29 December 2015; Revised: 10 March 2016; Published online: 5 May 2016