

转拟南芥 *AtNPR1* 基因增强水稻对 水稻白叶枯病和稻瘟病的抗性

段承杰^{1,2}, 罗荡平^{1,2}, 罗雪梅^{1,2}, 冯家勋^{1,2*}

(1. 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 南宁 530005;

2. 广西大学 生命科学与技术学院, 南宁 530005)

摘要: *AtNPR1* 基因是拟南芥系统获得抗性的一个重要调节基因, 在拟南芥中过量表达 *AtNPR1* 基因能使拟南芥对细菌和真菌的抗性同时增强。为了研究在水稻中过量表达 *AtNPR1* 基因对水稻抗病性的影响, 将该基因转入到广西主栽籼稻恢复系品种桂 99 中。经 PCR 验证得到了 79 株转基因植株, DNA 斑点杂交表明 *ATNPR1* 基因已经整合到桂 99 染色体 DNA 中。Northern 杂交和 RT-PCR 分析表明, *AtNPR1* 基因在桂 99 中已经表达; 同时还检测了转基因植株对水稻白叶枯病和稻瘟病的抗性, 结果表明转基因植株对该两种病害的抗性均显著增强。

关键词: *AtNPR1* 基因; 水稻; 桂 99; 转化; 抗病性; 水稻白叶枯病菌; 稻瘟病菌

中图分类号: Q789 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2012)06-0800-06

Over-expression of *Arabidopsis thaliana AtNPR1* gene in rice enhances the rice resistance to bacterial blight and blast diseases

DUAN Cheng-Jie^{1,2}, LUO Dang-Ping^{1,2}, LUO Xue-Mei^{1,2}, FENG Jia-Xun^{1,2*}

(1. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, Nanning 530005,

China; 2. College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: The *AtNPR1* gene is a key regulator of systemic acquired resistance(SAR) in *Arabidopsis thaliana*. Over-expression of *AtNPR1* in *A. thaliana* enhanced resistance to both bacterial and fungal diseases. To investigate the effect of *AtNPR1* over-expression in rice on its disease resistance, the gene was transformed as a restorer in Gui99 of Guangxi. PCR and DNA dot blot hybridization analyses revealed that 79 transgenic plants were obtained. Northern hybridization and RT-PCR analyses indicated that *AtNPR1* gene was over-expressed in rice. The transgenic plants were challenged with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*(*Xoo*) and *Magnaporthe grisea*, the rice bacterial blight and fungal blast pathogens, respectively. They showed significantly enhanced resistance to *Xoo* and *M. grisea*.

Key words: *AtNPR1* gene; rice; Gui99; transformation; disease resistance; *X. oryzae* pv. *oryzae*; *M. grisea*

稻瘟病(rice blast)和水稻白叶枯病(rice bacterial blight)是对水稻生产威胁最大的主要病害。在防治策略上,对稻瘟病、白叶枯病以种植抗病品种为主。植物系统获得抗性(Systemic Acquired Resist-

ance, SAR)是一种植物诱导型防卫反应机制,是植物受物理、化学或生物因子在局部作用后整株表现出的对较广泛的病原微生物(病毒、细菌、真菌)的抗性(Durrant 等,2004)。这种抗性往往能持续较长

收稿日期: 2012-04-08 修回日期: 2012-07-04

基金项目: 广西自然科学基金(桂科自 0007006); 广西科技攻关项目(桂科攻 0228019-4)[Supported by the Natural Science Foundation of Guangxi (0007006); the Key Scientific and Technological Project of Guangxi(0228019-4)]

作者简介: 段承杰(1974-),男,湖南洪江人,博士,副研究员,研究方向为分子生物学,(E-mail) duancj2004@163.com.

*通讯作者: 冯家勋,男,博士,教授,主要从事分子生物研究(E-mail)jxfeng001@163.com.

时间,它显著区别于其它抗病反应:其一,SAR能引起病程相关(Pathogenesis-Related,PR)蛋白的表达以及对病原菌有广谱抗性;其二,SAR是一种植物主动防御机制,从过敏反应到植物系统获得抗性的产生,发生一系列信号的转导(Baker等,1997;Hunt等,1996;Smith等,2000)。拟南芥 *AtNPR1* 是导致拟南芥 SAR 及局部获得抗性在内的水杨酸(salicylic acid,SA)信号传递途径中的一个重要调节因子(Cao等,1997)。*AtNPR1* 基因在拟南芥中的过量表达,可导致下游一系列防卫反应基因表达的增强或 PR 基因的表达加快,使拟南芥获得对病原细菌和真菌的广谱抗性,同时转基因植株的生长发育并不受影响(Cao等,1998;Friedrich等,2001)。

