

# 苹果树腐烂病菌染色质重塑因子 *Vmles4* 的功能研究

杜红霞, 聂嘉俊, 冯雅琼, 刘建英, 黄丽丽

(西北农林科技大学植物保护学院, 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

**摘 要:**染色质重塑因子 INO80 是一类由多亚基构成的遗传学调控因子, 调控多种 DNA 代谢, 在基因的表达中发挥着重要的调控功能。但其在苹果树腐烂病菌 (*Valsa mali*) 中是否存在及其生物学功能并不清楚, 为此, 本研究从病菌基因组中分析鉴定到 INO80 的一个亚基基因 *Vmles4*, 利用 qRT-PCR 技术分析了 *Vmles4* 在病菌侵染过程中的表达模式, 利用 Double-joint PCR 技术和 PEG 介导的原生质体转化方法进行了基因敲除, 然后对 3 个突变体的营养生长及致病力进行测定和分析, 并对病菌的非核糖体肽合成酶基因 *VmNRPS12* 及 *VmNRPS14* 在突变体中的表达进行定量分析。结果表明: *Vmles4* 在侵染初期的表达显著上调, 接种后 6 h 上调表达 6.2 倍。敲除突变体的生长速率平均降低 28% 且菌丝生长稀疏, 在富士苹果品种 (*Malus domestic* cv. Fuji) 叶片和枝条上的致病力分别降低到 22.5% 和 27.5%, *VmNRPS12* 及 *VmNRPS14* 基因在 *Vmles4* 突变体侵染苹果枝条 24 h 后的表达量分别下调 86.5% 和 50%; 综上所述, *Vmles4* 正调控腐烂病菌的营养生长、致病力以及次级代谢合成酶基因 *VmNRPS12* 和 *VmNRPS14* 的表达。

**关键词:** 苹果树腐烂病菌; INO80 亚基 *Vmles4*; 敲除突变体; 生长速率; 致病力

**中图分类号:** S436.611.1<sup>+</sup>1      **文献标志码:** A

## Functional characterization of a chromatin remodeling factor *Vmles4* in *Valsa mali*

DU Hongxia, NIE Jiajun, FENG Yaqiong, LIU Jianying, HUANG Lili  
(College of Plant Protection, State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas,  
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Chromatin remodeling factor INO80 is a kind of genetic regulatory factors composed of multiple subunits that regulate multiple DNA metabolism and play an important regulatory role in gene expression. But, it is not clear whether it exists in *Valsa mali* and its biological functions. Therefore, a subunit gene *Vmles4* of INO80 was analyzed from the fungal genome in this study. The expression patterns of *Vmles4* was analyzed by qRT-PCR technology during the infection process. Using Double-joint PCR techniques and PEG mediated protoplast transformation methods for gene knock out. Then, the vegetative growth and pathogenicity of 3 mutants were measured and analyzed. The expressions of non-ribosomal peptide synthase genes *VmNRPS12* and *VmNRPS14* in mutants were analyzed quantitatively. The results showed that the expression of *Vmles4* was up-regulated significantly in the early stage of infection, and 6.2 times in 6h after inoculation. Growth rate of knockout mutants decreased by 28% on average and mycelium growth was sparse, and the pathogenicity in leaves and twigs of Fuji apple varieties (*Malus domestic* cv. Fuji) decreased to 22.5% and 27.5%, respectively. The expression of *VmNRPS12* and *VmNRPS14* genes was down-regulated by 86.5% and 50%, respectively after 24 h of infection of twigs by *Vmles4* mutant. In conclusion, *Vmles4* is regulating the vegetative growth, pathogenicity, and the expression of secondary metabolic synthase gene *VmNRPS12* and *VmNRPS14* of *Valsa mali*.

**Keywords:** *Valsa mali*; INO80 subunits *Vmles4*; knockout mutants; growth rate; pathogenicity

近年来苹果产业在我国发展迅猛,其种植面积与总产量均位居世界第一,而苹果树腐烂病却严重制约着苹果产业的发展。该病是由 *Valsa mali* = *Cytospora mali* 引起的一种真菌性病害,主要危害苹果树枝干,轻则树枝树干枯死,苹果减产,重则造成绝产甚至毁园。因此深入揭示该病原菌的分子致病机理对病害高效防控意义重大。

