

陈 璨,余宁静,单新宇,等. 小麦赤霉病病情指数与毒素积累量关系探究及全基因组关联分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(22):107-114.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.22.015

小麦赤霉病病情指数与毒素积累量 关系探究及全基因组关联分析

陈 璨,余宁静,单新宇,卢 杰,张海萍,司红起,马传喜

(安徽农业大学农学院/农业部黄淮南部小麦生物学与遗传育种重点实验室,安徽合肥 230036)

摘要:小麦赤霉病是全球性的真菌病害,已严重威胁我国的粮食安全。为探明小麦赤霉病抗侵染与抗毒素积累之间的关系,挖掘调控小麦赤霉病抗性相关性状的重要位点。采用 91 份小麦品种(系)构建的自然群体为材料,种植于自然鉴定圃中,对 2020 年、2021 年 2 年的田间病情指数进行调查,用超高效液相色谱测定脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)、雪腐镰刀菌烯醇(NIV)含量。对 2 种抗性指标进行相关性分析。结果表明,赤霉病病情指数与毒素积累量之间具有一定的相关性,又有各自的遗传特征。利用小麦 90K SNP 芯片,结合 MLM + K + Q 混合线性模型进行全基因组关联分析,共关联到 128 个显著单核苷酸多态性(SNP)标记($P \leq 0.001$),分布在除 1D、4D 外的 19 条染色体上,其中 2 个及 2 个以上环境中被检测到的稳定位点有 11 个。仅与毒素稳定关联的位点有 6 个,分别位于 1A、4A、6A、6B、6D 染色体上,可解释 11.96% ~ 30.50% 的表型变异。与毒素和病情指数都稳定关联的位点有 4 个,分别位于 2A、2B、4B、5D 染色体上,可解释 12.21% ~ 34.11% 的表型变异。基于中国春参考基因组信息,通过对应区段的基因注释,筛选得到 15 个与小麦赤霉病抗性相关的候选基因。

关键词:小麦;赤霉病;病情指数;毒素积累;全基因组关联分析

中图分类号:S435.121.4⁺5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)22-0107-07

小麦赤霉病(*Fusarium head blight*, 简称 FHB)在我国乃至世界各地普遍发生,是温暖湿润和半湿润麦区的重要病害之一。在大流行年份,赤霉病病穗率为 50% ~ 100%,产量损失超过 80%,甚至绝收^[1]。赤霉病主要是由禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)侵染引起的真菌性病害,镰刀菌侵染小麦后,不仅严重影响了小麦的品质和产量,其产生的各种真菌毒素,雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol,简称 NIV)和脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol,简称 DON)等难以降解,会使小麦籽粒及其加工制品受到污染,进入食物链对人畜健康造成危害。

收稿日期:2021-12-23

基金项目:国家小麦产业技术体系建设专项(编号:CARS-03);国家重点研发计划(编号:2017YFD0100804);安徽高校协同创新项目(编号:GXXT-2019-033);江苏现代作物协同创新中心项目(编号:JCIC-MCP)。

作者简介:陈 璨(1988—),女,安徽宿州人,博士,讲师,从事小麦遗传育种研究,E-mail:Chencan@ahau.edu.cn;共同第一作者:余宁静,女,安徽宣城人,硕士研究生,从事小麦抗赤霉病遗传研究,E-mail:853491380@qq.com。

通信作者:司红起,博士,教授,从事小麦分子育种研究,E-mail:sihq2002@163.com;马传喜,博士,教授,从事小麦遗传育种研究,E-mail:machuanxi@ahau.edu.cn。

Schroeder 等首次将小麦赤霉病抗性分为抗侵染(Type I)和抗扩展(Type II)2 类^[2];Mesterhazy 等在此基础上提出了 3 种新抗性类型,分别为抗毒素积累(Type III)、籽粒抗感染性(Type IV)和耐病性(Type V)^[3]。Type I 型体现小麦抵抗病原菌初侵染的能力,一般采用自然发病或孢子弥雾接种条件下的病穗率或病情指数(disease index,简称 DI)表示;Type II 型指小麦抵御病原菌沿穗轴扩展的能力,一般在小麦扬花期采用人工单花滴注接种下的病小穗率为指标;Type III 型抗性指小麦抑制毒素积累或降解真菌毒素的能力,一般用籽粒中毒素积累量进行评估;Type IV 型可以用感病籽粒的比例进行衡量;Type V 型利用在一定发病程度下的小麦产量损失进行评价^[4]。

