

# TaSPX3 基因 VIGS 沉默表达降低小麦对叶锈病 (*Puccinia recondite* f. sp. *tritici*) 的抗性

张蕊<sup>1</sup> 李博<sup>1</sup> 李旭<sup>1</sup> 尚文静<sup>1</sup> 韩迎春<sup>2</sup> 程琨<sup>1</sup> 刘娜<sup>1\*</sup> 郑文明<sup>1,2\*</sup>

(1. 河南农业大学 生命科学学院, 郑州 450002;

2. 河南农业大学 小麦玉米作物学国家重点实验室/河南粮食作物协同创新中心, 郑州 450002)

**摘要** 为挖掘 TaSPX3 基因在小麦抗叶锈病中的作用, 本研究以前期对叶锈菌感染的小麦转录组数据分析发现的 TaSPX3 基因受到叶锈菌侵染诱导表达为依据, 利用 BSMV-VIGS 系统沉默中国春和郑麦 9023 中的 TaSPX3 基因, 利用 qRT-PCR 技术进一步分析小麦抗病相关基因的转录水平。结果发现 TaSPX3 基因沉默后, 小麦叶锈菌感染加重, 降低了小麦对叶锈病的抗性; 同时, 对侵染过程抗病相关基因转录检测发现, 抗病相关基因 PR2 和 CAT 的表达水平显著下调。本研究表明 TaSPX3 基因可能通过调控 PR2 和 CAT 基因的表达参与小麦对叶锈病的抗性。

**关键词** 小麦; TaSPX3; VIGS; 叶锈病; 抗病性

中图分类号 S512 文章编号 1007-4333(2021)01-0026-07 文献标志码 A

## Silencing the expression of TaSPX3 by VIGS decreased the resistance of wheat to leaf rust (*Puccinia recondite* f. sp. *tritici*)

ZHANG Rui<sup>1</sup>, LI Bo<sup>1</sup>, LI Xu<sup>1</sup>, SHANG Wenjing<sup>1</sup>, HAN Yingchun<sup>2</sup>,  
CHENG Kun<sup>1</sup>, LIU Na<sup>1\*</sup>, ZHENG Wenming<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Life Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Collaborative Innovation Center of Henan Grain Crops/State Key Laboratory of Wheat and Maize Crop,  
Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract** In order to explore the function of TaSPX3 in wheat resistance to leaf rust based on the discover that TaSPX3 expression was induced by leaf rust infection, BSMV-VIGS system was used to silence TaSPX3 in Chinese Spring and Zhengmai 9023. qRT-PCR was adopted to analysis the expression of disease resistant genes. The results showed that: The disease severity of leaf rust on BSMV : TaSPX3 infected wheat leaves was aggravated, which indicated that the resistance to leaf rust was reduced after silencing TaSPX3 gene; The expression levels of diseases-resistance genes PR2 and CAT were significantly down-regulated in the leaves. In conclusion, TaSPX3 might be involved in wheat resistance to leaf rust fungus by regulating the expression of PR2 and CAT genes.

**Keywords** wheat; TaSPX3; VIGS; leaf rust; resistance

叶锈病是小麦三大锈病之一, 是由叶锈菌 (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*) 引发的一种病害, 其分布范围广、发生频繁, 每年在全世界各个小麦种植区大面积流行, 对小麦产量造成严重损失<sup>[1]</sup>。

收稿日期: 2020-05-18

基金项目: 河南省自然科学基金项目 (182300410023, 202300410202); 河南省科技攻关项目 (182102110278); 河南省教育厅重点项目 (17B210003)

第一作者: 张蕊, 硕士研究生, E-mail: zhangrui0818@163.com

通讯作者: 郑文明, 教授, 主要从事农业基因组学研究, E-mail: wmzheng@henau.edu.cn

刘娜, 副教授, 主要从事作物分子生物学及功能基因组学研究, E-mail: naliu@henau.edu.cn

为抵御病原物的攻击,植物进化出复杂的信号感知、传导和抵抗机制,例如在无毒性病原体感染过程中,植物抗性蛋白识别病原体的效应因子,并在感染部位启动超敏反应(HR)和局部程序性细胞死亡,超敏反应包括活性氧(ROS)爆发、信号分子的传递及病程相关蛋白(PR)的诱导等<sup>[2]</sup>。过多的 ROS 积累会破坏细胞膜结构和功能,而细胞中的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等可使 ROS 维持在正常水平<sup>[3]</sup>。抗病品种小麦受到稻瘟病感染后,活性氧爆发程度低于感病品种,CAT 活性仅在抗病品种中升高,而其他活性氧清除酶(SOD、POD、APX)活性在不同抗性小麦中都有所升高,在抗病小麦中的增幅大于感病小麦,表明在去除稻瘟病菌感染引起的过量活性氧累积过程中,有效的活性氧清除系统能够抑制真菌对细胞的损伤,从而有助于增强小麦抗病性<sup>[4]</sup>。

