

拟南芥草酸不敏感突变体的筛选与分析

陈晓婷^{1,2}, 陈芳芳², 陈立群¹, 郑麟¹, 鲁国东², 王宗华^{1,2}

1 福建农林大学生命科学学院, 福州 350002

2 生物农药与化学生物学教育部重点实验室, 福州 350002

摘要: 草酸是多种真菌的致病因子。在含 1.2 mmol/L 草酸和 10 μmol/L 雌二醇的 MS 缺钙培养基上, 从大约含 6000 个独立株系的拟南芥化学诱导突变体库中筛选草酸不敏感的突变体。初筛获得的可能的草酸不敏感突变体单株收种后, 进一步复筛获得 5 株较抗草酸的突变体 D33、D74、D154、D282 和 D630。对它们的 TAIL-PCR 的第三步产物回收、测序、比对的结果表明: D33 的 T-DNA 插入位点位于 *At2g39720* (Zinc finger) 和 *At2g39730* (Rubisco activase) 之间, D74、D154、D282 和 D630 都插在 *At5g10450* (14-3-3 protein GF14 lambda) 的第一个内含子上。突变体后继的遗传分析与分子分析正在进行中。

关键词: 拟南芥, 突变体筛选, 草酸不敏感, TAIL-PCR

Isolation and Analysis of Oxalic Acid Insensitive Mutant of *Arabidopsis thaliana*

Xiaoting Chen^{1,2}, Fangfang Chen², Liqun Chen¹, Lin Zheng¹, Guodong Lu², and Zonghua Wang^{1,2}

1 College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

2 Key Laboratory of Bio-pesticide and Chemistry Biology, Ministry of Education, Fuzhou 350002, China

Abstract: Oxalic acid (OA) is inhibitory to many fungal plant pathogens. To further characterize the molecular mechanism of OA involved in fungal pathogenesis, OA insensitive mutants were screened from a chemical inducible *Arabidopsis* mutant library (about 6000 lines) using MS medium (calcium free) containing 1.2 mmol/L OA and 10 μmol/L estradiol. Harvested putative mutants were collected separately. Individual lines of mutants were screened again on modified MS medium containing OA. Mutants D33, D74, D154, D282 and D630 with enhanced OA resistance were obtained. The T-DNA flanking sequences were amplified by TAIL-PCR. The sequences were blasted against TAIR database. The result indicated that the T-DNA of mutant D33 was inserted between *At2g39720* (zinc finger) and *At2g39730* (Rubisco activase), and the T-DNA junctions of the other four mutants were the same, all inserted in the same site of the first intron of *At5g10450* (14-3-3 protein GF14 lambda).

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, mutant screening, OA insensitive, TAIL-PCR

许多在生态、生理学上不同的真菌都可以产生草酸(Oxalic acid, OA)^[1]。这些草酸产生菌寄主范围广, 可以引致上百种植物病害, 造成世界范围的粮油、蔬菜等农作物的严重减产^[2]。草酸在病菌致病

Received: June 8, 2007; Accepted: July 23, 2007

Supported by: the National Natural Sciences Foundation of China (Nos. 30671347 and 30471178).

Corresponding author: Zonghua Wang. Tel: +86-591-83790312; Fax: +86-591-83727618; E-mail: wangzh@fjau.edu.cn

国家自然科学基金资助项目(Nos. 30671347, 30471178)。

过程中可能起着关键性的作用, 主要表现为: (1)草酸可结合寄主体内的钙离子形成草酸钙结晶, 从而阻塞导管、引起植物萎焉等症状; (2)草酸可以抑制植物组织中重要的防卫反应酶 - 苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶的活性, 从而降低植物的抗病能力; (3)草酸能增加侵染组织的酸度, 使半乳糖醛酸酶、纤维素酶等水解酶活性增加, 从而有利于病菌在寄主组织内扩展定殖, 最终导致病害的发生^[3]; (4)草酸的释放会抑制寄主植物活性氧的产生, 从而削弱寄主植物早期的防卫反应, 增加真菌的致病性^[4]; (5)在病菌侵染植物时, 草酸可以通过促进渗透活性分子的积累, 抑制ABA介导的气孔关闭, 导致气孔的开放, 从而引起植物的萎焉^[5]。