真核生物的遗传信息通常存储在高度压缩的染色质中,因此,染色质的结构在基因的表达调控中具有重要意义。真核生物在进化中产生的各类染色质重塑因子,利用 ATP 水解的能量对染色质基本结构核小体进行改装,进而改变染色质结构参与对基因的调控<sup>[1]</sup>。染色质重塑因子根据功能域划分为 SWI/SNF、ISWI、CHD 和 INO80/SWR1<sup>[2]</sup>。INO80 染色质重塑因子最早在酿酒酵母细胞中发现<sup>[3]</sup>,由 15 种不同的亚基组成,能调控细胞内多个基因的表达,结合在 INO80 不同结构域上的不同亚基形成了 3 个主要的功能区:(1) N 端调控功能区:包括亚基 les1、les3、les5 和 Nhp10;(2) HSA 功能区:包括亚基 Arp4、Arp8 和 les4;(3) SNF2-ATPase 功能区:包括 AAA + ATPase (Rvb1 和 Rvb2)、Arp5、les2 和 les6 亚基<sup>[4]</sup>。

INO80 染色质重塑因子及其亚基参与多种细胞过程且功能多样。如拟南芥 INO80 缺失突变体植株表现为弱化矮小且重量减少<sup>[5]</sup>;医学方面的研究发现,沉默肺癌细胞 INO80、肺癌细胞的形成速率明显下降<sup>[6]</sup>,另外,癌细胞中敲除了 INO80 后发现部分基因的表达上调或下调<sup>[7]</sup>,而酵母细胞中 Nhp10 亚基缺失导致 INO80 对 DNA 结合活性降低<sup>[8]</sup>,缺失 les3 基因的酵母细胞端粒伸长并且位置发生改变<sup>[1]</sup>,并且缺失 INO80 催化亚基或 Arp5-Ies6 核心亚基的酵母细胞基因组内 15% 的基因表达受到影响<sup>[9]</sup>。因此,揭示 INO80 及其亚基在腐烂病菌致病中的作用具有重要价值。本研究从 *V. mali* 全基因组数据<sup>[10]</sup>中鉴定到一个染色质重塑因子 INO80 亚基基因 *Vmles4*,利用缺失突变体揭示该基因对病菌营养生长、致病力的影响,同时探索其对致病相关次级代谢合成酶基因 *VmNRPS12* 和 *VmNRPS14* 的影响,这将有助于进一步揭示染色质重塑因子在腐烂病菌致病中的功能。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌种来源 苹果树腐烂病菌 (*Valsa mali* = *Cytospora mali*) 野生型分离菌株 03-8,由西北农林

科技大学植物保护学院果树病害病原生物学及综合防治研究团队的研究室分离并保存;pFL2 质粒(含有 Trp 合成基因 neo,G418 抗性),由西北农林科技大学许金荣教授惠赠。

1.1.2 致病性测定材料 苹果树叶片和枝条均为采自杨凌美庭快乐农场的富士品种,叶片为表面平整的初夏叶片,枝条为粗细均匀的 1~2 a 生枝条。

1.1.3 主要试剂 P505 高保真酶 (Phanta Max Super-Fidelity DNA Polymerase,诺维赞)、DNA 胶回收试剂盒 (Gel Extraction Kit D2500,OMEGA)、崩溃酶 (Driselase, Sigma)、裂解酶 (Lysing enzyme, Sigma)、Taq DNA 聚合酶、定量 Mix (Genstar)、G418 (MP)、华越洋核酸提取试剂盒、反转录试剂盒 (Thermo) 及其他实验室常规化学药品和试剂,试验中所需引物均委托上海生工生物工程股份有限公司进行合成。实验用到的引物序列见表 1。

表 1 本实验所用引物

Table 1 Primers used in this study

| 引物名称<br>Primer | 引物序列<br>Sequence (5'→3')                     |
|----------------|----------------------------------------------|
| RT-F           | CGGAGACACCCAAGGAAGAC                         |
| RT-R           | TGTAGCAGTAGCAGCCAGGAG                        |
| 1F             | AGGCTCCAGTGGCTTCC                            |
| 2R             | CAGATACGGCAGAGAAATCGCAACCTCTGCTCGATGGTCGAAAA |
| 3F             | GTTTAGATTCCAAGTGCTACTGCTGGGTGACAGCAGTCTTGGAT |
| 4R             | GGGTGTGTGAAAGGAGA                            |
| 5F             | ACTCAATCTCTCTCTCTGGC                         |
| 6R             | TCACATCCGTGTGTCTCTTC                         |
| CF             | AATTGATCCAGTCGGTT                            |
| CR             | CATCTACTTGGCTCTGCT                           |
| GEN-F          | GAGGTTCGGATTTCTCTGCCGTATCTG                  |
| GEN-R          | GCCAGCAGTAGACACTTGGAAATCTAAAC                |
| H850F          | TCTCAAAGAGGAACCCAATC                         |
| H852R          | ACTGTAACCCGCAACGAA                           |
| H855R          | TGTTGGGTTTGAGCTAGGTGGG                       |
| H856F          | GAATGGTCAAATCAAACCTGCTAGATAT                 |