在水稻品种 LiaoGeng(LG)过量表达 *OsNPR1* (*NH1*)对水稻白叶枯病抗性显著增强,并且抗性可遗传(Chern等,2005)。Yuan等(2007)将 *OsNPR1* 在 TP309 中过量表达,提高了对 *Xoo* 的抗性,同时发现 *OsNPR1* 与水稻的抗虫性有关。Feng等(2011)将 *OsNPR1* 基因在水稻 TP309 和桂 99 中过量表达,同时提高了水稻对白叶枯病和稻瘟病的抗性。拟南芥 *AtNPR1* 基因最早的异源表达是将之转入水稻粳稻 TP309 中,增强水稻对水稻白叶枯病的抗性(Chern等,2001);Quilis等(2008)进一步发现 *AtNPR1* 基因可同时提高转基因水稻对真菌、细菌及病毒等植物病原菌的抗性。在番茄(Lin等,2004)、小麦(Makandar等,2006)、柑桔(Zhang等,2010)、棉花(Parkhi等,2010)和烟草(Meur等,2008)等植物中过量表达 *AtNPR1* 基因,也增强了其对细菌和真菌病害的抗性,所以 *AtNPR1* 基因是培育广谱抗病好作物的热门候选基因。此外 *AtNPR1* 基因也被转入罗汉果中,但是转基因罗汉果的抗病性检测未见进一步报导(杨华等,2011)。本研究应用根癌农杆菌介导法将 *AtNPR1* 基因导入广西主栽水稻恢复系桂 99 中,检测 *AtNPR1* 基因是否能增强桂 99 对水稻白叶枯病和稻瘟病的抗性。

1 材料与方法

1.1 材料

质粒:水稻表达载体 pGXN5022,含拟南芥 *AtNPR1* cDNA 基因,控制 *AtNPR1* 基因表达的启动子为 Ubiquitin 启动子,终止子为 NOS,在水稻中的抗性选择标记为 G418;菌株:大肠杆菌 DH5 α ,根癌

农杆菌菌株 EHA105,水稻黄单胞菌水稻变种 13751,水稻稻瘟病菌 CHL0742 中国菌株;水稻品种为籼稻恢复系桂 99;大肠杆菌培养基:LB(Tryptone 10 g, Yeast extract 5 g, NaCl 5 g, pH7.0);根癌农杆菌培养基:YEB(Tryptone 5 g, Beef extract 5 g, MgSO₄ 1 g, Yeast extract 1 g, Sucrose 5 g, pH7.0);水稻白叶枯病菌培养基:OB(Peptone 2.0 g, Tryptone 5.0 g, Sucrose 10.0 g, Sodium glutamate 1.0 g, Methionine 0.1 g, K₂HPO₄ 0.72 g, KH₂PO₄ 0.28 g, NH₄Cl 1.0 g, MgCl₂ · 6H₂O 1.0 g, F²⁺-(EDTA) 1 ppm, pH7.0);稻瘟病菌培养基:淀粉培养基。

1.2 方法

1.2.1 含 *AtNPR1* 基因的水稻表达载体的构建

拟南芥小苗生长 2 周后,用 BTH(Benzothiadiazole)喷雾处理小苗 3 次后,从小苗中提取总 RNA,根据已发表的拟南芥的 *AtNPR1* 基因的 cDNA 序列(GenBank 序列号:AY088183)设计一对引物 NPR1U: 5'-GATCCCGGGTCAATTCATCGGAA CCTG-3', NPR1D: 5'-GCGAGCTCATGACGCAACGATAGAC-3',在引物的 5'端分别含有 *Sma*I 和 *Sac*I 位点(下划线部分),应用 RT-PCR 扩增出了全长的 *AtNPR1* 基因 cDNA,将该片段克隆到经 *Sac*I/*Sma*I 酶切的载体 pBluescript M13 KS (+)上得重组质粒 pGXN5001,经测序验证正确后再用 *Sac*I/*Sma*I 双酶切 pGXN5001,回收 1 892 bp 的 *AtNPR1* 基因片段,用 T4 DNA 聚合酶补平末端后再连接到载体 pJFNPTII-UbiN 的 *Sma*I 位点,选择外源片段正向连接到 Ubiquitin 启动子下游的重组质粒,最终得到含有 *ATNPR1* 基因的水稻表达载体 pGXN5022。将该表达载体通过三亲本接合的方法转入到根癌农杆菌 EHA105。组织培养和转化的培养基参照文献(乐宁等,2005)。

1.2.2 含 *AtNPR1* 基因的水稻表达载体对水稻桂 99 的转化

用 Hiei 等(1994)报道的用根癌农杆菌介导的方法对水稻进行转化。具体按乐宁等(2005)描述的方法进行。

1.2.3 转基因植株的 PCR 检测

应用 PCR 方法检测所有的 G418 抗性再生植株。少量提取水稻总 DNA,以引物 NPR1U 和 NPR1D 进行扩增。PCR 扩增反应体系:2.5 μ L 10 \times PCR buffer;2 μ L dNTP (2.5 mmol/L);1.0 μ L 水稻总 DNA(1 ng/ μ L);1 μ L NPR1U(10 pmol/ μ L);1 μ L NPR1D(10 pmol/ μ L);0.2 μ L ExTaq DNA 聚合酶(5 U/ μ L);17.1

