OsGAPC2转录因子与稻瘟病抗性基因*Pi63*启动子互作初步验证

李欣源,邓森文,姜伟高,覃永华,徐鑫*

(中南民族大学 a.生命科学学院; b.武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室;
c.生物技术国家民委重点实验室,湖北 武汉 430074)

摘 要 稻瘟病抗性基因的表达调控是研究"抗性-产量权衡"机制的重要方向.通过凝胶迁移实验发现前期筛选出的水稻稻瘟病抗性基因*Pi63*启动子的互作蛋白OsGAPC2能够与*Pi63*启动子的DNA探针结合并发生阻滞现象.通过荧光素酶活实验发现茉莉酸甲酯处理后,OsGAPC2显著提高了*Pi63*的启动子活性.同时,qPCR结果显示,*Pi63*和*OsGAPC2*的mRNA表达量在接种后24~72 h内变化趋势一致.本研究验证了OsGAPC2作为转录因子在稻瘟病抗性基因*Pi63*的转录调控中的作用,为深入研究OsGAPC2的功能及其对*Pi63*的调控机制奠定了基础.

关键词 转录因子;稻瘟病抗性基因;*Pi63*基因启动子;OsGAPC2蛋白;互作验证
中图分类号 S435.111.2 **文献标志码** A **文章编号** 1672-4321(2026)04-0463-07
doi:10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20260705

Preliminary verification of the interaction between transcription factor OsGAPC2 and the promoter of the rice blast resistance gene *Pi63*

Li Xinyuan, Deng Senwen, Jiang Weigao, Qin Yonghua, Xu Xin*

(South-Central Minzu University, a. College of Life Sciences; b. Hubei Provincial Key Laboratory for Protection and Application of Special Plant Germplasm in Wuling Area of China; c. Key Lab for Biotechnology of State Ethnic Affairs Commission, Wuhan 430074, Hubei China)

Abstract Expression regulation of rice blast resistance genes is an important direction for the studying of the 'resistance-yield trade-off' mechanism. In previous study, an OsGAPC2 protein was identified, which interacts with the promoter of rice blast resistance gene *Pi63*. Through gel mobility shift assay, it was found that OsGAPC2 could bind to the DNA probe of the *Pi63* promoter and lead to a retardation. Further luciferase activity assay results revealed that OsGAPC2 significantly increased the promoter activity of *Pi63* after methyl jasmonate treatment. Meanwhile, qPCR results showed that the mRNA expression levels of *Pi63* and *OsGAPC2* exhibited consistent trends from 24 to 72 hours after inoculation. This study validates the role of OsGAPC2 as a transcription factor in the transcriptional regulation of rice blast resistance gene *Pi63*, which lays the foundation for further research on the functions of OsGAPC2 and its regulatory mechanism on *Pi63*.

Keywords transcription factor; rice blast resistance gene; *Pi63* gene promoter; OsGAPC2; interaction validation

水稻是全世界最主要的粮食作物之一,然而,稻瘟病对全球水稻产量造成的损失高达10%~30%[1-3],我国自20世纪90年代以来,稻瘟病每年发病面积高达380万hm^2以上,严重威胁国家的粮食安全[4].因此,选育且推广具有持久广谱抗性的水稻新品种是防治稻瘟病的经济有效的方式[5].

植物普遍存在"抗性-产量权衡"机制,作物抗性的提高,往往会影响产量[6].因此,对于能够协调产

收稿日期 2024-12-25
* **通信作者** 徐鑫(1978-),男,教授,博士,研究方向:遗传学,E-mail:xinxu@mail.scuec.edu.cn
基金项目 国家自然科学基金资助项目(30971563);湖北省自然科学基金资助项目(2018CFB476);湖北省自然科学重点项目(滚动创新群体)(2015CFA015)

量和抗性的基因,解析其调控机制就显得尤为重要.水稻稻瘟病抗性基因*Pi63*来源于日本陆稻品种"嘉平"(Kahei),具有强而稳定的田间抗性.*Pi63*在基因结构、对病原菌响应及互作上表现出与其他抗性基因不同的特性.常见的R基因(Resistance gene, R基因)由于抗性-生长权衡,在水稻生长期转录水平通常较低,而*Pi63*在水稻生长期的转录本丰度较高,并且在受到稻瘟病菌侵染后转录水平也有明显的增强[7-8].