植物在受到某些病原物侵染时,会诱导病程相关蛋白(Pathogenesis-related proteins, PRs)的表达,PR 蛋白多为酸溶性、低分子量和抗蛋白酶分子,有助于植物在苛刻的条件下生存,大多数 PR 蛋白具有抗菌、杀虫和抗病毒活性,有些 PR 蛋白还具有  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶或几丁质酶活性<sup>[5]</sup>。病程相关蛋白基因 *PR1*、*PR2*、*PR5* 是植物抗病基因介导的抗病反应中的标志基因<sup>[6]</sup>,相关小麦抗病性的研究主要有:白粉菌侵染小麦显著诱导了小麦中病程相关蛋白 *PR1*、*PR2*、*PR5* 的转录表达<sup>[7]</sup>。条锈菌的致病因子 *Pst-milR1* 可通过抑制 *PR2* 的表达来抑制植物的免疫应答反应<sup>[8]</sup>。王华忠等<sup>[9]</sup>研究发现,小麦抗病反应过程中的 2 个重要的 PR 蛋白基因(几丁质酶基因和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶基因)对白粉病菌入侵和吸器形成均有抑制作用,在一定程度增强了小麦对白粉病菌的抗性。

病毒诱导基因沉默(Virus induced gene silencing, VIGS)技术在植物抗病研究中被广泛应用,该技术是基于转录后基因沉默(Post-transcriptional gene silencing, PTGS),可引起内源 mRNA 特异性降解,其原理是在病毒载体中插入特异性目的片段,侵染宿主植物后,植物表现出目的基因表达水平下降或基因功能丧失<sup>[10]</sup>。利用 VIGS 技术可在相对快速的时间内沉默目的基因,该技术已被用于单子叶植物和双子叶植物中<sup>[11]</sup>。大麦条纹花叶病毒诱导的基因沉默(BSMV-VIGS)系统最初是在大麦上被开发出来,现在广泛应用于研究小麦的基因功

能<sup>[12]</sup>。王新博等<sup>[13]</sup>利用 BSMV-VIGS 系统沉默小麦 *TaEF-1 $\alpha$*  基因,与正常植株相比,VIGS 沉默处理后的植株对干旱胁迫更加敏感,因此 *TaEF-1 $\alpha$*  基因可能在小麦干旱胁迫响应中发挥关键作用,Feng 等<sup>[14]</sup>利用 VIGS 技术沉默 *TaMDHAR4* 基因后发现,小麦受到条锈菌感染部位坏死面积比例增加,对条锈菌的抗性受到了抑制。

本实验室前期在对接种叶锈菌后的小麦转录组数据分析中发现,*TaSPX3* 基因的转录水平受到叶锈菌侵染诱导,推测 *TaSPX3* 基因可能参与小麦抗叶锈病过程。*TaSPX3* 基因属于 *SPX* 基因家族,该基因家族共有结构域最早是从酵母 *gpa1* 抑制子(SYG1)、酵母周期依赖性蛋白(PHO81)和人的异嗜性多变逆转录病毒受体(Xpr1)中发现的,因此以这三者首字母命名。*SPX* 蛋白结构域较为保守,平均长度为 165 个氨基酸,组成 3 个亚结构域,每个亚结构域由 30~40 个氨基酸组成,3 个亚结构域的序列相似性较低。*SPX* 基因家族通常在维持细胞内磷稳态中发挥着重要作用,参与植物低磷胁迫应答<sup>[15]</sup>。研究发现小麦 *SPX* 基因可能参与小麦高温抗条锈病<sup>[16]</sup>。目前关于 *TaSPX3* 参与小麦抗叶锈病过程的作用机制研究尚未见报道,因此,为深入了解 *TaSPX3* 基因在小麦抗叶锈病中的作用,本试验拟采用 BSMV-VIGS 系统沉默中国春和郑麦 9023 中 *TaSPX3* 基因,在沉默植株上接种叶锈菌,并利用 qRT-PCR 技术对 *TaSPX3* 的表达水平进行检测,观察小麦对叶锈菌侵染的反应,检测小麦抗病相关基因 *PR2*、*CAT* 的表达水平,以期为进一步明确 *TaSPX3* 的作用机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试小麦品种为中国春和郑麦 9023;供试烟草品种为本生烟;供试菌株为小麦叶锈菌(*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*)HnZU18-3 单孢系,该菌系由本实验室鉴定并保存。