μL ddH₂O。PCR 反应条件:94 °C 2 min 变性,94 °C 1 min,58 °C 1 min,72 °C 2 min 进行 30 个循环,最后 72 °C 10 min。以琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物的大小。

1.2.4 DNA 斑点杂交 提取转 *AtNPR1* 基因的桂 99 植株、未转基因的桂 99 植株的总 DNA,取 3 μg DNA 经碱变性后点在尼龙膜上,待膜干后进行紫外交联;用 20 ng 质粒 pGXN5022 的 DNA 做为阳性对照,按同样的方法点在膜上。用 *AtNPR1* 基因作为探针,用 Promega 公司的 Prime-a-Gene Labeling System 试剂盒进行标记,方法按试剂盒提供的程序进行。

1.2.5 RT-PCR 检测 用 TRizol 试剂提取 8 株转 *AtNPR1* 基因的水稻总 RNA,使用引物 NPR1U 和 NPR1D 进行 RT-PCR。详细操作按 INVITRO-GEN SUPERSRIPT™II RT Kit 说明书进行。

1.2.6 Northern 杂交 用 TRizol 试剂提取转 *AtNPR1* 基因的水稻总 RNA,总 RNA 经变性电泳后,用上行法转移至尼龙膜上。以 *AtNPR1* 基因为探针,杂交后的 X 光片用 Typhoon 系列(Amersham Biosciences 公司)扫描仪扫描屏获得结果。

1.2.7 转 *AtNPR1* 基因植株的抗病性检测 T1、T2 代的植株抗病性试验于温室盆栽中进行,检测方法:(1)水稻白叶枯病:接种菌液浓度为 OD₆₀₀ = 0.001(10⁶ cfu/mL),每个株系剪叶接种 30 张以上叶片,接种后 14 d 测量病斑长度。每个试验设 3 个重复。(2)稻瘟病:病菌分生孢子悬浮液浓度为 1 × 10⁶ 个/mL,加 0.2% Tween 20 作展布剂,均匀喷雾接种苗期水稻。试验设 3 个重复,每个重复接种 30 张以上叶片。接种后避光保湿 24 h 后置于常规状态下管理,第 7 天调查发病情况。并按以下公式计算病情指数:病情指数 = 各级发病叶数 × 各级代表值 / (调查总叶数 × 最高级代表值) × 100。

2 结果与分析

2.1 *AtNPR1* 基因表达质粒的构建及其对水稻桂 99 的转化

我们将获得的 *ATNPR1* 基因正向插入在 Ubiquitin 启动子下游的重组质粒命名为 pGXN5022(图 1),*AtNPR1* 基因置于 Ubiquitin 启动子控制下,水稻选择性标记为已通过安全性审批的 G418 抗性基因。将重组质粒转化到根癌农杆菌

EHA105 中,得到 EHA105/pGXN5022。

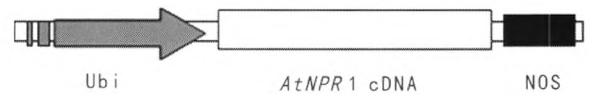


图 1 含 *AtNPR1* 基因的水稻表达载体 pGXN5022 的结构

Fig. 1 Structure of rice expression vector pGXN5022 containing *AtNPR1* cDNA gene

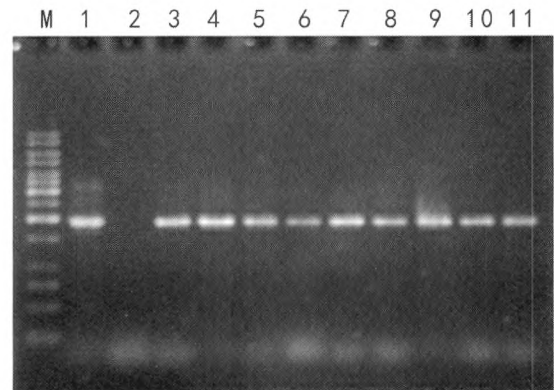


图 2 转 *AtNPR1* 基因桂 99 植株的 PCR 检测
Fig. 2 PCR analysis of transgenic Gui99 plants transformed with *AtNPR1* gene

M. 1 kb DNA ladder; 1. 阳性质粒(pGXN5022);
2. 未转基因桂 99; 3-11. 转基因株系。
M. 1 kb DNA ladder; 1. Positive plasmid(pGXN5022);
2. Gui99; 3-11. Transgenic plant lines.