全基因组关联分析(genome wide association study,简称 GWAS)是以连锁不平衡(linkage disequilibrium,简称 LD)为基础,以自然群体为研究对象,通过目标性状与分子标记之间的关联关系,从而得到关联位点的分析方法,现已广泛应用于小麦、玉米、水稻等多种农作物当中^[5]。国内外研究者们对小麦赤霉病抗性展开了大量研究,目前已定位 400 多个数量性状基因座(quantitative trait locus,

简称 QTL), 分布在小麦的 21 条染色体上^[6]。已发现的小麦赤霉病抗病基因有 *Fhb1* ~ *Fhb7*^[7], 其中位于 3BS 染色体上的 *Fhb1* 最早在我国小麦品种苏麦 3 号中被发现, 其在各种环境和遗传背景下都较稳定, 现已在育种工作中得到广泛应用。Arruda 等对 273 份美国冬小麦品种进行 GWAS 分析, 在 4A、6A、7A、1D、4D、7D 染色体上发现了与赤霉病抗性显著关联的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, 简称 SNP) 以及多个与 *Fhb1* 关联的标记^[8]。Wang 等通过对 PNW 和 CIMMYT 地区的 170 份春小麦材料进行赤霉病综合评价, 鉴定出一些与苏麦 3 号有相似抗性的优质品系, 在 1B、2B、4B、5A、5B、6A 染色体上关联到了显著 SNP 位点, 其中位于 5BS 上的 QTL 可能是一个新的抗 DON 积累位点^[9]。朱展望通过全基因组关联分析, 在自然群体中发现 5 个较为稳定的抗赤霉病位点, 可解释 5.0% ~ 10.3% 的表型变异率, 在扬麦 16/中麦 895 群体中检测到 7 个稳定的位点, 并开发连锁标记^[10]。

5 种抗性类型遗传和作用机制各不相同, 它们协同作用可提高小麦对赤霉病的整体抗性^[11], 研究抗性类型间的关系利于更好地利用小麦的遗传抗性。绝大多小麦抗赤霉病遗传研究集中在抗扩展 (Type II) 类型, 然而应用最为广泛的抗赤霉病扩展基因 *Fhb1* 不能降低籽粒的抗毒素累积能力^[12]。小麦抗性机制复杂, 我国抗赤霉病育种实践多采用病情指数或病小穗率作为抗性鉴定指标, 但后期感染或品种的主动解毒机制会导致 DI 与毒素累积量低相关甚至无相关性。由于检测技术和成本等原因, 很多育种家们在研究小麦赤霉病抗性时并没有测量籽粒中真菌毒素的含量, 然而随着赤霉病毒素污染问题的日益严重, 我们应该加强对此类问题的重视。本研究通过对 91 份小麦品种 (系) 构建的自然群体进行田间病情指数调查, 并对籽粒中 DON、NIV 含量进行测定, 探究小麦赤霉病抗侵染和抗毒素积累之间的关系; 并结合 90K SNP 芯片, 利用全基因组关联分析获得与小麦赤霉病病情指数和毒素积累量显著关联的位点, 发掘相关候选基因, 以期小麦赤霉病分子标记辅助选择提供信息。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试小麦品种 (系) 共 91 份, 包含 66 份黄淮南片冬小麦区品种、13 份长江中下游品种、7 份西南麦

区品种、1 份北方麦区品种以及 4 份国外品种。分别于 2019—2020 年、2020—2021 年种植于安徽省合肥市郭河安徽农业大学院中试验站小麦赤霉病自然发病鉴定区。

1.2 小麦赤霉病田间病情指数调查

种植材料的乳熟中后期, 从每份小麦品种中随机选取 50 穗, 对 91 份小麦赤霉病的发病情况进行调查并统计数据结果。病情指数计算公式如下:

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{病级} \times \text{对应级别病穗数})}{\text{调查总穗数} \times 4} \times 100。$$

病情分级标准采用国家标准 GB/T 15796—2011《小麦赤霉病测报技术规范》^[13]。0 级: 无病穗; 1 级: 感病小穗占全部小穗 25% 以下; 2 级: 感病小穗占全部小穗 25% ~ 50%; 3 级: 感病小穗占全部小穗 50% ~ 75%; 4 级: 感病小穗占全部小穗 75% 以上。

1.3 超高效液相色谱 (UPLC) 法测定小麦真菌毒素

1.3.1 标准溶液的配制及样品前处理 分别取 1 mg DON 标准品、1 mg NIV 标准品, 用甲醇溶液溶解成 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准液。再分别取等量 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准液混合成 50 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准液置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。选用流动相水: 乙腈 (体积比 50 : 50) 稀释 50 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准液 10.00、8.00、5.00、2.00、1.00、0.50 $\mu\text{g/mL}$ 的混合工作液, 经 0.22 μm 有机滤膜过滤后得到标准曲线溶液。

