

TaNPR1 在小麦抵抗叶锈菌过程中的作用

李 珊, 乔金柱, 李 烨, 贾丁柔, 刘 刚, 王冬梅

(河北农业大学 华北作物改良与调控国家重点实验室 / 河北省植物生理与分子病理学重点实验室 /
生命科学学院, 河北 保定 071001)

摘要: 叶锈病是一种影响小麦 (*Triticum aestivum*) 产量的重要病害, 挖掘广谱有效的抗病基因有利于促进小麦品种改良。NPR(Nonexpressor of pathogenesis-related genes, NPR) 是一类具有广谱抗病作用的关键因子, 本研究分析了 *TaNPR1* 在抵抗叶锈菌过程中的功能。通过 qRT-PCR(quantitative Real-time-Polymerase Chain Reaction) 检测, 亚细胞定位观察, VIGS 技术沉默 *TaNPR1* 后试验, 表明 *TaNPR1* 影响寄主 HR (Hypersensitive reaction) 的产生, 在小麦抵抗叶锈菌侵染过程中发挥正调控作用。

关键词: 小麦; 叶锈菌; *TaNPR1*; 过敏性反应

中图分类号: S512.1

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):

文献标志码: A



Role of *TaNPR1* in wheat resistance to *Puccinia triticina*

LI Shan, QIAO Jinzhu, LI Ye, JIA Dingrou, LIU Gang, WANG Dongmei

(State Key Laboratory of North China Crop Improvement and Regulation / Key Laboratory of Hebei Province for Plant Physiology and Molecular Pathology / College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding, 071001, China)

Abstract: Wheat leaf rust is an important disease that affects the yield. Identification of broad-spectrum disease-resistant genes is beneficial to the improvement of wheat varieties. NPR is a key factor in broad-spectrum disease resistance. In this article, we analyzed the function of *TaNPR1* in the process of wheat resistance to *Puccinia triticina*. Expression analysis showed that *TaNPR1* expression was induced by *Puccinia triticina* inoculation at the initial stage and the response was stronger in the affinity combination (Tc×260) compared with the incompatible combination (TcLr26×260). Subcellular localization showed that *TaNPR1* was localized in the cytoplasm and nucleus. The VIGS technique was applied on plants of the incompatible combination to silence the *TaNPR1* gene. The silencing plants displayed significantly larger area of HR at the infection point with significantly increased numbers of HMC. These findings suggested that *TaNPR1* affects the generation of host HR and plays a positive role in the process of wheat resistance to leaf rust infection.

Keywords: wheat; *Puccinia triticina*; *TaNPR1*; hypersensitive reaction

收稿日期: 2021-07-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31171472、31871548); 河北省自然科学基金资助项目 (C2019204280); 2020 年度河北省引进留学人员资助项目 (C20200331)。

第一作者: 李 珊 (1994—), 女, 河北省顺平人, 硕士研究生, 从事植物逆境分子生物学研究。

通信作者: 刘 刚 (1978—), 男, 河北省定兴人, 博士, 副教授, 从事植物逆境分子生物学研究. E-mail: gangliu2004@126.com

王冬梅 (1963—), 女, 河北省景县人, 博士, 教授, 从事植物逆境分子生物学研究. E-mail: dongmeiwang63@126.com

本刊网址: <http://hauxb.hebau.edu.cn>

小麦作为中国的第 3 大粮食作物,一直是国家粮食安全的保障^[1]。由叶锈菌 (*Puccinia triticina*) 引起的小麦叶锈病,在全球范围内分布广泛,流行年份可造成严重的产量损失,因此备受人们关注^[2]。目前解决这个问题最有效的方法就是寻找抗性基因,培育转基因抗病品种^[3-4]。针对不同的叶锈病原菌,小麦在抵抗其侵染的过程中进化出相应的抗病基因来识别并激活其下游的抗病因子^[5-6]。然而叶锈菌为了生存也进化出具有更强致病性的菌株,导致原有小麦品种的抗性不断“丧失”,引起锈病的重新爆发,这也成为锈病防控中的国际性难题^[7]。因此,挖掘持久广谱抗性基因就显得尤为重要了。