在 NB 或 GI 培养基上诱导 6~8 d 时的水稻愈伤组织(直径约 2 mm)为转化受体愈伤组织,与根癌农杆菌 EHA105/pGXN5022 在共培养基 CC-AS 上共培养 3~5 d 后,转至选择培养基 GS1 上,10 d 后将重新生长出的抗性愈伤挑出到第二轮选择培养基 GS2 上继续筛选。愈伤组织在分化培养基上光照 3 d 后开始出现绿点,1 周后就开始陆续分化成小苗,待再生苗长出根后就将其移到 1/2 MS 壮苗培养基进行壮苗。当幼苗长至 10~15 cm 时,炼苗 3 d 后移栽。

2.2 转基因植株的分子鉴定

我们共进行了 5 个批次的转化,得到 79 株 G418 抗性小苗。将获得的抗性小苗以 NPR1U 和 NPR1D 为引物经 PCR 扩增都得到大约 1.9 kb 的目标扩增条带(图 2)。随机选择 3 个转基因植株的 PCR 产物以 NPR1U 为引物各做一个测序反应,所测得序列都与 *AtNPR1* 基因对应部分是完全一致,证实扩增的 PCR 产物是 *AtNPR1* 基因,说明 *At-*

NPR1 基因已经被导入水稻桂 99 中。DNA 斑点杂交结果显示阳性对照 pGXN5022 和经 PCR 检测阳性的转基因植株都能产生杂交信号,而未转基因的水稻不能产生杂交信号,进一步证实外源基因已转入水稻并已整合到染色体上(图 3)。

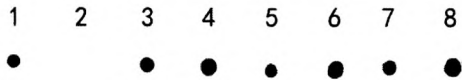


图 3 转 *AtNPR1* 基因的水稻植株的 DNA 斑点杂交检测

Fig. 3 Identification of *AtNPR1* transgenic plants by DNA dot blot hybridization

1. 阳性质粒(pGXN5022); 2. 未转基因桂 99; 3-8. 转基因株系。
1. Positive plasmid(pGXN5022); 2. Gui99;
3-8. Transgenic plant lines.

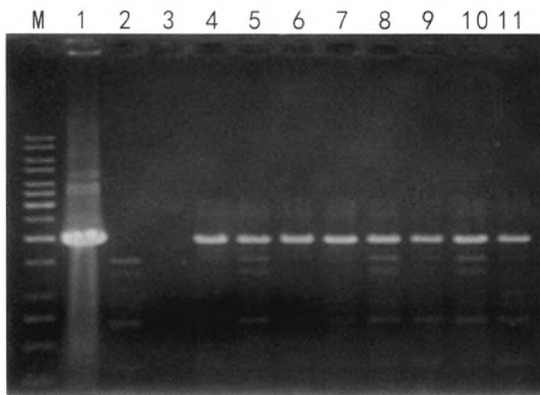


图 4 RT-PCR 检测 *AtNPR1* 基因在转基因水稻植株中的表达

Fig. 4 Detection of the expression of *AtNPR1* gene in transgenic plants by RT-PCR

M. 1 kb DNA ladder; 1. 阳性质粒(pGXN5022); 2. 未转基因桂 99;
3. 未加反转录酶,对应第 4 泳道中的转基因植株; 4-11. 转基因株系。
M. 1 kb DNA ladder; 1. Positive plasmid pGXN5022;
2. Gui99; 3. No addition of reverse transcriptase, RNA used as lane 4; 4-11. Transgenic plant lines.

RT-PCR 的检测结果表明,转基因植株均能给出约 1.9 kb 的 RT-PCR 产物,与用阳性质粒(pGXN5022)为模板所扩增出的 DNA 带大小一致,而对照非转基因植株却不能扩增出此带(图 4),说明外源 *AtNPR1* 基因已在转基因水稻细胞内表达。Northern 杂交表明在转基因植株中 *AtNPR1* 基因是过量表达的,但各转基因植株之间表达水平有差异,可能与外源基因整合到染色体的位置有关系,非转基因植株中没有检测到 *AtNPR1* 基因的表达(图 5)。

2.3 转 *ATNPR1* 基因水稻植株的抗病性检测

在对转基因桂 99 进行水稻白叶枯病的抗性检

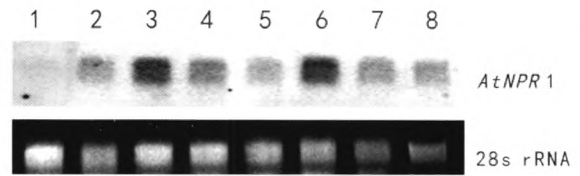


图 5 Northern 杂交检测 *AtNPR1* 基因在转基因水稻植株中的表达

Fig. 5 Northern hybridization analysis of expression of *AtNPR1* gene in transgenic plants

1. 未转基因桂 99; 2-8. 转基因株系。
1. Gui99; 2-8. Transgenic plant lines.