### 1.2 构建大麦条纹花叶病毒介导的 *TaSPX3* 基因沉默体系

本试验中所用载体有  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和  $\gamma$ -PDS,载体由河南农业大学农学院王道文教授课题组提供。*TaSPX3* 基因 cDNA 全长 789 bp,由本实验室前期从郑麦 9023 中克隆得到。从 *TaSPX3* 基因 cDNA 上选取 122 bp 的特异性序列作为 VIGS 的靶标序

列,设计特异性引物(表1),从实验室已有的 *TaSPX3*-T 重组质粒中克隆出带有 LIC 接头的目的片段,利用 T4 DNA 连接酶将目的片段与线性化  $\gamma$  载体(限制性内切酶 *Apa* I 处理)连接,连接产物转化大肠杆菌,设计引物 VIGS-Test-F/R(表1)进行菌落 PCR 筛选阳性克隆,送至公司测序验证阳性克隆,重组质粒命名为  $\gamma$ -*TaSPX3*。

分别将  $\gamma$  (Empty vector)、 $\gamma$ -PDS、 $\gamma$ -*TaSPX3* 3 种质粒与  $\alpha$ 、 $\beta$  按照 1 : 1 : 1 的比例混匀,组装成 BSMV : EV、BSMV : PDS、BSMV : *TaSPX3* 3 种 VIGS 病毒,利用烟草转染方法,沉默中国春和郑麦 9023 中的基因<sup>[17]</sup>,由于本实验室前期研究发现中国春和郑麦 9023 对叶锈病的抗性不同,郑麦 9023 对叶锈病的抗性比中国春强,因此选择这两个品种小麦来进行研究。接种 BSMV : PDS 的小麦用于验证本试验所用的 BSMV-VIGS 沉默体系是否有效,*PDS* 基因是小麦八氢番茄红素脱氢酶基因,若该基因被沉默,小麦叶片则会出现白化。接种 BSMV : *TaSPX3* 的小麦为试验组,用于研究 *TaSPX3* 基因被沉默后小麦对叶锈菌的抗性。接种 BSMV : EV 的小麦中没有沉默任何基因,作为以上两种小麦的

对照。VIGS 病毒接种于小麦第二片叶,接种 14 d 后,观察接种 BSMV : PDS 的小麦叶片出现白化现象,再将实验室保存的叶锈菌孢子均匀洒在接种 BSMV : EV 和 BSMV : *TaSPX3* 的小麦叶片上,在接种锈菌后的第 7 天,观察小麦叶片感病表型,分析 *TaSPX3* 基因沉默对小麦抗病性的影响。

### 1.3 qRT-PCR

沉默植株和对照组接种叶锈菌后 0、12、24 h 分别取样,利用 Trizol Reagent(康为世纪生物科技有限公司, CW0580S, 北京)提取样品 RNA,利用 HiScript II QRTsuperMix for qPCR(南京诺唯赞医疗科技有限公司, 223-01, 南京)试剂盒,按提供的操作流程,将 RNA 反转录成 cDNA。以小麦 26S 为内参基因,检测 *TaSPX3* 基因和小麦抗病相关基因 *PR2*、*CAT* 的相对表达量,检测 *TaSPX3* 基因的沉默效果,分析 *TaSPX3* 基因沉默对抗病相关基因转录水平的影响。用于荧光定量的引物见表 1。

目的基因的相对表达水平按照  $2^{-\Delta\Delta CT}$  方法计算,每组试验进行 3 次独立的生物学试验,利用 *T*-test 方法对结果进行显著性分析。

表 1 本试验所用引物

Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
VIGS-122-F	AAGGAAGTTTAAGACAAGTTCCTGGCGTACAAGCG
VIGS-122-R	AACCACCACCACCGTAACCTGTCCACCTCGTCATTGAG
VIGS-test-F	CACAGTTGTGGAATGCCATGCTC
VIGS-test-R	CGAGCTCCTGCAGGACAGTC
Ta26S-F	GAAGAAGGTCCCAAGGGTTC
Ta26S-R	TCTCCCTTTAACACCAACGG
TaSPX3yg-F	GCTCGTCCGACTCGTCTCCG
TaSPX3yg-R	CGCCTTCACCGTCTCCCTTAC
CAT-F	CAACTCCGGCTACTGGACCAC
CAT-R	ACAACACGTTACAGGGATACGC
PR2-F	TGCTTCCATGTTTGCCGTTGCT
PR2-R	TGTAGAGCTGCACCACGTCGCT

