

何佳, 葛露霞, 金魏佳, 等. 青花菜病程相关蛋白基因 *BoPR1* 的克隆与表达分析 [J]. 福建农业学报, 2018, 33 (1): 35-40.  
HE J, GE L-X, JIN W-J, et al. Cloning and Expression of Pathogenesis-related Protein Gene, *BoPR1*, in *Brassica oleracea* var. *italica* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 33 (1): 35-40.

## 青花菜病程相关蛋白基因 *BoPR1* 的克隆与表达分析

何 佳, 葛露霞, 金魏佳, 范灵希, 章燕如, 叶佳燕, 郑 颖, 蒋 明\*

(台州学院生命科学学院, 浙江 椒江 318000)

**摘 要:** 病程相关蛋白 (Pathogenesis-related protein, PR) 是参与植物抗病性的重要物质, 在诱导系统抗性过程中起着重要作用。本研究以青花菜为材料, 在克隆 *BoPR1* 基因的基础上, 利用荧光定量 PCR 技术研究它们在根肿菌和核盘菌侵染下的表达模式。序列分析结果表明, *BoPR1* 基因组全长为 489 bp, 无内含子, 编码 162 个氨基酸, 具 1 个信号肽和 1 个 SCP 结构域。系统发育分析的结果表明, *BoPR1* 与甘蓝型油菜和白菜的 PR1 遗传距离最小, 亲缘关系最近, 在进化树上聚为一组; 与醉蝶花 PR1 遗传距离最大, 亲缘关系最远。荧光定量 PCR 结果显示, *BoPR1* 基因的表达受根肿菌诱导, 在接种 5 d 时的表达量最高, 为对照的 11.84 倍; *BoPR1* 基因的表达则不受核盘菌诱导。

**关键词:** 青花菜; *BoPR1*; 基因克隆; 表达分析

中图分类号: Q 78

文献标识码: A

文章编号: 1008-0384 (2018) 01-35-06

### Cloning and Expression of Pathogenesis-related Protein Gene, *BoPR1*, in *Brassica oleracea* var. *italica*

HE Jia, GE Lu-xia, JIN Wei-jia, FAN ling-xi, ZHANG Yan-ru, YE jia-yan, ZHENG Ying, JIANG Ming\*

(College of Life Sciences, Taizhou University, Jiaojiang, Zhejiang 318000, China)

**Abstract:** Pathogenesis-related proteins (PRs) are crucial in the induced systemic disease resistance for plants. Using real-time fluorescence quantitative PCR, this study isolated a gene, designated as *BoPR1*, from broccoli to examine its expression patterns after inoculated by pathogens, *Plasmodiophora brassicae* and *Sclerotinia sclerotiorum*. A sequence analysis indicated that the full genome DNA of *BoPR1* was 489 bp in length encoding 162 amino acids and containing no intron. The deduced protein consisted of a signal peptide and a SCP domain. The results from phylogenetic analysis showed that *BoPR1* had a minimum genetic distance, clustering on a same clade, with the PR1 proteins from *Brassica napus* and *B. rapa*, indicating a close relationship among them. On the other hand, it was remotely related to *Tarenaya hassleriana*, as the genetic distance between the two PR1s was the greatest among the tested samples. Theq RT-PCR results suggested that the expression of *BoPR1* was induced by *P. brassicae*, with the highest level observed 5 d after inoculation which was 11.84-fold of control. But, *BoPR1* expression was not affected by *S. sclerotiorum*. The obtained isolation and expression information on *BoPR1* would be useful for future research on the disease resistance mechanism as well as the molecular breeding programs on *B. oleracea*.

**Key words:** *Brassica oleracea* var. *italica*; *BoPR1*; gene cloning; expression analysis

青花菜 *Brassica oleracea* var. *italica* 又名西兰花、茎椰菜、绿菜花和青花苔等, 为十字花科

Cruciferae 芸薹属一年生或两年生草本蔬菜<sup>[1]</sup>。青花菜以花茎和花球为食用部位, 因富含蛋白质、维

收稿日期: 2017-10-05 初稿; 2017-12-19 修改稿

作者简介: 何佳 (1995-), 女, 本科生, 研究方向: 植物分子生物学 (E-mail: 1692790364@qq.com)