将待测的小麦籽粒样品磨碎混匀, 称取 25.0 g 样品置于 250 mL 锥形瓶中, 加入 100 mL 乙腈: 水 (体积比 84 : 16) 混合溶剂, 35 $^{\circ}\text{C}$ 超声萃取 30 min, 静置后用定量滤纸进行过滤, 随之吸取 8 mL 滤液于试管中, 并加入 80 μL 乙酸, 经 Mycosep#226 多功能净化柱净化, 吸取 4 mL 流出液, 于 55 $^{\circ}\text{C}$ 氮吹至干。在底物中加入 1 mL 流动相 (水: 乙腈体积比 50 : 50) 溶解, 超声后过 0.22 μm 有机滤膜待上机检测。

1.3.2 色谱条件 选取的色谱条件如下: 色谱柱: C_{18} 柱, 2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μm ; 检测波长: $\lambda = 240 \text{ nm}$; 机器检测流动相为 A 相超纯水 (含 0.1% 乙酸)、B 相乙腈; 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 2 μL ; 流速: 0.2 mL/min; 梯度洗脱程序见表 1。DON、NIV 含量用安捷伦高效液相色谱自带工作站分析, 根据保留时间定性, 用峰面积外标法定量, 最终结果取重复测量 3 次后的平均值。

1.4 表型数据统计、群体结构与关联分析

表型数据采用 SPSS 24.0 及 Excel 2019 进行相

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	乙腈浓度 (%)
0	5
3	5
4	10
9	10
10	92
16	92
17	50
18	10

关统计分析,用 R 语言计算 3 种性状的广义遗传力 (h^2),计算公式为 $h^2 = \sigma g^2 / (\sigma g^2 + \sigma e^2)$ [14], 其中: σg^2 表示遗传方差, σe^2 表示环境方差。利用 90K SNP 芯片对 91 份小麦品种进行基因型分型,去除缺失率 > 15%,最小等位基因频率 < 5% 的 SNP 标记。

用 Structure 2.3.4 软件对 91 份小麦材料进行群体结构分析,设置模拟迭代循环次数为 50 000,运行迭代参数为 100 000,群体参数 K 为 1 ~ 11,每个 K 独立运行 6 次,选取最大 ΔK 对应的 K 值作为最佳

亚群数量。

用 Tassel 5.0 软件中的混合线性模型 (mixed linear model, 简称 MLM), 以群体结构分析后的 Q 值和亲缘关系 K 值作为协变量,结合相关的表型数据和 SNP 位点的基因型数据进行关联分析,在一定程度上控制遗传背景的影响,避免产生假阳性。当标记的 $-\lg P > 3$, 即 $P < 0.001$ 时认为性状与标记存在显著关联。

2 结果与分析

2.1 表型数据分析

由 91 份小麦品种 (系) 的表型数据统计分析结果 (图 1、表 2) 可知,病情指数变幅为 2.0 ~ 90.5, DON 含量范围为 34.0 ~ 2 997.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, NIV 含量范围为 48.0 ~ 1 293.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 变异系数范围为 23.07% ~ 69.31%, 说明该自然群体的性状变异范围广,选择潜力较大,赤霉病抗性在不同小麦品种中差异显著。广义遗传力结果表明,3 个性状的遗传力均大于 60%, 表明赤霉病抗性受遗传变异的影响较大,环境对其影响较小。

