青稞抗条纹病相关*SHSP*基因的筛选及序列分析

张 驰[1,2#] 胡 倩[1,2#] 严文天[1,2] 姚有华[1,2] 吴昆仑[1,2] 姚晓华[1,2*]

（1. 青海大学农林科学院，西宁 810016；2. 国家麦类改良中心青海青稞分中心，青海省青稞遗传育种重点实验室，青藏高原种质资源研究与利用实验室，西宁 810016）

摘要：为筛选青稞*Hordeum vulgare* var. *nudum*抗条纹病相关小分子热激蛋白（small heat shock proteins，SHSP）基因，根据抗、感病品种转录组测序数据筛选差异表达基因，克隆*HvnSHSP21*基因，分析*HvnSHSP21*的序列特征及表达模式，解析其编码蛋白序列结构及系统进化关系，并通过实时荧光定量PCR检测条纹病胁迫下不同抗性青稞品种中*HvnSHSP21*的表达情况。结果显示：从抗性品种THIBAUT和易感品种Z1141中克隆获得582 nt的编码序列（coding sequence，CDS），编码具有193个氨基酸的稳定亲水性蛋白，两个品种的基因片段存在两个差异核苷酸，导致产生两个氨基酸差异，该蛋白具有α-晶状体结构域，无跨膜结构域和信号肽，定位于叶绿体。二级结构以无规则卷曲和α-螺旋为主，两个品种间存在差异。系统进化分析结果表明，抗性品种中的HvnSHSP21蛋白与大麦SHSP同源性达100.00%。实时荧光定量PCR分析结果表明，*HvnSHSP*基因受条纹病诱导表达，接种条纹病菌后，青稞不同抗性品种24-189、9726、22-732与0349-1中*HvnSHSP*基因的表达量均呈上调趋势，且抗性品种中该基因的表达量显著高于易感品种。

关键词：青稞；条纹病；转录组分析；*SHSP*；序列分析；表达分析

Screening and sequence analysis of *SHSP* genes associated with resistance to stripe disease in hulless barley

Zhang Chi[1,2#] Hu Qian[1,2#] Yan Wentian[1,2] Yao Youhua[1,2] Wu Kunlun[1,2] Yao Xiaohua[1,2*]

（1. College of Agriculture and Forestry, Qinghai University, Xining 810016, Qinghai Province, China; 2. Laboratory of Germplasm Research and Utilization on Qinghai-Tibet Plateau, Qinghai Provincial Key Laboratory of Hulless Barley Genetic Breeding, National Center for Wheat Improvement, Qinghai Highland Barley Sub-Center, Xining 810016, Qinghai Province, China）

Abstract: To screen for small heat shock protein (SHSP) genes related to stripe disease resistance in hulless barley (*Hordeum vulgare* var. *nudum*), differentially expressed genes were screened based on transcriptome sequencing data of resistant and susceptible cultivars. The *HvnSHSP21* gene was cloned, and its sequence characteristics and expression patterns were analyzed. The sequence structure and phylogenetic relationship of the encoded protein were examined, and its expression levels under stripe disease stress in different resistant cultivars were detected by quantitative real-time PCR. The results showed that an identical 582 nt coding sequence (CDS) was cloned from both the resistant cultivar THIBAUT and the susceptible cultivar Z1141, which encodes a stable hydrophilic protein consisting of 193 amino acids. Two nucleotide differences were found between the two cultivars, resulting in two amino acid changes. The protein contains an alpha-crystallin domain, lacks transmembrane domains

基金项目：青海省自然科学基金面上项目(2025-ZJ-948M)，青海省“昆仑英才·高端创新创业人才”项目(2024)，青海省青稞育种联合攻关项目(2026)

为共同第一作者（Co-first authors）

* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：yaoyiaohua009@126.com

收稿日期：2025-12-04

and signal peptides, and is predicted to localize to the chloroplast. Its secondary structure is mainly composed of random coils and α-helices, with differences observed between the two cultivars. Phylogenetic analysis indicated that the HvnSHSP21 protein from the resistant cultivar shared 100.00% homology with barley SHSP. Quantitative real-time PCR analysis revealed that the *HvnSHSP21* gene was induced by stripe disease stress. Following inoculation with *Pyrenophora graminea*, the transcript levels of *HvnSHSP21* were significantly up-regulated in all four hulless barley cultivars (24-189, 9726, 22-732, and 0349-1).Notably, resistant cultivars exhibited significantly higher HvnSHSP21 expression than susceptible cultivars (P<0.05).

Key words: hulless barley; stripe disease; RNA-seq analysis; *SHSP*; sequence analysis; expression analysis

青稞*Hordeum vulgare* var. *nudum*属于禾本科大麦属*Hordeum*，是青藏高原高寒地区的主要粮食作物（Liang et al.，2012），因其高营养价值和广泛的适应性被用于饲料生产、酿酒工艺以及功能性食品开发（Wu et al.，2017；Si et al.，2020）。青稞凭借其独特的遗传特征与生理适应性，在海拔3 000~4 500 m的高寒农业生态区展现出突出的生长优势（谈旭霞，2024）。然而，其生长和产量常受到多种生物胁迫，其中青稞条纹病是主要制约因素之一（孟亚雄等，2016）。青稞条纹病由禾内脐蠕孢菌*Pyrenophora graminea*引起，该病原菌侵染植株叶片后会阻碍光合作用，导致植株矮小、籽粒发育不良，是威胁高原农业可持续发展的重大生物灾害（杨雪，2021）。该病原菌通过气传夏孢子完成侵染循环，在温度15~20 ℃、相对湿度>90%条件下可导致病害的暴发流行（郑果，2011）。病害发生时，典型症状表现为叶片和茎秆上出现鲜黄色条状锈孢子堆，严重破坏植株的光合作用效率（许从建，2015）。目前对于条纹病的研究主要集中于其发生和防治方向（闫佳会等，2016），对其发病过程中关键基因的挖掘相对较少。

小分子热激蛋白（small heat shock protein，SHSP）在植物逆境响应中的多功能特性近年来备受关注（Kuang et al.，2017）。SHSP存在80~100个长氨基酸的进化保守序列，称为α-晶体结构域（alpha-crystallin domain，ACD），位于C端区域（Basha et al.，2012），这类具有ACD的蛋白不仅参与高温应答（Sanmiya et al.，2004），还被证实介入病原防御与氧化应激调控（Lee et al.，2000；Van et al.，2010；Sewelam et al.，2019）。最新研究揭示，野生大麦*Hordeum vulgare HvSHSP16.9*能稳定光系统Ⅱ结构并提升超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性（常浩雯，2024）；水稻*Oryza sativa OsHSP20~OsHSP29*定位在叶绿体上，与非生物胁迫显著相关（李文杰等，2025）；在烟草*Nicotiana tabacum*中，植株受到青枯菌侵染后会诱导*NtSHSP17*的表达（Maimbo et al.，2007）；在易感水稻中，*OsSHSP18.0*的过表达显著增强了其对稻黄单胞菌水稻致病变种*Xanthomonas oryzae pv. oryzae*多株菌株的抗性（Kuang et al.，2017）；在菜豆*Phasedus vulgaris*中，位于内质网的*PvNod22*是一个非典型的*SHSP*，该基因对于根瘤菌的侵染和共生固氮至关重要（Rodríguez-López et al.，2019），这表明SHSP可能作为免疫信号通路的组分参与病原侵染过程。李雪等（2022）对樟叶越橘*Vaccinium dunalianum VdSHSP*的研究进一步提示，不同亚细胞定位的SHSP可能具有胁迫信号识别的特异性，这为解析SHSP在青稞抗病中的作用提供了新视角。