\* 通讯作者: 蒋明 (1973-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 植物逆境生物学及其分子调控 (E-mail: jiangming1973@139.com)

基金项目: 浙江省大学生新苗人才计划 (2017R430012); 台州市科技计划项目 (162ny14); 浙江省公益性技术应用研究计划项目 (2016C32091)

生素、矿物质、类黄酮和硫苷类等物质,深受消费者的青睐<sup>[2-3]</sup>。浙江省是我国青花菜的主产省,年种植面积达 1 万多  $\text{hm}^2$ ,已成为菜农收入的重要来源<sup>[4]</sup>。随着种植年限的不断增加,各种病害如根肿病和菌核病等日益严重,它们危害根、茎、叶或花球,造成青花菜的产量和品质下降。植物在长期的进化过程中,形成了一整套高度有效的防御机制,在与病原菌的互作过程中,植物通过启动抗病相关基因的表达以增强抵抗能力<sup>[5-7]</sup>。病程相关蛋白(Pathogenesis-related protein, PR) 基因是参与这一过程的重要成员,在植物诱导抗性中起着重要作用<sup>[8]</sup>。PR 基因的诱导、表达及其生物学功能的发挥是一个较复杂的过程,研究其在不同病原菌胁迫下的表现具有十分重要的意义<sup>[9]</sup>。

植物在遭受病原菌侵染时,水杨酸(Salicylic acid, SA)、茉莉酸(Jasmonic acid, JA)和乙烯(Ethylene, ET)等内源激素的含量选择性地升高,并作为信号分子激活植物抗病防卫途径,继而诱导相关 PR 基因的表达。根据氨基酸序列特点、结构和作用方式,PR 蛋白可分为 17 个家族,它们参与植物系统诱导抗性,能直接攻击病原菌,在植物抗病过程中起关键作用<sup>[9-10]</sup>。在不同的 PR 家族中,PR1 是一个重要而功能又未知的蛋白,PR1 基因能被 SA 及某些病原菌诱导,常被用作系统获得抗性的分子标记<sup>[11-12]</sup>。PR1 蛋白最早发现于烟草 *Nicotiana tabacum*,随后从许多单子叶和双子叶植物中得以鉴定<sup>[13-14]</sup>。但是,有关青花菜 PR1 基因的克隆未见报道。本研究以青花菜为材料,在克隆 *BoPR1* 基因的基础上,研究其在根肿菌 *Plasmodiophora brassicae* 和核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 侵染下的表达模式,为后续的青花菜抗病机理研究及分子育种奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试青花菜材料为 Bo0112,由实验室栽植,在 2 叶 1 心期时用于病原菌的接种。核盘菌采自浙江临海上盘青花菜基地,经纯化后由实验室保存;根肿菌采自浙江温岭青花菜基地,将根部肿块置于取样袋后带回实验室。核盘菌接种采用菌丝块法,用无菌打孔器切割菌丝块,接种于叶片正面,对照用同样大小的马铃薯葡萄糖琼脂(Potato Dextrose Agar, PDA)培养基;采集处理 0、6、12、24、36 和 72 h 时的叶片,用于 RNA 的提取。根肿菌接种采用张小丽等<sup>[15]</sup>的方法,对照施以等量的无

菌水,收集处理 0、5、10、15、20 和 25 d 时的根,快速洗净后用于 RNA 的提取。

### 1.2 DNA 和 RNA 的提取、cDNA 的合成

叶片或根经液氮冷冻后迅速研磨成粉末,用于基因组 DNA 或 RNA 的提取。DNA 的提取采用 SDS 法<sup>[16]</sup>,RNA 提取采用 Trizol 法,经电泳鉴定后置于  $-80^{\circ}\text{C}$  的超低温冰箱保存用。cDNA 的合成采用 TaKaRa 公司的试剂盒,操作按说明书进行。

### 1.3 *BoPR1* 基因的克隆

根据 NCBI 数据库公布的芸薹属植物 PR1 基因序列(登录号:XP\_013733404.1 和 XP\_009136247.1)设计 PCR 引物,上、下游引物 *BoPR1UP/BoPR1DN* 分别为 5'-ATG AAA GTC ATT TAC TGT TCT CGA C-3'和 5'-TTA GTA AGG CTT CTC GTT CAC AT-3'。分别以青花菜 DNA 和 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,反应程序为  $94^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min,  $94^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,  $58^{\circ}\text{C}$  退火 45 s,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 90 s,共 32 个循环。PCR 产物点样于 1% 的琼脂糖凝胶,电泳结束后在凝胶成像仪上观察并拍照记录。

