

专 论 与 综 述

Reviews

植物抗病研究进展与展望

刘 潮, 韩利红, 褚洪龙, 王海波, 高 永, 唐利洲*

(曲靖师范学院云南高原生物资源保护与利用研究中心, 云南省高校云贵高原动植物多样性及生态适应性进化重点实验室, 曲靖 655011)

摘要 植物在其整个生活史中随时经受多种病原的侵袭,在进化过程中植物发展出多种对抗病原的机制。植物抗病性研究是当前植物病理学研究的热点问题之一。培育具有广谱而持久抗性的植物品种是育种学家追求的目标。目前,关于植物非寄主抗性、抗病基因介导的抗性、microRNA 相关的抗性、感病基因的研究以及基因编辑在植物抗病性中的应用等方面已取得了大量新的研究成果。本文就以上几个方面综述了近年来植物抗病研究中的最新进展,并提出今后研究和育种中的应用展望。

关键词 抗病性; 非寄主抗性; 抗病基因; microRNA; 感病基因

中图分类号: S432.23 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2017418

Progresses in and prospects for plant disease resistance research

LIU Chao, HAN Lihong, CHU Honglong, WANG Haibo, GAO Yong, TANG Lizhou

(Center for Protection and Utilization of Biological Resources on Yunnan Plateau; Key Laboratory of Yunnan Provincial Universities for the Diversity and Ecological Adaptive Evolution of Animals and Plants on Yungui Plateau, Qujing Normal University, Qujing 655011, China)

Abstract Plants are subjected to attack by a wide array of pathogens in the whole life cycle. During the process of evolution, plants have developed a variety of mechanisms to defend against pathogens. Studies on plant disease resistance is one of the key subjects of plant pathology. Breeding plant varieties with a broad spectrum of and durable resistance has become a goal of breeders. At present, a lot of recent research achievements have been obtained in terms of plant non-host resistance, resistance mediated by genes, microRNA-related resistance, susceptible genes and application of gene editing in plant disease resistance. In this paper, the recent progresses in plant disease resistance in recent years were reviewed, and the future research and breeding application were prospected.

Key words disease resistance; non-host resistance; resistance gene; microRNA; susceptibility gene

植物在其生命周期中,会经受多种微生物病原和植食性昆虫的侵袭,然而特定的植物种却对大多数病原表现出抗性,只对极少数表现感病性,这是因为植物在与病原互作的协同进化过程中发展出一套有效的先天免疫系统^[1]。培育具有广谱而持久抗性的植物品种是育种学家一直以来追求的目标。植物对病原的遗传抗性由主效基因和 QTLs 控制,主要的抗性基因(resistance gene, R gene)能抵御含无毒基因(*avr*)的病原真菌,由于 *avr* 高度可变,经常导致菌株变异而突破 R 基因的抗御。与此相反,非寄

主抗性使植物保持对大多数病原物的抗性^[2-3],抗病基因使植物保持对病原广谱而持久的抗性^[4-5], microRNA(miRNA)的转录后调控功能决定了其在植物抗病过程中的作用^[6-8],感病基因的改变能使植物对病原产生广谱持久抗性^[9-10]。随着研究的深入,目前对植物抗病的分子机理的研究取得了许多突破性进展,本文围绕近期在非寄主抗性基因、抗病基因、miRNA、感病基因等相关的植物抗病性方面的最新研究进行综述,并对未来发展方向提出展望,这对植物抗病性研究及植物品种改良具有重要的指导意义。

收稿日期: 2017-11-02 修订日期: 2018-01-10

基金项目: 国家自然科学基金(31460179,31760103);云南省地方本科高校基础研究联合专项(2017FH001-034,2017FH001-037)

* 通信作者 E-mail: tanglizhou@163.com

1 非寄主抗性

非寄主抗性是在物种水平上表现出的广谱的植物防御性。主要包括预制防御(preformed defense)、诱导防御和非寄主抗性基因介导的植物抗病性。

预制防御是非寄主抗性最重要的部分,包括物理限制和病原物的化学抑制。植物通过持续产生次级代谢物等抗菌成分抑制寄主和非寄主病原物的生长。植保素是病原侵染之前植物表面分泌的主要次级代谢物^[11]。十字花科植物组成型表达的硫代葡萄糖苷及其衍生物在对多种病原菌的防御中起重要作用^[12-13]。这些预制组织结构和化学成分在植物非寄主抗性中发挥重要作用。诱导防御是通过病原诱导植物产生结构屏障,包括胼胝质、木质素、木栓素等细胞壁强化成分,以及诱导多种抗菌化合物屏障或信号等。非寄主病原细菌接种拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 之后,木质素合成相关基因 *PAL1* 和蓝铜结合蛋白基因 *BCB* 表达上调^[14]。

非寄主抗性基因是植物实现非寄主抗病性的重要内容。经筛选对丁香假单胞菌 *Pseudomonas syringae* 抗性降低的拟南芥突变体,获得了丙三醇激酶 *nho* 突变系,该突变体丧失了对 *P. syringae* 的非寄主抗性^[15]。*PcAvr3a1* 介导了烟草属植物对辣椒疫霉 *Phytophthora capsici* 的非寄主抗性^[16], *I2* 多基因家族以及 *EDS1* 和 *SGT1* 也与寄主抗性有关^[17]。2 个莴苣 QTLs 在植株发育的整个阶段存在对白粉病菌的抗性^[4]。需要注意的是,大多数情况下非寄主抗性基因沉默或突变往往只是部分降低了非寄主抗性,这与非寄主抗性多属于数量性状且由多个基因控制有关^[18]。