植物在进化中形成了系统的防御机制抵御病原菌侵染,其中系统获得抗性 (Systemic acquired resistance, SAR) 为寄主提供了持久的广谱抗病作用^[8]。NPRs (Nonexpression of pathogenesis-related genes, NPRs) 是一类参与植物病害抗性调控的关键因子,可诱导植物产生系统获得抗性^[9]。1994 年, Cao 等在拟南芥突变株中首次发现 *NPR1*, 该突变株缺乏 SA、INA 应答,导致了某些病程相关蛋白的表达遭到破坏,并丧失 SAR^[10]。Dong 等经 EMS 诱变也得到 *npr1* 突变株,并利用图位克隆技术获得 *NPR1* 序列,分析发现 *NPR1* 蛋白包含 N 末端的 BTB/POZ 结构域, Ankyrin 重复结构域和 C 末端激活结构域^[11-12]。

NPR1 作为 SAR 信号转导过程中位于 SA 下游并发挥重要作用的关键因子,对植物广谱抗性的调控起着关键作用^[13]。因此,对于植物 *NPR1* 基因的功能研究不仅成为植物抗病信号传导的研究热点,也成为了植物抗病基因工程领域的重点关注对象。目前,人们对 *NPR1* 的研究已经积累了一些数据,除了模式植物拟南芥,在其他多种植物中也都获得了 *NPR1* 及其同源基因,并对其基因功能进行了分析^[14-18]。有证据表明,在缺乏 *AtNPR1* 时,会引起拟南芥中病程相关基因的表达降低,导致拟南芥的抗病性减弱^[10]。与之相反,过表达 *AtNPR1* 会增强拟南芥抗病基因的表达,抑制丁香假单胞菌的生长^[11]。因此, *AtNPR1* 在拟南芥免疫反应中起着不可或缺的作用。同样将 *OsNPR1* 在水稻中过表达,也增强了水稻抗白叶枯病的能力^[19]。此外,在草莓中过表达 *AtNPR1* 基因,增强了寄主对炭疽病等病害的抗性^[20]。将香蕉中的 2 个 *NPR1*

基因 *MNPR1A* 及 *MNPR1B* 转入 *npr1* 突变体中,发现可以恢复 *npr1* 突变体的抗性^[21]。因此, *NPR1* 可增强多种植物对不同病害的抗性,表现出明显的广谱抗性。

小麦往往以过敏性反应 (Hypersensitive reaction, HR) 的形式抵抗叶锈菌的侵染, HR 属于植物抗病的 ETI 范畴^[22]。而 *NPR1* 作为 SAR 中的关键基因,能否在 ETI 类型的抗病反应中起作用还不清楚。我们对拟南芥 *AtNPR1* 进行结构分析,获得与其同源的小麦 *TaNPR1*, 该基因在小麦抵抗赤霉病的研究中也发挥着重要作用^[23]。本课题组通过转录组数据分析,发现 *TaNPR1* 在不同亲和性组合中的表达趋势不同。在此基础上,本试验利用 qRT-PCR 进一步分析了 *TaNPR1* 在小麦与叶锈菌不同亲和性组合中的表达变化,并借助病毒介导的基因沉默 (VIGS) 技术沉默 *TaNPR1* 基因的表达以探讨 *TaNPR1* 在叶锈菌侵染小麦诱发的 HR 中的功能。本研究将拓展人们对 *TaNPR1* 在小麦抵御叶锈菌侵染中的功能定位,为培育抗病小麦品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物与叶锈菌

选用小麦 (*Triticum aestivum*) 近等基因系 TcLr26 和 Thatcher (简称 Tc), 本生烟草 (*N. benthamiana*) 和叶锈菌 (*Puccinia triticina*) 生理小种 260。小麦近等基因系与叶锈菌生理小种分别形成不亲和组合 TcLr26 × 260 和亲和组合 Tc × 260。叶锈菌的繁殖在感病品种‘郑州 5389’上进行。