### 1.4 PCR 产物的回收、转化与测序

用干净的刀片割取含 PCR 产物的胶块,采用碧云天生物技术研究所的“DNA 凝胶回收试剂盒”进行回收和纯化,操作按照其提供的说明书进行。将纯化后的 PCR 回收产物克隆到 pMD19T 载体上,置于室温连接 2 h,然后导入 DH-5 $\alpha$  大肠杆菌感受态细胞中,经蓝白斑筛选,挑取白色单菌落于 LB (Luria-Bertani) 液体培养基中,  $37^{\circ}\text{C}$  恒温振荡培养 12 h,菌液经 PCR 及电泳检测后测序。PCR 程序同 1.3,反应体系中的模板改为 0.2  $\mu\text{L}$  菌液。

### 1.5 *BoPR1* 基因的序列分析

利用 DNAMAN5.2.2、SMART 在线工具(<http://smart.embl.de>)和 EXPASy Protparam tool 在线工具(<http://web.expasy.org/protparam/>)对 *BoPR1* 基因序列及其编码蛋白的理化性质进行分析。从 NCBI 数据库中下载 8 个物种的 *BoPR1* 同源序列,它们分别来自甘蓝型油菜 *B. napus* (登录号:XP\_013733404.1)、白菜 *B. rapa* (XP\_009136247.1)、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (OAP08110.1)、亚麻荠 *Camelina sativa* (XP\_010488899.1)、盐芥 *Eutrema salsugineum* (XP\_006409652.1)、高山南芥 *Arabis alpina* (KFK39972.1)、萝卜 *Raphanus sativus* (XP\_018489468.1) 和醉蝶花

*Tarenaya hassleriana* (XP \_\_010530683.1)。用 Clustalx 1.83 进行序列的多重比对，利用 Mega 5.1 软件构建进化树，建树方法采用邻接法。

### 1.6 *BoPR1* 基因的表达分析

根据测序结果，设计荧光定量 PCR 引物，上、下游引物 *BoPR2UP/BoPR2DN* 分别为：5'-AAA GCT ACG CCG ACC GAC TAC GAG-3' 和 5'-CCA GAA AAG TCG GCG CTA CTC CA-3'；以肌动蛋白基因为内标，上、下游引物 *BoACTINUP/BoACTINDN* 分别为：5'-ACG TGG ACA TCA GGA AGG AC-3' 和 5'-GAA CCA CCG ATC CAG ACA CT-3'。qRT-PCR 反应在 Roche LightCycler 96 上进行，反应体系为 10 μL 2 × Master Mix、各 0.2 μL 上游/下游引物 (20 μmol · L<sup>-1</sup>)、2 μL cDNA 和 7.6 μL of ddH<sub>2</sub>O；程序为 50°C 5 min, 94°C 30 s; 94°C 5 s, 59°C 15 s, 72°C 10 s, 共 40 个循环。基因的相对表达量通过公式 2<sup>-ΔΔCt</sup>，其中的 ΔΔCt 为 [(处理基因 Ct - 处理 actin 的 Ct) - (对照基因 Ct - 对照 actin 的 Ct)] 计算得到。

## 2 结果与分析

### 2.1 *BoPR1* 基因及其编码蛋白的特征

利用引物对 *BoPR1UP/BoPR1DN*，分别以叶

片基因组 DNA 和 cDNA 为模板进行 PCR 扩增，均获得单一的电泳条带 (图 1)。测序结果表明，*BoPR1* 的基因组 DNA 和编码区全长均为 489 bp，分别以 ATG 与 TAA 为起始和终止密码子，该基因无内含子。Protparam tool 在线工具的预测结果表明，*BoPR1* 的分子式为 C<sub>777</sub> H<sub>1200</sub> N<sub>232</sub> O<sub>231</sub> S<sub>8</sub>，分子量为 17.74 kD。*BoPR1* 共有 162 个氨基酸残基，理论等电点为 9.01。利用 SMART 在线工具可知，该蛋白具有 1 个信号肽和 1 个 SCP 结构域，分别位于 +1~+27 和 +28~+158 处 (图 2)。