本研究以从抗、感青稞品种苗期健康与染病叶片转录组测序数据中筛选到差异表达的*HvnSHSP21*基因，通过克隆该基因的编码区序列差异分析其编码蛋白的序列结构和系统进化关系，并检测条纹病胁迫下*HvnSHSP21*在抗、感青稞品种中的表达趋势，以期为青稞抗条纹病相关基因*HvnSHSP21*的功能及分子机制解析提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植物材料与菌源：本研究所用的青稞抗条纹病材料包括源自国家资源种质库的抗性品种THIBAUT和易感品种Z1141，源自西宁的高抗品种24-189和中感品种22-732，源自甘南的中抗品种9726和易感品种0349-1以及大麦条纹病菌*Pyrenophora graminea*菌株，以上均由青海大学农林科学院青海省青稞遗传育种重点实验室提供（杨雪等，2021）。青稞感病叶片采集自青海省西宁市青稞试验田。

供试培养基：LB（Luria-Bertani）液体培养基成分为酵母提取物5 g、NaCl 10 g、蛋白胨10 g，加入ddH_2O定容到1 L；在LB液体培养基中添加琼脂粉

13 g即制得LB固体培养基；马铃薯葡萄糖琼脂（potato dextrose agar，PDA）培养基成分为去皮马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂20 g，加入ddH_2O定容到1 L。所有培养基均在121 ℃条件下高压灭菌20 min。

试剂及仪器：植物总RNA提取试剂盒、PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit、PrimeScriptTM RT Master Mix Perfect Real Time，日本TaKaRa公司；2×Phanta Max Master Mix、PCR Enhancer、DL2000 Plus DNA Maker，南京诺唯赞生物科技股份有限公司；琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒，广东美格基因科技有限公司；pEASY®-Blunt Cloning Kit、大肠杆菌*Escherichia coli*感受态细胞Trans-T1，北京全式金生物技术有限公司；其余试剂均为国产分析纯。RGD-1000C LED人工气候培养箱，宁波赛福实验仪器有限公司；Nano Photometer超微量核酸蛋白测量仪，德国Implen公司；Bio-Rad凝胶成像系统，美国伯乐公司；Mastercycler Pro梯度PCR仪，德国Eppendorf公司；LightCycler 480实时荧光定量PCR仪，瑞士罗氏公司；DYY-10C电泳仪，北京六一生物科技有限公司。

1.2　方法

1.2.1　青稞抗条纹病相关*SHSP*基因筛选

基于构建的抗性品种昆仑14号和易感品种Z1141苗期健康与染病叶片转录组测序数据（姚晓华等，2022）（NCBI BioProject登录号为PRJNA852375），将转录组测序数据比对到大麦参考基因组，通过差异表达分析筛选携带ACD的*SHSP*编码基因，并借助Tbtools-II 2.453软件进行基因表达热图可视化。通过表达量分析及文献功能检索，最终确定青稞*SHSP*功能候选基因*HvnSHSP21*。

1.2.2　青稞叶片总RNA的提取及cDNA合成

将青稞抗性品种THIBAUT和易感品种Z1141进行温室盆栽培养，选用直径8 cm的塑料盆，每盆装填灭菌营养土，每盆均匀播种5粒，常规水肥管理。待幼苗生长至2叶1心期后采集叶片样本。取约0.1 g青稞叶片，液氮研磨后，利用植物总RNA提取试剂盒参照说明书提取叶片的总RNA，采用PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthes is Kit反转录合成cDNA，于−20℃保存备用（陆雯佳等，2025）。

1.2.3　*HvnSHSP21*基因的克隆

基于Ensembl Plants基因组数据库（https://plants.ensembl.org/index.html）检索*SHSP21*基因序列信息，采用Primer Premier 5.0软件设计特异性引物对SHSP21-F/SHSP21-R（表1），试验中所有引物均委托生工生物工程（上海）股份有限公司合成。以1.2.2合成的抗性品种THIBAUT和易感品种Z1141的cDNA为模板进行*HvnSHSP21*基因的PCR扩增。50 μL反应体系：2×Phanta Flash Master Mix 25 μL、PCR Enhancer 5 μL、正反向引物各1 μL、cDNA模板2 μL、ddH_2O 16 μL。PCR扩增程序：98 ℃预变性30 s；98 ℃变性10 s，50 ℃退火5 s，68 ℃延伸30 s，35个循环；72 ℃终延伸1 min，4 ℃终止反应。扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳后，使用琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒回收目标片段。纯化产物经pEASY®-Blunt克隆载体连接后，转化至大肠杆菌感受态细胞Trans-T1中，于37 ℃在含有50 mg/mL卡那霉素的LB固体平板上培养过夜，挑取单克隆菌落，经菌液PCR检测后进行1%琼脂糖凝胶电泳，PCR反应体系和程序同上。扩增后选取阳性克隆菌液委拖西安擎科生物科技有限公司完成Sanger测序。测序结果经SnapGene 6.2.2序列比对软件验证后，利用Expasy在线翻译平台（https://web.expasy.org/translate/）推导氨基酸序列。

表1　本研究所用的引物信息

Table 1　Information of primers in the study

引物名称 Primer name	引物序列（5′→3′） Primer sequence (5′→3′)	引物用途 Primer application
SHSP21-F	ATGGCTTCCGCCGTCGCT	DNA克隆
SHSP21-R	CTACTCGACGTGGAAGAC	DNA cloning
SHSP21 qPCR-F	CTACTCGACGTGGAAGAC	目的基因实时荧光定量PCR
SHSP21 qPCR-R	TCCTTGCGCTCCTCCTCC	RT-qPCR of target gene
18S-F	CTACGTCCCTGCCCTTTGTACA	内参基因实时荧光定量PCR
18S-R	ACACTTCACCGGACCATTCAA	RT-qPCR of reference gene

1.2.4　*HvnSHSP21*基因的生物信息学分析

本研究通过ExPASY（https://web.expasy.org/）分析抗性品种THIBAUT和易感品种Z1141的SHSP蛋白理化性质，结合SignalP（http://www.cbs.dtu.dk/

services/SignalP/)预测信号肽、DeepTMHMM(https://services. healthtech. dtu. dk/services/DeepTMHMM-1.0/)解析跨膜结构域、NCBI-CD-Search(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi)预测保守结构域,利用CELLO(https://cello.life.nctu.edu.tw/)进行亚细胞定位预测,并利用SOPMA(https://npsa.lyon.inserm.fr/)和Swiss-Model(https://swissmodel.expasy.org/)分别预测其二级与三级结构;同时利用NCBI BLASTp(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)下载禾本科同源SHSP21序列,经DNAMAN 6.0软件进行多序列比对后,采用MEGA 11.0软件以最大似然法构建系统进化树,并进行1 000次bootstrap检验。