病原相关的模式分子引发的免疫反应(pathogen associated molecular pattern triggered immunity, PTI)在植物非寄主抗性中发挥重要的作用。植物的识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)能识别病原物表面的相关模式分子(pathogen associated molecular patterns, PAMPs),触发 PTI,包括细胞壁增厚、细胞壁木质化、植保素的产生和 PR 基因的诱导表达等。目前 3 个 PRRs (*FLS2*、*EF-Tu* receptor、*Xa21*)已被鉴定^[19], 这些 PRRs 能在不同的物种中起作用。如表达拟南芥类受体蛋白激酶(*EF-Tu* receptor, *EFR*)的转基因番茄和烟草能感知多种寄主和非寄主病原 *EF-Tu* 蛋

白,并能有效地诱导防御反应^[2]。某些非寄主病原能通过分泌效应蛋白到植物体内,从而突破 PTI 的防御,然而植物进化出监视机制,能够感知或识别效应蛋白,从而导致效应蛋白引发的免疫反应(effector-triggered immunity, ETI)^[20]。拟南芥和萝卜能通过识别 III 型分泌系统依赖的非寄主病原 *P. syringae* pv. *tomato* T1 的效应蛋白 hopAS1,而效应蛋白突变后导致非寄主病原 *P. syringae* pv. *tomato* T1 具有对拟南芥的致病力^[3]。

2 抗病基因介导的抗病性

R 基因与防御相关基因都是在植物抗病过程中起作用的基因。植物的持久抗病性可由单个或少数几个主效基因控制,抗病性表现为质量性状,有的则由多个微效基因控制,抗病性表现为数量性状。适应性病原进化出效应蛋白来抑制或逃避植物的先天免疫反应,从而实现了对寄主植物的成功侵染。大丽轮枝菌 *Verticillium dahliae* 能合成糖苷水解酶 GH12 家族蛋白 VdEG1 和 VdEG3,前者与跨膜受体蛋白复合体(LRR-RLPs/SOBIR1/BAK1)互作诱导免疫反应;而后者与跨膜受体激酶复合体(LRR-RLKs/BAK1)互作诱导免疫反应^[21]。大豆通过质外体葡聚糖酶抑制蛋白(glucanase inhibitor protein, GmGIP1)结合到 PsXEG1 上,抑制其活性,而大豆疫霉菌 *P. sojae* 分泌的 PsXEG1 同源失活诱饵蛋白 PsXLP1 具有更强的 GmGIP1 结合活性,从而保证了 PsXEG1 发挥毒力作用,*P. sojae* 同时分泌的 RXLR 效应因子也能干扰植物 PTI 过程^[22]。因此,病原菌也进化形成了逃避寄主抗病基因监控的能力。

核苷酸结合位点-富含亮氨酸重复区(nucleotide-binding site-leucine-rich repeat, NBS-LRR)蛋白是 R 蛋白的重要成员,多个已克隆定位的 NBS-LRR 基因被鉴定为广谱抗性基因。植物 NBS-LRR 蛋白主要包含碳端 LRR、氮端 TIR/CC 和中间的 NBS 等 3 个功能域^[23]。NBS 特异性结合和水解 ATP^[24],主要控制信号转导,LRR 结构域参与蛋白质与蛋白质互作和病原体的识别,决定了抗性的特异性^[25]。水稻中已鉴定 8 个 NBS-LRR 基因,均具有稻瘟病抗性^[5],具有 CC-NB-LRR 结构的非典型 R 基因(*Pb1*)和 5 个 R 基因(*Pi36*、*Pib*、*Pita*、*Pit* 和 *Piz-t*)均可通过 CC 功能域作用于 WRKY45 和 WRKY66,介导了持久性抗病^[26]。有些抗病基因需

要 2 个 NBS-LRR 基因共同介导对稻瘟病的抗性,任何一个基因的缺少或突变都影响抗病性的实现,如拟南芥中 *RPP2A* 和 *RPP2B* 同时介导的对霜霉菌的小种专化抗性^[27]、水稻中 *Pikm1TS* 和 *Pikm2TS* 介导的 *Pikm* 抗性^[28]、*Pi5-1* 和 *Pi5-2* 介导的 *Pi5* 抗性^[29]、*Pikp-1* 和 *Pikp-2* 介导的 *Pikp* 抗性^[30]、*RRS1* 和 *RPS4* 介导的对多种细菌性病害的抗性^[31]等。两个抗性蛋白结合形成“抗性复合体”,或者其中一个抗病蛋白是另一个发挥作用的诱导蛋白或下游抗病蛋白^[23]。