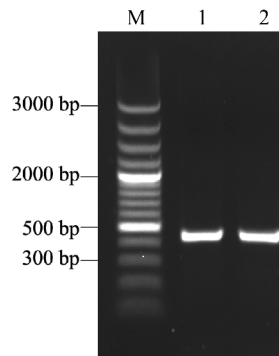


图 1 *BoPR1* 基因的克隆

Fig 1 Isolation of *BoPR1* gene

注：M 为标准分子量，1 和 2 为 cDNA 和 DNA 模板。

```

1  ATGAAAGTCATTTACTGTTCTCGACTTCTATTAATTTTGGCAGCCCTTGTAGGAGCTCTTGTTCATCCCTCGAAAGCT
1  M K V I Y C S R L L L I L A A L V G A L V H P S K A
79  CAAAACAGTCCACAAGACTATGTAACGCTCACACCAAGCAGCAGGACAGGCGTAGGCGTAGGTCCTCCGTGAGTGGGAC
27  Q N S P Q D Y V N A H N Q A R Q A V G V G P V Q W D
157  GGTACGCTTGCAGCCTTCGCTCAAAGCTACGCCGACCGACTACGAGGCGACTGCAGACTCGTACACTCCGGTGGGCT
53  G T L A A F A Q S Y A D R L R G D C R L V H S G G P
235  TATGGAGAGAACTTGGCCTGGAGTAGCGCCGACTTTTCTGGCCTCAGCGCCGTGAACCTTTGGGTCAACGAGAAGGCT
79  Y G E N L A W S S A D F S G V S A V N L W V N E K A
313  AACTATAACTACGCTTCGAACCGTGCATTAATGGAGAATGCCGTCACTATACTCAGGTTGTTGGAGAAAGTCTGTG
105  N Y N Y A S N T C I N G E C R H Y T Q V V W R K S V
391  AGAATTGGATGTGGCAAAGCAAGGTGTAACAATGGTGAACCATCATTCTTGCAACTATGATCCTCGGGGAATTAT
131  R I G C G K A R C N N G G T I I S C N Y D P R G N Y
469  GTGAACGAGAAGCCTTACTAA
157  V N E K P Y *

```

图 2 *BoPR1* 基因及其编码蛋白序列

Fig 2 Sequences of *BoPR1* gene and deduced protein

注：阴影部分为信号肽；划线部分为 SCP 结构域。

### 2.2 *BoPR1* 的进化分析

为明确 *BoPR1* 的进化地位，用 Clustalx 1.83 进行序列的多重比对。结果表明，*BoPR1* 与甘蓝型油菜的 PR1 最为相似，仅存在 1 个氨基酸残基的差别，该位点处于氨基酸序列的 +25 位，甘蓝型油菜 PR1 在该位点的氨基酸残基为 R，*BoPR1*

为 K。它们在 +28~+158 位各有一个高度保守的 SCP 结构域，均在 +116 处缺失 1 个氨基酸；与大白菜的 PR1 相比，两者仅存在 11 个氨基酸的差异，它们分别在 +4、+5、+28、+58、+61、+73、+76、+85、+108、+109 和 +120 处；与醉蝶花的差异最大，残基差异达 54 个 (图 3)。

