

- configurations of DNA molecules undergoing orthogonal filed alternating gel electrophoresis by fluorescence microscopy. *Biochemistry*, 1990, 29: 3396~3401
- 4 Gurieri S, Smith S B, Bustamante C. Trapping of megabase-sized DNA molecules during agarose gel electrophoresis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 453~458
 - 5 Smith D E, Chu S. Response of flexible polymers to a sudden elongational flow. *Science*, 1998, 281: 1335~1340
 - 6 Block S M, Goldstein L S B, Schnapp B J. Bead movement by single kinesin molecules studied with optical tweezers. *Nature*, 1990, 348: 348~352
 - 7 Schwartz D C, Li X, Hernandez L, et al. Ordered restriction maps of *Saccharomyces cerevisiae* chromosomes constructed by optical mapping. *Science*, 1993, 262: 110~114
 - 8 Cai W, Jing J, Irvn B, et al. High-resolution restriction maps of bacterial artificial chromosomes constructed by optical mapping. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 3390~3395
 - 9 Meng X, Benson K, Chada K, et al. Optical mapping of lambda bacteriophage clones using restriction endonucleases. *Nature Genetics*, 1995, 9: 432~438
 - 10 Cai W, Aburatani H, Stanton V P, et al. Ordered restriction endonuclease maps of yeast artificial chromosomes created by optical mapping on surface. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 5164~5168
 - 11 Lin J, Qi R, Aston C, et al. Whole genome shotgun optical mapping of *denococcus radiodurans*. *Science*, 1999, 285: 1558~1562
 - 12 张益, 陈圣福, 欧阳振乾, 等. 单个 DNA 分子的拉直操纵和成像. *科学通报*, 2000, 45(5): 490~493
 - 13 Ouyang Z Q, Hu J, Chen S F, et al. Molecular patterns by manipulating DNA molecules. *Journal of Vacuum Science and Technology*, 1997, B15: 1387~1389
 - 14 王文明, 周永力, 江光怀, 等. 水稻抗白叶枯病基因 *Xa-4* 的精细定位及其共分离分子标记. *科学通报*, 2000, 45(10): 1067~1070
 - 15 Yokata H, Johnson F, Lu H, et al. A new method of mechanical stretching DNA for optical mapping. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25: 1064~1070

(2001-05-21 收稿, 2001-07-20 收修改稿)

非意识视觉运动知觉启动的脑机制

罗跃嘉¹ 姜扬² 唐一源¹ R. Parasuraman³

(1 中国科学院心理研究所, 北京 100101; 2 National Institute of Mental Health, Bethesda, MD20892, USA; 3 Catholic University of America, Washington, DC20064, USA. E-mail: luoyj@psych.ac.cn)

摘要 记录正常青年人在运动知觉实验中的事件相关电位(ERPs)与功能性磁共振成像(fMRI)。结果发现某一特定方向的视觉运动知觉可以无意识地诱导其后的运动知觉偏向于同一方向; ERP 早期(100 ms)与晚期(350 ms)成分的波幅增大; fMRI 显示该早期效应反映外纹状皮层的神经调节机制, 内侧颞叶(MT/MST)和顶叶内皮质的视觉加工区域也被激活, 该结果提供了运动知觉启动效应的机制, 是运动知觉刺激的方向选择性神经响应相互作用观点的直接证据, 支持基于计算模型的对立的运动知觉启动理论, 不支持神经反应不应期假说。

关键词 视觉运动知觉 非意识 事件相关电位 功能性磁共振

自然界中视觉感知是可以被诱导或者说被启动的。例如, 某一特定方向的视觉刺激^[1,2], 甚至非意识的视觉刺激^[3]皆能使视觉运动知觉偏向于同一方向。因此, 视觉运动知觉启动可提供非意识加工的研究线索, 其神经机制尚不明确。本实验拟利用脑成像技术, 研究该类方向选择反应早期非意识加工在视觉皮质的神经机制。

对被试呈现向左或向右二义(ambiguous)运动的正弦波格栅竖条。当一个特定运动方向的刺激启动二义运动的靶刺激时, 其知觉的运动方向偏向启动刺激的同一方向^[2,4]。这种运动知觉启动无须意识参与, 在启动刺激-靶刺激之间的间隔长达 1 s 时, 该启