作物病害数量抗性由多基因或数量性状位点 (quantitative trait loci, QTL) 控制,具有广谱性和持久性特点^[32]。防卫相关基因在数量抗病中通过抵御病原菌生长和扩展发挥作用,防卫基因的过量表达可以增强植株的抗病能力^[33]。促分裂素原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 级联反应是植物重要的基础免疫^[34]。MPK6 正调控水稻对白叶枯病菌 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) 的局部抗性,负调控对 *Xoo* 的系统获得抗性^[35-36]。水稻 8 号染色体上存在由多个类萌发素蛋白基因组成的主效抗稻瘟病 QTL,抑制这些基因表达会降低水稻对稻瘟病的抗性^[37]。莠苣中发现 15 个 QTLs 在植株发育的整个或部分阶段保持对白粉病的抗性^[4]。WRKY13 和 WRKY45 属于 WRKY 型转录因子,在水稻病原互作中调控了一系列防卫相关基因的表达^[38-39]。除此之外, *NH1*、*TGA2.1* 对 *Xoo* 的防御, *OsRac1*、*OsAOS2* 对稻瘟病菌的防御都属于数量抗病性作用^[40]。有些数量抗病基因的等位基因具有完全相反的功能,如水稻中抗病和感病 *pi21* 编码了不同的蛋白,导致其在水稻与稻瘟病菌互作中发挥不同的功能^[41],两个 *GH3-2* 等位基因编码完全相同的蛋白,但是其启动子区不同,导致其诱导效率不同^[42]。然而, *R* 基因介导的抗性与 QTLs 抗性并不能完全区分开,大量研究显示,稻瘟病抗性 QTLs 的定位大多与 *R* 基因临近,可能与 *R* 基因的调节有关^[43]。部分抗性基因 *Pi34* 的抗性也决定于 *AorPi34*,说明有些部分抗性也符合基因对基因假说^[43]。

3 miRNA 相关的抗病性

miRNA 是一类长度约为 20~24 个核苷酸的非编码的单链 RNA。miRNA 在转录后水平调控基因

表达,参与形成 RNA 诱导的沉默复合体,调控抑制靶基因翻译或 mRNA 降解^[44],参与生物体的生长发育和胁迫抗性过程^[8,45-46]。miRNA 在植物的 PTI 和 ETI 免疫过程中均发挥重要作用。同时,病原体进化出效应蛋白来抑制或劫持寄主的 miRNA 通路,这导致了植物和病原体在 miRNA 介导的防御水平上形成军备竞赛^[8]。miRNA 在植物 *R* 基因表达中发挥重要的调控作用,这种机制在多个物种中具有保守性,在植物的抗病、杂交、自身免疫和适应性方面起着至关重要的作用^[47]。研究表明, *csi-miR167* 和 *csi-miR396* 影响了柑橘离子转运和防御反应^[48]。miR393 与至少 3 个生长素受体 F-box 蛋白发生作用,是植物生长素信号和 PTI 响应的连接分子,持续表达 miR393a 的植物对细菌性病原 *Pto* DC3000 敏感性降低^[8]。miR393 通过调节水杨酸 (salicylic acid, SA) — 生长素 (auxin) 之间的动态平衡向 SA 偏移,改变次级代谢流,利用调节病程相关基因的胞吐作用等方式增强了植物的抗病性^[8]。在番茄、马铃薯和烟草中至少搜索到 10 个 miRNA 家族及其靶基因,说明植物基因组中普遍存在 miRNA 调节 *R* 基因表达的现象^[48]。番茄 miR482 能与 58 个 *R* 基因发生作用,尤其偏好 CC-NBS-LRR 型的 mRNAs^[49]。烟草 nta-miR6019 和 nta-miR6020 作用于 TIR-NBS-LRR 蛋白^[48]。miR2118 能调节抗病蛋白 TIR-NBS-LRR 的积累,黄萎病菌 *Verticillium dahliae* 侵染的棉花根中 miR2118 下调表达,其靶蛋白大量积累,提高了植物根部的防御能力^[50]。接种杨树溃疡病菌 *Dothiorella gregaria* 后,植物 miR1447 表达增加,而 miR1448 和 miR472 表达则降低,三者均能作用于抗病蛋白^[51]。也有报道大丽轮枝菌侵染后,棉花 miR166 和 miR159 表达上调,引起真菌菌丝特异性沉默,同时发现真菌毒力基因 *Clp-1* 和 *HiC-15* 能被棉花 miRNA 识别并降解^[52]。

4 感病基因与抗病性

植物中能够促进病原侵染和有利于亲和互作的基因均可定义为感病基因 (susceptibility gene, S gene)。PMR6 是感白粉病拟南芥中一个关键基因,该基因缺失突变体表现出对白粉病的抗性,这种亲和互作所需基因的功能丢失揭示了植物另一种抗病新策略^[53]。随后 S 基因的概念于 2002 年被提出^[54]。根据寄主-病原菌互作的进程, S 基因主要通

过以下机制促进植物感病和病原侵染:1)促进侵入前亲和互作,包括寄主对病原的识别和病原的侵入;2)编码免疫信号的负调控因子;3)促进侵入后亲和互作,包括提供病原代谢和结构方面的营养需求,促进病原增殖等^[55]。S 基因突变或缺失导致植物抗病性增强,最终限制了病原菌的致病能力^[55]。