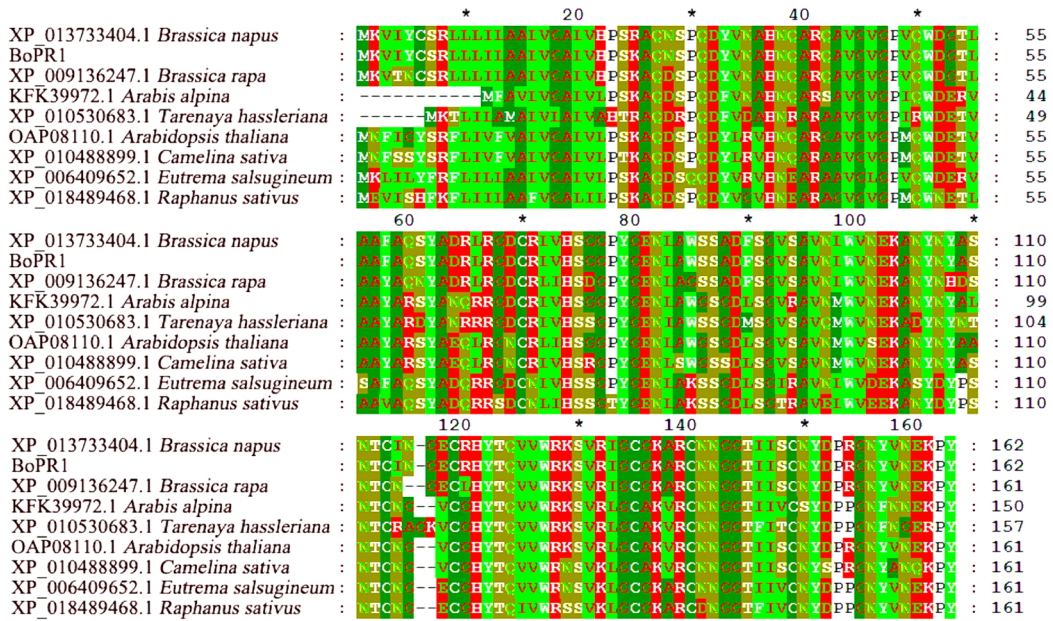


图 3 BoPR1 及其同源序列的比较

Fig 3 Comparison between BoPR1 and counterparts with homologous sequence

利用 Mega 5.1 软件构建系统发育树，建树方法为邻接法（图 4）。结果显示，BoPR1 与甘蓝型油菜 PR1 之间的遗传距离最小，仅 0.007，它们的亲缘关系最近；与白菜的 PR1 次之，遗传距离为 0.069；与萝卜和醉蝶花的遗传距离最大，分别为 0.303 和 0.360，亲缘关系最远。9 个不同物种的 PR1 在系统发育树上可分为 4 组，同为芸薹属的青花菜、甘蓝型油菜和白菜聚为一组（I），支持率为 100%；盐芥与萝卜聚于组 II，拟南芥与亚麻荠聚于组 III，支持率均为 99%；而高山南芥与醉蝶花聚为一组（IV），支持率稍低，为 88%。

2.3 BoPR1 基因的表达分析

为明确核盘菌和根肿菌胁迫对青花菜 BoPR1 基因表达的影响，采用荧光定量 PCR 检测基因的相对

表达量。结果表明，BoPR1 基因的表达受根肿菌的诱导，表达量表现为先上升后下降，在接种 5 d 时的表达量最高，为对照的 11.84 倍，10 d 时次之，为对照的 6.43 倍（图 5）。但是，BoPR1 基因的表达不受核盘菌的诱导，在 0~72 h 时的表达量无显著变化。