1.2.5 条纹病侵染青稞植株的获得

采用三明治法对青稞高抗品种24-189、中抗品种9726、中感品种22-732与易感品种0349-1接种条纹病菌。取青稞感病叶片病健交界处5 mm×5 mm组织,经75%乙醇漂洗30 s、2%次氯酸钠浸泡30 s消毒,无菌水漂洗3次后置于PDA平板上,每皿放入1块病叶组织,25 ℃黑暗培养7 d;从菌落边缘挑取菌丝转接2次,稀释纯化后挑取单菌落,25 ℃黑暗培养。待菌落直径达到2.60~7.93 cm时,分别选取30粒青稞不同抗性品种饱满种子,75%乙醇消毒30 s、5%次氯酸钠处理5 min,无菌水漂洗3次后晾干;将种子置于布满菌丝的PDA平板上,再覆盖一层相同平板,使种子夹于两层菌丝之间,以夹于未接菌的PDA平板中间作为对照(CK),每个处理3次重复。接种20 d后,将种子连同菌饼移栽至直径8 cm花盆中,置于人工气候培养箱中培养,培养条件为光周期14 L∶10 D、光照期温度20 ℃、黑暗期温度为12 ℃培养。

1.2.6 *HvnSHSP21*基因表达模式分析

为分析*HvnSHSP21*在青稞不同抗性品种中的表达量,取1.2.5中4种青稞品种在条纹病菌侵染后的健康与染病叶片的样本。采用植物总RNA提取试剂盒提取0.1 g青稞不同品种叶片的总RNA,然后采用PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit反转录合成cDNA,以cDNA为模板进行实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR,qPCR)。25 μL qPCR反应体系:TB Green Premix Ex *Taq* Ⅱ(2×)12.5 μL、正反向引物各1 μL、cDNA模板2.5 μL,无菌水补足至25 μL。扩增程序:95 ℃预变性30 s;95 ℃变性5 s、60 ℃退火延伸10 s,40个循环;反应结束后运行熔解曲线并采集荧光数据。相对表达量采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算。目标基因*HvnSHSP21*的扩增引物与内参基因18S rRNA引物(表1)均通过Primer Premier 5软件设计。试验设置3个独立生物学重复及3次技术重复。

1.3 数据分析

利用SPSS 26.0软件对试验数据进行单因素方差分析,采用Duncan氏新复极差法进行差异显著性检验,使用Origin 2024软件作图。

2 结果与分析

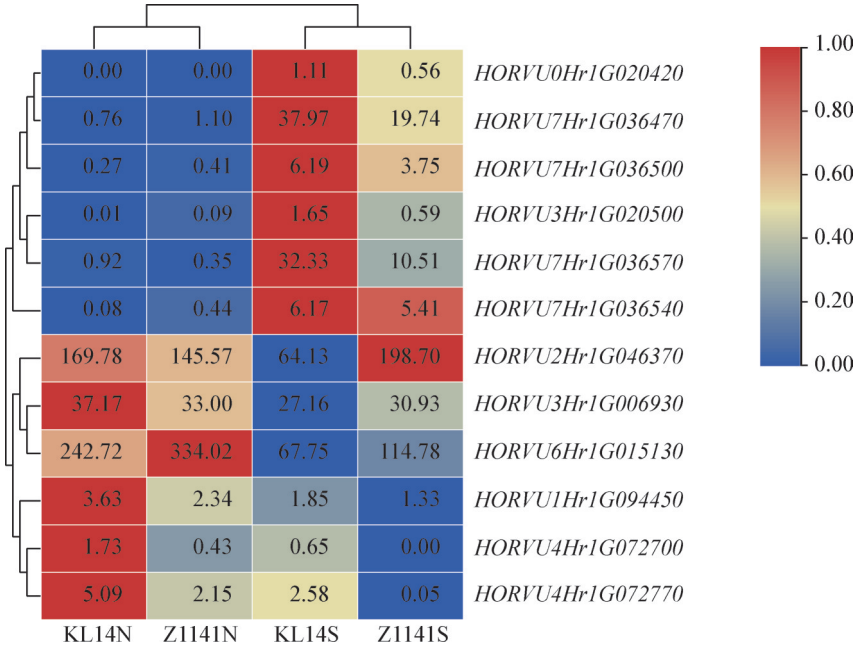
2.1 青稞抗条纹病相关*SHSP*基因筛选

基于构建的抗性品种昆仑14号和易感品种Z1141苗期健康与感病叶片转录组测序数据,筛选获得12个差异表达的*SHSP*基因,对这些基因在健康和感病叶片中的表达量进行热图绘制(图1)。其中,*HORVU7Hr1G036540*、*HORVU3Hr1G020500*、*HORVU7Hr1G036570*、*HORVU7Hr1G036500*、*HORVU0Hr1G020420*及*HORVU7Hr1G036470*在健康和感病叶片中的表达量存在显著差异,并且这些基因在抗性品种和易感品种的感病叶片中的表达量较健康叶片极显著上调(P<0.01),其中,*HORVU7Hr1G036470*和*HORVU7Hr1G036570*基因受条纹病菌胁迫后在抗性品种中的表达量极显著高于易感品种(P<0.01),功能检索发现,*HORVU7Hr1G036470*在白粉病应激下差异表达而*HORVU7Hr1G036570*不表达,且*HORVU7Hr1G036470*有W-box顺式作用元件而*HORVU7Hr1G036570*没有该元件,基于此,*SHSP21*(Gene ID:HORVU7Hr1G036470)可能具有广谱抗病性,因此将其选作青稞抗条纹病诱导表达的候选基因。

2.2 *HvnSHSP21*基因克隆及序列分析

*HvnSHSP21*基因长度约为700 bp(图2-A),开放阅读框长度为582 bp,共编码193个氨基酸,抗性品种THIBAUT和易感品种Z1141的*HvnSHSP21*基因存在两个核苷酸差异,对应两个氨基酸差异(图2-B)。这两个品种的SHSP蛋白无信号肽、无跨膜结构域,其存在一个ACD,是典型的SHSP型抗病家族蛋白,其亚细胞定位预测均位于叶绿体上。对抗性品种THIBAUT的HvnSHSP21蛋白的理化性质分析结果表明,该蛋白分子式确定为$C_{947}H_{1500}N_{262}O_{286}S_7$,理论分子量为21.35 kD,总原子数为3 002个,不稳定系数为38.34,属于稳定蛋白,脂溶指数为81.35,等电点为6.22,其中碱性氨基酸残基(Arg+Lys)27个,酸性氨基酸残基(Asp+Glu)29个。对易感品种Z1141的HvnSHSP21蛋白的理化性质分析结果表明,该蛋白分子式确定为$C_{947}H_{1503}N_{263}O_{285}S_7$,理论分