小麦种子萌发后生长 7 d, 在第 1 片真叶展开时接种叶锈菌生理小种 260。然后在黑暗下保湿 16 h 左右, 再将幼苗转移至温室继续培养。小麦和烟草种植及叶锈菌接种参考 Gu^[24] 等方法。

1.2 *TaNPR1* 基因的表达分析

小麦幼苗在接种叶锈菌后不同时间点取接种叶片, 取样时间为接种后 0、4、8、12、16、24、48、72、96 和 120 h。样品使用液氮速冻, 随后使用冷冻研磨仪将冷冻叶片粉碎。利用 Trizol (生工, 上海) 试剂盒介绍的方法提取总 RNA, 依据 TaKaRa 反转录试剂盒 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (TaKaRa, 大连) 合成 cDNA。

对 *TaNPR1* 进行序列分析, 设计 qRT-PCR 特异性引物, 如表 1 所示, 以 *GAPDH* 作为内参基因以

排除随机误差。

相对表达量计算方法如下:

$$\Delta Ct = Ct(\text{目的基因}) - Ct(\text{内参基因})$$

$$\Delta \Delta Ct = \Delta Ct(\text{处理样本}) - \Delta Ct(\text{对照样本})$$

$$\text{相对表达量} = 2^{-\Delta \Delta Ct}$$

表 1 引物列表

Table 1 Primer used in the experiment

引物名称 Primer name	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	备注 Remark
<i>TaNPRI</i> -qPCR-F	ACGACCTGCAAGATACGCTTC	qRT-PCR 检测 <i>TaNPRI</i> 表达
<i>TaNPRI</i> -qPCR-R	GTTCGACCTGCCAAGTTCC	
<i>GAPDH</i> -qPCR-F	CTGCATCATACGATGACATC	
<i>GAPDH</i> -qPCR-R	TGTCACCGACAAAGTCAGTG	qRT-PCR 检测内参基因 <i>GAPDH</i> 表达
VIGS- <i>TaNPRI</i> -F	AATgcgccgCTTGCGTCAAACCTGTTTCG	构建 BSMV-VIGS- <i>TaNPRI</i> 载体
VIGS- <i>TaNPRI</i> -R	AATgcgccgqaagcttTGCTCTGAGTATCCTTCTTACG	
pSuper1300- <i>TaNPRI</i> -F	CCCaaagcttATGGAGGCCCGAGCAGCCAC	构建构建 35S:: <i>TaNPRI</i> -GFP 表达载体
pSuper1300- <i>TaNPRI</i> -R	GGgttaccTCTCCTAGTTTCGACCTGCC	

1.3 *TaNPRI* 的亚细胞定位

设计 *TaNPRI* 编码区引物, 分别在上下游引物两端添加 *Hind* III 和 *Kpn* I 酶切位点, 见表 1。以 *TcLr26* 的 cDNA 为模板, 扩增 *TaNPRI* 编码区全长, 长度为 1 743 bp。随后与 pSuper1300-GFP 载体连接, 转化农杆菌 GV3101。农杆菌侵染烟草的浓度 $OD_{600}=0.6 \sim 0.8$, 将侵染后的烟草在黑暗下保湿 24 h, 取出后再继续培养至 60 h 左右, 利用 OLYMPUS BX53F 荧光显微镜观察 488 nm 波长下的 GFP 绿色荧光分布。