植物为病原提供生长发育必需的成分而促进了其入侵,合成这些促进感病成分的植物基因也属于 S 基因范畴。如苜蓿 *irg1* 突变体通过降低叶片表面蜡上的原醇减少了两种锈病病原菌 *Phakopsora pachyrhizi*、*Puccinia emaculata* 和炭疽病病原菌 *Colletotrichum trifolii* 的分化^[56],苜蓿 *ram2* 突变体通过改变叶片角质成分使其对棕榈疫霉 *Phytophthora palmivora* 的敏感性降低^[57]。膨脹素是引起细胞壁疏松并促进细胞生长的因子,膨脹素 EX-LA2 却是灰霉病和黑斑病亲和性的必需因子,其能够促进病原侵入^[58]。胼胝质合成相关基因 *PMR4* 突变导致防御基因表达增强和感病性下降,番茄中 *PMR4* 的沉默也提高了植株对白粉病菌 *Oidium neolycopersici* 的抗性,表明 *PMR4* 是白粉病保守的 S 基因^[7]。植物抗病反应的负调控因子也属于 S 基因。植物中 MAPK 信号会增强 PTI,而 MKPs 通过磷酸化作用抑制 MAPK 活性,*mkp* 突变体对毒性细菌 *Ralstonia solanacearum* 和 *P. syringae* 感病性下降^[59-60]。但是也有些 MAPK 级联反应抑制 PTI,如大豆 *MPK4* 和水稻 *MAPK5* 抑制 PTI 或 SA 防御活性,突变体对卵菌和病毒、真菌和细菌病原感病性下降^[61-62]。因此,根据通路不同,MAPK 和 MKP 均可归于 S 基因。转录因子在病原感知的转录再编程中起重要的作用,对植物的抗病过程具有正或负调控的功能。水稻 WRKY45-1 为 *X. oryzae* 的感病因子,其同源蛋白 WRKY45-2 却是抗病因子^[39]。

植物为了维持正常的生命活动,在没有病原或病原信号解除后需要及时恢复正常的生命进程。这些先天免疫抑制相关基因也属于 S 基因范畴。LecRK、RIN4 和 H⁺ ATPase AHA1 共同调控了气孔的张开,尤其负调控病原诱导的气孔关闭,使突变体对细菌病原的侵入敏感性降低^[63]。SA 是活体寄生病原防御信号分子,拟南芥水杨酸-3-羟化酶(S3H)能将 SA 转化为 2,3-DHBA,*s3h* 突变体对丁香假单胞菌敏感性降低,说明 S3H 会提高植株的感病性^[64]。纤维素合成酶是植物细胞壁构成的重要酶

类,纤维素合酶基因 *CESA3*、*CESA4*、*CESA7*、*CESA8* 均与植物的感病性有关,突变体均增加了对真菌和细菌病原的抗性^[9]。类纤维素合成基因 *CS-LA9* 是农杆菌介导转化所必需的,其突变体根系表面农杆菌显著减少^[65]。植物病原在与植物的协调进化过程中发展出效应蛋白来突破植物的免疫系统,病原菌能产生数百种效应蛋白,这些效应蛋白通过抑制寄主抗性因子或活化 S 基因编码的感病因子,突破植物的防御网络而获取营养。

5 植物抗病性在育种中的应用

5.1 非寄主抗性

非寄主抗性作为广谱、高效、持久的植物抗性,在作物品种改良与分子育种中有重要的应用价值。然而与寄主抗性相比,非寄主抗性往往属于多基因控制,有多种组分参与抗病性,其具体作用机制还不清晰,其分子操作性较差,分子育种存在诸多困难。虽然很少但仍有一些成功的例子,通过杂交技术实现了非寄主抗性基因在亲缘关系较近的物种间进行转基因操作。拟南芥 *EFR* 转基因到烟草和番茄中,显著提高了植物对寄主病原的抗性^[2]。通过将系统获得抗性相关的拟南芥 *NPR1* 转入二倍体草莓中,增强了其对炭疽病、白粉病、细菌角斑病的抗性^[66]。*AtNPR1* 在柑橘黄龙病的控制中也已获得有效的应用^[67]。随着高通量测序技术的发展,越来越多的植物和病原特征基因组被揭示,将会有更多的非寄主抗性基因被发掘和应用在遗传育种中。利用非寄主抗性培育广谱而持久抗性的植物新品种将成为遗传育种的新途径。

5.2 抗病基因

通过转基因或过表达 NBS-LRR 基因显著提高了植物的抗病性。过表达花生 NBS-LRR 基因 *AhRRS5*,显著增强了烟草对青枯病的抗病性^[68]。然而,植物 NBS-LRR 防御基因的高表达对植物细胞是不利的,容易导致能量损耗而影响植物生长,植物实施多种机制控制 NBS-LRR 防御基因的转录水平,进化出 microRNA-NBS-LRR 系统来调控 NBS-LRR 的表达^[69]。目前,许多植物中 NBS-LRR 基因已被克隆并进行深入研究^[70],然而仍然有很多问题并不清楚。NBS-LRR 蛋白不同结构域与病原的效应蛋白是如何相互作用的?在亲和与非亲和互作中 NBS-LRR 蛋白起作用的差异是什么?这些问题的解决对

NBS-LRR 基因的开发利用具有重要的意义。

水稻的数量抗病性基因研究和应用取得了较大进展,但在具体应用中也存在一些问题。Fukuoka 等^[71]将 4 个独立的水稻 QTL 进行不同组合后,导入不同统一遗传背景水稻中,发现多个不同的 QTL 组合比单独的单个 QTL 提供更高的抗性水平,而且在给定的遗传背景中抗性 QTL 的数量与抗性水平呈正相关。通过标记辅助选择技术将玉米丝黑穗病的 dQTL(disease QTL)抗性位点基因 *qHSR1* 导入 10 个感病自交系,其对丝黑穗病的抗性均有显著提高,其余农艺性状基本保持不变^[72]。大片段的基因导入可能会导致遗传连锁累赘或多效性,识别潜在的有效 dQTL 最小导入片段是较好的策略,数量抗性基因的鉴定是深入了解 QDR 分子机制的首要步骤。随着越来越多植物的全基因组被测序,SNPs 的高通量基因分型平台的商业化应用,以及全基因组测序在育种上的应用,将会有越来越多的具有广谱而持久抗性的植物品系被开发出来。