1.2 实验方法

1.2.1 *Vmles4* 的侵染表达模式分析 将活化好的野生型菌株 03-8 的菌饼接种于健康的离体富士枝条上,取 6、12、24、48、72 h 5 个时间点的病健交界处皮层组织样品,以纯培养 72 h 的菌丝组织为对照,按照核酸提取试剂盒 (华越洋) 和反转录试剂盒 (Thermo) 说明书操作进行总 RNA 的提取并合成 cDNA,反转录引物采用 Oligod (T) 18,以 G6PDH 为内参基因,用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 *Vmles4* 相对表达量,每个反应 3 次平行重复,试验重复 3 次后取均值。

1.2.2 突变体的获得 基于本实验室前期的病菌全基因组测序分析结果得到目的基因序列,用

Premier5.0 软件设计定量引物 qRT-F/qRT-R,上游引物 1F/2R,下游引物 3F/4R,巢氏引物 CF/CR,检测引物 5F/6R。其中引物 2R 和 3F 的 5'端带有同 G418 两端同源的序列(斜体序列)。以苹果树腐烂病菌的基因组 DNA( $1\ 402\ \text{ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ )为模板,扩增目的基因的上下游片段,以 pFL2 质粒为模板,扩增 neo 基因片段,回收各个扩增片段,用 Double-joint PCR 三步法构建基因敲除载体,用 PEG 介导法将敲除载体导入原生质体中,含有  $200\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  G418 抗生素的 PDA 培养基培养皿筛选转化子,提取其 DNA,4 对引物 PCR 检测后得到 3 个阳性突变体,将其保存在 20%的甘油中并于  $-20\ ^\circ\text{C}$  冰箱保存。

1.2.3 表型分析 活化好的野生型 03-8 及突变体菌株,用打孔器( $d=5\ \text{mm}$ )在菌落边缘打菌饼,接种在含有 12 ml PDA 培养基的培养皿中央,  $25\ ^\circ\text{C}$  黑暗培养 48 h 后,观察菌落的生长情况并用十字交叉法测量菌落的直径,每组设置 3 个重复,试验重复 3 次后取均值。

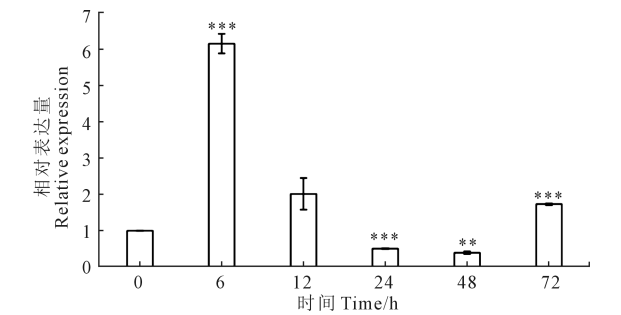
1.2.4 致病力测定 离体叶片接种参照韦洁玲等<sup>[11]</sup>的方法。叶片用自来水冲洗干净后,用 0.6%的次氯酸钠( $\text{NaClO}$ )溶液消毒 5 min,用灭菌  $\text{ddH}_2\text{O}$  水冲洗 3 次,每次 5 min,一次性 1 ml 注射器针头刺伤叶片正面制造伤口,用直径为 5 mm 的打孔器在活化好的菌落边缘打孔制成菌饼,再将菌饼接种在叶片正面的伤口上,以 PDA 为空白对照,灭菌的脱脂棉蘸于叶柄防止水分的散失,叶片置于托盘内  $25\ ^\circ\text{C}$  保湿培养,3~4 d 后用十字交叉法测量叶片病斑的大小,每个菌株设置 5 个重复,试验重复 3 次后取均值。离体枝条接种参照臧睿等<sup>[12]</sup>的方法。将枝条剪成 10 cm 左右的小段,自来水冲洗干净,0.6%的次氯酸钠溶液进行表面消毒 15 min,用灭菌  $\text{ddH}_2\text{O}$  水冲洗 3 次,待其晾干,融化的石蜡将枝条两端封口,打孔器( $d=5\ \text{mm}$ )在枝条上破坏其韧皮组织打孔制造伤口,用打孔器( $d=5\ \text{mm}$ )将活化好的野生型及突变体菌株打菌饼,菌饼接种在枝条制造的伤口上,野生型菌株作为阳性对照,  $25\ ^\circ\text{C}$  保湿培养,7 d 后测量并记录枝条病斑纵向扩展长度,每个菌株设置 6 个重复,试验重复 3 次后取均值。