测过程中,由于转基因桂 99 的株系较多、且出苗批次和收获时间不一致,我们采用分批剪叶接种盆栽转基因植株的办法。首先检测了 T1 代的 N1 和 N2 这两个株系,对其各单独接种了 12 个单株,病斑长度均比桂 99 显著降低了 50% 以上。第 2 次接种的 11 个 T1 代转基因株系的病斑长度也比桂 99 显著降低。第 3 次接种了 34 个 T1 代和 11 个 T2 代纯合转基因株系,T1 代中 30 个株系对水稻白叶病菌的抗性显著增强;T2 代 11 个株系对水稻白叶枯病的抗性均显著增强。第 4 次接种了 14 个 T1 代和 1 个 T2 代(G60)转基因株系,T1 代中 8 个株系的抗性显著增强,T2 代 G60 的抗性显著增强。第 5 次接种了 7 个 T1 代和 2 个 T2 代株系,它们的抗性均显著增强。总计,共检测了 68 个 T1 代转基因株系对水稻白叶枯病的抗性,其中有 58 个株系的抗性显著增强,占 85%;检测的 14 个 T2 代纯合株系对水稻白叶枯病的抗病性均显著增强,占 100%。

对稻瘟病的抗性检测,第 1 次实验检测了 T1 代的 N1 和 N2 这两个株系,它们的抗病性比桂 99 提高了约 33%。第 2 次检测了 49 个 T1 和 T2 代株系,其中 27 个株系对稻瘟病的抗性均显著增强,占检测株系的 55%。

根据以上结果,我们随机选择了 35 株 T1 代转基因植株同一批次进行了水稻白叶枯病及稻瘟病的抗性检测。结果发现:21 株(占 60%)转基因植株同时抗两种病害,85.7%的转基因植株对水稻白叶枯病的抗性显著提高,65.7%的转基因植株对稻瘟病的抗性显著增强;11 株转基因植株只对一种病害的抗性显著增强:9 株(占 25.7%)只对白叶枯病的抗性显著增强,2 株(占 5.7%)只对稻瘟病的抗性增强;3 株(占 8.6%)对这两种病害的抗性没有显著增强(表 1,图 6)。

表 1 T1 代转基因植株对水稻白叶枯病及稻瘟病的抗性

Table 1 Resistance of transgenic plants of T1 generation to *X. oryzae* pv. *oryzae* and *M. grisea* in green house

株系 Plants	<i>Xoo</i> (cm) Mean±SD	R/S	<i>M. grisea</i> (%) Mean±SD	R/S	株系 Plants	<i>Xoo</i> (cm) Mean±SD	R/S	<i>M. grisea</i> (%) Mean±SD	R/S
桂 99	2.4±0.7	S	38.9±0.1	S	G135	1.5±0.4	R	39.8±0.7	S
N1	0.8±0.6	R	33.3±1.1	R	G13	1.7±0.3	S	37.2±0.9	S
N2	0.9±0.5	R	34.2±1.1	R	G139	1.1±0.7	R	56.5±1.6	S
G2	1.0±0.7	R	34.0±0.7	R	G140	1.4±0.5	R	51.7±1.1	S
G32	1.4±0.8	R	33.5±1.1	R	G144	1.2±0.8	R	29.6±0.8	R
G41	1.2±0.5	R	32.9±1.0	R	G145	0.5±0.3	R	31.6±1.1	R
G42	1.0±0.3	R	20.4±2.2	R	G146	3.1±0.5	S	37.8±1.9	S
G48	0.7±0.6	R	31.7±0.5	R	G149	2.3±0.0	S	39.0±1.6	S
G82	1.0±0.6	R	28.4±0.6	R	G150	1.2±0.5	R	35.3±1.2	R
G86	0.6±0.5	R	27.1±0.6	R	G151	0.8±0.5	R	38.2±0.5	S
G88	0.4±0.4	R	24.0±1.9	R	G153	0.9±0.7	R	36.4±1.7	S
G101	0.2±0.4	R	33.7±1.2	R	G154	0.3±0.2	R	36.3±1.9	S
G122	0.3±0.3	R	31.2±1.4	R	G155	0.8±0.6	R	37.4±2.0	S
G126	0.5±0.4	R	35.4±1.6	S	G157	0.9±0.6	R	34.9±1.9	S
G127	0.2±0.1	R	26.3±2.1	R	G160	1.1±0.6	R	33.0±0.5	R
G131	0.8±0.3	R	25.7±1.5	R	G171	2.0±0.5	S	33.1±1.2	R
G132	0.4±0.4	R	33.9±1.5	R	G174	1.1±0.5	R	29.2±0.6	R
G134	0.5±0.2	R	34.8±0.8	R	G189	2.1±0.6	S	29.2±1.1	R

注：“R”为经 TTEST 显著性分析为抗性增强；“S”为经 TTEST 显著性分析为抗性没有增强。

Note: “R”represents that transgenic plants enhanced resistance to diseases compared to wild type plants by T-Test significant analysis; “S”represents that transgenic plants did not enhance resistance to diseases compared to wild type plants by T-Test significant analysis.