动效应明显减弱^[4]。对于这种现象的神经机制目前存在两种截然不同的解释。一种观点认为, 该启动效应是由于靶刺激的神经反应落到了启动刺激神经反应的不应期中(neural refractoriness)^[5,6]。如果是这样, 反映神经兴奋性大小的事件相关电位(event-related potential, ERP)波幅应随启动-靶刺激间隔缩短而降低。另一种观点则提出了运动知觉对立模型(motion opponency model)的假设, 认为同向运动的神经信号会增强, 而运动方向相反的神经信号则彼此相减^[4,7-9]。这样, 启动-靶刺激间隔缩短时, 反映神经信号响应的 ERP 成分应该增大。迄今尚未见到研究正弦波光栅运动知觉的脑成像研究报道。本文拟通过

ERP 和功能性磁共振成像 (functional magnetic resonance imaging, fMRI) 实验来检验这两种假说.

1 方法

(i) 被试者. 17例正常青年人(平均年龄22岁)参加两项 ERP 实验, 对其中2个被试进行了 fMRI 实验. 所有被试者视力正常或矫正后正常.

(ii) 刺激与任务. 实验 1. 单次运动. 刺激分为3种绿色竖条正弦波光栅(视角 8.4°)的相位变化: 相位变化 90° , 此时的知觉是光栅向左运动; 相位变化 270° , 此时的知觉是光栅向右运动; 相位变化 180° , 此时的知觉为光栅有时向左动, 有时向右动, 故称为二义运动(图 1(a)). 3种刺激呈现顺序随机. 要求被试根据其知觉的运动方向按键: 向左运动时用左手按键, 向右运动时用右手按键. 本实验的目的是观察各类运动知觉在脑内的时间变化过程.

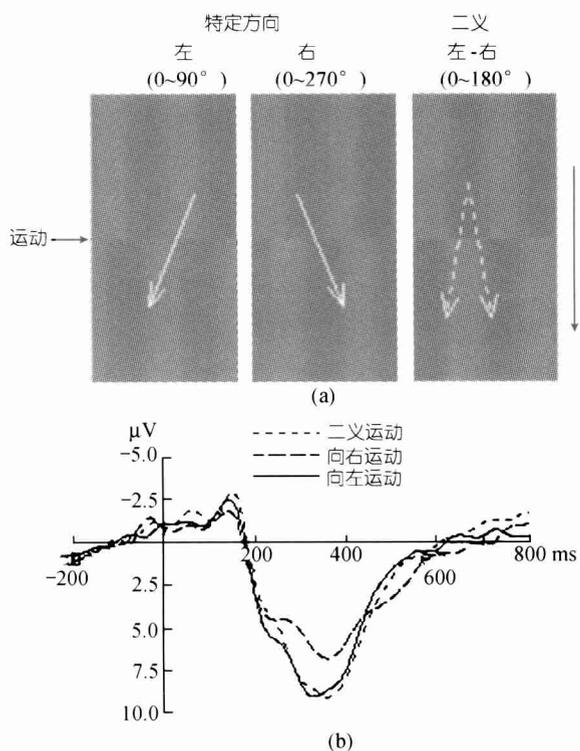


图 1 单次运动实验模式示意图(a)与单次运动产生的 ERP 总平均图(b)

实验 2. 双次运动. 刺激物为2种正弦波光栅运动组合. 每种组合皆由启动运动与靶运动组成, 启动运动的相位变化是 90° 或 270° , 被试会正确地知觉为向左或向右. 2种刺激的区别在于靶运动不同: 一

种组合的靶运动相位变化为 180° , 即上述二义运动, 是为实验组合, 该实验称为实验组; 另一种组合的靶运动和启动运动的知觉方向相反, 这种组合为对照组, 该实验称为对照组(图 2(a)). 每种组合的启动运动与靶运动之间的间隔又分为 200, 400 和 1000 ms 3种. 这样, 实验 2 的刺激共 6 种组合. 各种组合呈现顺序随机. 要求被试根据其知觉的 2 次运动方向是否一致按键, 对同向运动按左键, 对反向运动按右键. 在被试间进行了按键方向平衡, 即另一半被试对同向运动按右键, 对反向运动按左键. 本实验的目的是