拟南芥是研究植物防御机制的很好的模式植物。我们利用中国科学院左建儒博士实验室创建的突变体库筛选草酸不敏感的突变体^[6,7]。该突变体库是利用化学诱导激活XVE (LexA-VP16-ER)系统构建的T-DNA插入突变体^[7]。XVE是由细菌转录抑制子LexA (X) 的DNA结合域, 单纯疱疹病毒VP16 (V) 的酸性转录激活域, 人雌激素受体的调节域 (E) 融合而成的转录因子。XVE表达载体上有三个转录单位: G10-90 为人工合成的强组成型启动子(用来启动XVE融合转录因子的转录); 选择性抗性标记基因(Km); -46 35S 基础启动子与 8 个拷贝的LexA操纵子序列融合形成的人工启动子。当加入雌激素, 雌激素和其受体结合, 导致XVE融合蛋白构象发生变化, 并由细胞质转移进入核内; 在细胞核内, LexA的DNA结合域特异性识别LexA操纵子区, 以至使VP16的转录激活域激活-46 35S 启动子, 高水平表达其下游的目标基因。靶基因的功能获得和缺失将被XVE 化学诱导表达系统紧密且相互交叉地控制(由于T-DNA标记或相邻的基因可被XVE系统诱导性的激活, 或被T-DNA 插入导致功能缺失。该突变体库可以用于大规模筛选鉴定功能缺失性和功能获得性突变体), 同时使得被标记遗传位点的表型可以在给定的发育时期表达, 优势十分明显。该系统除严格依赖于雌激素外, 还可根据雌激素的加入剂量严格控制下游基因的表达水平^[6]。

本研究在实验室原有的基础上^[8], 进一步研究草酸胁迫对拟南芥生长的影响, 确定了筛选浓度,

从 6000 多个独立突变株系中筛选可能的草酸不敏感突变体。期望对草酸不敏感突变体分子机制的研究可以加深对草酸产生菌与其寄主植物互作机制的认识。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用拟南芥生态型为 Col-0, 由美国加州大学洛杉矶分校 (UCLA) 林辰涛教授提供。OA(0.5 mol/L)和 MES(2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid) (125g/L)均为分析纯, 用 0.22 μm 滤膜抽滤后使用。17- β -雌二醇购自 Sigma 公司, 用 DMSO 溶成 10 mmol/L 后待用。

PCR 引物为上海鼎安生物科技有限公司合成, 胶纯化试剂盒为 OMEGA 胶回收试剂盒, 纯化的 PCR 产物由上海鼎安生物科技有限公司测序。

1.2 突变体筛选方法

培养基为MS固体培养基(pH6.5), 但是在MS大量成分中去掉CaCl₂成分。湿热灭菌后添加OA(终浓度为 1.2 mmol/L), 雌二醇(终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$)、MES (终浓度 1 g/L), 铺平板后接种经常规消毒的拟南芥种子(一般在直径 9 cm 的培养皿中平行播两行, 一行大约播 50~100 粒种子)。4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中放置 2~3 d, 置于温室(22 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$, 12 h光照, 12 h黑暗培养 2 周后, 将有胚根发育的植株移于正常的MS培养基中培养 5~7 d后移栽到土壤中, 单株收获种子。

通过初筛得到的可能的草酸不敏感突变体种子同上方法进行复筛, 选取有良好表型的突变体进一步研究。

1.3 T-DNA 插入位点的鉴定

取4~5片拟南芥叶片, 液氮研磨, 按参考文献^[9]方法提取DNA。T-DNA插入位点的鉴定利用TAIL-PCR(thermal asymmetric interlaced-polymerase chain reaction)^[10,11]方法进行。根据载体T-DNA的左边界设计三个巢式引物^[7]为:

LexA2: 5'-CTAATCGCATTATCATCCCCTCG-3';
LexA4: 5'-CTGGTTTTATATACAGCAGTCGACG-3';
LexA5: 5'-AGTCGAGGTAAGATTAGATATGG-3'。

四个随机引物为:

AD1: 5'-(AGCT)TCGA(G/C)T(A/T)T(G/C)G(A/T)G-TT-3';

AD2: 5'- NGTCGA(G/C)(A/T)GANA(A/T)GAA-3';
 AD3: 5'- (A/T)GTGNAG(A/T)ANCANAGA-3';
 AD4: 5'- AG(A/T)GNAG(A/T)ANCA(A/T)AGG-3'.