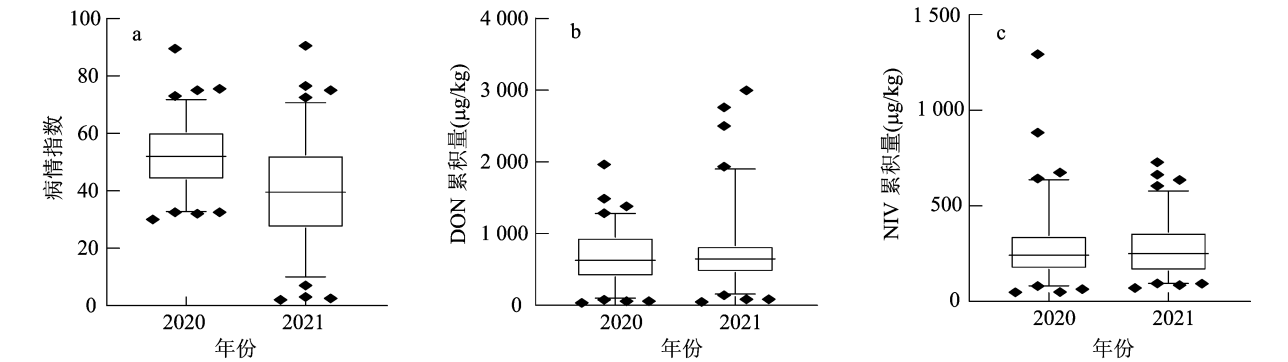


图1 2 年病情指数(a)、DON 毒素累积量(b)和 NIV 毒素累积量(c)箱线图

表 2 表型数据基本统计信息

项目	DI		DON 含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)		NIV 含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	2020 年	2021 年	2020 年	2021 年	2020 年	2021 年
平均值	52.02	40.21	669.36	727.36	293.78	282.10
标准差	12.00	17.96	374.66	504.16	198.63	149.64
范围	30.00 ~ 89.50	2.00 ~ 90.50	34.00 ~ 1 964.00	49.86 ~ 2 997.65	48.00 ~ 1 293.50	70.36 ~ 727.76
变异系数 (%)	23.07	44.67	55.97	69.31	67.61	53.05
广义遗传力	0.62		0.89		0.95	

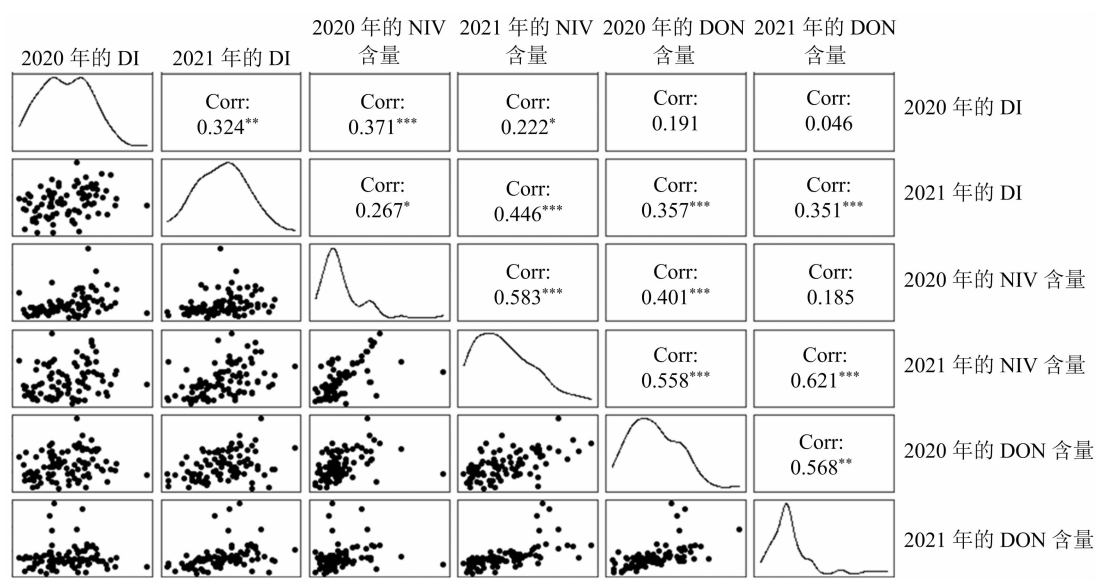
2.2 不同抗性指标的相关性分析

病情指数和籽粒中 DON、NIV 含量分别作为品种籽粒抗侵染和抗毒素积累的指标。通过对 2 年内

小麦病情指数和 DON、NIV 含量的相关性分析 (图 2) 可知,在毒素积累量上,NIV 含量与 DON 含量呈显著正相关。在毒素含量和病情指数的关系中,

2020 年的 DON 含量与病情指数没有显著的相关性,2021 年的 DON 含量与病情指数呈显著正相关。2 年的 NIV 含量与病情指数均呈显著正相关。在病情指数相同的情况下,毒素含量可能不同,病情指数高的品种,毒素含量却不一定高,如 Glenlen、皖

52、川麦 42 等。毒素含量高的品种,病情指数可能不高,如荔高 6 号、皖麦 38 等。综上表明,赤霉病病情指数与毒素含量之间存在一定的相关性,具有各自的遗传特征。



*、**、*** 分别表示在 0.05、0.01、0.001 水平上显著相关

图2 不同抗性指标的相关性分析结果

2.3 标记分布与群体结构分析

分型质控后的 21 968 个 SNP 标记分布在小麦的 21 条染色体上。标记在 A、B、D 基因组间分布不均匀,其中 B 基因组的标记数最多,占总标记数的 44.10%,D 基因组的标记数最少,占总标记数的 16.85%。物理图谱总长度为 14 043.9 Mb,标记密度为 0.639 Mb/marker。群体结构分析结果使用 Structure Harvest 在线工具进行计算,当 K=2 时,运行结果最接近真实值,即这 91 份种质材料可大致被分为 2 个亚群,群体结构较为简单。