1.4 利用 BSMV-VIGS 技术探究 *TaNPRI* 基因的功能

设计 *TaNPRI* 特异性片段引物, 见表 1。构建 VIGS 载体并将其命名为 BSMV:*TaNPRI*, 酶切线性化 BSMV: α 、BSMV: β 、BSMV: γ 、BSMV:*TaNPRI* 和 BSMV:*PDS*。通过体外转录获得病毒 RNA, 以不同组合混合形成对照组、试验组和指示组, 见表 2。以摩擦接种法接种到 7 日龄的 *TcLr26* 幼苗第一片真叶上, 具体操作步骤参照 Gu 等^[24]的方法, 在黑暗保湿箱中培养 12 ~ 16 h。待沉默 *PDS* 的指示组叶片出现明显白化现象时, 证明病毒成功侵染小麦叶片, 此时在第 3 片叶上接种叶锈菌生理小种 260, 在接种后 48 和 120 h 取接种叶片, 一部分剪成 1 cm 长叶片置于青霉素小瓶中做 Rohringer 染色观察,

一部分用于以 qRT-PCR 检测基因的沉默效率。其中 Rohringer 染色参照祁艳等^[25]方法进行。在目的基因沉默植株的叶片上, 统计 50 个单侵染点 HR 面积及吸器母细胞 (Haustorium mother cells, HMC) 数量。

表 2 VIGS 组合

Table 2 Combinations used in VIGS

组合 Combination	组分 Component
对照组	BSMV: α 、BSMV: β 、BSMV: γ
试验组	BSMV: α 、BSMV: β 、BSMV: <i>TaNPRI</i>
指示组	BSMV: α 、BSMV: β 、BSMV: <i>PDS</i>

2 结果及分析

2.1 小麦与叶锈菌互作过程中 *TaNPRI* 的表达模式

采用 qRT-PCR 检测 *TaNPRI* 在不同亲和性组合中的表达趋势, 结果如图 1 所示。在亲和组合 (*Tc* × 260) 中, 接种初期 (4 h) *TaNPRI* 表达量最高, 比 0 h 上调 5.7 倍, 随后其表达量逐渐下降。在不亲和组合 (*TcLr26* × 260) 中, 其表达量在接种后早期虽有较高水平表达, 但其表达量低于亲和组合; 在接种后期 (24 ~ 120 h) 该基因的表达均高于亲和组合, 且持续保持在较高的表达水平。这一结果表明 *TaNPRI* 参与小麦抵抗叶锈菌侵染过程, 可能在不亲和组合中对 HR 发挥正调控作用。

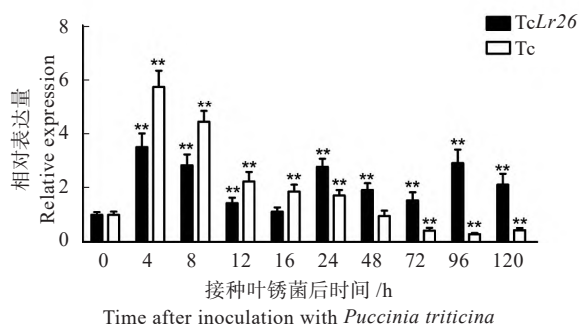


图 1 小麦与叶锈菌互作过程中 *TaNPR1* 的表达分析

Fig. 1 Expression analysis of *TaNPR1* in the interaction between wheat and *Puccinia triticina*

2.2 *TaNPR1* 的亚细胞定位观察

蛋白质的亚细胞定位决定了其发挥功能的场所，是决定其参与生物学过程的重要因素。为此通过构建 *TaNPR1* 与 GFP 融合的植物表达载体，我们进一步分析了 *TaNPR1* 的亚细胞定位，结果如图 2 所示。

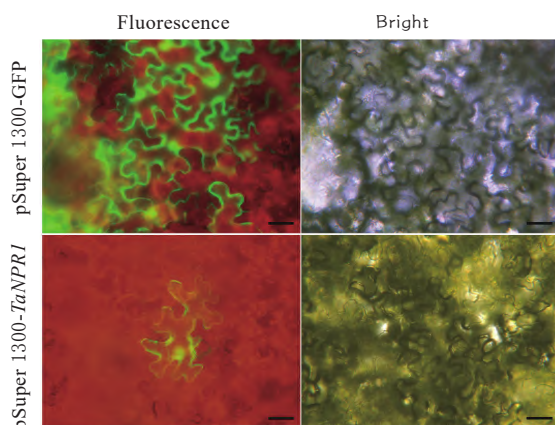


图 2 *TaNPR1* 亚细胞定位的荧光观察 (Bar=20 μm)