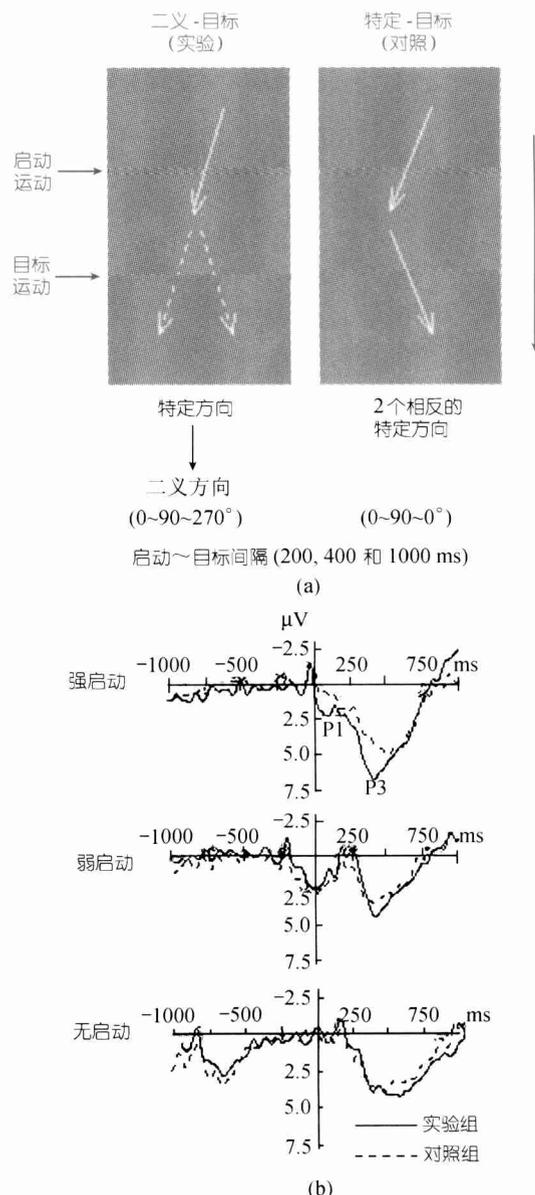


图 2 双次运动的实验模式示意图(a)与双次运动产生的 ERP 总平均图(b)

观察启动效应的ERP与fMRI变化。考虑到短时间间隔将产生ERP重复效应,兹采用反向运动作为启动运动的对照,二者相减所得的差异波即为纯启动效应的ERP成分。

(iii) ERP记录。脑电记录点为12个国际10~20标准记录系统的Fz, Cz, Pz, Oz, C3, C4, P3, P4, T5, T6, O1和O2点。另外,OL为T5与O1连线的中点,OR为T6与O2连线的中点。参考点为右侧乳突,脑电放大频带宽度为0.1~100 Hz,连续采样,频率为250 Hz。皮肤-电极间阻抗低于5 k Ω 。分析时程为1000 ms,其中200 ms为刺激前基线。测量窗口P1为50~150 ms, N1为100~200 ms, P3为250~550 ms。

(iv) fMRI测定。从ERP实验参加者中随机抽取2人进行fMRI扫描。只进行了ERP实验中的部分实验:3种单次运动(向左,向右,二义运动)和200 ms短间隔(启动-靶刺激)的双次运动。在两次运动任务之间令被试观看静止的正弦波光栅图,作为对照。采用GE公司1.5 T磁共振成像系统,用于获得基于血氧水平依赖性(BOLD)信号的T2*加权梯度回波序列——回波平面成像(即功能像)。扫描参数为:TR = 3 s, TE = 40 ms, 转换角度 = 90°。每个被试得到层厚为5 mm的22层全脑轴位解剖图像。所得数据采用多元回归分析^[10]。在全部实验效应中,取Z > 3.09(校正后)的三维像素(voxels)作为运动知觉的脑区激活点。

2 结果

2.1 ERP实验1

单次90°(向左), 270°(向右)相位运动的击键正确率均为99%,可称之为特定运动;180°相位移动时,向左击键率为56%,因而叫做二义运动。在左、右特定运动过程中,P1~P3成分没有波幅及潜伏期之间的差异。但二义运动产生的P3波幅比特定运动产生的P3显著性减小($F_{(2,32)} = 8.248, P < 0.005$,图1(b))。

2.2 ERP实验2

比较3个时间间隔(200, 400和1000 ms)的实验组(启动-靶刺激为特定运动与二义运动)与对照组(2次反向运动)之间的差别,3个时间间隔实验组的同向率分别为96%, 80%与54%。如果正确反应率达100%,表示一个完全的启动状态;而50%的正确反应率则表示没有启动。因此,上述结果表明3种时间间隔分