本实验室前期利用酵母单杂交技术,从水稻cDNA文库中筛选出一个与*Pi63*启动子互作的OsGAPC2蛋白(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2). OsGAPC2属于甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH),一直被认为是一类"持家"基因,常作为内参基因出现.而在高等植物中,GAPDH可被分为磷酸化和非磷酸化两大类,前者根据其亚细胞定位的不同又可分为GAPC、GAPCp和GAPA/B三种类型.并且所有磷酸化的GAPCs都具有相似的结构.GAPC本质上是具有相同或相似亚基的四聚体,其中亚基与三个对称轴相关[9].近年来研究表明,GAPC不仅调控能量代谢及细胞周期[10],还能与病毒RNA结合,参与病毒基因表达调控和翻译[11-12].此外,GAPC参与细胞自噬调控,其沉默可激活ATG3依赖的细胞自噬,过表达则抑制ATG3诱导的细胞自噬和ROS诱导的细胞自噬,提高细胞内自噬水平,维持细胞存活,表明GAPC在细胞自噬和植物免疫反应中具有多种作用[13].

本实验拟采用化学发光法凝胶迁移实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)分析OsGAPC2蛋白与*Pi63*启动子之间的相互作用.同时,将带有*OsGAPC2*和*Pi63*的载体共转化至水稻原生质体,通过双荧光素酶活实验,验证OsGAPC2对于*Pi63*的调控作用.并检测*Pi63*转基因植株在受到稻瘟病菌侵染前后*OsGAPC2*和*Pi63*的表达量,为后续研究OsGAPC2对*Pi63*的调控机制奠定基础.

1 实验部分

1.1 样品和试剂

水稻品种:Kahei、*Pi63*转基因植株(日本晴);实验中用到的*E. coli* BL21感受态细胞、pGEX-6P-1原核表达载体由本实验室保存,EX Taq酶、反转录试剂盒购自大连宝生物,各种限制性内切酶和T4连接酶均购自美国NEB,DNA凝胶回收试剂盒购自美国Axygen,Anti-GST Antibody抗体和二抗均购自武汉ABBkine,GST-tag Purification Resin、GSH、化学发光EMSA试剂盒购自上海碧云天.凝胶成像仪购自美国BIO-RAD.引物合成和测序由武汉擎科完成.

1.2 实验方法

1.2.1 *OsGAPC2*的克隆及原核表达载体的构建

采用Trizol法提取水稻叶片总RNA,逆转录获得cDNA.利用Primer Premier 5.0软件设计特异性引物,引物序列如下.*OsGAPC2*(*Bam*HI)-F:CGGGATCCATGGCGAAGATTAAGATCG;*OsGAPC2*(*Eco*R I)-R:GGAATTCCTACTGGGTGTTGTACATGT.

利用EX Taq酶对*OsGAPC2*进行PCR扩增.反应结束后使用1.5%琼脂糖凝胶进行DNA电泳分析.

对pGEX-6P-1载体进行双酶切反应,产物经纯化试剂盒纯化后,加入*OsGAPC2*回收片段,使用T4连接酶通过酶切酶连的方式,构建重组原核表达载体.将重组产物热激转化至*E. coli* BL21感受态细胞中,并进行验证和测序分析.

1.2.2 重组菌株pGEX-6P-*OsGAPC2*的诱导和表达

将测序正确的重组菌株pGEX-6P-*OsGAPC2*活化并扩培至100 mL LB液体培养基中,培养条件为37 ℃、200 r/min.待菌液OD_{600}达到0.8,加入0.8 mmol/L IPTG诱导蛋白表达,诱导条件为16 ℃.诱导16 h后离心收集菌体,PBS重悬后超声破碎,加入蛋白Loading Buffer混匀,沸水浴10 min使蛋白变性.SDS-PAGE电泳,随后进一步利用Western Blot(一抗为Anti-mouse GST-Tag鼠抗,二抗为HRP标记抗体)检测上述表达产物.