## 2 结果与分析

### 2.1 VIGS 重组质粒的构建

以 *TaSPX3*-T 重组质粒为模板,利用引物

VIGS-122-F/R 进行 PCR 反应,克隆得到 122 bp 的特异性靶标序列,用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,对 PCR 产物进行回收,将回收产物与线性化的  $\gamma$  载体连接,连接产物转化大肠杆菌,挑选单

克隆菌落,利用引物 VIGS-test-F/R 筛选阳性克隆,将阳性克隆送至公司测序后,与靶标序列比对完全一致,表明重组质粒构建成功。

## 2.2 BSMV-VIGS 沉默体系有效性验证

为验证本试验所用的 BSMV-VIGS 体系是否有效,对 2 种小麦接种 BSMV : PDS 病毒,以沉默小麦叶片中的 *PDS* 基因,并与接种 BSMV : EV 病毒后的小麦叶片作对照,结果见图 1。如图 1 所示,中国春和郑麦 9023 中接种 BSMV : PDS 的小麦叶片均出现白化现象,表明本试验所用的 BSMV-VIGS 沉默体系能够有效沉默小麦基因。

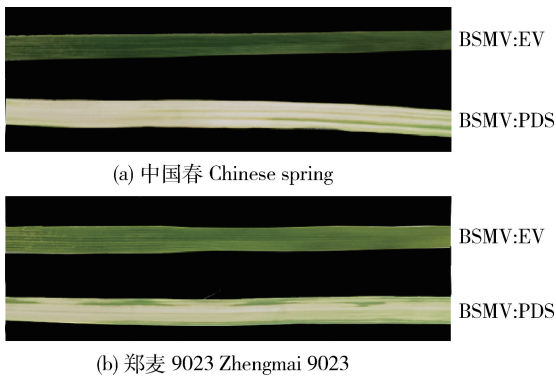


图 1 分别接种 BSMV : EV 和 BSMV : PDS 的小麦叶片表型

Fig. 1 Phenotypes of wheat leaves respectively inoculated with BSMV : EV and BSMV : PDS

## 2.3 *TaSPX3* 基因沉默效果检测

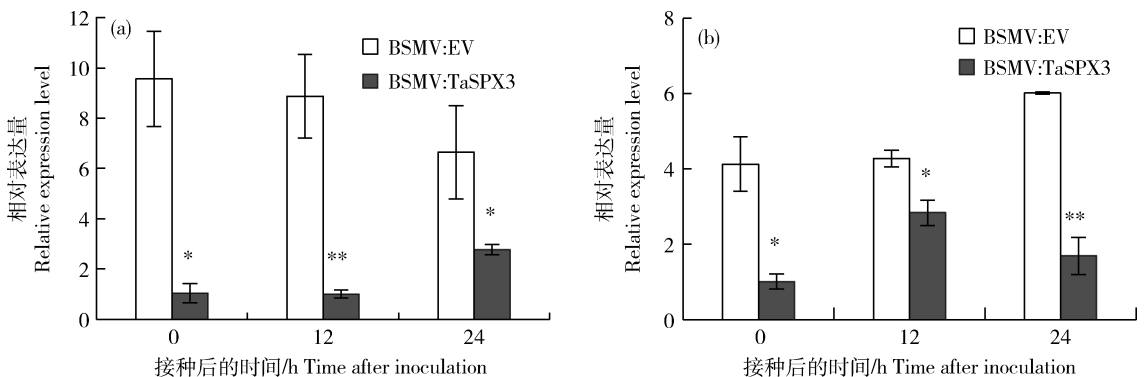
为进一步验证 *TaSPX3* 基因是否被有效沉默,利用 qRT-PCR 技术检测感染 VIGS 病毒的中国春和郑麦 9023 接种叶锈菌后的 0、12、24 h 叶片

中 *TaSPX3* 基因的表达水平,结果如图 2 所示;在 2 种遗传背景下,与感染 BSMV : EV 的小麦相比,感染 BSMV : *TaSPX3* 病毒的小麦在接种叶锈菌后的 0、12、24 h, *TaSPX3* 基因的表达水平均显著降低,表明接种 BSMV : *TaSPX3* 病毒有效沉默了中国春和郑麦 9023 中的 *TaSPX3* 基因。

## 2.4 基因沉默后小麦抗病性研究

为进一步研究 *TaSPX3* 基因在小麦抗叶锈病中的作用,给野生型和感染 VIGS 病毒小麦接种叶锈菌,7 d 后观察叶片感病表型(图 3)。如图 3 所示,2 种遗传背景下,感染 BSMV : *TaSPX3* 病毒的小麦叶片明显比野生型小麦和感染 BSMV : EV 的小麦叶片上产生更多的叶锈菌孢子,表明 *TaSPX3* 基因沉默的小麦对叶锈病的抗性降低。

