

· 热点评述 ·

另辟蹊径破解小麦条锈病的基因密码

孔令让*

山东农业大学, 作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018

摘要 小麦条锈病是由条形柄锈菌小麦专化型(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, *Pst*)引起的真菌病害, 在全世界范围内危害小麦(*Triticum aestivum*)生产。培育和种植持久抗性小麦品种是控制小麦条锈病最有效的方法。由于病原体突变导致免疫受体逃避检测, 因此抗病基因经常失效。而易感基因(S基因)突变介导的抗性常具持久性与广谱性。近日, 西北农林科技大学植物免疫研究团队在揭示小麦受S基因保护的分子机制方面取得显著进展, 为抗病育种提供了有力工具。他们发现小麦感染条锈菌后, 真菌诱导受体样细胞质激酶TaPsiPK1与效应子PsSpg1特异性互作, 通过增强激酶活性和TaPsiPK1进入细胞核促进寄生。TaPsiPK1磷酸化转录因子TaCBF1d。TaCBF1d的磷酸化改变了其下游基因的转录活性。因此, TaPsiPK1和PsSpg1增强TaCBF1d磷酸化可能会重新编程靶基因表达, 干扰植物防御反应, 从而促进病原体感染。在2年的田间试验中, 小麦中TaPsiPK1的CRISPR-Cas9失活赋予了对*Pst*的广谱抗性, 且不影响重要的农艺性状。该研究首次揭示了由PsSpg1-TaPsiPK1-TaCBF1d在小麦条锈病S基因中触发的新的磷酸化转录调控机制, 为通过作物遗传修饰培育持久抗性品种提供了新策略。

关键词 小麦, 条锈病, 条锈菌感病基因, 抗锈种质

孔令让 (2022). 另辟蹊径破解小麦条锈病的基因密码. 植物学报 57, 405–408.

小麦(*Triticum aestivum*)是世界上种植最广泛的禾谷类作物, 为全球超过25亿人口提供主食(<http://www.fao.org/faostat/>), 是最重要的粮食作物之一。然而, 病虫害常造成小麦减产且损失重大, 严重威胁全世界粮食安全。

由条形柄锈菌小麦专化型(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, *Pst*)引起的小麦条锈病是气传性真菌病害, 具有易传播并爆发流行的特点, 是小麦生产中的头号重大生物灾害, 在全球60个国家均有发生(Wellings, 2011)。我国一直是条锈病发病范围最广、受害最重的国家(李振岐和曾世迈, 2002)。2020年, 条锈病被我国农业农村部列入《一类农作物病虫害名录》, 是小麦生产的顽症。1950–2017年, 我国发生了5次条锈病大流行, 发病面积均超过 5.5×10^6 hm², 小麦产量损失共计 1.38×10^{10} kg (马占鸿, 2018)。2020年发病面积达 1.3×10^7 hm²。

培育抗病品种是防控条锈病最经济且安全有效的措施。因此, 条锈病抗源发掘和抗性基因鉴定一直

是植物病理学与遗传育种学研究领域的热点、难点和重点。传统育种中, 一般利用抗病基因(resistance gene, *R*)培育抗病品种(张杰等, 2019; Li et al., 2020; Deng et al., 2020; 邓一文等, 2021)。长期以来, 国内外科学家围绕抗病基因鉴定与克隆开展了大量研究工作。目前, 已定位80多个小麦抗条锈病基因并克隆了10个。在我国, 利用抗病基因*Yr1*、*Yr9*和*Yr26*等培育的抗病品种为小麦条锈病防控作出了重大贡献。然而, 大面积种植单一抗病基因品种, 常导致病原菌新毒性小种的出现, 并逐渐形成优势小种, 使小麦抗病品种丧失抗性, 病害爆发流行。一般情况下, 小麦抗病品种在生产上大规模使用3–5年便因病原菌毒性变异丧失抗性。例如, 携带*Yr26*基因的抗病品种于2003年在陇南用于生产, 2007年即在该地出现新毒性小种(韩德俊和康振生, 2018)。目前, 小麦育种及生产中可利用的有效抗性基因较少, 同时已有基因逐步失去其应用价值, 仅*Yr5*、*Yr15*及*Yr61*等少数抗病基因对当前国内条锈菌流行小种仍表现抗病。因此,

收稿日期: 2022-07-03; 接受日期: 2022-07-08

基金项目: 国家自然科学基金(No.32030081)