1.2.3 OsGAPC2蛋白纯化

利用GST-tag Purification Resin纯化蛋白.将诱导表达的250 mL菌液经高速离心沉淀后,用5 mL PBS缓冲液重悬,超声破碎菌体至澄清状态.加入GST-tag Purification Resin后于4 ℃孵育过夜,经GSH洗脱后得到纯化蛋白,进行SDS-PAGE电泳检测,并通过考马斯亮蓝染色及Western Blot验证是否纯化成功.

1.2.4 EMSA分析

通过PLANT CARE网站(http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)分析*Pi63*启动子序列上的顺式作用元件,根据分布的位置设计了6对DNA探针.合成探针引物,并用生物素标记,引

物序列及探针位于启动子序列的位置如表1所示.

表1　*Pi63*启动子探针的引物序列

Tab. 1　Primer sequences of *Pi63* promoter probe

引物名称	引物序列	探针的位置
Biotin-F1	GGTGCTCTTCGCCGTCCCT	-1797~-2120
Biotin-R1	TTTGCCACTCGGGACAGCC	
Biotin-F2	AAGCGATTTATTGCTCTGCATCCGA	-2097~-2497
Biotin-R2	GGAACAGGGACGGCGAAGAGC	
Biotin-F3	GAGTACATCGCCCAAGACCAGCG	-2313~-2651
Biotin-R3	GGCTCGCCGCTCGAACTCCT	
Biotin-F4	TTCAGGCACGTAATTGTGCT	-514~-676
Biotin-R4	TGGACCGGTTATGTGATAAGG	
Biotin-F5	CATTAGCGTAGCTACTGAGCCGC	-2651~-2894
Biotin-R5	CGCTGGTCTTGGGCGATGTACTC	
Biotin-F6	CACCTGAGCAGCGTCTCTCTCC	-1586~-1852
Biotin-R6	AGCTGTCAACCTTTATAGCTGTAAGCCAG	

采用化学发光法EMSA试剂盒验证OsGAPC2蛋白与DNA探针的结合. 将OsGAPC2蛋白与DNA探针充分混合，加入EMSA/Gel-Shift结合缓冲液中，室温孵育30 min（蛋白质浓度：探针浓度=1 nM∶1 nM）. 随后将孵育过后的混合物在6.5%聚丙烯酰胺凝胶中100 V电泳60 min. 以0.5× TBE为转膜液转至尼龙膜，条件为360 mA，45 min. 转膜完毕的尼龙膜以120 mJ/cm^{2}紫外交联90 s后，依次进行封闭、标记物孵育及洗涤步骤. 最后加入显影液，在凝胶成像仪上进行显影检测.

为了进一步评估蛋白质与DNA探针的结合特异性，设置三组不同冷热探针浓度与OsGAPC2进行竞争（蛋白质浓度∶热探针浓度∶冷探针浓度=1 nM∶1 nM∶1 nM、1 nM∶1 nM∶10 nM、1 nM∶1 nM∶100 nM），再将各组样品进行EMSA实验.

1.3　OsGAPC2与*Pi63*启动子荧光素酶活实验

将*Pi63*启动子区域的序列构建至载体pGreen Ⅱ 0800-Luc中，并将*OsGAPC2*基因序列构建至载体pM999中. 随后将构建好的两个载体质粒共转化至日本晴水稻原生质体中，使用多功能酶标仪检测代表启动子活性的荧光素酶在560 nm下的数值，观察在有无转录因子条件下荧光素酶表达的变化.

1.4　稻瘟病菌侵染前后*Pi63*和*OsGAPC2*的mRNA表达量检测

将稻瘟病菌007菌株接种于燕麦培养基，二次活化后，使用紫光灯照射菌株（开盖12 h、闭盖12 h），重复5 d诱导菌株产孢，制备孢子悬浮液. 将悬浮液喷洒在4叶期的*Pi63*转基因单拷贝水稻叶片上. 在喷洒孢子悬浮液0（喷洒之前）、第12、24、36、48、72、96、120 h共8个时间节点，分别采集水稻叶片并用液氮速冻，随后置于-80℃冰箱中保存备用.

Trizol法提取水稻叶片总RNA，逆转录获得cDNA. 设计qPCR特异性引物，引物序列如表2所示.