子量为21.38 kD，总原子数为3 007个，不稳定系数为38.78，脂溶指数为80.83，等电点为6.52，其中碱性氨基酸残基27个，酸性氨基酸残基28个。基因的空间结构与功能密切相关，为研究其功能和调控机制对抗性品种THIBAUT和易感品种Z1141的HvnSHSP21蛋白分别进行二、三级结构预测，发现抗性品种THIBAUT的HvnSHSP21蛋白主要由无规则卷曲（60.10%）、α-螺旋（23.83%）和延伸链（16.06%）组成；易感品种Z1141的HvnSHSP21蛋白也主要由无规则卷曲（63.73%）、α-螺旋（20.21%）和延伸链（16.06%）组成（图3）。



KL14N、KL14S：抗性品种健康叶片和感病叶片；Z1141N、Z1141S：易感品种健康叶片和感病叶片。右侧标注为基因ID，来源于大麦参考基因组1.0版本。色阶表示基因表达水平，红色代表高表达，蓝色代表低表达。KL14N and KL14S: Resistant variety healthy leaf and diseased leaf; Z1141N and Z1141S: susceptible variety healthy leaf and diseased leaf. The right side displays gene ID sourced from the Barley Reference Genome version 1.0. The color scale indicates gene expression levels, with red representing high expression and blue representing low expression.

图1 *SHSP*基因在不同青稞品种健康叶片和感病叶片中的表达量热图

Fig. 1 Heatmap of *SHSP* gene expression levels in leaves of healthy and susceptible cultivars



M：DNA marker DL2000；T：目标条带。黄色和白色分别代表氨基酸序列同源性为于100.00%和0。HvnSHSP21-TU、HvnSHSP21-Z1141分别表示青稞抗性品种THIBAUT和易感品种Z1141的HvnSHSP21。M：DNA marker DL2000；T: target band. Yellow and white indicate 100.00% and 0 amino acid sequence identity, respectively. HvnSHSP21-TU and HvnSHSP21-Z1141 represent the sequences derived from the resistant cultivar THIBAUT and the susceptible cultivar Z1141, respectively.

图2 *HvnSHSP21*基因检测结果（A）和青稞不同抗性品种氨基酸序列比对结果（B）

Fig. 2 Results of *HvnSHSP21* gene bacterial culture detection in hulless barley (A) and amino acid sequence comparison of different resistant hulless barley cultivars (B)

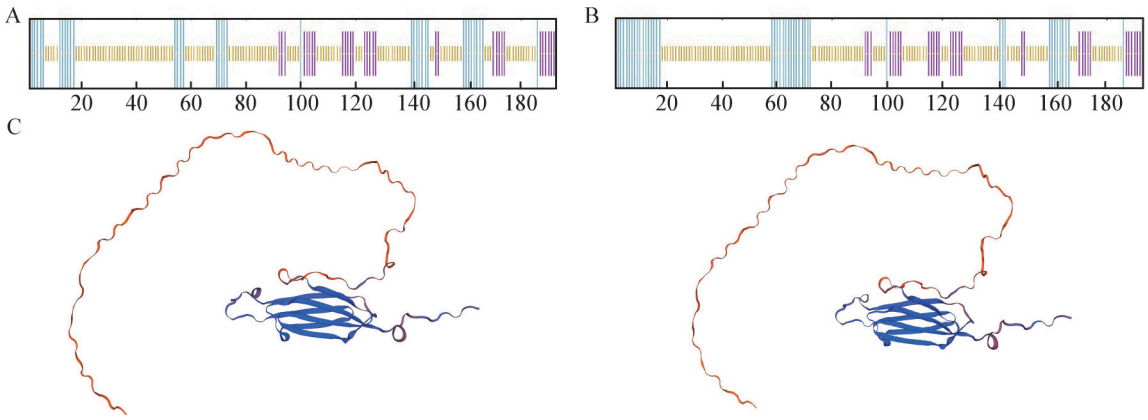
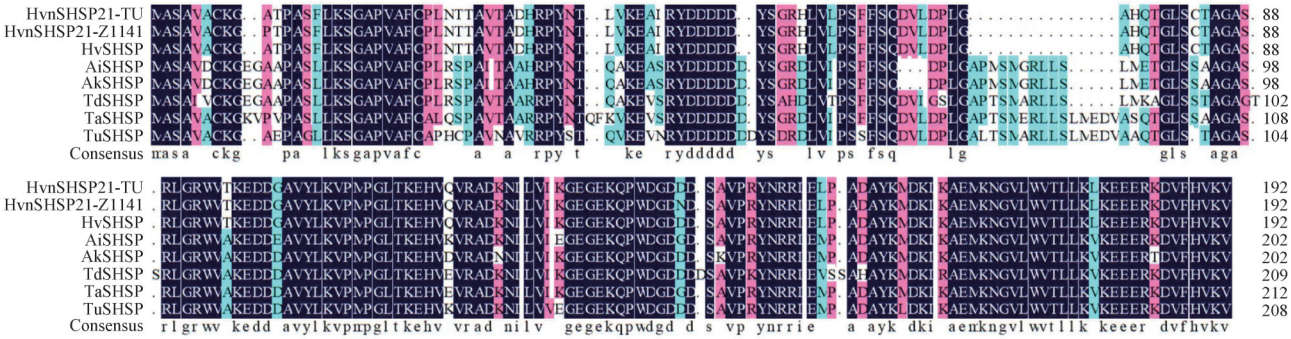


图3 青稞易感品种Z1141和抗性品种THIBAUT HvnSHSP蛋白的二级结构(A、B)与三级结构(C、D)预测

Fig. 3 Prediction of secondary and tertiary structures of HvnSHSP protein from hulless barley cultivars with different resistance

2.3 HvnSHSP21蛋白的同源性比对及系统发育分析

青稞HvnSHSP21蛋白序列与其他禾本科植物的SHSP蛋白序列相似度较高,氨基酸序列一致性达75.00%以上,抗性品种THIBAUT的HvnSHSP21与大麦、普通小麦*Triticum aestivum*、野生二粒小麦*T. dicoccoides*、高大山羊草*Aegilops longissima*、乌拉尔图小麦*T. urartu*、柯氏山羊草*A. kotschyi*的SHSP蛋白序列相似性分别为100.00%、79.81%、76.19%、80.79%、78.10%和80.30%;易感品种Z1141的HvnSHSP21与大麦、普通小麦、野生二粒小麦、高大山羊草、乌拉尔图小麦、柯氏山羊草的SHSP蛋白序列相似性分别为98.96%、80.28%、75.24%、80.30%、77.14%和79.31%(图4)。系统发育分析结果表明,青稞HvnSHSP21在7个禾本科物种中的进化关系呈现显著聚类特征,抗性品种THIBAUT的HvnSHSP21与大麦TaSHSP表现出最高的序列同源性,亲缘关系最近,所在分支和易感品种Z1141的HvnSHSP21又形成同一分支;而青稞抗性品种和易感品种的HvnSHSP21均与柯氏山羊草、野生二粒小麦和一粒小麦*T. monococcum*的SHSP蛋白分布在系统发育树的远端位置,遗传分化距离最远(图5)。



HvnSHSP-TU、HvnSHSP-Z1141、HvSHSP、TaSHSP、TdSHSP、AiSHSP、TuSHSP、AkSHSP分别为青稞抗性品种THIBAUT、青稞易感品种Z1141、大麦、普通小麦、野生二粒小麦、高大山羊草、乌拉尔图小麦、柯氏山羊草。Consensus:共有序列。黑色、红色、蓝色和白色分别代表氨基酸序列同源性为100%、75%≤同源性<100%、50%≤同源性<75%和30%≤同源性<50%。HvnSHSP-TU, HvnSHSP-Z1141, HvSHSP, TaSHSP, TdSHSP, AiSHSP, TuSHSP, AkSHSP represent the disease-resistant hulless barley cultivars THIBAUT, the disease-susceptible hulless barley cultivars Z1141, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *T. dicoccoides*, *Aegilops longissima*, *T. urartu*, and *Aegilops kotschyi*. Consensus: shared sequence. Black, red, blue, and white indicate amino acid sequence identity of 100%, 75%≤identity<100%, 50%≤identity<75%, and 30%≤identity<50%, respectively.