接种锈菌后 0、12、24 h 检测了 6 个小麦抗病相关基因的表达量,其中 *PR2* 和 *CAT* 的表达量差异显著。如图 4(a)所示,感染 BSMV : EV 中国春的 *PR2* 基因在接种锈菌 12 h 时显著上调,而感染 BSMV : *TaSPX3* 中国春的 *PR2* 基因在 24 h 时才显著上调,中国春中 *TaSPX3* 基因被沉默后接种叶锈菌,*PR2* 基因的表达受到了抑制;如图 4(b)所示,感染 BSMV : *TaSPX3* 郑麦 9023 接种叶锈菌后 *PR2* 基因的表达显著低于感染 BSMV : EV 的郑麦 9023,表明 *TaSPX3* 基因的沉默显著抑制了郑麦 9023 中 *PR2* 的表达;如图 4(c)、(d)所示,在 2 种遗传背景下,*CAT* 基因在感染 BSMV : *TaSPX3* 小麦中的表达量显著低于感染 BSMV : EV 的小麦,表明中国春和郑麦 9023 中 *TaSPX3* 基因的沉默使叶锈菌侵染后 *CAT* 基因的表达显著下调。



\* 为显著差异  $P < 0.05$ , \*\* 为极显著差异  $P < 0.01$ 。

\* Significant difference  $P < 0.05$ , \*\* Extremely significant difference  $P < 0.01$ .

图 2 感染 VIGS 病毒的中国春(a)和郑麦 9023(b)接种叶锈菌后 *TaSPX3* 基因相对表达水平

Fig. 2 Relative expression level of *TaSPX3* after inoculation of leaf rust in Chinese Spring (a) and Zhengmai 9023 (b) infected with VIGS virus



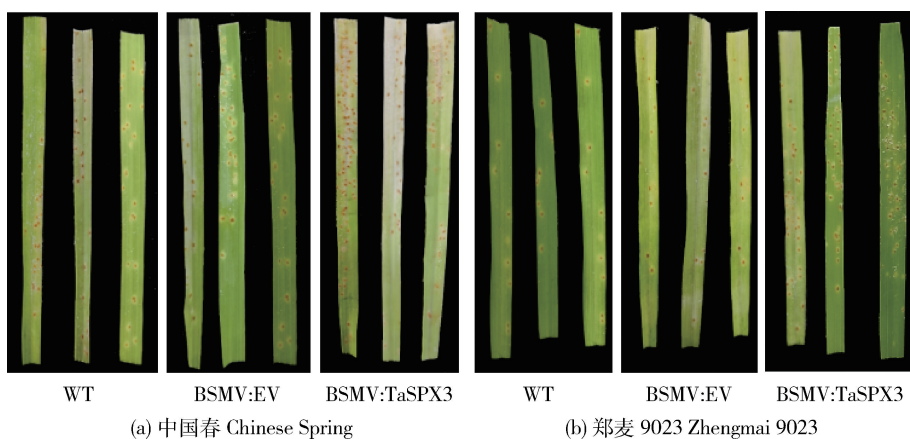
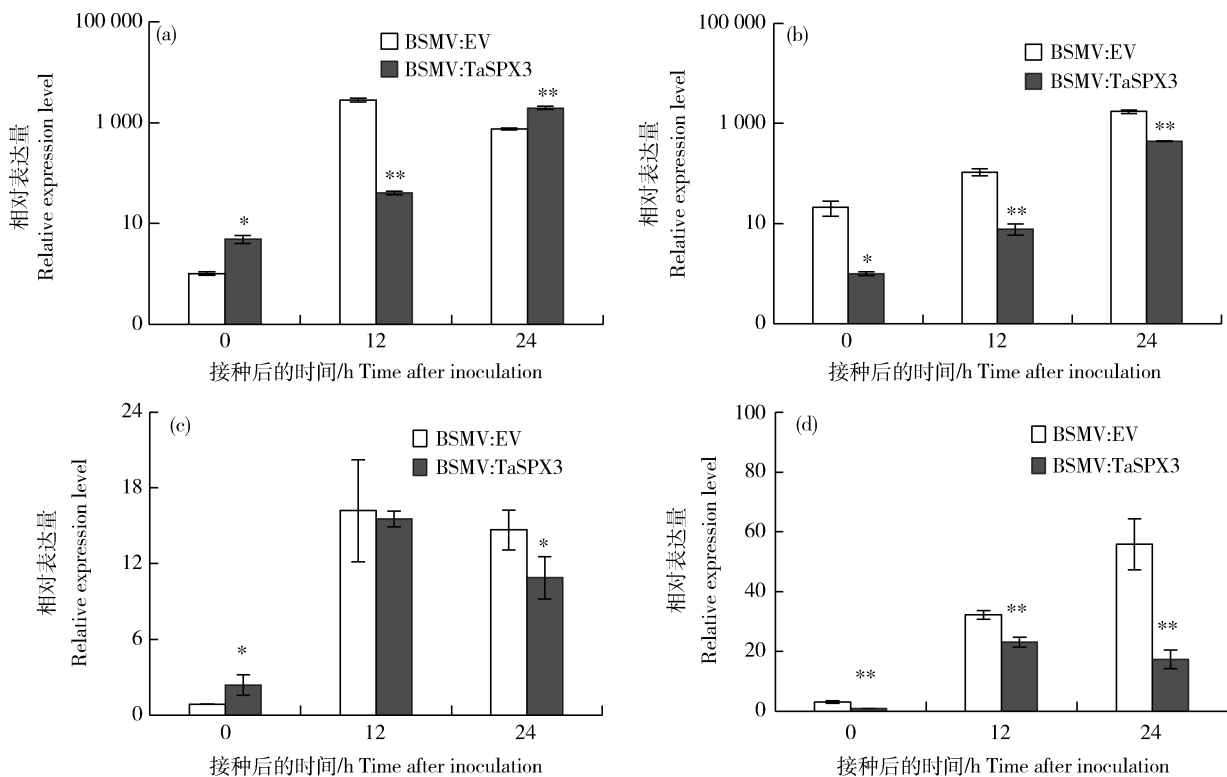