表2　qPCR引物序列

Tab. 2　Primer sequences used in qPCR

引物名称	引物序列
Q*OsGAPC2*-F	CTTTCCGTGTTCCAACCGTG
Q*OsGAPC2*-R	TTGACCTGTTGTCACCCTGG
Pi63-F	AAACTGCAGCATTAGCGTAGCTACTGAGCC
Pi63-R	CTCGAACACATGGTACATGG
Actin-F	CTCAACCCCAAGGCTAACAG
Actin-R	ACCTCAGGGCATCGGAAC

利用实时荧光定量试剂盒，在QuantStudio 3实时荧光PCR系统上进行qPCR分析. 所有反应统一选用*Actin*为内参基因（表2），扩增体系见表3，每个反应进行3次重复. qPCR程序为：95 ℃预变性30 s，随后进行40个循环（95 ℃变性3 s，60 ℃退火30 s）.

表3　qPCR反应体系

Tab. 3　Compositions of qPCR reaction

试剂	使用量/μL
SYBR® Premix Ex Taq Ⅱ（2×）	10.0
Primer F（10 μmol/L）	0.8
Primer R（10 μmol/L）	0.8
cDNA模板	2.0
ddH_2O	6.4
Total	20.0

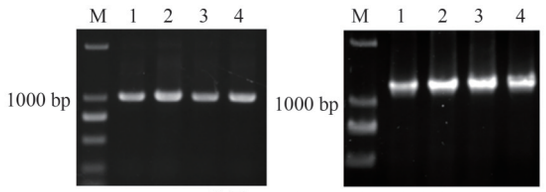
2　结果与讨论

2.1　*OsGAPC2*基因的克隆及原核表达载体构建

以水稻品种Kahei叶片的cDNA为模板，成功扩增出*OsGAPC2*基因，获得预期大小为1026 bp的片段（图1(a)）. 目的片段经双酶切后连接到线性化的pGEX-6P-1载体上，通过热激法转入大肠杆菌BL2菌株中. 使用pGEX-6p-1载体引物进行菌落PCR检测，获得预期大小约1200 bp的片段（图1(b)）. 活化菌液后送公司测序，结果显示序列与*OsGAPC2*完全匹配.

2.2　OsGAPC2的生物信息学分析

*OsGAPC2*全长1381 bp，开放阅读框为1013 bp，编码337个氨基酸. 通过Prot Param网站（http://web.expasy.org/protparam/）分析，OsGAPC2蛋白分子量为36.77 kDa，等电点为6.34，脂溶性指数为86.74，亲水



(a) *OsGAPC2*基因 (b) *E. coli* BL21/pGEX-6P-OsGAPC2

M: DL2000 1-4: *OsGAPC2*扩增产物; 1-4: pGEX-6P-OsGAPC2菌落PCR扩增产物.

图1 *OsGAPC2*基因和pGEX-6P-*OsGAPC2*重组载体PCR扩增产物

Fig. 1 PCR amplification of *OSGAPC2* gene and pGEX-6P-*OsGAPC2* vector

性平均值(GRAVY)为-0.154,不稳定系数22.60,属于稳定蛋白,不含信号肽.

通过SWISS-MODEL网站(https://swissmodel.expasy.org/)预测OsGAPC2蛋白三维结构,结果表明OsGAPC2是一个具有相同或相似亚基的四聚体,其中亚基与三个对称轴相关,并且每个亚基上都有一个核苷酸结合功能域(图2).