别为强启动(200 ms)、弱启动(400 ms)和无启动状态(1000 ms)。在200 ms间隔,启动状态诱发的ERP在早期成分(P1, $F_{(1,16)} = 5.898, P < 0.05$)与晚期成分(P3, $F_{(1,16)} = 11.373, P < 0.005$)均有显著的正向移动。当间隔增至400 ms时,仅P3波幅增大($F_{(1,16)} = 14.408, P < 0.005$)。在1000 ms间隔,未见实验组与对照组之间有任何显著性差别(图2(b))。

实验组靶刺激ERP减去对照组靶刺激ERP得到差异波,表示靶刺激诱发的神经活动中的运动知觉启动相关成分。在强启动状态(200 ms),早期(80~130 ms, $P < 0.05$)与晚期差异成分(250~500 ms, $P < 0.001$)均有明显的正向移动。图3(a)为不同时间段的ERP差异波地形图。靶刺激呈现98 ms后,在头皮枕部有一个正性活动,而在386 ms之后,则有一个广泛分布的慢正波。视觉ERP的P1成分局限于外纹状皮质(extrastriate cortex)^[11],故从启动相关ERP的头皮分布提示最早发生于外纹状皮质的启动效应与视觉加工的早期阶段密切相关。

2.3 fMRI实验

为进一步了解启动效应的空间定位,我们检测了运动启动效应的fMRI反应。由于fMRI的时间分辨率有限,对于启动和靶运动的神经响应未能明显分开。另外,强启动状态仅持续200 ms,所以当参加ERP实验的被试在磁共振扫描中完成同样的任务时,主要对运动方向的知觉判断所引起的激活区位置感兴趣。我们比较了运动方向的知觉判断与静止正弦波光栅图感知这两种情况的fMRI结果。图3(b)结果显示了一个重叠在高分辨率结构MRI上的被试脑区激活图。在三维像素 $P < 0.001$ 的统计显著性情况下,我们发现与运动方向加工相关的激活脑区有腹侧枕区, MT/MST区, 颞上回和内侧顶叶。

3 讨论

朝某一特定方向运动的启动刺激可使二义运动靶刺激产生的运动知觉同向偏移。这种非意识的启动效应可维持1 s。我们的ERP结果表明二维运动知觉启动的方向导致了枕颞部早期正波(P1, 刺激后100 ms)与顶枕部、中央部、额部广泛分布的晚期成分(P3, 350 ms)的增大,此增大效应在200 ms的启动-靶刺激短间隔时最大。随间隔延长,行为启动效应减

1) Haxby J V, Maisog J M, Courtney S M. Multiple regression analysis of effects of interest in fMRI time series. In: Lancaster J, Fox P, Friston K, eds. Mapping and Modeling the Human Brain. New York: Wiley (待出版)