1.2.5 *VmNRPS12* 及 *VmNRPS14* 表达量 参照 1.2.1 小节的方法枝条接种野生型 03-8 与突变体菌株  $\Delta Vmls4$ ,取接种后 24 h 的树皮组织(以纯培养菌丝体为对照),提取 RNA 并合成 cDNA,qRT-PCR 检测 *NRPS12* 及 *NRPS14* 基因的相对表达量,试验重复 3 次后取均值。

2 结果与分析

2.1 侵染期 *Vmls4* 的表达分析

运用 qRT-PCR 技术分析 *Vmls4* 在不同时间的相对表达水平,结果如图 1, *Vmls4* 在病菌接种 6 h 显著上调表达,上调达 6.2 倍。说明该基因在苹果树腐烂病菌侵染前期发挥重要作用并且可能参与致病过程。



注:试验重复 3 次,取平均值。利用 SPSS 23.0 分析差异显著性。\* 表示显著性差异 ( $0.01 < P < 0.05$ ), \*\* 表示非常显著性差异 ( $0.001 < P < 0.01$ ), \*\*\* 表示极显著性差异 ( $P < 0.001$ ),下同。

Note: The experiment was repeated three times and the mean value was taken. SPSS 23.0 was used for analysis significant difference. \* indicates significant difference ( $0.01 < P < 0.05$ ); \*\* indicates very significant difference ( $0.001 < P < 0.01$ ); \*\*\* indicates extremely significant difference ( $P < 0.001$ ), the same below.

图 1 不同侵染时期 *Vmls4* 基因表达水平的实时荧光定量 PCR 分析

Fig.1 Real-time RT-PCR analysis of *Vmls4* expression at different infection stages

2.2 敲除突变体的获得

*Vmls4* 上下游片段的扩增,片段大小分别为 1683 bp 和 1688 bp(见图 2A);抗性基因 neo 片段扩增片段大小为 1433 bp(图 2B);Double-joint PCR 融合上游、下游和 neo 片段,片段大小为 4804 bp(图 2C);CF/CR 巢式 PCR 构建敲除载体,片段大小为 4595 bp(图 2D);PEG 介导的原生质转化方法得到转化子,用 4 对引物检测后得到 3 个基因缺失突变体(图 3)。

2.3 突变体的表型观察

在 PDA 培养基上生长 48 h 后,与野生型菌株 03-8 相比, *Vmls4* 突变体菌落较白、菌丝较稀少,生长速率平均下降达 28%,且生长不规则(图 4)。表明 *Vmls4* 基因影响菌落的形态和生长速率。

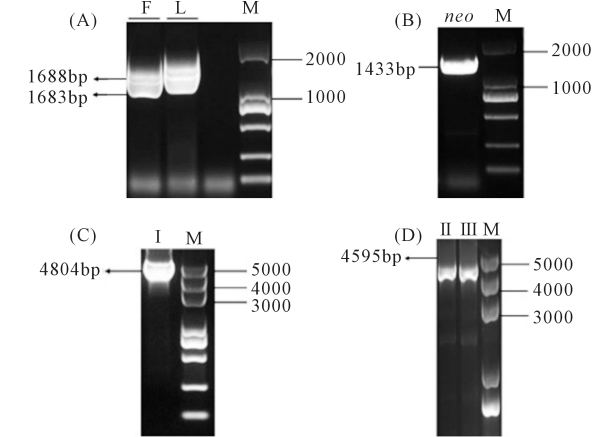
2.4 突变体致病力的测定

与野生型 03-8 相比, *Vmls4* 缺失突变体分别在离体叶片上病斑直径平均下降 22.5%,在枝条上病斑长度平均下降 27%(图 5)。表明 *Vmls4* 基因的缺失使病原菌在叶片和枝条上的致病力下降。