* E-mail: lkong@sdau.edu.cn

进一步发掘更为广泛的基因类型用于小麦抗条锈病育种刻不容缓。

小麦条锈菌为活体营养寄生真菌,需依赖活体小麦才能生存,其通过吸器从寄主细胞汲取养分,并释放效应子作用于寄主感病基因(susceptibility gene, S)或干扰R基因亦或通过其它途径致病(图1)。S基因为病原菌侵染致病必需的寄主基因,对病原菌与寄主建立寄生关系至关重要。相较于R基因,S基因突变介导的抗性常具持久性与广谱性。因此,修饰编辑S基因成为作物抗性改良的新途径(Zaidi et al., 2018)。但是,由于S基因本身通常具有重要的生理功能,编辑S基因介导抗性的同时常带来负面作用,影响植物生长发育乃至产量形成,限制了S基因在作物抗性改良中的应用。例如,*Mlo* (Mildew resistance locus O)是从大麦(*Hordeum vulgare*)中克隆的S基因,在小麦中定向敲除其同源基因,对小麦白粉病呈显著抗性,但影响小麦株高与产量(Wang et al., 2014; Li et al., 2022)。Li等(2022)发现同时缺失B基因组304 kb片段能够弥补对小麦生长与产量的影响,通过特异性敲除该片段与*Mlo*基因实现了抗性与产量的耦合。

鉴定可利用的S基因是作物抗病改良的重点与难点。国内外锈病研究者一直致力于抗病基因的克隆与应用,但对小麦S基因的发掘与利用鲜有报道。康振生院士领衔的西北农林科技大学植物免疫研究团队

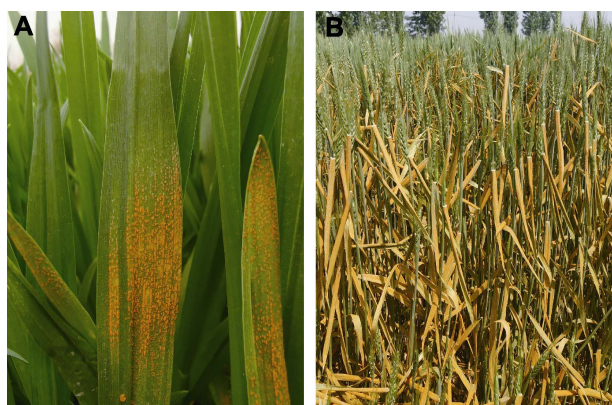


图1 自然环境下小麦感染条锈菌(图片由王晓杰教授提供)
(A) 小麦叶片上的条锈菌; (B) 小麦植株上的条锈菌

Figure 1 Wheat plants infected by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in natural environment (photos are provided by Prof. Xiaojie Wang)
(A) Stripe rust uredia on wheat leaves; (B) Stripe rust uredia on wheat plants

基于小麦-条锈菌活体寄生与互作的特性,另辟蹊径,在小麦易感条锈病基因鉴定与感病机制解析方面开展了大量卓有成效的研究,并取得了一系列突破性成果。近期,该团队发现负调控小麦抗锈性的转录因子TaWRKY19通过抑制RBOHD氧化酶基因表达,在条锈菌侵染时降低小麦活性氧积累,促使小麦感病。该基因的CRISPR-Cas9编辑植株则表现对条锈病抗性显著提高(Wang et al., 2022a)。

值得称道的是,该研究团队经过15年的探索,成功鉴定到介导小麦广谱抗锈性且不影响主要农艺性状的感病基因*TaPsIPK1*。该基因最早在小麦与条锈菌亲和互作cDNA文库(Ma et al., 2009)中获得,其过表达促进小麦感病,RNAi沉默显著提高小麦抗病性。令人兴奋的是,*TaPsIPK1*基因编辑植株介导了小麦对条锈菌不同流行小种的广谱抗性,且不显著影响分蘖数、株高、穗长及千粒重等主要农艺性状。在2020年和2021年陕西省条锈病大流行期间,*TaPsIPK1*编辑株系在田间试验中表现出高抗条锈病。因此,*TaPsIPK1*是首个在小麦抗条锈病育种中真正能够应用的S基因,具有极大的应用潜力。该研究成果发表于国际著名期刊*Cell* (Wang et al., 2022b)。