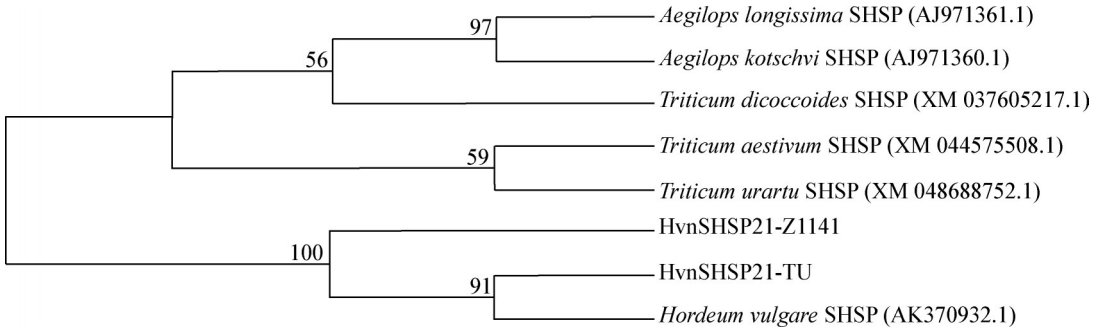
图4 青稞不同抗性品种与其他禾本科的SHSP蛋白多序列比对分析

Fig. 4 Multiple sequence alignment analysis of SHSP proteins from hulless barley cultivars with different resistance levels and other grass species

2.4 *HvnSHSP21*基因在条纹病胁迫下的表达分析

感染条纹病后,24-189、9726、22-732与0349-1青稞品种的*HvnSHSP21*相对表达量存在显著差异。在胁迫条件下,4个品种的*HvnSHSP21*基因表达均

被强烈激活，其表达量较健康植株显著提升（$P<0.05$），其中0349-1品种的表达量最高，为健康植株的18倍（图6）。随着植株抗病性的增强，其*HvnSHSP21*基因相对表达量呈现显著上调趋势，在健康植株中，高抗品种24-189中该基因的相对表达量是易感品种0349-1的246倍（$P<0.05$），而在感病植株中，该比值达到2 632倍（$P<0.05$）。表明青稞*HvnSHSP21*基因受条纹病胁迫的诱导表达，且随着植株抗病性的增强，抗性品种中*HvnSHSP21*基因的表达量高于易感品种。



HvnSHSP-TU、HvnSHSP-Z1141分别表示青稞品种THIBAUT和Z1141的HvnSHSP21。HvnSHSP-TU and HvnSHSP-Z1141 refer to the HvnSHSP21 genes from the barley cultivars THIBAUT and Z1141.

图5 基于氨基酸序列采用最大似然法法构建青稞HvnSHSP21与其他禾本科SHSP的系统进化树

Fig. 5 A systematic evolutionary tree of hulless barley HvnSHSP21 and other SHSPs from the Poaceae family was constructed using the maximum likelihood method based on amino acid sequences

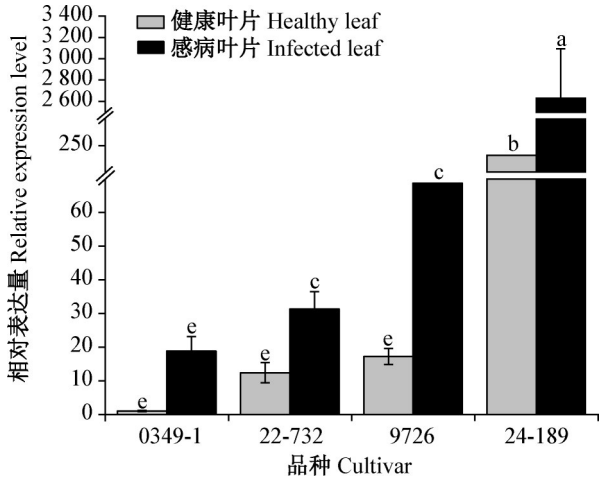


图6 青稞不同抗性品种叶片中*HvnSHSP21*基因的相对表达量

Fig. 6 Relative expression levels of the *HvnSHSP21* gene in leaves of different resistant hulless barley cultivars after inoculation with *Pyrenophora graminea*

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著（$P<0.05$）。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P<0.05$).

3 讨论

迄今为止，已经在多种植物中发现众多*SHSP*基因家族成员（郭虹霞等，2013；马圆等，2024），但不同物种之间该基因家族成员数量差异明显，如在水稻里有39个*SHSP*基因，而拟南芥里仅有17个成员（Ouyang et al.，2009；Fan et al.，2021）。本研究通过转录组分析，在青稞中筛选出12个与抗条纹病有关的*SHSP*基因家族成员，通过与其他植物中*SHSP*基因进行比较，发现共性与差异主要体现在基因家族成员数量、表达调控机制以及功能特异性等方面。就功能而言，目前研究主要集中于SHSP在植物非生物胁迫中的相关功能（玉晓红，2012；徐彤等，2024），例如在樟叶越橘中，*VdSHSP*在温度胁迫下差异表达（李雪等，2022）；而对该蛋白在生物胁迫尤其是植物抗病过程中的相关研究较少（Van Ooijen et al.，2010）。不过仍有研究报道认为SHSP具有对生物胁迫调控的潜力，如水稻中的*OsHSP18.0-CI*增强其抗病性（Ju et al.，2017）。基于此，本研究以青稞条纹病为切入点，系统分析了候选*HvnSHSP21*差异表达基因在抗、感品种间的表达特征，为探讨*SHSP*基因参与植物抗病的潜在机制提供了依据。

本研究成功从抗、感病青稞品种中克隆出*HvnSHSP21*基因，且在282~579 bp核苷酸处均有典型的ACD，这是SHSP家族蛋白的核心特征区域，该高度保守的结构域是SHSP蛋白行使其功能的关键区域（Wang et al.，2024），该结构域主要防止蛋白在应激条件下聚集从而达到应对生物与非生物胁迫的作用（Kim et al.，1998；Haslbeck et al.，2005）。通过序列比对发现两个品种的*HvnSHSP21*基因存在两个核苷酸差异，并导致产生两个氨基酸差异，这种差异可