2.5  $\Delta Vmles4$  对  $VmNRPS12$  及  $VmNRPS14$  表达量的影响

$VmNRPS12$  和  $VmNRPS14$  基因在野生型 03-8 及  $\Delta Vmles4$  菌株侵染树皮 24 h 的 qRT-PCR 结果显示(图 6),  $VmNRPS12$  和  $VmNRPS14$  在  $\Delta Vmles4$  菌株中的相对表达量均显著低于野生型, 分别下调 86.5%和 50%(图 6)。表明  $Vmles4$  正调控了基因  $VmNRPS12$  和  $VmNRPS14$  的表达。



注:(A):  $Vmles4$  上下游片段扩增; F: 目标上游片段; L: 目标下游片段; M: DL2000 marker; (B):  $neo$  基因扩增 M: DL2000 marker; (C)-(D): 构建敲除载体 I: Double-joint PCR 融合基因片段; II and III: 巢式 PCR 片段; M: DL5000。  
Note: (A): Amplification of upstream and downstream of  $Vmles4$ ; F: target upstream; L: target downstream; M: DL2000 marker; (B): Amplification of  $neo$  cassette; M: DL2000 marker; (C)-(D): Construction of the knockout vector; I: fusion fragment of double-joint PCR; II and III: nested PCR fragment; M: DL5000.

图 2 构建敲除载体的 PCR 验证  
Fig.2 PCR screening of the knockout vector

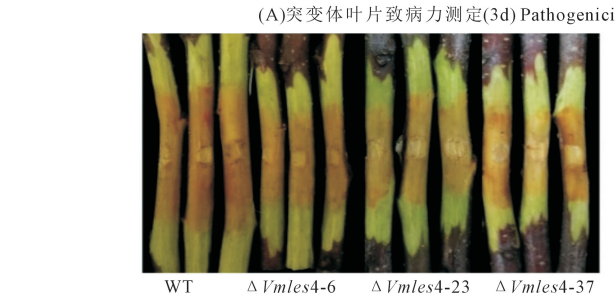
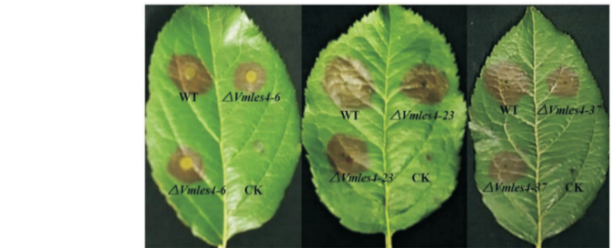


图 5 野生型菌株 03-8 及突变体  $\Delta Vmles4$  的致病力测定及分析  
Fig.5 Virulence experiments and analysis of the wild-type strains 03-8 and the mutants

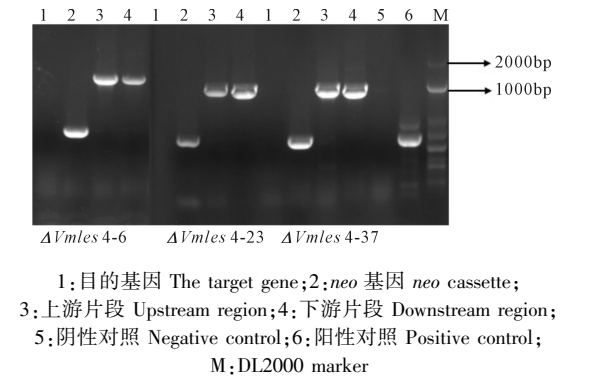
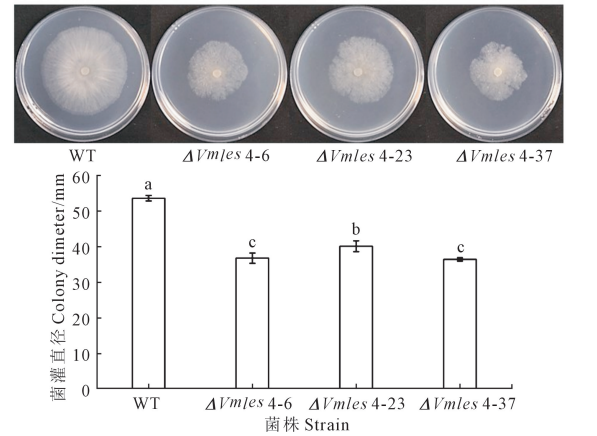
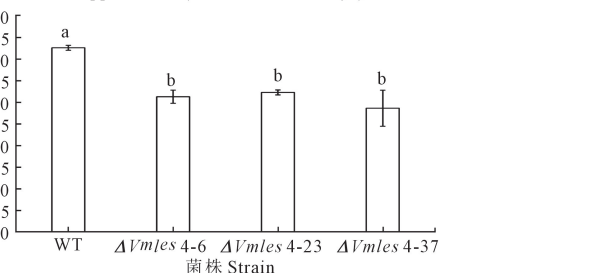
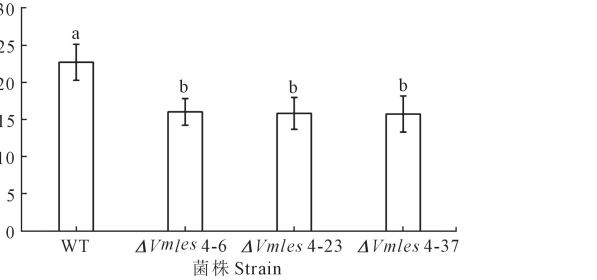