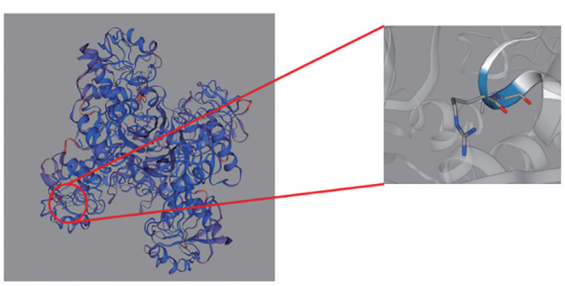


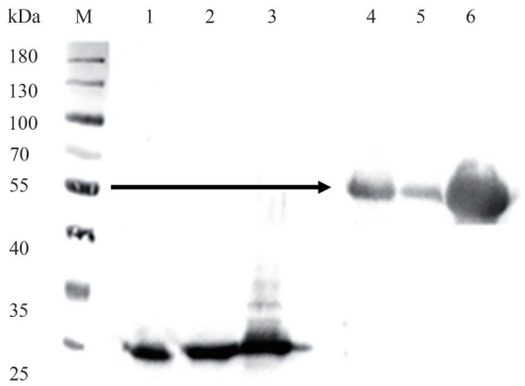
图2 OsGAPC2蛋白三维结构预测

Fig. 2 Three-dimensional structure prediction of OsGAPC2 protein

2.3 重组质粒pGEX-6P-*OsGAPC2*的诱导表达及纯化

GST-OsGAPC2蛋白在0.8 mM IPTG,16 ℃条件诱导表达12 h. 免疫印记结果表明,在60 kDa左右位置处出现明显目的蛋白条带,与预期的GST-OsGAPC2蛋白大小一致(图3). 实验表明,GST-OsGAPC2主要以包涵体的形式表达,但是上清液中也有少量表达.

为了得到纯化蛋白,采用GST-tag Purification

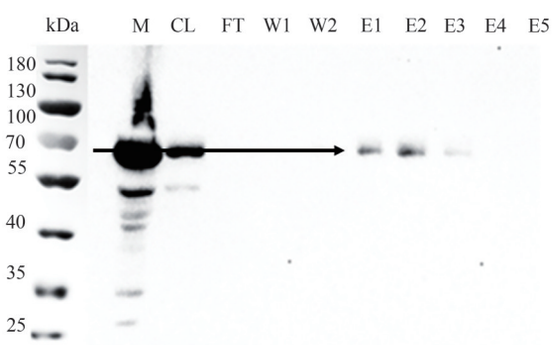


M: Marker; 1:pGEX-6P-1空载混合样; 2:pGEX-6P-1空载上清样; 3:pGEX-6P-1空载沉淀样;4:pGEX-6P-*OsGAPC2*混合样; 5:pGEX-6P-*OsGAPC2*上清样; 6:pGEX-6P-*OsGAPC2*沉淀样.

图3 GST-OsGAPC2蛋白原核表达的Western blot检测

Fig. 3 Western blot detection of prokaryotic expression of GST-OsGAPC2

Resin进行层析洗脱纯化,洗脱检测结果见图4,表明已成功获得高纯度的GST-OsGAPC2标签融合蛋白,可用于后续EMSA实验.



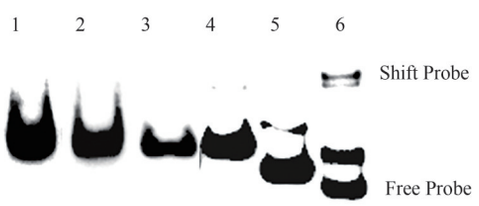
M: Marker; CL:pGEX-6P-*OsGAPC2*未纯化样品; FT:pGEX-6P-*OsGAPC2*流出液;W1-W2:PBS洗涤液; E1-E5:洗脱液1-5

图4 GST-OsGAPC2蛋白纯化的Western blot检测

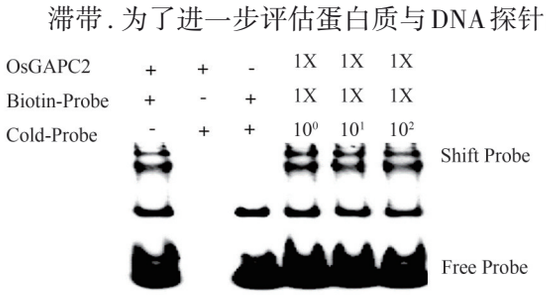
Fig. 4 Western blot detection of purified GST-OsGAPC2

2.4 OsGAPC2体外结合*Pi63*启动子分析

根据*Pi63*启动子序列上的顺式作用元件的分析,按照位置顺序设计了6对DNA探针,利用高纯度OsGAPC2蛋白与6条探针进行EMSA实验,结果如图5(a)所示,OsGAPC2与6号DNA探针产生了阻滞带. 为了进一步评估蛋白质与DNA探针的结合特



(a) OsGAPC2与6条*Pi63*启动子探针的互作



(b) OsGAPC2与*Pi63*启动子6号探针的互作

图5 OsGAPC2与*Pi63*启动子探针互作的EMSA验证

Fig. 5 EMSA detection verification of the interaction between OsGAPC2 and *Pi63* promoter probe