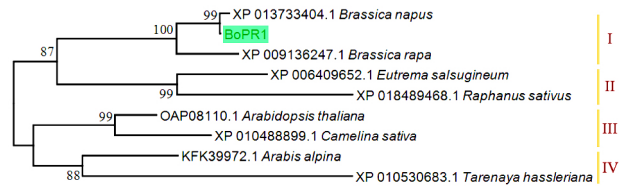


图 4 BoPR1 及其同源序列的系统发育树

Fig 4 Phylogenetic tree of BoPR1 and counterparts with homologous sequence

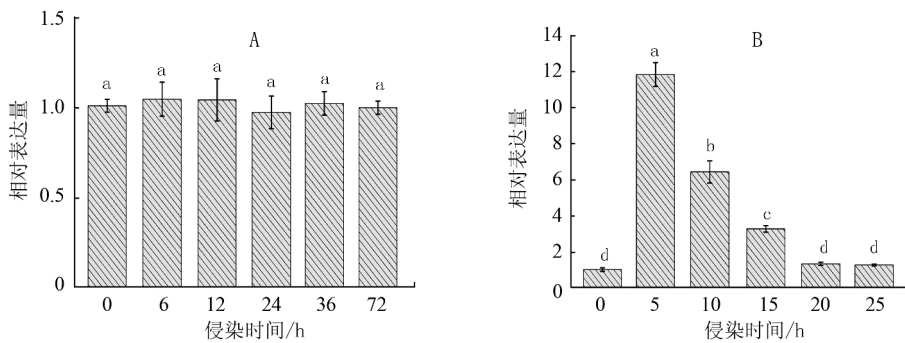


图 5 青花菜 BoPR1 基因在病原菌胁迫下的表达

Fig 5 Expression of BoPR1 gene challenged by pathogens

注：A 为接种核盘菌，B 为接种根肿菌。a、b、c 和 d：相同字母表示差异不显著，不同字母表示差异显著。

### 3 讨论与结论

PR1 基因是植物重要的病程相关基因，在逆境响应中起着关键作用，近年来，已从多种植物中克隆到 PR1 基因。张凯敏等<sup>[17]</sup>从刚毛柃柳 *Tamarix hispida* 中克隆到 *TbPR1* 基因，该基因的编码区长 537 bp，编码 178 个氨基酸，具一个 SCP 结构域。马立功等<sup>[18]</sup>从向日葵 *Helianthus annuus* 中克隆到一个 PR1 基因，该基因的编码区全长为 489 bp，编码 162 个氨基酸，具一个 SCP 结构域。近年来，随着青花菜栽培面积的不断扩大，病害问题日益突出，通过挖掘抗病基因开展分子育种，是解决这一问题的重要途径<sup>[19-20]</sup>。本研究以青花菜为材料，克隆了一个 *BoPR1* 基因，该基因的编码区全长为 489 bp，编码 162 个氨基酸，与向日葵 *HaPR1* 的大小完全一致，此外，与 *TbPR1* 和 *HaPR1* 一样，*BoPR1* 也具有一个 SCP 结构域。比对结果发现，*BoPR1* 与其他十字花科 PR1 序列的相似性较高，较高的蛋白同源性可能有相同的起源<sup>[21]</sup>；*BoPR1* 蛋白的 pI 为 9.01，推测其为碱性蛋白，理论上具有较强的抑菌活性<sup>[22]</sup>。

前人的研究表明，PR1 基因能被病原菌、干旱、盐和重金属等多种胁迫所诱导，它的高效表达提高了植物抵御病害和其他胁迫的能力<sup>[23-24]</sup>。Alexander 等<sup>[25]</sup>在将 *PR1-a* 转入烟草，能显著增强烟草对烟草霜霉病菌 *Peronospora tabacina* 和烟草黑胫病菌 *Phytophthora parasitica* 的抵抗能力；Sarowar 等<sup>[26]</sup>将辣椒 *Capsicum annuum* *CaBPR1* 转入烟草中过量表达，增强了烟草对烟草疫霉菌 *P. nicotianae*、青枯雷尔氏菌 *Ralstonia solanacearum* 和烟草野火病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci* 的抗性。水稻 *Oryza sativa* PR1 基因的表达受纹枯病菌 *Rhizoctonia solani* 诱导，在接种 12 h 时开始表达，之后表达量显著增加<sup>[27]</sup>。巴西橡胶树 *Hevea brasiliensis* *HbPR1* 基因的表达受 SA 诱导，12 h 时显著增强，可作为系统获得抗性的标记基因<sup>[13]</sup>。本研究中，用根肿菌处理青花菜，发现表达量呈现为先上升后下降，在接种 5 d 时的表达量最高，为对照的 11.84 倍，推测 *BoPR1* 基因与根肿菌抗性相关。植物对活体寄生菌的抗病反应采用 SA 信号转导途径，而 PR1 是该途径的标志基因之一，它可以在活体寄生菌的侵染下表达<sup>[13]</sup>；本研究中，根肿菌为活体寄生菌，青花菜 *BoPR1* 的表达受该菌的诱导，而核盘菌为死体寄生菌，*BoPR1* 的表达不受其诱导。

本研究以青花菜为材料，在克隆病程相关蛋白基因 *BoPR1* 的基础上，进行了序列分析、系统发育分析和表达分析，为该基因的功能验证奠定了基础。下一步将利用过量表达和抑制表达研究 *BoPR1* 在抗病反应中的功能，为抗病分子育种奠定基础。