5.3 miRNA

miRNA 在植物抗病中发挥重要作用,通过对 miRNA 的调控可以实现植物抗病性的提高,利用 miRNA 提高作物的抗病性是病害防治的重要策略。近年来,关于不同病原互作系统中 miRNA 的了解越来越清晰,在植物抗病育种中也有些成功的应用,过表达 *Osa-mir7695* 植株增强了水稻对稻瘟病的抗性^[6]。然而,不同植物中不同的病原真菌诱导的相同 miRNA 的表达不同,这可能与植物的遗传、生长阶段以及 *R* 基因的存在与否有关,因此,仅仅研究 miRNA 及其靶基因的表达很难了解植物抗病的明确机制,通过反向遗传学方法,对单个 miRNA 及其靶基因在抗病遗传育种中的有效应用,将成为今后研究的重点。通过改变靶基因核苷酸序列,使之转录物不能被 miRNA 结合或降解,也是值得关注的研究内容^[7]。

5.4 感病基因

S 基因突变能提高植物抗病性而成为作物遗传育种的目标。大麦中显性基因 *MLO*(*Mildew Locus O*)突变后产生对白粉病的持久、广谱抗性。*MLO* 作为 *S* 基因在拟南芥、豌豆、番茄、辣椒、小麦和草莓等植物中被确认,突变体一直被生产中用作抗白粉病品系^[73-74]。使用 CRISPR 编辑技术对邓肯葡萄柚感病基因 *CsLOB1* 进行编辑,增强了植物对柑橘黄龙病

菌的抗性^[75]。茄子中 *MLO* 同源基因 *SmMLO1* 的突变体也增强了对白粉病的抗性^[76]。因此,*S* 基因突变在培育广谱而持久抗性品系中具有很好的应用前景。*S* 基因是病原菌-寄主间亲和互作的决定因子,在遗传育种中具有巨大的应用价值,然而 *S* 基因往往还参与了植物的其他进程,因此需要通过单基因突变来研究其具体功能。但是 *S* 基因的难操作性以及功能的多效性导致遗传育种还存在以下难点:1) *S* 基因如果属于多成员家族,其在遗传育种中应用的可行性如何;2) *S* 基因突变品系是否具有足够高效的抗病性;3) *S* 基因突变抗病品系是否具有严重的缺陷,如产量下降、品质降低、其他胁迫耐受性下降等。虽然 *S* 基因的应用存在诸多困难,毋庸置疑,随着基因组编辑技术和转基因技术的发展,*S* 基因应用的前景必将越来越广阔。

5.5 基因组编辑技术

基因组编辑技术(genome editing)通过基因组水平上简单、精确的遗传操作,实现植物遗传改良,在植物抗病和抗逆遗传育种中具有重要应用价值。当前,应用较多的植物基因组编辑技术主要为锌指核酸酶(zinc finger nucleases, ZFNs)、类转录激活因子效应物核酸酶(transcription activator-like effector nucleases, TALENs)和成簇的规律间隔的短回文重复序列及其相关系统(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated proteins, CRISPR/Cas system)^[77]。高彩霞研究团队利用 TALEN 和 CRISPR/Cas9 技术对六倍体普通小麦 *TaMLO* 同源位点进行编辑,增强了小麦对白粉病菌的广谱抗性^[78],利用 CRISPR/Cas9 技术同时突变了小麦基因组中的 3 个蛋白激酶 *EDR1* 同源基因,也增强了小麦对白粉菌的抗性水平^[79]。通过 CRISPR/Cas9 DNA 或 RNA 瞬时表达,对六倍体小麦及四倍体小麦的 7 个不同基因进行了定点敲除,获得了具有稳定遗传能力的突变材料^[80]。虽然基因组编辑技术在作物遗传改良上的应用才刚刚起步,鉴于其具有的其他分子技术无法比拟的巨大优势,该技术必将成为未来作物遗传改良的核心技术之一。

参考文献

- [1] BOLLER T, HE Shengyang. Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in