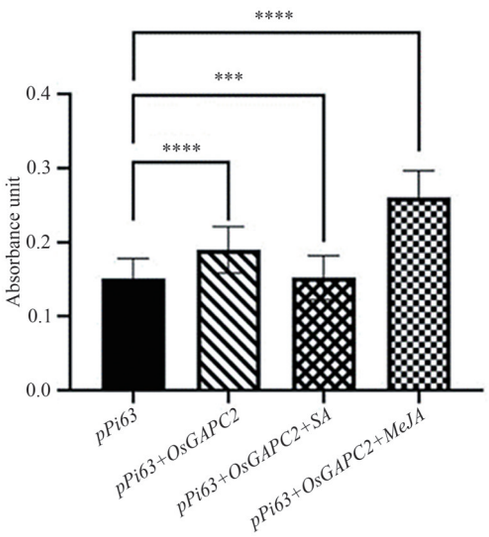
异性，利用不同冷热探针浓度比与OsGAPC2进行竞争结合．如图5(b)所示，随着冷探针浓度的上升，OsGAPC2与6号探针发生的阻滞现象也有所下降，证明了OsGAPC2作为转录因子与稻瘟病抗性基因*Pi63*启动子序列结合的特异性．

2.5　OsGAPC2与*Pi63*启动子的荧光素酶活实验

为确定转录因子OsGAPC2对*Pi63*启动子区域的影响，进行了启动子活性检测实验．由于水杨酸(salicylic acid，SA)、茉莉酸甲酯(jasmonic acid methyl ester，MeJA)相关信号途径与水稻抗稻瘟病密切相关，因此增加了SA和MeJA处理的实验组．根据图6所示，OsGAPC2在SA处理及无激素处理下对*Pi63*启动子几乎没有影响，但在MeJA处理下能显著提高*Pi63*启动子的活性．这暗示着OsGAPC2极有可能通过参与MeJA通路影响*Pi63*的调控．

2.6　稻瘟病菌侵染前后*Pi63*和*OsGAPC2*的mRNA表达量检测

对接种前后四叶期*Pi63*转基因植株中*Pi63*和*OsGAPC2*的mRNA表达量进行qPCR检测．如图7(a)所示，*Pi63*的转录水平在接种后12 h开始上调，随后至接种24 h虽略有下降，之后逐步上调并在48 h达到峰值．72 h下调后96 h又有所升高，随即又下调至第120小时达到接种前的4.97倍．而

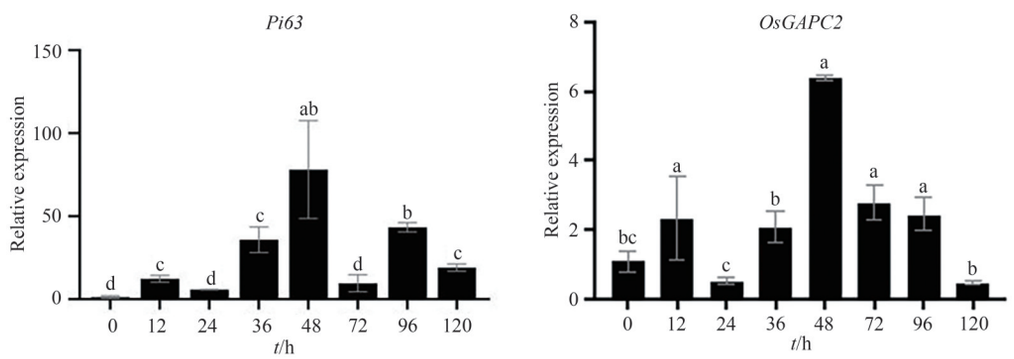


星号表示有统计学意义的差异，***P<0.001；****P<0.001.