图 3 突变体 4 对引物 PCR 验证  
Fig.3 PCR screening of mutants with four pairs of primers



注:试验重复 3 次,取平均值。利用 SPSS23.0 在  $P=0.05$  水平上分析差异显著性。不同小写字母表示两者间存在显著差异。下同。  
Note: The experiment was repeated three times and the mean value was taken. SPSS23.0 was used to analyze the difference at 0.05 level. Different lowercase letters indicate significant differences between the two strains. The same below.

图 4 野生型菌株 03-8 和突变体  $\Delta Vmles4$  在 PDA 培养基上的菌落直径 (48 h)  
Fig.4 Colony diameter of the wild-type strain 03-8 and the mutant  $\Delta Vmles4$  inoculate on PDA medium (48 h)



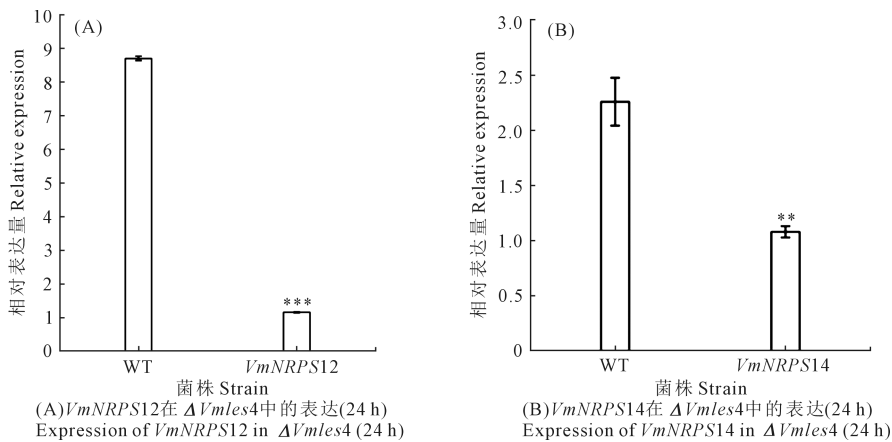


图 6 *VmNRPS12* 和 *VmNRPS14* 基因在野生型 03-8 和突变体  $\Delta Vmles4$  侵染枝条 24 h 的相对表达量

Fig.6 Relative expression of *VmNRPS12* and *VmNRPS14* in the twigs of wild-type strains 03-8 and mutants after infected 24 h

3 结论与讨论

本研究就苹果树腐烂病菌染色质重塑因子 INO80 亚基 *Vmles4* 基因在 *V. mali* 中的功能进行了初步探究。*Vmles4* 在接种离体苹果树枝条 6 h 后的相对表达量显著上调;有文献报道,真菌中一些起作用的致病基因在侵染初期会出现上调表达的情况<sup>[13]</sup>,这与本研究对侵染期 *Vmles4* 表达模式分析结果相符,说明 *Vmles4* 是一类毒性基因,可能参与致病。与野生型 03-8 比较,3 个敲除突变体的生长速率及其在叶片和枝条上的致病力均显著下降,说明 *Vmles4* 基因确实参与了致病。对拟南芥染色质重塑因子核心亚基的研究发现,其参与了多种发育过程<sup>[14]</sup>,且缺失 INO80 基因后,植株生长受到限制;INO80 重塑因子的 N 端调控域与 HAS 功能区 Arp4 Arp8 les4 亚基结合后,改变亚基 Arp8 的构象,构象改变后的 Arp8 与核小体上的组蛋白结合紧紧抓住核小体,随后亚基 Arp5-les6 将 SNF2-ATPase 功能区 Rvb 蛋白亚基募集过来<sup>[15]</sup>,Rvb1 和 Rvb2 亚基具有螺旋酶的活性<sup>[16]</sup>,Rvb1 和 Rvb2 与其他的亚基结合后,在超螺旋位置与核小体上的 DNA 结合,打开碱基,并阻止组蛋白 H2A 与 DNA 的接触<sup>[17]</sup>,将核小体上的 DNA 暴露出来,便于转录因子和 RNA 聚合酶等结合;INO80 亚基间通过以上方式共同合作重塑染色质,来调控基因的表达。