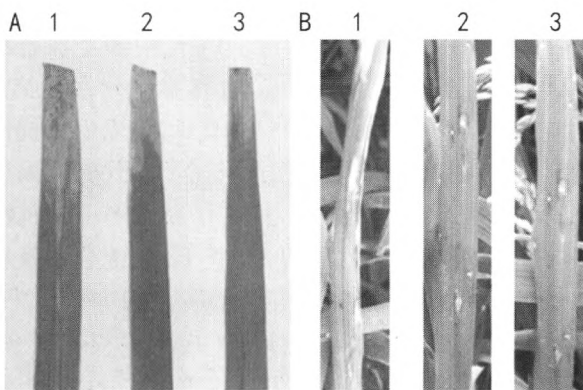


图 6 转基因植株的水稻白叶枯病和水稻稻瘟病的发病情况

Fig. 6 Disease severities of transgenic rice T1 plants challenged with *Xoo* and *M. grisea*

- A. 接种水稻白叶枯病菌 14 d 后转基因植株叶片上的症状；
B. 水稻接种稻瘟病菌后叶片上的症状；1. 桂 99；2. N1；3. N2。
A. Symptoms of *AtNPR1* transgenic plant lines 14 days post inoculation with *Xoo*; B. The symptom of *AtNPR1*-overexpressing lines in Gui99 7 days post inoculation with *M. oryzae*; 1. Gui99; 2. N1; 3. N2.

3 结论与讨论

根癌农杆菌介导水稻的遗传转化自 1994 年以来已获得了巨大的成功,但也还存在着两个方面的

问题:一是转化的周期太长,二是籼稻的转化频率普遍较粳稻为低,许多籼稻品种转化困难,有些甚至不能成功转化(Hiei 等,1994)。我们成功地将拟南芥 *AtNPR1* 基因转入栽培籼稻恢复系桂 99,得到 79 株转基因植株,转化频率达到了 10.91%,对于籼稻品种来说,这是一个高效的遗传转化系统。

AtNPR1 基因具有正向调控拟南芥的系统获得抗性的功能,系统获得抗性能赋予植物对病原体产生广谱的抗性(Durrant 等,2004)。我们获得的转基因株系 T1 代中有 60%同时对水稻白叶枯病菌和稻瘟病菌表现出抗性显著增强;85.7%的转基因植株对水稻白叶枯病的抗性显著提高,65.7%的转基因植株对稻瘟病的抗性显著增强。转 *AtNPR1* 的水稻对水稻白叶枯病抗性提高的株系比对稻瘟病抗性提高的株系多 20%,同时转基因株系也表现出更强的抗白叶枯病特性,这可能与不同病菌的侵染机制和生理小种有关,因为植物针对细菌病害和真菌病害所产生的防卫反应蛋白是不同的,具体的相应抗性蛋白的表达强度需通过 Northern 杂交、定量 PCR 或 Western 杂交来确定。8.6%转基因植株对水稻白叶枯病或稻瘟病的抗性并无显著提高,这可能是由转入的外源基因 *AtNPR1* 沉默造成的,这也是做转基因经常出现的情况。引起基因沉默的原

因:(1)外源基因多拷贝插入到染色体 DNA 同一位点上导致的转录失活(Asaad 等,1993);(2)转基因片段插入水稻染色体的异染色质区或是插入常染色质区与异染色质区的间隔区所造成的转基因的位置效应,具体的原因需要通过转入的 *AtNPR1* 基因进行基因组定位和确定有多少个插入拷贝数才能来确定(Mlynarova 等,1994)。

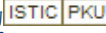
尽管 Chern 等(2001)已在水稻粳稻 TP309 中过量表达 *AtNPR1* 基因增强其对水稻白叶枯病的抗性,Quilis 等(2008)发现转 *AtNPR1* 的日本晴增强了对植物病原细菌、真菌和病毒的抗性,但他们的转基因水稻亲本都是广泛用于实验的一个水稻品系,并不是实际生产用的水稻品系。与之相比,我们转 *AtNPR1* 基因的桂 99 同时对水稻白叶枯病和稻瘟病提高抗性,与前两个工作结果是一致的,但我们用的转基因亲本桂 99 是广西的主要栽培品种。转 *AtNPR1* 基因植株的外源基因在多代中经检测能稳定遗传,转基因植株对病原微生物的抗性在多代多批次的温室盆栽试验也是一致的,它们的抗病性也能稳定遗传,所以转 *AtNPR1* 桂 99 为水稻的抗病育种提供新种质。