图3 野生型小麦和感染 VIGS 病毒的小麦接种叶锈菌后叶片表型

Fig. 3 Leaf phenotypes of wild-type wheat and wheat infected with VIGS virus inoculated with leaf rust



(a) 中国春 *PR2* 基因; (b) 郑麦 9023 *PR2* 基因; (c) 中国春 *CAT* 基因; (d) 郑麦 9023 *CAT* 基因。

(a) *PR2* in Chinese Spring; (b) *PR2* in Zhengmai 9023; (c) *CAT* in Chinese Spring; (d) *CAT* in Zhengmai 9023;

\* 为显著差异  $P < 0.05$ , \*\* 为极显著差异  $P < 0.01$ 。

\* Significant difference  $P < 0.05$ , \*\* Extremely significant difference  $P < 0.01$ .

图4 感染 VIGS 病毒的小麦接种叶锈菌后 *PR2* 和 *CAT* 基因相对表达水平

Fig. 4 Relative expression levels of *PR2* and *CAT* in wheat infected with VIGS virus inoculated with leaf rust

以上研究结果表明, *TaSPX3* 基因沉默抑制了抗病相关基因 *PR2*、*CAT* 的表达, 从而降低了小麦对叶锈菌的抗性, 因此 *TaSPX3* 基因正调控小麦对叶锈病的抗性。

### 3 讨论与结论

病程相关蛋白广泛存在于不同植物中, 是植物防御反应中的重要成员。其中 *PR2* 是  $\beta$ -1, 3-

葡聚糖酶,能够催化  $\beta$ -1,3-葡聚糖多聚体水解,可直接攻击入侵菌丝壁,并且它催化的水解产物可以作为信号分子,进一步诱导防御,从而增强植物抗病性<sup>[18]</sup>。信号分子水杨酸(SA)、脱落酸(ABA)均能诱导 *PR2* 基因的表达,有研究显示 *PR2* 可能通过 SA 和 ABA 介导的信号通路参与小麦抗叶锈病反应<sup>[19]</sup>。本研究中 *TaSPX3* 基因的沉默抑制了 *PR2* 的转录表达,表明 *TaSPX3* 基因可能通过调控 *PR2* 的表达影响入侵菌丝在寄主细胞内的生长,诱导植物防御反应,从而调控植物的抗病性。