本研究对致病基因 *VmNRPS12*<sup>[17]</sup> 及 NRPS 类相关基因 *VmNRPS14* 在 INO80 亚基 *Vmles4* 突变体中的相对表达量进行定量 PCR,结果发现其表达能力显著下降。酵母和 Hela 细胞 INO80 亚基缺失后,基

因组内基因也出现上调或者下调表达的现象,与本研究 *Vmles4* 缺失后, *VmNRPS12* 和 *VmNRPS14* 基因的表达量出现下降相符。本研究中位于 HAS 功能区的亚基 *Vmles4* 基因缺失后,病菌的致病力显著下降。有文献报道,HAS 功能区与核小体组蛋白及 DNA 的结合有关<sup>[18]</sup>, *Vmles4* 导致致病性下降的原因可能是 *Vmles4* 缺失后,致病基因的转录因子等无法与 DNA 结合,使得致病基因的表达下降,无法发挥毒性功能最终导致了致病力的降低。本研究只是初步探究了染色质重塑因子 INO80 亚基 *Vmles4* 基因的毒性功能及其对 *VmNRPS12* 及 *VmNRPS14* 表达的调控功能,然而苹果树腐烂病的致病是一个复杂的过程,INO80 染色质重塑因子作为一类由多亚基组成的保守调控因子,各个亚基之间到底以怎样的相互作用来影响 *V. mali* 的致病和调控能力将会是一个新的研究方向。

参考文献:

[1] Yu E Y, Steinberg-Neifach O, Dandjinou A T, et al. Regulation of telomere structure and functions by subunits of the INO80 chromatin remodeling complex[J]. Molecular and Cellular Biology, 2008, 27 (16): 5639-5649.

[2] Clapier C R, Cairns B R. The biology of chromatin remodeling complexes[J]. Annual Review of Biochemistry, 2009, 78: 273-304.

[3] Ebbert R, Birkmann A, Schuller H J. The product of the SNF2/SWI2 paralogue INO80 of *Saccharomyces cerevisiae* required for efficient expression of various yeast structural genes is part of a high molecular weight protein complex[J]. Molecular Microbiology, 1999, 32(4): 741-751.

[4] Bao Y H, Shen X T. INO80 subfamily of chromatin remodeling complexes [J]. Mutation Research/Fundamental & Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2007, 618(1-2):18-29.

[ 5 ]

任媛媛, 朱炎. INO80 参与拟南芥气孔数量调控的分子机制[J]. 复旦学报:自然科学版, 2017, 56(6):653-661.

[ 6 ]

黄礼治, 荣福. ATP 依赖的染色质重塑复合物与肺癌研究进展[J]. 中国医学创新, 2018, (2):134-138.

[ 7 ]

Cao L L, Ding J, Dong L G, et al. Negative regulation of p21Waf1/Cip1 by human INO80 chromatin remodeling complex is implicated in cell cycle phase G2/M arrest and abnormal chromosome stability [J]. Plos One, 2015, 10(9):e0137411.

[ 8 ]

Shen X T, Ranallo R, Choi E, et al. Involvement of actin-related proteins in ATP-dependent chromatin Remodeling [J]. Molecular Cell, 2003; 12:147-155.

[ 9 ]

Wei Y, King D A, Beckwith S L, et al. The INO80 complex requires the Arp5-Ies6 subcomplex for chromatin remodeling and metabolic regulation [J]. Molecular & Cellular Biology, 2016, 36(6):979.

[ 10 ]

Yin Z Y, Liu H Q, Li Z P, et al. Genome sequence of valsa cancer pathogens uncovers a potential adaptation of colonization of woody bark[J]. New Phytologist, 2015, 208(4): 1202-1216.

[ 11 ]

韦洁玲, 黄丽丽, 邵佐鹏, 等. 苹果树腐烂病室内快速评价方法的研究[J]. 植物病理学报, 2010, 40(1):14-20.