转 *AtNPR1* 能使农作物增强对病原微生物广谱的抗性,拟南芥 *NPR1* 基因的同源基因也具有类似作用(Quilis 等,2008;Parkhi 等,2010)。与此相反,大部分抗病基因是特异性针对某一种病原物或某一生理小种才有作用,转入此类基因也只会使作物产生针对特异病原物的抗性。因此将 *AtNPR1* 或它在其它植物中的同源基因应用于改良作物的抗病性是很有前景的一条途径。

致谢 中国科学院遗传与发育生物学研究所储成才提供载体;华南农业大学潘庆华提供稻瘟病菌菌株;广西南宁市五塘农技推广站提供桂 99 水稻种子。

参考文献:

- Asaad FF, Tucker KL, Signer ER. 1993. Epigenetic repeat-induced gene silencing(RIGS) in *Arabidopsis*[J]. *Plant Mol Biol*, **22**(6):1 067-1 085
- Baker B, Zambryski P, Staskawicz B, et al. 1997. Signaling in plant-microbe interactions[J]. *Science*, **276**(5313):726-733
- Cao H, Glazebrook J, Clarke JD, et al. 1997. The *Arabidopsis NPR1* gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats[J]. *Cell*, **88**(1):57-63
- Cao H, Li X, Dong X. 1998. Generation of broad spectrum disease resistance by overexpression of an essential regulatory gene in systemic acquired resistance[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**(11):6 531-6 536
- Chern MS, Fitzgerald HA, Yadav RC, et al. 2001. Evidence for a disease-resistance pathway in rice similar to the *NPR1*-mediated signaling pathway in *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, **27**(2):101-113
- Chern MS, Fitzgerald HA, Canlas PE, et al. 2005. Overexpression of a rice *NPR1* homolog leads to constitutive activation of defense response and hypersensitivity to light[J]. *Mol Plant-Micro Inter*, **6**(18):511-520
- Durrant WE, Dong X. 2004. Systemic acquired resistance[J]. *Annu Rev Phytopathol*, **42**:185-209
- Feng JX, Cao L, Li J, et al. 2011. Involvement of *OsNPR1/NH1* in rice basal resistance to blast fungus *Magnaporthe oryzae*[J]. *Eur J Plant Pathol*, **131**(2):221-235
- Friedrich L, Lawton K, Dietrich R, et al. 2001. *NIM1* overexpression in *Arabidopsis* potentiates plant disease resistance and results in enhanced effectiveness of fungicides[J]. *Mol Plant-Micro Inter*, **14**(9):1 114-1 124
- Hunt MD, Neuenschwander UH, Delaney TP, et al. 1996. Recent advances in systemic acquired resistance research: a review[J]. *Gene*, **179**(1):89-95
- Hiei Y, Ohta S, Komari T, et al. 1994. Efficient transformation of rice(*Oryza sativa*) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA[J]. *Plant J*, **6**(2):271-282
- Malnoy M, Jin Q, Borejsza-Wysocka EE, et al. 2007. Overexpression of the apple *MpNPR1* gene confers increased disease resistance in *Malus × domestica*[J]. *Mol Plant-Micro Inter*, **20**(12):1 568-1 580
- Makandar R, Essig JS, Schapaugh MA, et al. 2006. Genetically engineered resistance to Fusarium head blight in wheat by expression of *Arabidopsis NPR1*[J]. *Mol Plant-Micro Inter*, **19**(2):123-129
- Mlynarova L, Loonen A, Jensen RC, et al. 1994. Reduced position effect in mature transgenic plants conferred by the chicken lysozyme matrix-associated region[J]. *Plant Cell*, **6**(3):417-426
- Parkhi V, Kumar V, Campbell LM, et al. 2010. Resistance against various fungal pathogens and reniform nematode in transgenic cotton plants expressing *Arabidopsis NPR1*[J]. *Transg Res*, **19**(6):959-975
- Quilis J, Peñas G, Messeguer J, et al. 2008. The *Arabidopsis AtNPR1* inversely modulates defense responses against fungal, bacterial, or viral pathogens while conferring hypersensitivity to abiotic stresses in transgenic rice[J]. *Mol Plant-Micro Inter*, **21**(9):1 215-1 231
- Smith HB. 2000. Signal transduction in systemic acquired resistance[J]. *Plant Cell*, **12**(2):179-181
- Yang H(杨华), Li HM(李惠敏), Qin BS(覃屏生), et al. 2011. Transferring disease resistance gene *NPR1* into *Sriaitia grosvenorii*(罗汉果抗病基因 *NPR1* 的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **31**(2):250-254
- Yuan Y, Zhong S, Li Q, et al. 2007. Functional analysis of rice *NPR1*-like genes reveals that *OsNPR1/NH1* is the rice orthologue conferring disease resistance with enhanced herbivore susceptibility[J]. *J Plant Biotechnol*, **5**(2):313-324
- Zhang XD, Marta IF, William OD, et al. 2010. Over-expression of the *Arabidopsis NPR1* gene in citrus increases resistance to citrus canker[J]. *Eur J Plant Pathol*, **128**(1):91-100