- microbial pathogens [J]. *Science*, 2009, 324: 742 – 744.
- [2] LACOMBE S, ROUGON-CARDOSO A, SHERWOOD E, et al. Interfamily transfer of a plant pattern-recognition receptor confers broad-spectrum bacterial resistance [J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(4): 365 – 369.
 - [3] SOHN K H, SAUCET S B, CLARKE C R, et al. HopAS1 recognition significantly contributes to *Arabidopsis* nonhost resistance to *Pseudomonas syringae* pathogens [J]. *New Phytologist*, 2012, 193(1): 58 – 66.
 - [4] ZHANG N W, LINDHOUT P, NIKS R E, et al. Genetic dissection of *Lactuca saligna* nonhost resistance to downy mildew at various lettuce developmental stages [J]. *Plant Pathology*, 2009, 58(5): 923 – 932.
 - [5] GUO Changjiang, SUN Xiaoguang, CHEN Xiao, et al. Cloning of novel rice blast resistance genes from two rapidly evolving *NBS-LRR* gene families in rice [J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(1/2): 95 – 105.
 - [6] CAMPO S, PERIS-PERIS C, SIRÉ C, et al. Identification of a novel microRNA (miRNA) from rice that targets an alternatively spliced transcript of the *Nramp6* (natural resistance-associated macrophage protein 6) gene involved in pathogen resistance [J]. *New Phytologist*, 2013, 199(1): 212 – 227.
 - [7] GUPTA O P, SHARMA P, GUPTA R K, et al. Current status on role of miRNAs during plant-fungus interaction [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2014, 85: 1 – 7.
 - [8] YANG Li, HUANG Hai. Roles of small RNAs in plant disease resistance [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2014, 56(10): 962 – 970.
 - [9] HERNÁNDEZ-BLANCO C, FENG Dongxin, HU Jian, et al. Impairment of cellulose synthases required for *Arabidopsis* secondary cell wall formation enhances disease resistance [J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(3): 890 – 903.
 - [10] HUIBERS R P, LOONEN A E H M, GAO Dongli, et al. Powdery mildew resistance in tomato by impairment of *SIPMR4* and *SIDMR1* [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(6): e67467.
 - [11] PEDRAS M S C, TO Q H. Defense and signalling metabolites of the crucifer *Erucastrum canariense*: Synchronized abiotic induction of phytoalexins and galacto-oxylipins [J]. *Phytochemistry*, 2017, 139: 18 – 24.
 - [12] BASKAR V, GURURANI M A, YU J W, et al. Engineering glucosinolates in plants: current knowledge and potential uses [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 168(6): 1694 – 1717.
 - [13] BEDNAREK P. Sulfur-containing secondary metabolites from *Arabidopsis thaliana* and other *Brassicaceae* with function in plant immunity [J]. *ChemBioChem*, 2012, 13(13): 1846 – 1859.
 - [14] MISHINA T E, ZEIER J. Bacterial non-host resistance: interactions of *Arabidopsis* with non-adapted *Pseudomonas syringae* strains [J]. *Physiologia Plantarum*, 2007, 131(3): 448 – 461.
 - [15] KANG Li, LI Jianxiong, ZHAO Tiehan, et al. Interplay of the *Arabidopsis* nonhost resistance gene *NHO1* with bacterial virulence [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2003, 100(6): 3519 – 3524.
 - [16] VEGA-ARREGUÍN J C, JALLOH A, BOS J I, et al. Recognition of an Avr3a homologue plays a major role in mediating nonhost resistance to *Phytophthora capsici* in *Nicotiana* species [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2014, 27(8): 770 – 780.
 - [17] VEGA-ARREGUÍN J C, SHIMADA-BELTRÁN H, SEVILLANO-SERRANO J, et al. Non-host plant resistance against *Phytophthora capsici* is mediated in part by members of the I2 R gene family in *Nicotiana* spp. [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1 – 2.
 - [18] SENTHIL-KUMAR M, MYSORE K S. Nonhost resistance against bacterial pathogens: retrospectives and prospects [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2013, 51: 407 – 427.
 - [19] MONAGHAN J, ZIPFEL C. Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2012, 15(4): 349 – 357.
 - [20] JONES J D G, DANGL J L. The plant immune system [J]. *Nature*, 2006, 444(7117): 323 – 329.
 - [21] GUI Yuejing, CHEN Jieyin, ZHANG Dandan, et al. *Verticillium dahliae* manipulates plant immunity by glycoside hydrolase 12 proteins in conjunction with carbohydrate-binding module 1 [J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(5): 1914 – 1932.
 - [22] MA Zhenchuan, ZHU Lin, SONG Tianqiao, et al. A paralogous decoy protects *Phytophthora sojae* apoplastic effector PsXEG1 from a host inhibitor [J]. *Science*, 2017, 355(6326): 710 – 714.
 - [23] MEUNIER E, BROZ P. Evolutionary Convergence and Divergence in NLR Function and Structure [J]. *Trends in Immunology*, 2017, 38(10): 744 – 757.
 - [24] TAMELING W I L, VOSSEN J H, ALBRECHT M, et al. Mutations in the NB-ARC domain of I-2 that impair ATP hydrolysis cause autoactivation [J]. *Plant Physiology*, 2006, 140(4): 1233 – 1245.
 - [25] DANGL J L, JONES J D G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection [J]. *Nature*, 2001, 411(6839): 826.
 - [26] LIU Xinqiong, INOUE H, HAYASHI N, et al. CC-NBS-LRR-type R proteins for rice blast commonly interact with specific WRKY transcription factors [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2016, 34(2): 533 – 537.
 - [27] SINAPIDOU E, WILLIAMS K, NOTT L, et al. Two TIR-NB-LRR genes are required to specify resistance to *Peronospora parasitica* isolate Cala2 in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2004, 38(6): 898 – 909.
 - [28] ASHIKAWA I, HAYASHI N, YAMANE H, et al. Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer *Pikm*-specific rice blast resistance [J]. *Genetics*, 2008, 180(4): 2267 – 2276.