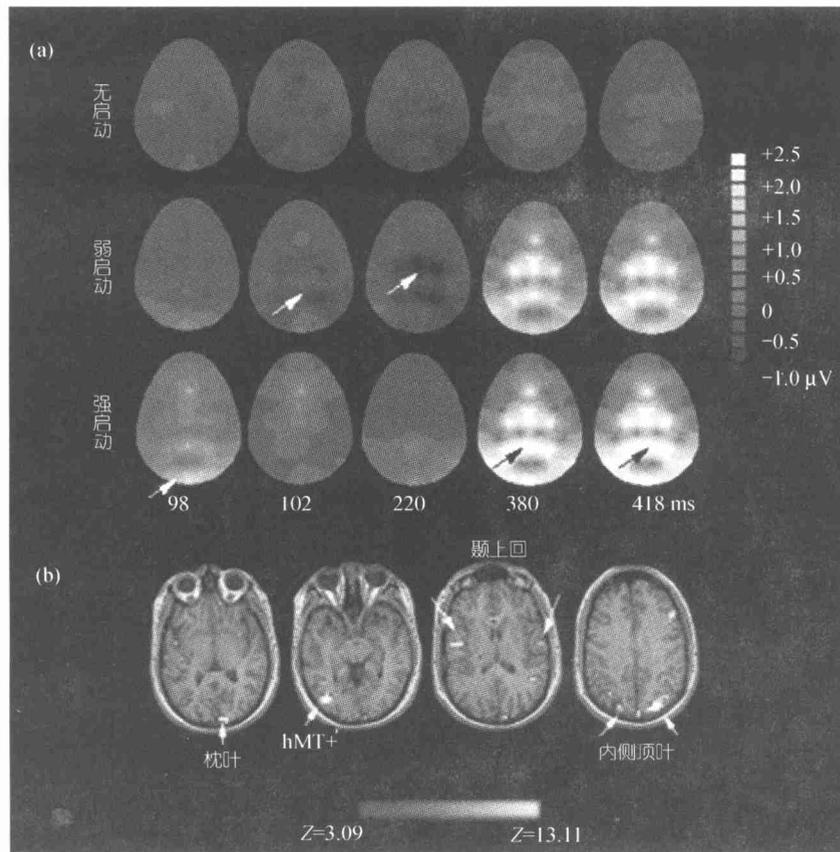


图3 实验组与对照组相减的差异波地形图(a)和 fMRI 结果(b)

弱, ERP 波幅增大效应也减小; 间隔延至 1000 ms 时, 行为启动效应与波幅增大效应均消失. fMRI 结果表明早期潜伏期效应反映了外纹状皮质的神经调节机制, 包括 MT/MST 的高级视觉加工区域以及内侧顶叶也被激活.

神经不应期观点认为启动-靶刺激间隔的缩短可减弱加工时程的相互作用^[5,6], 应该表现为 ERP 成分的波幅减小. 本实验结果与之相反, 200 ms 短间隔的 P1 与 P3 波幅均比 400 ms 时增大, 因而不支持这个假说. 另一方面, 早在 20 世纪 80 年代就提出了人体视觉计算模型^[7,8], 认为运动知觉对立可反映运动知觉方向加工的神经机制, 反向运动与二义方向运动神经元反应的相减, 导致了启动某一运动知觉方向的网络反应. 而直到最近, 才得到猴脑单细胞记录^[12,13]与人体 fMRI^[14]直接神经学证据, 支持运动知觉的对立性. 本实验 1 的结果支持这一模型, 二义运动比特定运动知觉产生较小的 ERP 波幅, 与上述相减效应一致. ERP 实验 2 的结果则支持运动知觉启动的时间

干扰取决于运动知觉对立或运动知觉能量^[4,9]. 在实验组, 对启动运动知觉的神经响应促进了特定的运动方向. 这种神经信号之和随时间间隔的延长而减弱, 符合本实验随时间间隔延长而启动效应减小的结果(图 3(a)). 相反, 对照组的反向运动, 导致了神经反应的削减, 表现为对照组 ERP 波幅小于实验组(图 2).

致谢 魏景汉教授提供了评论与修改意见. 本工作为国家自然科学基金(批准号: 30070262)、中国科学院重大交叉学科前沿项目(批准号: KJCX1-07)、中国科学院百人计划和美国国立健康研究院(NIH, AG07569)资助项目.

参 考 文 献

- 1 Anstis S, Ramachandran V. Visual inertia in apparent motion. *Vision Res*, 1987, 27: 755~764
- 2 Pantle A, Turano K. Visual resolution of motion ambiguity with periodic luminance- and contrast-domain stimuli. *Vision Res*, 1992, 32: 2093~2106
- 3 Blake R. What can be "perceived" in the absence of visual awareness. *Current Direc Psychol Sci*, 1998, 6: 157~162
- 4 Pinkus A, Pantle A. Probing visual motion signals with a priming paradigm. *Vision Res*, 1997, 37: 541~552