植物细胞氧化还原过程是由复杂的遗传网络调控,过氧化氢酶(CAT)是最重要的活性氧清除酶之一,CAT 在清除各种代谢途径产生的  $H_2O_2$  积累方面发挥重要作用<sup>[20]</sup>。高芬等<sup>[21]</sup>将拮抗菌制成液体培养基,黄瓜、西瓜、青椒 3 种植物经拮抗菌液体培养基处理后,其中 CAT 和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性明显提高,增强了植物抗病性。本研究利用 BSMV-VIGS 体系在中国春和郑麦 9023 这 2 种遗传背景下沉默小麦基因,构建了 BSMV : EV、BSMV : PDS、BSMV : *TaSPX3* 3 种 VIGS 病毒,接种 BSMV : PDS 的小麦叶片出现白化现象,表明该体系能够有效沉默小麦基因;通过 qRT-PCR 方法检测 *TaSPX3* 基因的相对表达量,发现感染 BSMV : *TaSPX3* 的小麦中 *TaSPX3* 基因表达水平显著低于对照组,表明 BSMV-VIGS 体系有效沉默了 *TaSPX3* 的表达。对感染 BSMV : *TaSPX3* 的小麦接种叶锈菌,观察到 BSMV : *TaSPX3* 小麦叶片上锈菌孢子堆相比于对照组显著增多,检测了多个抗病相关基因表达水平后发现 *PR2* 和 *CAT* 的表达水平在基因沉默植株中明显受到了抑制,表明沉默 *TaSPX3* 基因可抑制 *PR2* 和 *CAT* 的表达,可能是降低小麦对叶锈菌的抗性的途径。如图 3 所示,郑麦 9023 对叶锈菌的抗性比中国春强,但在 2 种遗传背景下,*TaSPX3* 基因沉默后,都降低了对叶锈菌的抗性,*PR2* 和 *CAT* 的表达均受到了抑制,表明 *TaSPX3* 基因增强小麦对叶锈病的抗性并无品种间的差别,可能具有广谱抗性。

本研究表明,*TaSPX3* 基因可能正调控 *PR2*、*CAT* 并参与小麦对叶锈病的抗性机制。研究结果为下一步深入阐明 *TaSPX3* 基因在调控小麦抗病机制中的作用提供了基础。

## 参考文献 References

- [1] 吕欣迪,唐华山,耿妙苗,米阳阳,李映辉,李峰,刘培园,解超杰,孙其信. 小麦品种辽春 10 抗叶锈病基因 *LrLCL10* 的比较基因组学定位[J]. 中国农业大学学报, 2017, 22(4): 1-9  
Lv X D, Tang H S, Geng M M, Mi Y Y, Li Y H, Li F, Liu P Y, Xie C J, Sun Q X. Comparative genomics analysis of leaf rust resistance gene *LrLCL10* in common wheat cultivar Liaochun 10[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2017, 22(4): 1-9 (in Chinese)
- [2] Hong J K, Hwang I S, Hwang B K. Functional roles of the pepper leucine-rich repeat protein and its interactions with pathogenesis-related and hypersensitive-induced proteins in plant cell death and immunity[J]. *Planta*, 2017, 246(3): 351-364
- [3] 龙书生,曹远林,李亚玲,康振生. 小麦抗条锈病过敏性坏死反应中的活性氧代谢[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2009, 37(11): 125-130  
Long S S, Cao Y L, Li Y L, Kang Z S. Metabolism of reactive oxygen species in the process of hypersensitive response of wheat to stripe rust [J]. *Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition*, 2009, 37(11): 125-130 (in Chinese)
- [4] Debona D, Rodrigues F Á, Rios J A, Nascimento K J T. Biochemical changes in the leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae* [J]. *Phytopathology*, 2012, 102(12): 1121-1129
- [5] Jo B R, Yu J M, Jang S, Ahn J W, Kim H S, Seoung E A, Park H Y, Jin D H, Joo S S. Cloning, expression, and purification of a pathogenesis-related protein from *Oenanthe javanica* and its biological properties [J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2020, 43(1): 158-168
- [6] 张玉,杨爱国,冯全福,蒋彩虹,耿锐梅,罗成刚. 植物病程相关蛋白及其在烟草中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2012, 5: 20-24  
Zhang Y, Yang A G, Feng Q F, Jiang C H, Geng R M, Luo C G. Plant Pathogenesis-related proteins and research progress in tobacco [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2012, 5: 20-24 (in Chinese)
- [7] 牛吉山,刘瑞,郑磊. 小麦 *PR-1*、*PR-2*、*PR-5* 基因的白粉菌和水杨酸诱导表达分析及白粉病抗性研究(英文)[J]. 麦类作物学报, 2007, 27(6): 1132-1137  
Niu J S, Liu R, Zheng L. Expression analysis of wheat *PR-1*、*PR-2*、*PR-5* activated by *Bgt* and SA, and powdery mildew resistance [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2007, 27(6): 1132-1137 (in Chinese)
- [8] Bing W, Yanfei S, Na S, Mengxin Z, Rui L, Hao F, Xiaojie W, Zhensheng K. *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* microRNA-like RNA 1 (*Pst-milR1*), an important pathogenicity factor of *Pst*, impairs wheat resistance to *Pst* by