能对蛋白功能产生影响，例如，普通小麦中*Pm24*基因的核苷酸差异导致了不同品种的小麦对白粉病的抗性不同（Lu et al.，2020）；番茄双功能酶SlEPS1的第169位组氨酸His169影响番茄对疾病的抵抗能力（Cao et al.，2025）。ACD之前的N端区域在长度和氨基酸序列上是可变的，在很大程度上促进了不同SHSP之间的结构多样性（Sarkar et al.，2009）。本研究中抗性品种THIBAUT与易感品种Z1141的HvnSHSP21蛋白序列之间其中一处氨基酸差异在ACD之前的N端区域，这两个蛋白二级结构的不同可能就是由此引起的。两个蛋白二级结构的不同主要体现在无规则卷曲的占比方面。无规则卷曲通常赋予蛋白结构柔性，对其功能多样性具有重要影响（Pajkos & Dosztányi，2021）。例如，玉米黑粉菌*Ustilago maydis*中的HSP12依靠其无规则卷曲区域，导致该蛋白可以同时发挥分子伴侣和膜结构的稳定性，从而促进病原菌致病性（Mitra et al.，2023），据此推测本研究中HvnSHSP21蛋白二级结构的不同可能导致青稞植株抗病性的不同。青稞HvnSHSP21预测等电点小于7，偏酸性，暗示其可能通过电荷作用维持胁迫条件下变性蛋白的稳定性（薛才，2023）。结构预测分析表明，这些蛋白缺乏跨膜结构域，符合典型胞质SHSP的定位特征（纪向云等，2021）。不同亚细胞定位的SHSP蛋白发挥的作用不同（Lopes-Caitar et al.，2013），定位在叶绿体的SHSP蛋白会保护植物的光系统II（Hu et al.，2015），而叶绿体的稳定会影响植物的抗病性（Xiao et al.，2025），青稞HvnSHSP21蛋白定位在叶绿体上可能影响植物的抗病性。同源比对结果显示，青稞HvnSHSP蛋白与其他禾本科的SHSP蛋白较为相似，氨基酸序列一致性均在75.00%以上。系统发育分析结果表明，来自THIBAUT和Z1141不同抗性品种的HvnSHSP21蛋白与大麦亲缘关系最近，而在大麦中该蛋白对白粉病胁迫有响应（Li & Liu，2019）；柯氏山羊草、野生二粒小麦和一粒小麦SHSP蛋白则分布在系统发育树的远端位置，遗传分化距离最远。表明SHSP蛋白在进化过程中具有高度的保守性，暗示其在不同植物中可能执行相似的生物学功能。

青稞不同抗性品种在受到条纹病胁迫下，*HvnSHSP21*基因的表达倍数上调，这表明该基因可能在病原体防御中发挥着重要作用，而樟叶越橘中*SHSP*基因主要在温度胁迫下差异表达（李雪等，2022）。此外，番茄中的*SHSP*基因在盐胁迫等非生物胁迫下表现出较突出的功能，但相关研究较少关注其在生物胁迫中的潜在功能（Fu et al.，2016；Cai et al.，2024）。值得注意的是，不同物种中*SHSP*基因的功能虽然存在一定共性，如参与逆境胁迫响应，但具体的调控机制和功能往往高度依赖于试验设计和研究对象的选择。例如，在中华淡翅盲蝽*Tytthus chinensis*中*SHSP*基因表现出的性别差异表达现象（朱木菲，2017），为未来探索昆虫抗逆机制提供了新视角，而这一点在植物研究中尚未得到重视。本研究通过系统分析青稞*SHSP*基因在条纹病胁迫下的表达模式，获得了青稞条纹病相关的*SHSP*基因，为进一步探讨*SHSP*基因在植物抗病性中的作用奠定了基础。后续试验可通过RNA干扰技术、CRISPR-Cas9基因编辑技术等获取转基因植株，以进一步解析该基因的功能，探讨其参与条纹病调控的分子机制。

参 考 文 献（References）

Basha E, O'Neill H, Vierling E, 2012. Small heat shock proteins and α-crystallins: dynamic proteins with flexible functions[J]. Trends in Biochemical Sciences, 37(3): 106−117

Cai GH, Niu MY, Sun ZH, Wang HK, Zhang S, Liu F, Wu YQ, Wang GD, 2024. A small heat shock protein (SlHSP17.3) in tomato plays a positive role in salt stress[J]. Frontiers in Plant Science, 15: 1443625

Cao P, Xia LH, Li XG, Deng M, Zhang ZH, Lin XY, Wu ZY, Hao YC, Liu PH, Wang C, et al., 2025. A SlMYB78-regulated bifunctional gene cluster for phenolamide and salicylic acid biosynthesis during tomato domestication, reducing disease resistance[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 67(7): 1947−1964

Chang HW, 2024. Mining genes related to salt tolerance in wild barley and functional analysis of *HvHSP16.9*[D]. Jingzhou: Yangtze University (in Chinese) [常浩雯, 2024. 野生大麦耐盐相关基因挖掘及*HvHSP16.9*功能分析[D]. 荆州: 长江大学]

Fan K, Ye FT, Mao ZJ, Pan XF, Li ZW, Lin WX, 2021. Comparative genomics of the small heat shock protein family in angiosperms[J]. Chinese Bulletin of Botany, 56(3): 245−261 (in Chinese) [范凯, 叶方婷, 毛志君, 潘鑫峰, 李兆伟, 林文雄, 2021. 被子植物小热激蛋白家族的比较基因组学分析[J]. 植物学报, 56(3): 245−261]

Fu C, Liu XX, Yang WW, Zhao CM, Liu J, 2016. Enhanced salt tolerance in tomato plants constitutively expressing heat-shock protein in the endoplasmic reticulum[J]. Genetics and Molecular Research, 15(2): gmr.15028301

Gao GQ, Wan XS, Li X, Huang JR, Wang XR, 2022. Prediction of rice protein secondary structure[J]. Journal of Guizhou University (Natural Sciences), 39(2): 45−49, 65 (in Chinese) [高光芹, 宛新生, 李晓, 黄家荣, 王潇然, 2022. 水稻蛋白质二级结构预测[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 39(2): 45−49, 65]

Guo HX, Wang CY, Zhao L, Wang LJ, Wang J, Hou YJ, Guo JX, 2013. Research progress of small heat shock protein[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 41(12): 1421−1423 (in Chinese) [郭

虹霞, 王创云, 赵丽, 王陆军, 王晋, 侯雅静, 郭晶心, 2013. 小分子热激蛋白的研究进展[J]. 山西农业科学, 41(12): 1421−1423]

Haslbeck M, Franzmann T, Weinfurtner D, Buchner J, 2005. Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins[J]. Nature Structural & Molecular Biology, 12(10): 842−846

Hu XL, Yang YF, Gong FP, Zhang DY, Zhang L, Wu LJ, Li CH, Wang W, 2015. Protein sHSP26 improves chloroplast performance under heat stress by interacting with specific chloroplast proteins in maize (*Zea mays*)[J]. Journal of Proteomics, 115: 81−92