图6　OsGAPC2与*Pi63*启动子的荧光素酶活实验

Fig. 6　Luciferase activity assay of OsGAPC2 and *Pi63* promoter

*OsGAPC2*的mRNA表达量也呈现出在12 h、48 h上调的趋势，并同样在48 h达到峰值，72 h，96 h也有较高的表达量，如图7(b)所示．与*Pi63*相比，*OsGAPC2*的mRNA表达量与*Pi63*的表达量在24 h到72 h的变化趋势基本是一致，且在48 h达到最高值，表明OsGAPC2可能在调控*Pi63*表达量变化中发挥作用．



(a) 接种前后*Pi63*基因的表达量　　(b) 接种前后*OsGAPC2*基因的表达量

上方不同的小写字母表示P<0.05处的统计差异．

图7　接种前后*Pi63*基因和*OsGAPC2*基因的mRNA表达量

Fig. 7　mRNA expression level of *Pi63* and *OsGAPC2* genes before and after inoculation

3　讨论

3.1　OsGAPC2可作为转录因子参与*Pi63*的表达调控

在以往的研究中，GAPDH被认为是管家基因，仅作为糖酵解途径的关键酶．在高等植物中，GAPDH主要分为四类：NP-GAPDH、GAPC、GAPA/B、GAPCp．随着研究的深入，发现其是一种更为复杂的多功能蛋白质．研究表明，在水稻原生质体中，OsGAPC1/GAPC2/GAPC5能够结合并激活糖酵解酶相关基因启动子，直接调控一系列糖酵解酶基因的转录激活功能[14]；同时GAPDH还可作为一种转录激活子或转录抑制子参与ABA信号转导网络，抑制SA信号途径并激活GA信号途径[15]．此外，已有研究表明*OsGAPC2* mRNA在响应稻瘟病感染时其表达

量会提高[16],进一步说明了OsGAPC2在水稻抗稻瘟病过程中发挥了重要作用.

本研究首次在体外检测到OsGAPC2能与稻瘟病抗性基因*Pi63*启动子发生特异性结合.推测这一现象可能是因为使用谷胱甘肽(GSH)对OsGAPC2蛋白进行了处理,避免了氧化胁迫等因素对其半胱氨酸残基造成损伤,同时也揭示了OsGAPC2具有转录因子的功能.

3.2 OsGAPC2可能通过MeJA通路正向调控*Pi63*的表达

已有研究发现,植物激素调控的免疫信号传递是植物基础抗性的重要组成部分.当水稻受到稻瘟病菌侵染时,SA和MeJA可以诱导植物体内相关防御基因的表达[17-19].在本研究中,将带有*Pi63*启动子和*OsGAPC2*的载体共转至水稻原生质体中,发现OsGAPC2在SA处理和无激素处理下对*Pi63*启动子几乎没有影响,但在MeJA处理下能显著提高*Pi63*启动子的活性.这暗示OsGAPC2可能通过MeJA通路调控稻瘟病抗性基因*Pi63*的启动子活性.

此外,在稻瘟病菌侵染前后,*OsGAPC2*与*Pi63*的mRNA表达量在24~72 h的变化趋势一致,且二者均在第48小时达到峰值.*Pi63*和*OsGAPC2*的mRNA表达量呈正相关,这表明转录因子OsGAPC2可能正向调控*Pi63*的表达,从而发挥其抗稻瘟病功能.

3.3 展望

根据*Pi63*启动子序列设计的多条探针中,转录因子OsGAPC2仅与6号探针发生阻滞现象.6号探针位于*Pi63*启动子序列-1586 bp~-1852 bp区间,其中包含多个顺式作用元件,如W-box、AAGAA-motif(GTAAAGAAA)、MRE(AACCTAA)和一些未命名元件(GCTGCCCGTC、CTCC)等[20].后续研究可考虑设计相应元件重复串联探针与GAPC2进行EMSA实验,以进一步探究其具体的结合位点,探究转录因子OsGAPC2调控水稻稻瘟病抗性的分子机制.

参 考 文 献

[1] Zhai K, Liang D, Li H, et al. NLRs guard metabolism to coordinate pattern- and effector-triggered immunity [J]. Nature, 2022, 601: 245-251.

[2] 李晓华, 冯喆, 黄粤, 等. 具有抗稻瘟病菌活性的ⅡW1菌株的分离鉴定及其接合转移方法的建立[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2020, 39(3): 240-244.

[3] 李伟康,董岩,韩旭晨,等.鄂西南地区稻瘟病菌群体交配型和育性分析[J].中南民族大学学报(自然科学版),2025,44(4):484-489.