2 结果

2.1 草酸不敏感突变体筛选方法的建立

将 Col-0 的种子播在 OA 浓度为 0~1.4 mmol/L

的 MS 培养基(缺 Ca)上, 实验结果(表 1)表明: OA 处理抑制并推迟了种子的萌发。2 周后, 对胚根、胚轴长度测量结果表明: OA 处理使拟南芥胚根、胚轴极显著地变小, 1.1 mmol/L OA 处理胚轴仅为对照(未加 OA)的 12.5%, 胚根仅为对照的 9.8%, 1.2 mmol/L OA 及更高浓度的 OA 处理基本上无法测

表1 不同浓度草酸处理对拟南芥Col-0生长的影响*

Table 1 Effects of oxalic acid treatment on the growth of *Arabidopsis*

OA concentration (mmol/L)	shoot length/cm	root length/cm	germination rate/%	survival rate /%
0	1.04 ± 0.12 A	1.33 ± 0.13 A	100	100
0.6	0.37 ± 0.11 B	0.38 ± 0.09 B	98.0	98.0
0.8	0.22 ± 0.06 C	0.29 ± 0.08 BC	75.0	45.0
1.0	0.15 ± 0.08 C	0.24 ± 0.10 BC	55.0	4.3
1.1	0.13 ± 0.06 C	0.13 ± 0.07 C	47.5	4.3
1.2	0	0	23.5	1.1
1.3	0	0	3.6	0
1.4	0	0	0	0

*: the same letter within each column are not significantly different at the 0.01 level by Duncan's new multiple range.

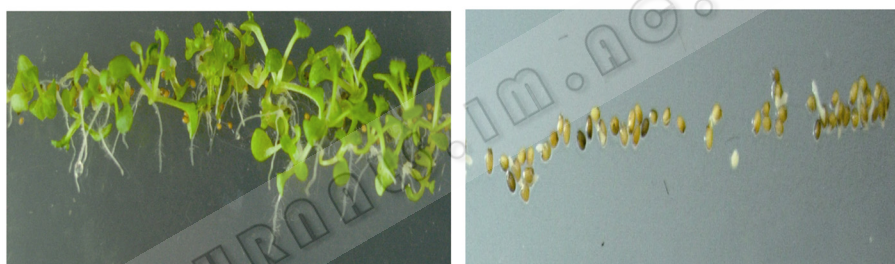


图1 D33(左)和野生型 Col-0(右)在含 1.2 mmol/L OA 的 MS 培养基上生长 14 d 的情况
 Fig. 1 Growth response of D33 (left) and wild type (Col-0, right) on modified MS medium containing 1.2 mmol/L OA for 14 days

量到胚根、胚轴的长度。即使发芽, 也只长子叶。播种 7 d 后统计发芽率, 2 周后统计存活率(有胚根生成的视为存活)。结果表明: 1.3 mmol/L OA 处理拟南芥发芽率仅为 3.6%, 存活率为 0, 而 1.2 mmol/L OA 处理存活率为 1.1%。故此选取 1.2 mmol/L OA 为突变体库的筛选压。

2.2 草酸不敏感突变体的筛选

对约 6000 独立家系的化学诱导突变体库的种子在含 1.2 mmol/L OA 和 10 μmol/L 雌二醇的 MS 培养基上进行筛选, 2 周后取有胚根发育的可能突变体移植于正常 MS 培养基中, 5~7 d 后移到土里, 单株收种。初筛获得约 300 株可能的草酸不敏感突变体, 在筛选培养基上复筛一次, 获得 5 株较耐草酸的突变体 (D33、D74、D154、D282、D630)(图 1 和图 2)。从图片中清晰可见, 突变体胚根较长, 甚至