Ji XY, Yin H, Ren XQ, Li DJ, Xia ZH, 2021. Expression profile analysis of sHSP gene family in rubber tree[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 42(12):3424−3432 (in Chinese) [纪向云, 印汉, 任小青, 李德军, 夏志辉, 2021. 橡胶树sHSP基因家族的表达谱分析[J]. 热带作物学报, 42(12): 3424−3432]

Ju YH, Tian HJ, Zhang RH, Zuo LP, Jin GX, Xu Q, Ding XH, Li XK, Chu ZH, 2017. Overexpression of *OsHSP18.0-CI* enhances resistance to bacterial leaf streak in rice[J]. Rice, 10(1): 12

Kim KK, Kim R, Kim SH, 1998. Crystal structure of a small heat-shock protein[J]. Nature, 394(6693): 595−599

Kuang J, Liu JZ, Mei J, Wang CC, Hu HT, Zhang YJ, Sun MH, Ning X, Xiao LT, Yang L, 2017. A Class II small heat shock protein OsHsp18.0 plays positive roles in both biotic and abiotic defense responses in rice[J]. Scientific Reports, 7: 11333

Lee BH, Won SH, Lee HS, Miyao M, Chung WI, Kim IJ, Jo J, 2000. Expression of the chloroplast-localized small heat shock protein by oxidative stress in rice[J]. Gene, 245(2): 283−290

Li J, Liu XH, 2019. Genome-wide identification and expression profile analysis of the *Hsp20* gene family in barley (*Hordeum vulgare* L.)[J]. PeerJ, 7: e6832

Li WJ, Yang HX, Hu L, Wu CL, Fu XY, Zhou JY, Li H, Liao H, 2025. Identification and expression analysis of *HSP20* family genes in *Oryza sativa*[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 31(8): 1238−1248 (in Chinese) [李文杰, 杨慧鑫, 胡丽, 吴翠丽, 付兴悦, 周嘉裕, 李辉, 廖海, 2025. 水稻中*HSP20*家族基因鉴定及表达[J]. 应用与环境生物学报, 31(8): 1238−1248]

Li X, Shao YL, Chen HT, Zhao P, Ding Y, 2022. Expression of heat shock protein genes of *Vaccinium dunalianum* in response to temperature stress[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 42(2): 139−146, 168 (in Chinese) [李雪, 邵亚林, 陈海涛, 赵平, 丁勇, 2022. 樟叶越桔热激蛋白基因对温度胁迫的响应表达[J]. 中南林业科技大学学报, 42(2): 139−146, 168]

Liang JJ, Deng GB, Long H, Pan ZF, Wang CP, Cai P, Xu DL, Nima ZX, Yu MQ, 2012. Virus-induced silencing of genes encoding LEA protein in Tibetan hulless barley (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) and their relationship to drought tolerance[J]. Molecular Breeding, 30(1): 441-451]

Lopes-Caitar VS, de Carvalho MC, Darben LM, Kuwahara MK, Nepomuceno AL, Dias WP, Abdelnoor RV, Marcelino-Guimarães FC, 2013. Genome-wide analysis of the Hsp20 gene family in soybean: comprehensive sequence, genomic organization and expression profile analysis under abiotic and biotic stresses[J]. BMC Genomics, 14(1): 577

Lu P, Guo L, Wang ZZ, Li BB, Li J, Li YH, Qiu D, Shi WQ, Yang LJ, Wang N, et al., 2020. A rare gain of function mutation in a wheat tandem kinase confers resistance to powdery mildew[J]. Nature Communications, 11: 680

Lu WJ, Wang JC, Yao LR, Zhang H, Si EJ, Yang K, Meng YX, Li BC, Ma XL, Wang HJ, 2025. Genome-wide identification of PRX gene family and analysis of their expressions under drought stress in barley[J]. Acta Agronomica Sinica, 51(5): 1198−1214 (in Chinese) [陆雯佳, 汪军成, 姚立蓉, 张宏, 司二静, 杨轲, 孟亚雄, 李葆春, 马小乐, 王化俊, 2025. 大麦PRX基因家族全基因组鉴定及其干旱胁迫下的表达分析[J]. 作物学报, 51(5): 1198−1214]

Ma Y, Liu H, Zhao GQ, Wang JL, Zhang R, Yao RR, 2024. Identification of the oat sHSP gene family and its transcript profiles in response to high temperature and aging[J]. Acta Prataculturae Sinica, 33(8): 145-158 (in Chinese) [马圆, 刘欢, 赵桂琴, 王敬龙, 张然, 姚瑞瑞, 2024. 燕麦sHSP基因家族的鉴定及其响应高温及老化的表达分析[J]. 草业学报, 33(8): 145−158]

Maimbo M, Ohnishi K, Hikichi Y, Yoshioka H, Kiba A, 2007. Induction of a small heat shock protein and its functional roles in *Nicotiana* plants in the defense response against *Ralstonia solanacearum*[J]. Plant Physiology, 145(4): 1588−1599

Meng YX, He ZH, Wang JC, Si EJ, Ren PR, Ma XL, Yang K, Li BC, Wang HJ, 2016. Effect on the proteome of barley (*Hordeum vulgare*) leaves after inoculation of *Pyrenophora graminea*[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 24(6): 824−836 (in Chinese) [孟亚雄, 何智宏, 汪军成, 司二静, 任盼荣, 马小乐, 杨轲, 李葆春, 王化俊, 2016. 大麦条纹病侵染对大麦叶片蛋白组的影响[J]. 农业生物技术学报, 24(6): 824−836]

Mitra A, Bhakta K, Kar A, Roy A, Mohid SA, Ghosh A, Ghosh A, 2023. Insight into the biochemical and cell biological function of an intrinsically unstructured heat shock protein, Hsp12 of *Ustilago maydis*[J]. Molecular Plant Pathology, 24(9): 1063−1077

Ouyang YD, Chen JJ, Xie WB, Wang L, Zhang QF, 2009. Comprehensive sequence and expression profile analysis of Hsp20 gene family in rice[J]. Plant Molecular Biology, 70(3): 341−357

Pajkos M, Dosztányi Z, 2021. Functions of intrinsically disordered proteins through evolutionary lenses[J]. Progress in Molecular Biology and Translational Science, 183: 45−74

Rodríguez-López J, López AH, Estrada-Navarrete G, Sánchez F, Díaz-Camino C, 2019. The noncanonical heat shock protein PvNod22 is essential for infection thread progression during rhizobial endosymbiosis in common bean[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 32(8): 939−948

Sanmiya K, Suzuki K, Egawa Y, Shono M, 2004. Mitochondrial small heat-shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants[J]. FEBS Letters, 557(1/2/3): 265−268

Sarkar NK, Kim YK, Grover A, 2009. Rice sHsp genes: genomic organization and expression profiling under stress and development[J]. BMC Genomics, 10(1): 393

Sewelam N, Kazan K, Hüdig M, Maurino VG, Schenk PM, 2019. The *AtHSP17.4C1* gene expression is mediated by diverse signals that link biotic and abiotic stress factors with ROS and can be a useful

molecular marker for oxidative stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 20(13): 3201