- suppressing the wheat pathogenesis-related 2 gene[J]. *The New phytologist*, 2017, 215(1): 338-350
- [9] 王华忠, 邢莉萍, 李万隆, 陈佩度. 利用瞬时表达技术分析小麦几丁质酶和  $\beta$ -1,3-葡聚糖苷酶基因的抗病性功能[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(1): 7-12  
Wang H Z, Xing L P, Li W L, Chen P D. Disease-resistance function analysis of wheat chitinase and  $\beta$ -1,3-Glucanase genes by a transient expression system[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2006, 26(1): 7-12 (in Chinese)
- [10] 吕亮杰, 宿振起, 孙丽静, 王莉梅, 李辉. 利用 VIGS 技术初步验证 WSR1 基因功能的研究[J]. 麦类作物学报, 2019, 39(3): 268-276  
Lv L J, Su Z Q, Sun L J, Wang L M, Li H. Preliminary validation of WSR1 gene function by VIGS technology[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2019, 39(3): 268-276 (in Chinese)
- [11] Gunupuru L R, Perochon A, Ali S S, Scofield S R, Doohan F M. Virus-Induced Gene Silencing (VIGS) for functional characterization of disease resistance genes in barley seedlings[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2019, 1900: 95-114
- [12] Tavakol E. Virus-Induced Gene Silencing (VIGS) in *Aegilops tauschii* and its use in functional analysis of *AetDREB2*[J]. *Molecular Biotechnology*, 2018, 60(1): 41-48
- [13] 王新博, 任永哲, 岳慧芳, 李乐, 吕伟增, 史校艳, 辛泽毓, 王志强, 林同保. 基于 VIGS 技术的小麦干旱响应基因 *TaEF-1a* 的功能研究[J]. 华北农学报, 2018, 33(2): 72-78  
Wang X B, Ren Y Z, Yue H F, Li L, Lv W Z, Shi J Y, Xin Z Y, Wang Z Q, Lin T B. VIGS-based functional analysis of wheat drought responsive gene *TaEF-1a*[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2018, 33(2): 72-78 (in Chinese)
- [14] Feng H, Liu W, Zhang Q, Wang X, Wang X, Duan X, Li F, Huang L, Kang Z. *TaMDHAR4*, a monodehydroascorbate reductase gene participates in the interactions between wheat and *Puccinia striiformis* f sp *tritici*[J]. *Plant physiology and biochemistry: PPB*, 2013, 76(2014): 7-16
- [15] Liu N, Shang W, Li C, Jia L, Zheng W M. Evolution of the SPX gene family in plants and its role in the response mechanism to phosphorus stress[J]. *Open Biology*, 2018, 8(1): 170231
- [16] 魏学宁, 小麦 *TaSPX-MFS* 基因的克隆及其在小偃 54 高温诱导抗条锈性中的功能分析[D]. 北京: 中国科学院, 2012  
Wei X N, Cloning of wheat *TaSPX-MFS* gene and its functional analysis in resistance to strip rust induced by high temperature of Xiaoyan 54[D]. Beijing: Chinese Academy of Sciences, 2012 (in Chinese)
- [17] Yuan C, Li C, Yan L, Jackson A O, Liu Z, Han C, Yu J, Li D. A high throughput barley stripe mosaic virus vector for virus induced gene silencing in monocots and dicots[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26468
- [18] 高琳, 栗小英, 张艳俊, 王海燕, 刘大群. 叶锈菌与小麦互作过程中  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶基因的表达分析[J]. 河北农业大学学报, 2014, 37(3): 7-12  
Gao L, Li X Y, Zhang Y J, Wang H Y, Liu D Q. Expression Analysis of  $\beta$ -1, 3-glucanases gene from wheat defense responses to *Puccinia triticina* [J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2014, 37(3): 7-12 (in Chinese)
- [19] 栗小英, 高琳, 张艳俊, 王海燕, 刘大群. 叶锈菌及信号分子诱导小麦 TcLr35 中  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶基因的表达分析[J]. 中国农业科学, 2014, 47(14): 2774-2783  
Li X Y, Gao L, Zhang J Y, Wang H Y, Liu D Q. Expression and analysis of  $\beta$ -1,3-Glucanase gene in wheat TcLr35 induced by wheat leaf rust pathogen and signal molecule[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(14): 2774-2783 (in Chinese)
- [20] Mhamdi A, Noctor G, Baker A. Plant catalases; Peroxisomal redox guardians[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012, 525(2): 181-194
- [21] 高芬, 郝变青, 马利平, 乔雄梧. 防治蔬菜枯萎病的芽孢杆菌对植物体内酶活性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2003, 11(1): 38-40  
Gao F, Hao B Q, Ma L P, Qiao X W. The influence of vegetable wilt (*Fusarium oxysporum* f sp) preventing-antagonistic microorganisms (*Bacillus* sp) on the activity of some enzymes in plants [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2003, 11(1): 38-40 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东