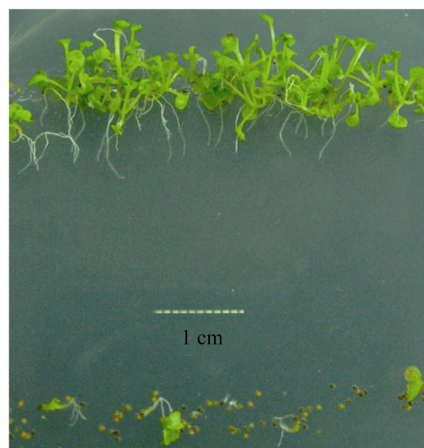


图2 D630(上)和野生型 col-0(下)在含 1.2 mmol/L OA 的 MS 培养基上生长 14 d 的情况
 Fig. 2 Growth response of D630 (above) and wild type (col-0, down) on modified MS medium containing 1.2 mmol/L OA for 14 days

有根毛发生, 叶片为绿色, 多长有四片叶。野生型仅有少数露白发芽, 个别有胚根, 但是没有真叶发育, 只有两片子叶。

2.3 突变体插入位点分析

为了进一步对突变体进行遗传分析, 从突变体中提取基因组 DNA, 进行 TAIL-PCR。对第二步和第三步产物进行琼脂糖电泳(图 3), 切胶回收第三步产物的大片段。测序、比对的结果表明: D33 的 T-DNA 插入位点位于 *At2g39720* (Zinc finger) and *At2g39730* (Rubisco activase) 之间(GenBank 登录号 No. EF591991), D74、D154、D282 和 D630 虽然测序所得序列长短有所不同, 但是比对结果都插在 *At5g10450* (14-3-3 protein GF14 lambda) 的第一个内含子上(GenBank 登录号 No. EF591992)。

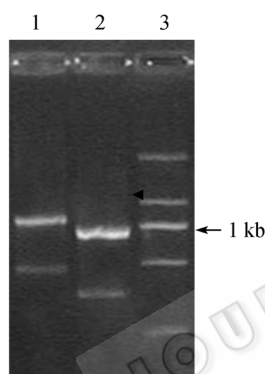


图3 TAIL-PCR 扩增 D33 突变体的 T-DNA 侧翼序列
Fig. 3 TAIL-PCR to amplify the T-DNA flanking sequence of mutant D33

Lane 1: secondary product; lane 2: tertiary product; lane 3: marker V (TIANGEN). The size difference of 100 bp between each secondary and tertiary products indicated the target sequences

3 讨论

草酸是多数真菌的致病因子, 并且已有研究表明植物对草酸的抗性与对菌核病的抗性是一致的^[12]。有研究者采用草酸处理油菜组织产生的愈伤组织^[13,14]或用草酸浸根和浸叶法筛选油菜^[15]或菜豆^[16]的抗病材料, 或用化学诱变剂或辐射诱变干种子^[17]、愈伤组织^[18]或诱变丛生芽^[19]、茎尖^[20,21]并结合草酸筛选, 获得了对菌核病抗性增强的材料。但是这些研究对所获得突变体的抗病分子机理未作研究或极其有限, 也未找到与草酸抗性相关的基因。

目前的研究热点主要集中于草酸降解途径中两种关键酶—草酸氧化酶和草酸脱羧酶性质和转基因的研究。最初从单子叶禾本科植物中获得的草酸氧化酶基因已成功地转到双子叶植物油菜^[3,22]、向日葵^[23]、烟草^[24]、花生^[25]甚至杨树^[26]等, 获得一些对草酸或草酸产生菌的抗性有所增强的转基因植株。转基因草酸脱羧酶的莴苣^[27]、烟草和番茄^[28]对菌核病的抗性也有所增强。

突变体筛选的关键是建立一套切实可行的筛选方案。本研究采用不含钙离子的 MS 培养基做为培养介质, 克服了培养基中的钙离子与草酸作用生成沉淀的问题; 此外草酸的加入还导致培养基 pH 下降, 致使高温灭菌后琼脂无法凝固。因此, 本研究将灭菌前的培养基 pH 调至 6.5, 铺平板前再添加酸碱缓冲液 MES, 克服 pH 波动对实验结果的影响, 保证了实验结果的平行性和重现性。将在筛选培养基上能生根的突变体挑出来作为可能的草酸抗性突变体, 单株收种后, 进行复筛。对于有良好表型的草酸抗性突变体, 利用化学诱导突变体库构建过程中载体所带的 T-DNA 标记(左边界)设计特异引物, 利用三个嵌套的特异引物和随机引物进行三轮 PCR, 可以特异地扩增插入位点的侧翼序列, 从而方便后续的功能分析。