*TaPsIPK1*编码类受体蛋白激酶,属于RLCK VII基因家族,其拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)同源基因*PBL13*负调控植物基础免疫(Lin et al., 2015),暗示*TaPsIPK1*可能与调控植物免疫反应相关。研究表明,*TaPsIPK1*敲除突变上调了PR (pathogenesis related gene)基因的表达与水杨酸(salicylic acid, SA)水平,但不导致细胞坏死;当受到外界刺激时,*TaPsIPK1*编辑植株中PTI (PAMPs-triggered immunity)防御相关基因的表达与MAPK的激活提前,条锈菌激发的ETI (effector triggered immunity)相关过敏性坏死反应(hypersensitive response)发生加快。上述结果表明,*TaPsIPK1*负调控小麦PTI和ETI,其突变使植物处于预激状态但并不组成型地激发明显免疫反应,而遭受病菌侵袭时能够更快启动免疫反应,进而介导小麦抗病性。这也很好地解释了*TaPsIPK1*编辑植株抗性提高但产量等农艺性状不受影响的原因,为更好地操纵S基因实施抗性改良提供了依据。

S基因常被病原菌效应子识别,但目前已鉴定的S基因其相应的病原菌效应子大多未知。例如,*Mlo*基

因在小麦白粉菌及大麦白粉菌中的效应子仍未得以鉴定。TaPsIPK1可与条锈菌效应子PsSpg1互作, PsSpg1依赖TaPsIPK1发挥毒性作用。PsSpg1能够增强TaPsIPK1磷酸化, 促使其从质膜转移至细胞核, 而细胞核定位对TaPsIPK1介导的小麦感病性至关重要。研究发现, TaPsIPK1还可与小麦叶锈菌Spg1同源蛋白互作, 但不能与小麦秆锈菌中的Spg1同源蛋白互作。TaPsIPK1编辑植株对叶锈菌的感病性减弱, 但不影响其对秆锈菌的感病性。这些证据充分表明, TaPsIPK1为被锈菌效应子特异识别的小麦S基因, 也是首次报道的小麦中被病菌效应子靶标的S基因。

Wang等(2022b)在TaPsIPK1互作蛋白筛选中还获得了转录因子TaCBF1d, 实验表明TaCBF1d与TaPsIPK1互作。在小麦细胞核中, TaPsIPK1通过磷酸化TaCBF1d调控其转录模式, 抑制其对防御相关基因的转录激活, 并反馈增强TaPsIPK1的转录水平, 扩大感病效应, 而PsSpg1能够增强TaPsIPK1对TaCBF1d的磷酸化水平。该研究揭示了PsSpg1-TaPsIPK1-TaCBF1d磷酸化与转录调控通路, 深入地阐明了TaPsIPK1介导的感病机制。

综上, 这项研究工作聚焦小麦条锈菌活体营养寄生特性, 挖掘出首个被条锈菌靶向利用的小麦感病基因, 揭示了条锈菌操纵小麦感病基因, 使病原菌感染致病的分子机制, 并利用基因组编辑技术精准修饰感病基因, 实现了对小麦条锈病的广谱抗性, 可有效应用于作物抗病改良。基因组编辑品系在田间试验中表现高抗条锈病且不影响小麦的主要农艺性状, 表明其具有良好的应用潜力。该研究打破了小麦抗病育种中主要利用抗病基因的传统思路, 开辟了小麦抗病遗传改良和现代生物育种的新策略和新途径, 是病原菌与植物互作领域的开创性成果。

致谢 在文章写作过程中得到西北农林科技大学王晓杰教授和汤春蕾副研究员的大力支持和帮助; 王晓杰教授提供图片; 中国科学院遗传与发育生物学研究所左建儒研究员给予许多宝贵的意见和建议; 作者在此表示诚挚的谢意。