[4] Xiao N, Wu Y, Zhang X, et al. *Pijx* confers broad-spectrum seedling and panicle blast resistance by promoting the degradation of ATP β subunit and OsRbohC-mediated ROS burst in rice [J]. Molecular Plant, 2023, 16(11): 1832-1846.

[5] Wang Y, Yue J, Yang N, et al. An ERAD-related ubiquitin-conjugating enzyme boosts broad-spectrum disease resistance and yield in rice [J]. Nature Food, 2023, 4: 774-787.

[6] Yang X M, Zhao J H, Xiong X Y, et al. Broad-spectrum resistance gene *RPW8.1* balances immunity and growth *via* feedback regulation of WRKYs [J]. Plant Biotechnology Journal, 2024, 22(1): 116-130.

[7] Xu X, Chen H, Fujimura T, et al. Fine mapping of a strong QTL of field resistance against rice blast, *Pikahei-1(t)*, from upland rice Kahei, utilizing a novel resistance evaluation system in the greenhouse [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 117(6): 997-1008.

[8] Xu X, Hayashi N, Wang C T, et al. Rice blast resistance gene *Pikahei-1(t)*, a member of a resistance gene cluster on chromosome 4, encodes a nucleotide-binding site and leucine-rich repeat protein [J]. Molecular Breeding, 2014, 34(2): 691-700.

[9] Liu T, Fang H, Liu J, et al. Cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases play crucial roles in controlling cold-induced sweetening and apical dominance of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers [J]. Plant, Cell & Environment, 2017, 40(12): 3043-3054.

[10] Zaffagnini M, Fermani S, Costa A, et al. Plant cytoplasmic GAPDH: Redox post-translational modifications and moonlighting properties [J]. Frontiers in Plant Science, 2013, 4: 450.

[11] Tsuji K, Yoon K S, Ogo S. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Citrobacter* sp. S-77 is post-translationally modified by CoA (protein CoAlation) under oxidative stress[J]. Febs Open Bio, 2019, 9(1): 53-73.

[12] Imber M, Huyen N T T, Pietrzyk-Brzezinska A J, et al. Protein *S*-bacillithiolation functions in thiol protection and redox regulation of the glyceraldehyde-3-phosphate

dehydrogenase gap in *Staphylococcus aureus* under hypochlorite stress[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2018, 28(6): 410-430.

[13] Han S, Wang Y, Zheng X, et al. Cytoplastic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases interact with ATG3 to negatively regulate autophagy and immunity in *Nicotiana benthamiana*[J]. The Plant Cell, 2015, 27(4): 1316-1331.

[14] Zhang H, Zhao Y, Zhou D X. Rice NAD^+-dependent histone deacetylase OsSRT1 represses glycolysis and regulates the moonlighting function of GAPDH as a transcriptional activator of glycolytic genes[J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45(21): 12241-12255.

[15] Barber R D, Harmer D W, Coleman R A, et al. GAPDH as a housekeeping gene: Analysis of GAPDH mRNA expression in a panel of 72 human tissues[J]. Physiological Genomics, 2005, 21(3): 389-395.

[16] Scheibe R, Backhausen J E, Emmerlich V, et al. Strategies to maintain redox homeostasis during photosynthesis under changing conditions[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(416): 1481-1489.

[17] 徐鑫，姜伟高，梁华兵，等. 稻瘟病抗性基因*Pita-2*的克隆及其介导的防御相关基因表达分析[J]. 中南民族大学学报(自然科学版)，2021，40(1)：26-31.

[18] Zeng W, Zhang Y, Tian X, et al. Increased cytoplasmic Mg^{2+} level contributes to rice salicylic acid accumulation and broad-spectrum resistance[J]. Plant Physiology, 2024, 195(4): 2515-2519.

[19] Gao M, He Y, Yin X, et al. Ca^{2+} sensor-mediated ROS scavenging suppresses rice immunity and is exploited by a fungal effector[J]. Cell, 2021, 184(21): 5391-5404.

[20] 梁华兵，王晓婉，胡晓岚，等. 水稻稻瘟病抗病基因*Pi63*顺式作用元件的载体构建[J]. 中国农学通报，2015，31(30)：220-224.

(责编&校对　姚春娜)