本研究采用缺钙的 MS 培养基对化学诱导突变体库进行了两代的筛选, 获得了五株草酸不敏感的突变体, 并利用 TAIL-PCR 获得了突变体的插入位点。后继的研究将对插入位点上下游基因的表达情况进行分析, 对上调的基因进行过表达分析, 以期获得草酸抗性相关基因。

致谢 中国科学院遗传与发育生物学研究所左建儒研究员提供了突变体库, 在此深表谢意。

REFERENCES

- [1] Mart NV, Dutton MV, Evans CS. Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil Environment. *Can J Microbiol*, 1996, **42**: 881-895.
- [2] Boland GJ, Hall R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can J Plant Pathol*, 1994, **16**: 93-100.
- [3] Xu GS, Rao YQ, Meng JL. The genetic transformation of *Brassica napus* with tissue and development specific co-expression antifungal genes. *Molecular Plant Breeding*, 2003, **1**(3): 303-312.

徐光硕, 饶勇强, 孟金陵. 以器官和发育特异性抗病双

- 基因转化油菜. 分子植物育种, 2003, 1(3): 303-312.
- [4] Cessna SG, Sears VE, Dickman MB, Low PS. Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst of the host plant. *Plant Cell*, 2000, 12: 2191-2199.
- [5] Guimaraes RL, Stotz HU. Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. *Plant Physiol*, 2004, 136: 3703-3711.
- [6] Zuo JR, Niu QW, Chua NH. An estrogen receptor-based transactivator XVE mediates highly inducible gene expression in transgenic plants. *Plant J*, 2000, 24, 265-273.
- [7] Zhang J, Xu JX, Kong YZ, Ji ZD, Wang XC, An FY, Li C, Sun JQ, Zhang SZ, Yang XH, Mou JY, Liu XF, Li GY, Xue YB, Zuo JR. Generation of chemical-inducible activation tagging T-DNA insertion lines of *Arabidopsis thaliana*. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(10): 1082-1088.
张健, 徐金相, 孔英珍, 纪振动, 王兴春, 安丰英, 李超, 孙加强, 张素芝, 杨晓辉, 牟金叶, 刘新仿, 李家洋, 薛勇彪, 左建儒. 化学诱导激活型拟南芥突变体库的构建及分析. 遗传学报, 2005, 32(10): 1082-1088.
- [8] Wang AR, Zhang CH, Lu GD, Zhou J, Wang ZH. Toxicity of oxalic acid to *Arabidopsis thaliana* and its application for screening enhanced resistance mutants to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2005, 35(6)(zk): 159-161.
王爱荣, 张春华, 鲁国东, 周洁, 王宗华. 草酸对拟南芥的毒性及其在筛选拟南芥突变体中的应用. 植物病理学报, 2005, 35(6)(zk): 159-161
- [9] Weigel D, Glazebrook J. *Arabidopsis: a laboratory manual*. Beijing: Chinese Industry Press, 2004, 165-166.
- [10] Liu YG, Mitsukawa N, Oosumi T, Whittier RF. Efficient isolation and mapping of *Arabidopsis thaliana* T-DNA insert junctions by thermal asymmetric interlaced PCR. *Plant J*, 1995, 8(3): 457-463.
- [11] Ying G, Wu W, He CZ. Cloning of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Pathogenicity related Gene Sequences by TAIL-PCR. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2002, 18(3): 182-186.
应革, 武威, 何朝族. TAIL-PCR方法快速分离Xcc致病相关基因序列. 生物工程学报, 2002, 18(3): 182-186.