- [29] LEE S K, SONG M Y, SEO Y S, et al. Rice *Pi5*-mediated resistance to *Magnaporthe oryzae* requires the presence of two coiled-coil-nucleotide-binding-leucine-rich repeat genes [J]. *Genetics*, 2009, 181(4): 1627 – 1638.
- [30] YUAN Bin, ZHAI Chun, WANG Wenjuan, et al. The *Pik-p* resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice is mediated by a pair of closely linked CC-NBS-LRR genes [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122(5): 1017 – 1028.
- [31] NARUSAKA M, SHIRASU K, NOUTOSHI Y, et al. RRS1 and RPS4 provide a dual resistance-gene system against fungal and bacterial pathogens [J]. *The Plant Journal*, 2009, 60(2): 218 – 226.
- [32] KOU Yanjun, WANG Shiping. Broad-spectrum and durability: understanding of quantitative disease resistance [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(2): 181 – 185.
- [33] XIONG Lizhong, YANG Yinong. Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase[J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(3): 745 – 759.
- [34] BI Guozhi, ZHOU Jianmin. MAP kinase signaling pathways: a hub of plant-microbe interactions [J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 21(3): 270 – 273.
- [35] SHEN Xiangling, YUAN Bin, LIU Hongbo, et al. Opposite functions of a rice mitogen-activated protein kinase during the process of resistance against *Xanthomonas oryzae* [J]. *The Plant Journal*, 2010, 64(1): 86 – 99.
- [36] YUAN Bin, SHEN Xiangling, LI Xianghua, et al. Mitogen-activated protein kinase OsMPK6 negatively regulates rice disease resistance to bacterial pathogens [J]. *Planta*, 2007, 226(4): 953 – 960.
- [37] MANOSALVA P M, DAVIDSON R M, LIU Bin, et al. A germin-like protein gene family functions as a complex quantitative trait locus conferring broad-spectrum disease resistance in rice [J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(1): 286 – 296.
- [38] QIU Deyun, XIAO Jun, DING Xinhua, et al. OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate-and jasmonate-dependent signaling [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, 20(5): 492 – 499.
- [39] TAO Zeng, LIU Hongbo, QIU Deyun, et al. A pair of allelic *WRKY* genes play opposite roles in rice-bacteria interactions [J]. *Plant Physiology*, 2009, 151(2): 936 – 948.
- [40] KOU Yanjun, LI Xianghua, XIAO Jinghua, et al. Identification of genes contributing to quantitative disease resistance in rice [J]. *Science China Life Sciences*, 2010, 53(11): 1263 – 1273.
- [41] FUKUOKA S, SAKA N, KOGA H, et al. Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice [J]. *Science*, 2009, 325(5943): 998 – 1001.
- [42] FU Jing, LIU Hongbo, LI Yu, et al. Manipulating broad-spectrum disease resistance by suppressing pathogen-induced auxin accumulation in rice [J]. *Plant Physiology*, 2011, 155(1): 589 – 602.
- [43] JIA Yulin, LIU Guangjie. Mapping quantitative trait loci for resistance to rice blast [J]. *Phytopathology*, 2011, 101(2): 176 – 181.
- [44] FERNANDEZ N, CORDINER R A, YOUNG R S, et al. Genetic variation and RNA structure regulate microRNA biogenesis [J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 15114.
- [45] INAL B, TÜRKTAŞ M, EREN H, et al. Genome-wide fungal stress responsive miRNA expression in wheat [J]. *Planta*, 2014, 240(6): 1287 – 1298.
- [46] MA Ke, GUO Li, XU Aiping, et al. Molecular mechanism for stress-induced depression assessed by sequencing miRNA and mRNA in medial prefrontal cortex [J]. *PLoS ONE*, 2016, 11(7): e0159093.
- [47] LI Feng, PIGNATTA D, BENDIX C, et al. MicroRNA regulation of plant innate immune receptors [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(5): 1790 – 1795.
- [48] RAWAT N, KIRAN S P, DU Dongliang, et al. Comprehensive meta-analysis, co-expression, and miRNA nested network analysis identifies gene candidates in citrus against Huanglong-bing disease [J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15(1): 184.
- [49] SHIVAPRASAD P V, CHEN H M, PATEL K, et al. A microRNA superfamily regulates nucleotide binding site-leucine-rich repeats and other mRNAs [J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(3): 859 – 874.
- [50] YIN Zujun, LI Yan, HAN Xiulan, et al. Genome-wide profiling of miRNAs and other small non-coding RNAs in the *Verticillium dahliae*-inoculated cotton roots [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(4): e35765.
- [51] LU Shanfa, SUN Y H, CHIANG V L. Stress-responsive microRNAs in *Populus* [J]. *The Plant Journal*, 2008, 55(1): 131 – 151.
- [52] ZHANG Tao, ZHAO Yunlong, ZHAO Jianhua, et al. Cotton plants export microRNAs to inhibit virulence gene expression in a fungal pathogen [J]. *Nature Plants*, 2016, 2: 16153.
- [53] VOGEL J P, RAAB T K, SCHIFF C, et al. *PMR6*, a pectate lyase-like gene required for powdery mildew susceptibility in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2002, 14(9): 2095 – 2106.
- [54] ECKARDT N A. Plant disease susceptibility genes? [J]. *The Plant Cell*, 2002, 14(9): 1983 – 1986.
- [55] VAN SCHIE C C N, TAKKEN F L W. Susceptibility genes 101: how to be a good host [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2014, 52: 551 – 581.
- [56] UPPALAPATI S R, ISHIGA Y, DORAISWAMY V, et al. Loss of abaxial leaf epicuticular wax in *Medicago truncatula* *irg1/palm1* mutants results in reduced spore differentiation of anthracnose and nonhost rust pathogens [J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(1): 353 – 370.
- [57] WANG E, SCHORNACK S, MARSH J F, et al. A common signaling process that promotes mycorrhizal and oomycete colonization of plants [J]. *Current Biology*, 2012, 22(23): 2242 – 2246.