作者: [段承杰](#), [罗荡平](#), [罗雪梅](#), [冯家勋](#), [DUAN Cheng-Jie](#), [LUO Dang-Ping](#), [LUO Xue-Mei](#), [FENG Jia-Xun](#)
作者单位: [亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 南宁530005; 广西大学生命科学与技术学院, 南宁530005](#)
刊名: [广西植物](#) 
英文刊名: [Guihaia](#)
年, 卷(期): 2012, 32(6)

参考文献(20条)

1. [Assaad FF; Tucker KL; Signer ER](#) [Epigenetic repeat-induced gene silencing\(RIGS\) in Arabidopsis](#) 1993(06)
2. [Baker B; Zambryski P; Staskawicz B](#) [Signaling in plant-microbe interactions](#) 1997(5313)
3. [Cao H; Glazebrook J; Clarke JD](#) [The Arabidopsis NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats](#) 1997(01)
4. [Cao H; Li X; Dong X](#) [Generation of broad spectrum disease resistance by overexpression of an essential regulatory gene in systemic acquired resistance](#) 1998(11)
5. [Chern MS; Fitzgerald HA; Yadav RC](#) [Evidence for a disease-resistance pathway in rice similar to the NPR1-mediated signaling pathway in Arabidopsis](#) 2001(02)
6. [Chern MS; Fitzgerald HA; Canlas PE](#) [Overexpression of a rice NPR1 homolog leads to constitutive activation of defense response and hypersensitivity to light](#) 2005(18)
7. [Durrant WE; Dong X](#) [Systemic acquired resistance](#) 2004
8. [Feng JX; Cao L; Li J](#) [Involvement of OsNPR1/NH1 in rice basal resistance to blast fungus Magnaporthe oryzae](#) 2011(02)
9. [Friedrich L; Lawton K; Dietrich R](#) [NIM1 overexpression in Arabidopsis potentiates plant disease resistance and results in enhanced effectiveness of fungicides](#) 2001(09)
10. [Hunt MD; Neuenschwander UH; Delaney TP; Weymann KB; Friedrich LB; Lawton KA; Steiner HY; Ryals JA](#) [Recent advances in systemic acquired resistance research--a review.](#) [外文期刊] 1996(1)
11. [Hiei Y; Ohta S; Komari T](#) [Efficient transformation of rice\(Oryza sativa\) mediated by Agrobacterium and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA](#) 1994(02)
12. [Malnoy M; Jin Q; Borejsza-Wysocka EE](#) [Overexpression of the apple MpNPR1 gene confers increased disease resistance in Malus domestica](#) 2007(12)
13. [Makandar R; Essig JS; Schapaugh MA](#) [Genetically engineered resistance to Fusarium head blight in wheat by expression of Arabidopsis NPR1](#) 2006(02)
14. [Mlynarova L; Loonen A; Jensen RC](#) [Reduced position effect in mature transgenic plants conferred by the chicken lysozyme matrix-associated region](#) 1994(03)
15. [Parkhi V; Kumar V; Campbell LM](#) [Resistance against various fungal pathogens and reniform nematode in transgenic cotton plants expressing Arabidopsis NPR1](#) 2010(06)
16. [Quilis J; Pe\(n\)as G; Messegue J](#) [The Arabidopsis AtNPR1 inversely modulates defense responses against fungal, bacterial, or viral pathogens while conferring hypersensitivity to abiotic stresses in transgenic rice](#) 2008(09)
17. [Smith HB](#) [Signal transduction in systemic acquired resistance](#) 2000(02)
18. [杨华, 李惠敏, 覃屏生, 高成伟, 秦新民](#) [罗汉果转抗病基因NPR1的研究](#)[期刊论文]-[广西植物](#) 2011(2)
19. [Yuan Y; Zhong S; Li Q](#) [Functional analysis of rice NPR1-like genes reveals that OsNPR1/NH1 is the rice orthologue conferring disease resistance with enhanced herbivore susceptibility](#) 2007(02)
20. [Zhang XD; Marta IF; William OD](#) [Over-expression of the Arabidopsis NPR1 gene in citrus increases resistance to](#)

引用本文格式: 段承杰, 罗荡平, 罗雪梅, 冯家勋, DUAN Cheng-Jie, LUO Dang-Ping, LUO Xue-Mei, FENG Jia-Xun 转拟南芥AtNPR1基因增强水稻对水稻白叶枯病和稻瘟病的抗性[期刊论文]-广西植物 2012(6)