- 5 Kanwisher N. Repetition blindness: type recognition without token individuation. *Cognition*, 1987, 27: 117~143
- 6 Luo C R, Caramazza A. Temporal and spatial repetition blindness: effects of presentation mode and repetition lag on the perception of repeated items. *J Experi Psychol: Hum Percept Perf*, 1996, 22: 95~113
- 7 van Santen J, Sperling G. Temporal covariance model of human motion perception. *J Opt Soci Am A*, 1984, 1: 451~473
- 8 Adelson E H, Bergen J R. Spatiotemporal energy models for the perception of motion. *J Opt Soc Am*, 1985, 2: 284~299
- 9 Strout J J, Pantle A, Mills S L. An energy model of interframe interval effects in single-step apparent motion. *Vision Res*, 1994, 33: 3223~3240
- 10 Friston K J, Holmes A P, Poline J B, et al. Analysis of fMRI time-series revisited. *NeuroImage*, 1995, 2: 45~53
- 11 Hillyard S A. Electrical and magnetic brain recordings: contributions to cognitive neuroscience. *Curr Opin Neurobiol*, 1993, 3: 217~224
- 12 Qian N, Andersen R A, Adelson E H. Transparent motion perception as detection of unbalanced motion signals: I. Psychophysics. II. Physiology. III. Modeling. *J Neurosci*, 1994, 14: 7357~7392
- 13 Newsome W T, Britten K H, Movshon J A. Neuronal correlates of a perceptual decision. *Nature*, 1989, 341: 52~54
- 14 Heeger D, Boynton G M, Demb J B, et al. Motion opponency in visual cortex. *J Neurosci*, 1999, 19: 782~7194

(2001-07-06 收稿)

两种拮抗菌 β -1, 3-葡聚糖酶和几丁酶的产生及其抑菌的可能机理

范青 田世平* 刘海波 徐勇

(中国科学院植物研究所, 北京 100093. * 联系人, E-mail: shiping@public.east.cn.net)

摘要 膜醭毕赤酵母(*Pichia membranefaciens* Hansen)和季也蒙假丝酵母(*Candida guilliermondii*)是两株能有效抑制桃、油桃果实采后软腐病的拮抗菌。研究了拮抗菌的 β -1,3-葡聚糖和几丁酶活性在 *in vitro* 和 *in vivo* 上的诱导。结果表明,以葡萄糖+细胞壁制品(CWP)作为碳源时在 Lilly-Barnett 基本培养基中诱导的 β -1,3-葡聚糖活性最高,其中膜醭毕赤酵母和季也蒙假丝酵母的最高值分别达 114.0 SU(specific activity unit, 比活单位)和 103.2 SU,而以葡萄糖作为惟一碳源时诱导的 β -1,3-葡聚糖活性则最低。在 Czapeck 基本培养基中,膜醭毕赤酵母诱导的几丁酶(外切及内切几丁酶)活性显著地高于季也蒙假丝酵母,如膜醭毕赤酵母外切几丁酶最大活性达 3.13 SU,显著地高于季也蒙假丝酵母的最大活性(2.24 SU)。酵母菌悬浮液和碳源也能诱导桃果实伤口处 β -1,3-葡聚糖和几丁酶的产生。研究表明 β -1,3-葡聚糖和几丁酶在抑制病菌时都有一定作用,并可能具有协同效果。

关键词 生物防治 酵母菌 软腐病 β -1,3-葡聚糖酶 几丁酶

使用化学杀菌剂控制病菌是防治采后果蔬病害发生的主要方法。然而,长期使用杀菌剂会使病菌对其产生抗药性^[1],并对公众健康造成危害,因此,有些控制采后病害的最有效的化学杀菌剂已被禁止使用^[2]。人们试图寻求能取代当前化学杀菌剂的既安全又经济有效的方法^[1,3],生物防治正是这样一种有望取代化学杀菌剂的方法。现已分离和筛选了多种能有效防治果实采后病害的拮抗菌^[4~7]。

了解拮抗菌的抑菌机理是增强拮抗菌生物防治效力和确定拮抗菌筛选标准的重要前提^[6]。由于寄主-病菌-拮抗菌之间的交互作用,阐明一种拮抗菌的抑菌机理比较困难^[7]。一般地,采后果蔬生物防治拮抗菌

的抑菌机理有:靠产生抗菌素抑制病菌生长^[8];与病菌竞争营养和空间^[9];诱导寄主产生抗性^[3];直接与病原菌作用^[3,6,7,10]。

几丁质和 β -1,3-葡聚糖是真菌细胞壁的主要成分。因此,有人认为拮抗菌产生的几丁酶(EC 3.2.1.14)和 β -1,3-葡聚糖酶(EC 3.2.1.39)是其在真菌寄生过程中降解病菌细胞壁的关键酶^[11]。近年来,对几丁酶和 β -1,3-葡聚糖酶在采后果实病害生物防治中作用的研究不多^[6,7,12]。

软腐病的病原菌(*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb: Fr) Vuill)是引起我国核果类果实采后毁灭性病害的主要原因。病菌孢子散布于空气中,主要通过因采收或包