Si EJ, Meng YX, Ma XL, Li BC, Wang JC, Yao LR, Yang K, Zhang Y, Shang XW, Wang HJ, 2020. Genome resource for barley leaf stripe pathogen *Pyrenophora graminea*[J]. Plant Disease, 104(2): 320−322

Tan XX, 2024. Cultivation techniques and pest control of highland barley in alpine region[J]. Hebei Agriculture(11): 46−47 (in Chinese) [谈旭霞, 2024. 高寒地区青稞栽培技术及病虫害防治[J]. 河北农业(11): 46−47

Van Ooijen G, Lukasik E, Van Den Burg HA, Vossen JH, Cornelissen BJC, Takken FLW, 2010. The small heat shock protein 20 RSI2 interacts with and is required for stability and function of tomato resistance protein I-2[J]. The Plant Journal, 63(4): 563−572

Wang CW, Teng LL, Liu ZS, Kamalova A, McMenimen KA, 2024. HspB5 chaperone structure and activity are modulated by chemical-scale interactions in the ACD dimer interface[J]. International Journal of Molecular Sciences, 25(1): 471

Wu K, Yao XH, Yao YH, Chi DZ, Feng ZY, 2017. Analysis of the relationship between *Wx* gene polymorphisms and amylose content in hulless barley[J]. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 53(4): 144−152

Wu KM, Guo YY, 2000. Field resistance evaluations of Bt transgenic cotton GK series to cotton bollworm[J]. Journal of Plant Protection, 27(4): 317−321 (in Chinese) [吴孔明, 郭予元, 2000. 部分GK系列Bt棉对棉铃虫抗性的田间评价[J]. 植物保护学报, 27(4): 317−321]

Xiao KQ, Yang F, Cui WJ, Li AM, Rollins JA, Guo JX, Sun XH, Wang FT, Wang XJ, Xu X, et al., 2025. A fungal effector promotes infection *via* stabilizing a negative regulatory factor of chloroplast immunity[J]. Nature Communications, 16: 6970

Xu CJ, 2015. Harm of barley stripe disease and its integrated control techniques[J]. Agricultural Technology Service, 32(2): 90, 88 (in Chinese) [许从建, 2015. 大麦条纹病危害及综合防治技术探析[J]. 农技服务, 32(2): 90, 88]

Xu T, Wang YQ, Li Y, An BZ, Jiang M, Yang WF, Wu YF, 2024. Role of small molecule heat shock proteins in plants' response to high temperature stress[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 40(7): 1343−1350 (in Chinese) [徐彤, 王英琪, 李渊, 安本泽, 蒋敏, 杨文飞, 吴云飞, 2024. 小分子热激蛋白在植物应对高温胁迫中的作用[J]. 江苏农业学报, 40(7): 1343−1350]

Xue C, 2023. Comparative study on the biological functions of *Arabidopsis* ABI5 subfamily members ABF2, ABF4, and At5G42910[D]. Lanzhou: Lanzhou University of Technology (in Chinese) [薛才, 2023. 拟南芥ABI5亚家族ABF2、ABF4、At5G42910的生物学功能的比较研究[D]. 兰州: 兰州理工大学]

Yan JH, Yao Q, Guo QY, Chen HM, Hou L, Xu SC, 2016. Control effect of four seed coatings on barley leaf stripe caused by *Drechslera graminea*[J]. Plant Protection, 42(2): 233−236 (in Chinese) [闫佳会, 姚强, 郭青云, 陈海民, 侯璐, 徐世昌, 2016.4种种衣剂对青稞条纹病的防治效果[J]. 植物保护, 42(2): 233−236]

Yang X, 2021. Mapping of resistance genes to stripe disease and screening of candidate genes in hulless barley based on BSR-seq[D]. Xining: Qinghai University (in Chinese) [杨雪, 2021. 基于BSR-seq的青稞抗条纹病基因的定位与候选基因筛选[D]. 西宁: 青海大学]

Yang X, Yao XH, Wu KL, Yao YH, Chi DZ, 2021. Effects of stripe disease on physiological characteristics of hulless barley varieties with different resistance[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 34(3): 540−545 (in Chinese) [杨雪, 姚晓华, 吴昆仑, 姚有华, 迟德钊, 2021. 条纹病对不同抗性青稞品种生理特性的影响[J]. 西南农业学报, 34(3): 540−545]

Yao XH, Wang Y, Yao YH, An LK, Wang Y, Wu KL, 2022. Isolation and expression of a new gene *HvMEL*1 AGO in Tibetan hulless barley under leaf stripe stress[J]. Acta Agronomica Sinica, 48(5): 1181−1190 (in Chinese) [姚晓华, 王越, 姚有华, 安立昆, 王燕, 吴昆仑, 2022. 青稞新基因*HvMEL1* AGO的克隆和条纹病胁迫下的表达[J]. 作物学报, 48(5): 1181−1190]

Ye GY, Hu C, Shu QY, 1998. The development of transgenic rice resistant to insect pests and its wise and sustainable use[M]//Cheng JA, Zhou WJ. Agricultural development and research in the 21st century. Beijing: China Environmental Science Press, pp. 406−414 (in Chinese) [叶恭银, 胡萃, 舒庆尧, 1998. 转基因抗虫水稻的转育及其合理持续利用[M]//程家安, 周伟军. 世界农业发展与研究. 北京: 中国环境科学出版社, pp. 406−414]

Yu XH, 2012. Expression analysis and functional identification of rice small molecule heat shock protein gene *OsHSP17.8* and zinc finger protein gene *OsZRL*[D]. Chongqing: Chongqing University (in Chinese) [玉晓红. 2012. 水稻小分子热激蛋白基因*OsHSP17.8*和锌指蛋白基因*OsZRL*的表达分析及功能鉴定[D]. 重庆: 重庆大学]

Zeng SM, Wang PY, Wu XY, Zhang WY, Wang JQ, Song WZ, Wang SY, 1979. Preliminary study on the method of evaluation of horizontal resistance of wheat cultivars to stripe rust[J]. Journal of Plant Protection, 6(1): 1−10 (in Chinese) [曾士迈, 王沛有, 武修英, 张万义, 王吉庆, 宋位中, 王生元, 1979. 小麦对条锈病的水平抗病性研究初报[J]. 植物保护学报, 6(1): 1−10]

Zhang XB, 2013. Dpp-Omb signaling regulates growth in a region specific manner during *Drosophila* wing development[D]. Beijing: China Agricultural University (in Chinese) [张徐波, 2013. Dpp-Omb信号以区域化的方式调控果蝇翅的生长[D]. 北京: 中国农业大学]

Zheng G, 2011. Study of pathogen and chemical control of barley leaf stripe[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University (in Chinese) [郑果, 2011. 大麦条纹病病原菌及防治研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学]

Zhu MF, 2017. Preliminary analysis of mechanism in response to thermal stress in *Tytthus chinensis* (Stal) (Hemiptera: Miridae) [D]. Hangzhou: Zhejiang University (in Chinese) [朱木菲, 2017. 中华淡翅盲蝽耐高温机制初步分析[D]. 杭州: 浙江大学]

(责任编辑:王 璇)