Fig. 2 Fluorescence observation of the subcellular localization of *TaNPR1* (Bar=20 μm)

在荧光显微镜下我们观察到 *TaNPR1*-GFP 融合

蛋白的荧光在细胞质和细胞核中均有分布。

2.3 *TaNPR1* 基因沉默影响 HR 的发生及叶锈菌的发育

HR 是小麦抵抗叶锈菌侵染的重要防卫反应，在不亲和组合中，寄主通过产生 HR 来限制叶锈菌的发育。本试验利用 VIGS 技术沉默 *TaNPR1* 基因，以期对 *TaNPR1* 在小麦与叶锈菌互作过程中的功能进行初步探讨。首先通过 qRT-PCR 检测目的基因沉默效率（见图 3），接菌后 48 h 取样的植株中，*TaNPR1* 的沉默效率为 72%，接菌后 120 h 取样的植株中 *TaNPR1* 的沉默效率为 60%。将 *TaNPR1* 被有效沉默的植株叶片进行 Rohringer 染色，通过荧光显微镜观察单侵染点处 HR 面积以及叶锈菌 HMC 的发育（见图 4）。我们对 50 个单侵染点的 HR 面积以及 HMC 数量进行统计分析（见图 5），与对照组相比，沉默 *TaNPR1* 基因的植株在接菌后 48 以及 120 h，发生 HR 的细胞面积变大，叶锈菌 HMC 数量增多，说明沉默 *TaNPR1* 后使小麦对叶锈菌生理小种 260 的抗性减弱。

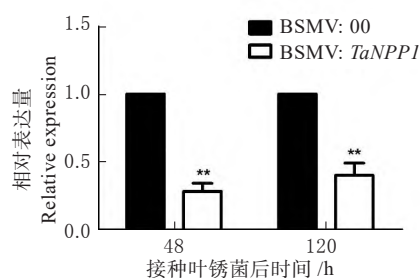


图 3 *TaNPR1* 沉默效率检测

Fig. 3 Silence efficiency detection of *TaNPR1*

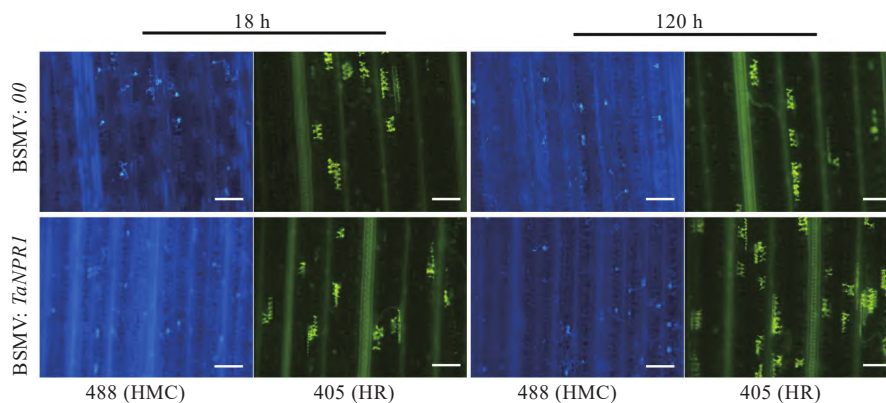


图 4 *TaNPR1*-VIGS 植株叶片的 rohringer 染色及观察 (Bar=100 μm)

Fig. 4 Rohringer staining and observation of *TaNPR1*-VIGS plants (Bar=100 μm)