参考文献

邓一文, 刘裕强, 王静, 陈学伟, 何祖华 (2021). 农作物抗病

- 虫研究的战略思考. 中国科学: 生命科学 **51**, 1435–1446.
- 韩德俊, 康振生 (2018). 中国小麦品种抗条锈病现状及存在的问题与对策. 植物保护 **44**(5), 1–12.
- 李振岐, 曾士迈 (2002). 中国小麦锈病. 北京: 中国农业出版社. pp. 34–36.
- 马占鸿 (2018). 中国小麦条锈病研究与防控. 植物保护学报 **45**, 1–6.
- 张杰, 董莎萌, 王伟, 赵建华, 陈学伟, 郭惠珊, 何光存, 何祖华, 康振生, 李毅, 彭友良, 王国梁, 周雪平, 王源超, 周俭民 (2019). 植物免疫研究与抗病虫绿色防控: 进展、机遇与挑战. 中国科学: 生命科学 **49**, 1479–1507.
- Deng YW, Ning YS, Yang DL, Zhai KR, Wang GL, He ZH (2020). Molecular basis of disease resistance and perspectives on breeding strategies for resistance improvement in crops. *Mol Plant* **13**, 1402–1419.
- Li SN, Lin DX, Zhang YW, Deng M, Chen YX, Lv B, Li BS, Lei Y, Wang YP, Zhao L, Liang YT, Liu JX, Chen KL, Liu ZY, Xiao J, Qiu JL, Gao CX (2022). Genome-edited powdery mildew resistance in wheat without growth penalties. *Nature* **602**, 455–460.
- Li W, Deng YW, Ning YS, He ZH, Wang GL (2020). Exploiting broad-spectrum disease resistance in crops: from molecular dissection to breeding. *Annu Rev Plant Biol* **71**, 575–603.
- Lin ZJD, Liebrand TWH, Yadeta KA, Coaker G (2015). PBL13 is a serine/threonine protein kinase that negatively regulates *Arabidopsis* immune responses. *Plant Physiol* **169**, 2950–2962.
- Ma JB, Huang XL, Wang XJ, Chen XM, Qu ZP, Huang LL, Kang ZS (2009). Identification of expressed genes during compatible interaction between stripe rust (*Puccinia striiformis*) and wheat using a cDNA library. *BMC Genomics* **10**, 586.
- Wang N, Fan X, He MY, Hu ZY, Tang CL, Zhang S, Lin DX, Gan PF, Wang JF, Huang XL, Gao CX, Kang ZS, Wang XJ (2022a). Transcriptional repression of *TaNOX10* by TaWRKY19 compromises ROS generation and enhances wheat susceptibility to stripe rust. *Plant Cell* **34**, 1784–1803.
- Wang N, Tang CL, Fan X, He MY, Gan PF, Zhang S, Hu ZY, Wang XD, Yan T, Shu WX, Yu LG, Zhao JR, He JN, Li LL, Wang JF, Huang XL, Huang LL, Zhou JM, Kang ZS, Wang XJ (2022b). Inactivation of a wheat protein kinase gene confers broad-spectrum resistance to rust fungi. *Cell* <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.06.027>.
- Wang YP, Cheng X, Shan QW, Zhang Y, Liu JX, Gao CX,

Qiu JL (2014). Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat Biotechnol* **32**, 947–951.

Wellings CR (2011). Global status of stripe rust: a review of

historical and current threats. *Euphytica* **179**, 129–141.

Zaidi SSEA, Mukhtar MS, Mansoor S (2018). Genome editing: targeting susceptibility genes for plant disease resistance. *Trends Biotechnol* **36**, 898–906.

Breaking the Gene Code Conferring Broad-spectrum Resistance to Rust Fugii

Lingrang Kong*

State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

Abstract Wheat stripe rust, also known as yellow rust, is a disease caused by the fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*) that can devastate wheat crops across the world. The most effective way to control rust diseases is by planting and breeding durable resistant wheat cultivars. The caveat of *R* gene-dependent disease resistance is the frequent loss of effectiveness due to pathogen mutations that allow evasion of detection by immune receptors. However, disruption of host baseline susceptibility by inactivating *S* genes could be adopted for broad-spectrum and durable disease resistance. A recent study finished by the research team at Northwest A&F University significantly advanced our understanding how wheat plants can be protected by a *S* gene and provided tools in the fight against a major disease. Upon infection, the fungus induces a receptor-like cytoplasmic kinase, TaPsIPK1, specifically interacting with the effector, PsSpg1, that promotes parasitism via enhancing kinase activity and nuclear entry of TaPsIPK1. TaPsIPK1 phosphorylates the transcription factor TaCBF1d for gene regulation. Phosphorylation of TaCBF1d switches its transcriptional activity on the downstream genes. Hence the enhanced TaCBF1d phosphorylation by TaPsIPK1 and PsSpg1 might reprogram target gene expression to disturb plant defense response and thus facilitate pathogen infection. CRISPR-Cas9 inactivation of *TaPsIPK1* in wheat confers broad-spectrum resistance against *Pst* without impacting important agronomic traits in two-years of field tests. This is first study to reveal a new phosphorylation-transcriptional regulation mechanism triggered by PsSpg1-TaPsIPK1-TaCBF1d in wheat *S* genes to stripe rust, which provide a new strategy to develop cultivars with durable resistance by genetic modifications in crops.

Key words wheat, stripe rust, susceptible gene to rust fugii, germplasm resistant to rust

Kong LR (2022). Breaking the gene code conferring broad-spectrum resistance to rust fugii. *Chin Bull Bot* **57**, 405–408.

* E-mail: lkong@sdau.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)