[ 12 ]

臧睿, 黄丽丽, 康振生, 等. 陕西苹果树腐烂病菌 (*Cytospora spp.*) 不同分离株的生物学特性与致病性研究[J]. 植物病理学报, 2007, 37(4):343-351.

[ 13 ]

Dean R A, Talbot N J, Ebbole D J, et al. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*[J]. Nature, 2005, 434(7036): 980-986.

[ 14 ]

郭明欣. 植物染色质重塑复合体研究进展[J]. 安徽农业科学, 2019, 626(13):16-19.

[ 15 ]

Eustermann S, Schall K, Kostrewa D, et al. Structural basis for ATP-dependent chromatin remodelling by the INO80 complex [J]. Nature, 2018, 556(7701):386-390.

[ 16 ]

Gerhold C B, Gasser S M . INO80 and SWR complexes: relating structure to function in chromatin remodeling[J]. Trends in Cell Biology, 2014, 24(11):619-631.

[ 17 ]

马晨琛, 李正鹏, 戴青青, 等. 苹果树腐烂病菌非核糖体多肽合成酶基因 *VmNRPS12* 的功能[J]. 微生物学报, 2016, 56(8):1273-1281.

[ 18 ]

Brahma S, Udugama M I, Kim J, et al. INO80 exchanges H2A.Z for H2A by translocating on DNA proximal to histone dimers[J]. Nature Communications, 2017, 8:15616.

(上接第 242 页)

[ 15 ]

乔建磊, 于海业, 宋述尧, 等. 氮素形态对马铃薯叶片光合色素及其荧光特性的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2013, 18(3): 39-44.

[ 16 ]

李霞, 刘友良, 焦德茂. 不同高产水稻品种叶片的荧光参数的日变化和光适应特性的关系[J]. 作物学报, 2002, 28(2): 145-153.

[ 17 ]

杨一璐. 基于叶绿素荧光的作物信息快速获取与检测方法研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2017.

[ 18 ]

衡亚蓉, 李晓, 贺利, 等. 基于上部叶片叶绿素荧光参数的小麦产量预测与评价[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(6): 701-709.

[ 19 ]

宋晓宇, 王纪华, 杨贵军, 等. 基于叶片及冠层叶绿素参数的冬小麦籽粒蛋白质含量预测研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(7): 1917-1921.

[ 20 ]

姜丽莉, 张忠学, 郑恩楠. 不同氮肥条件下水稻产量和叶片荧光参数差异性分析[J]. 灌溉排水学报, 2018, 37(10): 75-80.

[ 21 ]

张雨晴. 基于叶绿素荧光光谱分析的玉米叶片光合生理信息检测[D]. 长春: 吉林大学, 2018.

[ 22 ]

张其德, 张建华, 刘合芹, 等. 限水灌溉和不同施肥方式对冬小麦旗叶某些光合功能的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2000, 6(1): 24-29.

[ 23 ]

吉彪, 李晶, 商文楠, 等. 氮素水平对小黑麦旗叶叶绿素荧光参数的影响[J]. 作物杂志, 2010, (3): 50-53.

[ 24 ]

Gabriel J L, Zarco-Tejada P J, Juan López-HerreraP, et al. Air-borne and ground level sensors for monitoring nitrogen status in a maize crop [J]. Biosystems Engineering, 2017, 160:124-133.

[ 25 ]

张文蕾, 佟少明, 侯和胜. 利用叶绿素荧光监测微藻的生长及生理状态[J]. 激光生物学报, 2016, 25(1): 48-55.

[ 26 ]

房汉玉. 葡萄叶片荧光动力学参数对钾营养的响应特性[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.

[ 27 ]

马吉锋. 基于叶片叶绿素荧光参数的麦稻氮素营养监测研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2006.

[ 28 ]

李娟, 安锋, 林位夫, 等. 不同氮磷钾肥用量对五指毛桃叶绿素含量的影响[J]. 核农学报, 2016, 30(1): 193-200.

[ 29 ]

王建林. 长期定位施肥对冬小麦-夏玉米叶片叶绿素含量的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(6): 182-184.

[ 30 ]

赵晓雁, 李新裕, 魏健, 等. 长绒棉新海 21 号叶片叶绿素含量动态分析[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(5): 628-631.

[ 31 ]

彭小峰, 张选, 刘素华, 等. 棉花叶片叶绿素含量与纤维品质关系分析[J]. 棉花科学, 2017, 39(1): 19-21, 27.