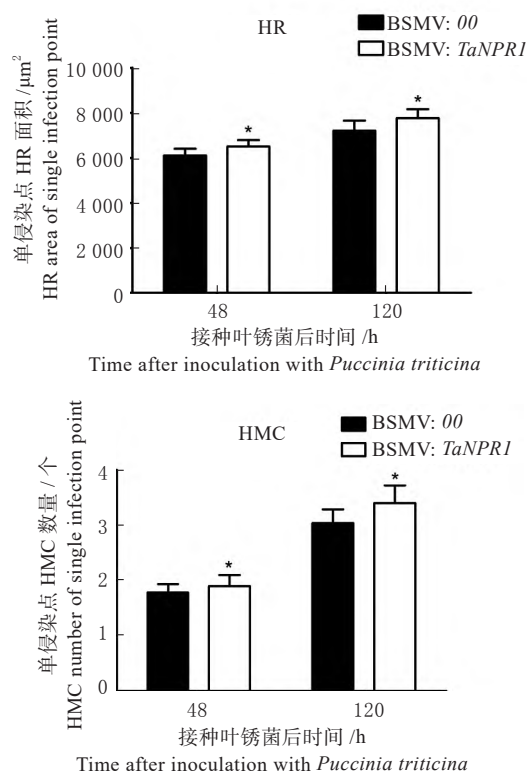


图 5 50 个单侵染点的 HR 面积及 HMC 数量统计

Fig. 5 Statistic analysis of HR area and HMC number of 50 single infection

3 讨论与结论

NPR1 最早在模式植物拟南芥中被发现, 迄今已在拟南芥中发现了 6 个 *NPR* 基因, 根据其功能将其命名为 *AtNPR1*、*AtNPR2*、*AtNPR3*、*AtNPR4*、*AtNPR5*、*AtNPR6*^[11, 26-27]。随后人们相继在水稻^[28]、玉米^[29]等植物中发现了 *NPR1* 同源基因, 并证明 *NPR1* 具有系统广谱抗病性。本课题组克隆获得了小麦 *TaNPR1* 基因, 并对其在小麦抗叶锈病中的功能进行了初步分析。

2018 年, Wang 等分析了小麦和大麦中获得抗性 (Acquired resistance, AR)、系统免疫 (Systemic immunity, SI) 和 Benzothiadiazole 诱导的抗性 (BTH-induced resistance, BIR) 特征, 并与模式植物拟南芥和水稻中的 SAR 特征进行比较, 主要介绍了 SAR 下游基因的研究进展, 包括抗病相关 (PR) 基因和 BTH 诱导的基因, 重点关注了 SAR 中关键因子 *NPR1* 的下游相关基因在抗病中的作用^[30]。近期 Wang 等报道了 *NPR1* 同源蛋白在小麦抵抗锈菌中的功能及分子基础, 以及在不同逆境条件下 *NPR1*

同源蛋白不同结构域所发挥的作用^[31]。小麦往往以 HR 的形式抵抗叶锈菌的侵染, HR 属于植物防御反应的 ETI 范畴。而 *NPR1* 作为 SAR 中的关键基因, 能否在 ETI 抗病反应中起作用, 目前证据还很少。

本课题组通过对小麦与叶锈菌互作的转录组数据库进行分析, 发现 *TaNPR1* 在不同亲和性组合中表达模式不同。随后, 进一步利用 qRT-PCR 检测了 *TaNPR1* 在小麦与叶锈菌不同亲和性组合中的表达变化。在亲和组合中, *TaNPR1* 在侵染初期表达量较高, 随后逐渐下降; 而在不亲和组合中, 与对照相比, 整体呈现较高表达的趋势, 尤其在接种后期 (24 ~ 120 h) 该基因的表达均高于亲和组合。这一结果暗示 *TaNPR1* 参与小麦抵抗叶锈菌侵染的过程, 可能对小麦抗叶锈性发挥正调控作用。