- [12] Liu SY, Zhou BW, Pang JR, Wu ZQ. Uptake, transport and distribution of oxalate by rapeseed varieties with different resistance to stem rot. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 1997, 19(1): 50-52.
刘胜毅, 周必文, 潘家荣, 吴正卿. 抗感菌核病油菜品种对草酸的吸收和转运差异. 中国油料, 1997, 19(1): 50-52.
- [13] Wu LY, Gao BD, Liao XL, Huang H. Isolation and characterization of stem rot resistant mutant of rapeseed. *Research of Agricultural Modernization*, 1997, 8(5): 314-316.
吴力游, 高必达, 廖小兰, 黄红. 油菜抗菌核病突变体筛选及抗性鉴定. 农业现代化研究, 1997, 18(5): 314-316.
- [14] Wu LY, Liu XD, Huang H, Gao BD. Studies on procedure of screening for stem rot resistant mutants in rapeseed (*Brassica Napus*). *Journal of Hunan Agricultural University*, 1997, 23(6): 515-519.
吴力游, 刘学端, 黄红, 高必达. 油菜抗菌核病突变体筛选方法研究. 湖南农业大学学报, 1997, 23(6): 515-519.
- [15] Liu SY, Zhou BW, Yu Q, Zhou LC. Application of oxalic acid for screening resistance oilseed rape to *Sclerotinia Sclerotiorum* and its affecting factors. *Acta Phytophylacica Sinica*, 1998, 25: 56-60.
刘胜毅, 周必文, 余琦, 周乐聪. 草酸法筛选油菜抗菌核病材料的效果及其影响因素. 植物保护学报, 1998, 25: 56-60.
- [16] Kolkman JM, Kelly JD. An indirect test using oxalate to determine physiological resistance to white mold in common bean. *Crop Science*, 2000, 40: 281-285.
- [17] Liu LH, Shi SW, Wu JS, Chen YX, Zhou YM. *In vitro* screening stem rot resistant (tolerant) materials in *Brassica Napus* L. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2003, 25(1): 5-9.
刘良宏, 石淑稳, 吴江生, 陈玉霞, 周永明. 油菜诱变和离体草酸筛选抗菌核病材料. 中国油料作物学报, 2003, 25(1): 5-9.
- [18] Zhao Y, Wang ML, Zheng HW, Pan T. Cell mutagenesis and selection for resistance to oxalic acid in *Brassica Napus*. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 1996, 18(4): 10-14.
赵云, 王茂林, 郑洪武, 潘涛. 油菜细胞诱变及抗草酸突变体的筛选. 中国油料, 1996, 18(4): 10-14.
- [19] Huang JH, Lu RJ, Zhou ZJ, Wang YF, Sun YF, Zhou RM. *In vitro* selection of rape resistant to *Sclerotinia sclerotiorum* using culture of microspore and anther. *Plant Physiology Communications*, 2001, 37: 226-227.
黄剑华, 陆瑞菊, 周志疆, 王亦菲, 孙月芳, 周润梅. 应用小孢子和花药培养技术筛选油菜抗菌核病材料. 植物生理学通讯, 2001, 37: 226-227.
- [20] Chen W, Li MY, Li XY. *In vitro* induced mutant tolerant to oxalic acid in *Brassica Napus*. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2001, 14(2): 31-33.
陈薇, 李名扬, 李宣源. 离体茎尖诱变筛选油菜耐草酸变异体. 西南农业学报, 2001, 14(2): 31-33.
- [21] Wang YF, Huang JH, Lu RJ, Sun YF, Zhou RM, Zhou ZJ, Xie ZJ, Lin CH. *In vitro* selection of rape variants resistant to oxalic acid using haploid stem apices. *Acta Agriculture Nucleatae Sinica*, 2002, 16(6): 355-359.
王亦菲, 黄剑华, 陆瑞菊, 孙月芳, 周润梅, 周志疆, 谢祝捷, 刘成洪. 利用油菜单倍体茎尖筛选抗菌核病变异体. 核农学报, 2002, 16(6): 355-359.