#### 参考文献：

- [1] 林俊. 青花菜标准化栽培关键技术研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [2] 陈晓峰. 不结球白菜抗真菌病基因的克隆与表达分析 [D]. 扬州: 南京农业大学, 2008.
- [3] 崔香仙. 西兰花主要病害及其综合防治 [J]. 特种经济动植物, 2005, 8 (3): 42-42.
- [4] 陈海平. 青花菜霜霉病原和流行因素研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [5] 高婷婷. 大白菜抗霜霉病防御信号途径中相关基因的表达分析 [D]. 扬州: 扬州大学, 2013.
- [6] 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.
- [7] GOVRIN E M, LEVINE A. The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea* [J]. Current Biology, 2000, 10 (13): 751-757.
- [8] 刘利华, 林奇英, 谢华安, 等. 病程相关蛋白与植物抗病性研究 [J]. 福建农业学报, 1999, 14 (3): 53-58.
- [9] 杨瑞瑞, 易小娅, 曾幼玲. PR10 的结构、信号转导以及功能的研究进展 [J]. 中国农学通报, 2014, 30 (4): 251-258.
- [10] 王勇刚, 曾富华, 吴志华, 等. 植物诱导抗病与病程相关蛋白 [J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2002, 28 (2): 177-182.
- [11] 杨德翠, 张玉喜, 郑国生. 牡丹病程相关蛋白 1 基因的克隆及表达分析 [J]. 园艺学报, 2013, 40 (8): 1583-1590.
- [12] 王燕华, 何水林. 植物诱导抗病性的分子生物学研究进展 [J]. 应用与环境生物学报, 2004, 10 (6): 811-815.
- [13] 罗红丽, 秦云霞, 闫志辉, 等. 巴西橡胶树病程相关蛋白基因 (*HbPR1*) 的克隆及分析 [J]. 热带作物学报, 2011, 32 (8): 1499-1502.
- [14] ZHOU J M, TRIFA Y, SILVA H, et al. NPR1 differentially interacts with members of the TGA/OBF family of transcription factors that bind an element of the PR-1 gene required for induction by salicylic acid [J]. Molecular Plant-microbe Interactions, 2000, 13 (2): 191-202.
- [15] 张小丽, 刘玉梅, 方智远, 等. 青花菜及近缘种属种质资源抗根肿病鉴定 [J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17 (6): 1106-1115.
- [16] DELLAPORTA S L, WOOD J, HICKS J B. A plant DNA miniprep: version II [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1983, 1 (4): 19-21.
- [17] 张凯敏, 王玉成, 杨桂燕, 等. 柃柳 *ThPR1* 基因的克隆与表达分析 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2013, 37 (2): 45-49.

- [18] 马立功, 张匀华, 孟庆林, 等. 向日葵病程相关蛋白 *HaPR1* 基因的克隆与功能 [J]. 作物学报, 2015, 41 (12): 1819-1827.
- [19] 姚红燕, 皇甫伟国, 赵海棠, 等. 青花菜几种病害的初步调查 [J]. 宁波农业科技, 2004, (4): 2-4.
- [20] 王汉荣. 青花菜褐茎病原鉴定及其防治技术研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [21] LOON L C V, REP M, PIETERSE C M J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants [J]. Annual Review of Phytopathology, 2006, 44 (1): 135-162.
- [22] 侯丽霞, 高超, 车永梅, 等. 葡萄病程相关蛋白 1 基因的克隆和表达分析 [J]. 植物生理学报, 2012, 48 (1): 57-62.
- [23] AGRAWAL G K, NAMSOO J, RAKWAL R. A novel rice (*Oryza sativa* L.) acidic PR1 gene highly responsive to cut, phytohormones, and protein phosphatase inhibitors [J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2000, 274 (1): 157-165.
- [24] 赵淑清, 郭剑波. 植物系统获得抗性及其信号转导途径 [J]. 中国农业科学, 2003, 36 (7): 781-787.
- [25] ALEXANDER D, GOODMAN R M, GUT-RELLA M, et al. Increased tolerance to two oomycete pathogens in transgenic tobacco expressing pathogenesis-related protein 1a [J]. Proceeding of the National Academy of Science of America, 1993, 90 (15): 7327-7331.
- [26] SAROWAR S, KIM Y J, KIM E N, et al. Overexpression of a pepper basic pathogenesis-related protein 1 gene in tobacco plants enhances resistance to heavy metal and pathogen stresses [J]. Plant Cell Reports, 2005, 24 (4): 216-224.
- [27] 赵长江, 鲁国东, 杜晓昱, 等. 水稻纹枯病发病过程 PR1 和 PBZ1 的表达动态 [J]. 植物病理学报, 2006, 26 (4): 317-321.

(责任编辑: 柯文辉)