根据之前文献报道, *NPR1* 的定位受到外界刺激的影响。正常情况下主要以多聚体形式位于细胞质中, 而当植物受到病原菌侵染后, 体内 SA 水平升高, *NPR1* 则解聚为单体, 入核与 TGA 相互作用, 调控下游靶基因的表达^[32]。通过对 *TaNPR1* 的定位分析, 本研究结果也显示 *TaNPR1* 主要存在于细胞质和细胞核中, 在叶锈菌侵染小麦后是否会影响 *TaNPR1* 亚细胞定位的改变仍需要进一步探究。本课题组借助 VIGS 技术进一步分析了 *TaNPR1* 在小麦抵抗叶锈菌侵染过程中的功能, 在不亲和组合中沉默 *TaNPR1*, 发现沉默植株中的 HR 面积与对照组相比变大, HMC 数量与对照组相比增多, 证明植株抗性减弱。这一结果说明 *TaNPR1* 影响小麦抗叶锈菌 HR 的发生, 正调控小麦对叶锈菌的抗性。然而, *TaNPR1* 在小麦抗叶锈病中的具体分子机制及信号转导还不清楚, 仍需进一步设计试验进行探究。综上所述, 本研究通过分析 *TaNPR1* 的表达模式及其对 HR 和叶锈菌 HMC 的影响, 初步确认 *TaNPR1* 正调控小麦抗叶锈病的能力, 为小麦抗病育种提供理论依据, 也为进一步挖掘小麦广谱抗性基因奠定基础。

参考文献

- [1] 何中虎, 庄巧生, 程顺和, 等. 中国小麦产业发展与科技进步 [J]. 农学学报, 2018, 8(1): 99-106.
- [2] 唐玉兰, 刘泉姣, 张柏松. 小麦叶锈病危害损失初步研究 [J]. 植物保护, 1990(1): 25-27.
- [3] 赵霞, 王长彪, 赵兴华, 等. 小麦抗病相关基因聚合育种的研究进展 [J]. 山西农业科学, 2017, 45(2): 308-313.