- [22] Thompson C, Dunwell JM, Johnstone CE, Lay V, Ray J, Schmitt M, Watson H, Nisbet G. Degradation of oxalic acid by transgenic oilseed rape plants expressing oxalate oxidase. *Euphytica*, 1995, **85**, 169–172.
- [23] Hu X, Bidney DL, Yalpani N, Yalpani N, Duvick JP, Crasta O, Folkerts O, Lu GH. Overexpression of a gene encoding hydrogen peroxide generating oxalate oxidase evokes defense responses in sunflower. *Plant Physiol*, 2003, **133**, 170–181.
- [24] Jing L, Kang ZS, Sun YF, Zhang G. Study on transformation of *Nicotiana tabacum* with oxalate oxidase gene. *Acta Bot Boreal -Occident Sin*, 2004, **24**(10): 1845–1849.
景岚, 康振生, 孙燕飞, 张岗. 草酸氧化酶基因转化烟草的研究. *西北植物学报*, 2004, **24**(10): 1845–1849.
- [25] Livingstone DM, Hampton JL Phipps PM, Grabau EA. Enhancing resistance to *Sclerotinia minor* in peanut by expressing a barley oxalate oxidase gene. *Plant physiol*, 2005, **137**, 1354–1362.
- [26] Liang H, Maynard CA, Allen RD, Powell WA. Increased *Septoria musiva* resistance in transgenic hybrid poplar leaves expressing wheat oxalate oxidase gene. *Plant Molecular Biology*, 2001, **45**, 619–629.
- [27] Dias BA, Cunhua WG, Morais LG, Vianna GR, Rech EL, Capdeville G, Aragao FL. Expression of an oxalate decarboxylase gene from *Flammulina sp.* In transgenic lettuce (*Lactuca sativa*) plants and resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathology*, 2006, **55**, 187–193.
- [28] Kesawani M, Azam M, Natarajan K, Mehta A, Datta A. Oxalate decarboxylase from *Collybia velutipes*. Molecular cloning and its overexpression to confer resistance to fungal infection in transgenic tobacco and tomato. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, **275**, 7230–7238.

2008 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表

序号	会议名称	筹办单位	时间	人数	地点	联系人
1	“病毒性肝炎：成就与挑战”国际研讨会	中国微生物学会病毒学专业委员会	4月	200人	福建 厦门	杜海莲 0592-2183111
2	医学真菌学学术研讨会	中国微生物学会真菌学专业委员会	6月	200人	湖北 武汉	郑岳臣 02761151310
3	疫苗质量控制与安全性评价会议	中国微生物学会生物制品专业委员会	6月	200人	北京	白东亭 01067095727
4	中日病毒学会议	中国微生物学会病毒学专业委员会	6月	100人	日本 东京	李昌 lichang78@163.com
5	第二届全国农业微生物研究及其产业化研讨会暨第十一届全国杀虫微生物学术讨论会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	6月	150人	内蒙古	孙明 027-87283455
6	第三届微生物资源与环境修复学术会议	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	7-8月	150人	山东 烟台	朱昌雄 010-68919561
7	全国第二届海洋微生物研讨会	中国微生物学会海洋微生物学专业委员会	8月	150人	山东 济南	张玉忠 13969185852
8	中国病原生物学（医学微生物学和寄生虫学）教育教学研讨会	中国微生物学会	8月	100人	上海	董珂 021-63846590-776712
9	全国第六届感染与免疫和生物制品学术研讨会	中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会	8月	100人	吉林 延吉	孟繁平
10	第二届全国微生物基因组学学术研讨会	中国微生物学会基础、农业微生物学专业委员会	8月	100人	上海	李林 027-87286952
11	全国第16次干扰素与细胞因子学术研讨会	中国微生物学会干扰素专业委员会	10月	100人	内蒙古	范中善 13671683629
12	第十届中-日-韩国际酶工程会议	中国微生物学会酶工程专业委员会	10月	150-200人	韩国 济州岛	欧阳浩森 010-64807420
13	第十一次全国环境微生物学学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	10月	150-200人	江苏 无锡	蒋建东 025-84396348
14	感染与健康研讨会	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	10月	200人	广东 广州	姚永明 010-66867394
15	第七届全国青年微生物学者学术研讨会暨全国青年微生物遗传学术研讨会	中国微生物学会基础微生物学专业委员会	10月	100人	山东 济南	李越中 0531-88564288
16	2008年中国微生物学会学术年会	中国微生物学会	11月	400人	海南 海口	王旭 010-64807200
17	链霉菌分子生物学学术研讨会	中国微生物学会分子微生物学与生物工程专业委员会	11月	80-100人	海南 海口	朱春宝 021-62470561