- [58] ABUQAMAR S, AJEB S, SHAM A, et al. A mutation in the expansin-like A2 gene enhances resistance to necrotrophic fungi and hypersensitivity to abiotic stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. Molecular Plant Pathology, 2013, 14(8): 813–827.
- [59] LUMBRERAS V, VILELA B, IRAR S, et al. MAPK phosphatase MKP2 mediates disease responses in *Arabidopsis* and functionally interacts with MPK3 and MPK6 [J]. The Plant Journal, 2010, 63(6): 1017–1030.
- [60] ANDERSON J C, BARTELS S, BESTEIRO M A G, et al. *Arabidopsis* MAP Kinase Phosphatase 1 (AtMKP1) negatively regulates MPK6-mediated PAMP responses and resistance against bacteria [J]. The Plant Journal, 2011, 67(2): 258–268.
- [61] LIU Jianzhong, HORSTMAN H D, BRAUN E, et al. Soybean homologs of MPK4 negatively regulate defense responses and positively regulate growth and development [J]. Plant Physiology, 2011, 157(3): 1363–1378.
- [62] LORANG J, KIDARSA T, BRADFORD C S, et al. Tricking the guard: exploiting plant defense for disease susceptibility [J]. Science, 2012, 338(6107): 659–662.
- [63] ZHOU Zhaoyang, WU Yujiao, YANG Yongqing, et al. An *Arabidopsis* plasma membrane proton ATPase modulates JA signaling and is exploited by the *Pseudomonas syringae* effector protein AvrB for stomatal invasion [J]. The Plant Cell, 2015, 27(7): 2032–2041.
- [64] ZHANG Kewei, HALITSCHKE R, YIN Changxi, et al. Salicylic acid 3-hydroxylase regulates *Arabidopsis* leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2013, 110(36): 14807–14812.
- [65] ZHU Yanmin, NAM J, CARPITA N C, et al. Agrobacterium-mediated root transformation is inhibited by mutation of an *Arabidopsis* cellulose synthase-like gene [J]. Plant Physiology, 2003, 133(3): 1000–1010.
- [66] SILVA K J, BRUNINGS A, PERES N A, et al. The *Arabidopsis* NPR1 gene confers broad-spectrum disease resistance in strawberry [J]. Transgenic Research, 2015, 24(4): 693–704.
- [67] DUTT M, BARTHE G, IREY M, et al. Transgenic citrus expressing an *Arabidopsis* NPR1 gene exhibit enhanced resistance against Huanglongbing (HLB; citrus greening) [J]. PLoS ONE, 2015, 10(9): e0137134.
- [68] ZHANG Chong, CHEN Hua, CAI Tiecheng, et al. Overexpression of a novel peanut NBS-LRR gene *AhRRS5* enhances disease resistance to *Ralstonia solanacearum* in tobacco [J]. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15(1): 39–55.
- [69] ZHANG Yu, XIA Rui, KUANG Hanhui, et al. The diversification of plant NBS-LRR defense genes directs the evolution of microRNAs that target them [J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(10): 2692–2705.
- [70] SEKHAWAL M K, LI P, LAM I, et al. Disease resistance gene analogs (RGAs) in plants [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(8): 19248–19290.
- [71] FUKUOKA S, SAKA N, MIZUKAMI Y, et al. Gene pyramiding enhances durable blast disease resistance in rice [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 7773.
- [72] ZHAO Xianrong, TAN Guoqing, XING Yuexian, et al. Marker-assisted introgression of *qHSR1* to improve maize resistance to head smut [J]. Molecular Breeding, 2012, 30(2): 1077–1088.
- [73] JØRGENSEN J H. Discovery, characterization and exploitation of *Mlo* powdery mildew resistance in barley [J]. Euphytica, 1992, 63(1/2): 141–152.
- [74] PAVAN S, SCHIAVULLI A, APPIANO M, et al. Pea powdery mildew *er1* resistance is associated to loss-of-function mutations at a *MLO* homologous locus [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(8): 1425–1431.
- [75] JIA Hongge, ZHANG Yunzeng, ORBOVIC V, et al. Genome editing of the disease susceptibility gene *CsLOB1* in citrus confers resistance to citrus canker [J]. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15(7): 817–823.
- [76] BRACUTO V, APPIANO M, RICCIARDI L, et al. Functional characterization of the powdery mildew susceptibility gene *SmMLO1* in eggplant (*Solanum melongena* L.) [J]. Transgenic Research, 2017, 26(3): 323–330.
- [77] 王福军, 赵开军. 基因组编辑技术应用于作物遗传改良的进展与挑战 [J]. 中国农业科学, 2018, 51(1): 1–16.
- [78] WANG Yanpeng, CHENG Xi, SHAN Qiwei, et al. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew [J]. Nature Biotechnology, 2014, 32(9): 947–951.
- [79] ZHANG Yunwei, BAI Yang, WU Guangheng, et al. Simultaneous modification of three homoeologs of *TaEDR1* by genome editing enhances powdery mildew resistance in wheat [J]. The Plant Journal, 2017, 91(4): 714–724.
- [80] ZHANG Yi, LIANG Zhen, ZONG Yuan, et al. Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA [J]. Nature Communications, 2016, 7: 12617.

(责任编辑: 田 喆)