- [4] 王菲, 杨毅清, 武文月, 等. 利用 GFP-Trap 技术筛选与 TaTLP1 相互作用的蛋白 [J]. 河北农业大学学报, 2020, 43(2): 76–82.
- [5] 王庆华, 尹小燕, 张举仁. 植物的基因对基因抗病性学说 [J]. 生命的化学, 2003(1): 23–26.
- [6] 崔钟池, 武文月, 王婉晴, 等. AvrLr19 突变菌株诱导 TcLr19 小麦中差异表达基因分析 [J]. 河北农业大学学报, 2020, 43(5): 1–7.
- [7] 安哲, 卢占芳, 张涛, 等. 31 个小麦品种 (系) 抗叶锈性分析 [J]. 河北农业大学学报, 2018, 41(3): 7–13.
- [8] Tian H N, Zhang Y L. The emergence of a mobile signal for systemic acquired resistance [J]. The Plant Cell, 2019, 31(7): 1414–1415.
- [9] Ding P, Ding Y. Stories of salicylic acid: A Plant defense hormone [J]. Trends Plant Sci, 2020, 25(6): 549–565.
- [10] Cao H, Bowling S A, Gordon A S, et al. Characterization of an *Arabidopsis* mutant that is nonresponsive to Inducers of systemic acquired resistance [J]. Plant Cell, 1994, 6(11): 1583–1592.
- [11] Cao H, Li X, Dong X. Generation of broad-spectrum disease resistance by overexpression of an essential regulatory gene in systemic acquired resistance [J]. Proc Natl Acad Sci, 1998, 95(11): 6531–6536.
- [12] Canet J V, Dobon A, Roig A, et al. Structure–function analysis of npr1 alleles in *Arabidopsis* reveals a role for its paralogs in the perception of salicylic acid [J]. Plant Cell Environ, 2010; 33(11): 1911–1922.
- [13] Wu Y, Zhang D, Chu J Y, et al. The *Arabidopsis* NPR1 protein is a receptor for the plant defense hormone salicylic acid [J]. Cell Rep, 2012, 1(6): 639–647.
- [14] Cao H, Glazebrook J, Clarke J D, et al. The *Arabidopsis* NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats [J]. Cell, 1997, 88(1): 57–63.
- [15] Chern M, Fitzgerald H A, Canlas P E, et al. Overexpression of a rice NPR1 homolog leads to constitutive activation of defense response and hypersensitivity to light [J]. Mol Plant–Microbe Interact, 2005, 18(6): 511–520.
- [16] 张良, 张颖, 石静, 等. 心叶烟 *NPR1* 基因全长 cDNA 序列的克隆及表达分析 [J]. 植物病理学报, 2009, 39(5): 34–42.
- [17] Tang Y M, Zhang Z Y, Xin Z Y. Isolation and characterization of NPR1 homolog gene *TiNH1* in *Thinopyrum intermedium* [J]. Sci Agric Sin, 2007, 40(6): 1101–1107.
- [18] Malnoy M, Jin Q, Borejsza–Wysocka E E, et al. Overexpression of the apple *MpNPR1* gene confers increased disease resistance in *Malus × domestica* [J]. Mol Plant–Microbe Interact, 2007, 20(12): 1568–1580.
- [19] Chern M S, Fitzgerald H A, Yadav R C, et al. Evidence for a disease–resistance pathway in rice similar to the NPR1–mediated signaling pathway in *Arabidopsis* [J]. Plant Journal, 2001, 27(2): 101–113.
- [20] Silva K J, Brunings A, Peres N A, et al. The *Arabidopsis* NPR1 gene confers broad-spectrum disease resistance in strawberry [J]. Transgenic Res, 2015, 24(4): 693–704.
- [21] Yocgo R E, Creissen G, Kunert K, et al. Two different banana NPR1–Like coding sequences confer similar protection against pathogens in *Arabidopsis* [J]. Tropical Plant Biology, 2012, 5(4): 309–316.
- [22] 乔妹. 小麦—叶锈菌互作过程中 HR 诱发的信号转导机制及 Ca^{2+} 介导的基因表达分析 [D]. 保定: 河北农业大学, 2015.
- [23] 杨在东. 小麦抗赤霉病近等基因系的转录组分析及抗病相关基因的克隆 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [24] Gu J, Sun J W, Liu N, et al. A novel cysteine–rich receptor–like kinase gene *TaCRK2* contributes to leaf rust resistance in wheat [J]. Molecular Plant Pathology, 2020, 21(5): 732–746.
- [25] 祁艳, 刘刚, 侯春燕, 等. 小麦与叶锈菌互作过程中的 H_2O_2 与 HR [J]. 分子细胞生物学报, 2008, 4(1): 245–254.
- [26] Echeverria S P, Santamaría J M, Fuentes G, et al. The NPR1 family of transcription cofactors in papaya: insights into its structure, phylogeny and expression [J]. Genes & Genomics, 2012, 34(4): 379–390.
- [27] Zhang Y, Cheng Y T, Qu N, et al. Negative regulation of defense responses in *Arabidopsis* by two NPR1 paralogs [J]. Plant Journal, 2010, 48(5): 647–656.
- [28] 袁月星. 水稻三个 NPR1–like 基因的克隆和功能研究 [D]. 上海: 中国科学院研究生院, 2005.
- [29] 洪玲. 玉米 NPR 类基因的克隆及功能初步分析 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012.
- [30] Wang X D, Bi W S, Gao J, et al. Systemic acquired resistance, NPR1, and pathogenesis–related genes in wheat and barley [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(11): 2468–2477.
- [31] Wang X J, Zhang H T, Nyamesorto B, et al. A new mode of NPR1 action via an NB–ARC–NPR1 fusion protein negatively regulates defense response to stem rust pathogen in wheat [J]. New Phytologist, 2020, 228(3): 959–972.
- [32] Fan W, Dong X. In vivo interaction between NPR1 and transcription factor TGA2 leads to salicylic acid–mediated gene activation in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2002; 14(6): 1377–1389.

(责任编辑: 王雅娇)