2.4 全基因组关联分析

将 91 份供试小麦材料的病情指数、DON 含量和 NIV 含量与 21 968 个 SNP 标记进行全基因组关联分析(图 3),在 $P < 0.001$ 时,认为该位置的标记与性状存在显著关联。GWAS 结果共检测到 128 个显著 SNP 标记,分布在除 1D、4D 外的 19 条染色体上。其中,检测到与病情指数显著关联的标记有 30 个,可解释 11.32% ~ 18.90% 的表型变异。与 DON 积累量显著关联的标记共 56 个,可解释 11.89% ~ 22.29% 的表型变异。与 NIV 显著关联的标记有 42 个,表型变异贡献率为

13.03% ~ 34.11%。将在物理图谱上前后 3 Mb 区间内的标记认为 1 个候选位点,在 2 个及以上环境中关联到的稳定位点有 11 个(表 3),其中仅与毒素稳定关联的位点有 6 个,分别在 1A、4A、6A、6B、6D 染色体上,可解释 11.96% ~ 30.50% 的表型变异。与毒素和病情指数都稳定关联的位点有 4 个,分别位于 2A、2B、4B、5D 染色体上,可解释 12.21% ~ 34.11% 的表型变异。

2.5 候选基因预测

参考中国春小麦品种的基因组信息,对稳定的位点对应区段内基因进行分析,结合相关生物信息挖掘候选基因。通过对应的区段基因注释,筛选得到 15 个与小麦赤霉病抗性相关的候选基因(表 4)。其中 *TraesCS2A01G633200LC* 和 *TraesCS6D01G380900* 编码谷胱甘肽 S - 转移酶 T3 (glutathione S - transferase T3),*TraesCS2A01G474700* 等 3 个基因编码糖基转移酶 (glycosyltransferase),*TraesCS2A01G476500* 等 5 个基因编码病程相关蛋白 (pathogenesis - related protein 1, 简称 PR1),*TraesCS2B01G040000* 编码 12 - 氧代植物二烯酸还原酶 (12 - oxophytodienoate reductase - like protein),

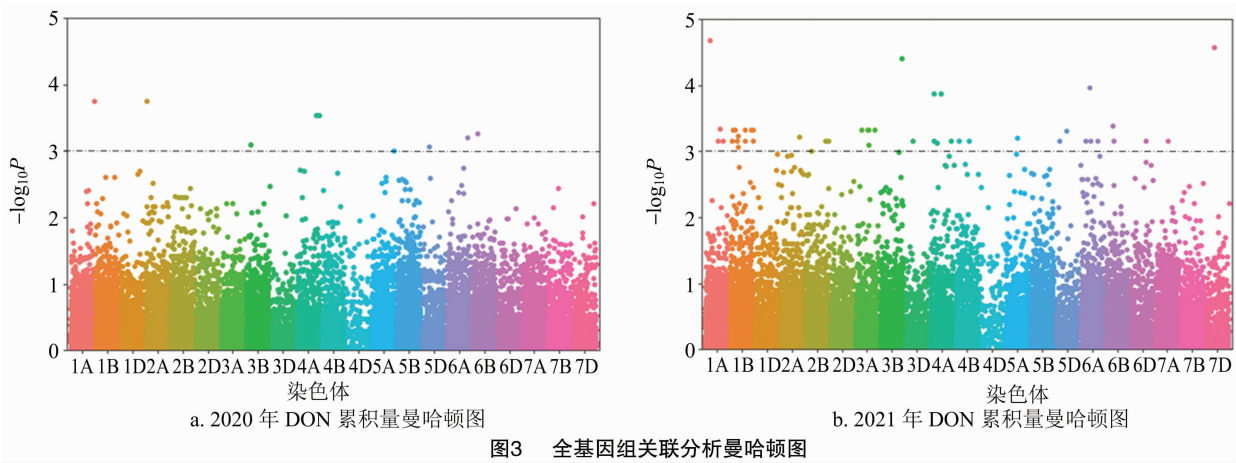


图3 全基因组关联分析曼哈顿图

表 3 稳定关联的位点信息

位点	染色体	物理位置 (Mb)	MLM		环境
			P 值	R ² (%)	
<i>QFhb. ahau - 1A - 1</i>	1A	570.36 ~ 571.27	$1.01 \times 10^{-7} \sim 7.02 \times 10^{-4}$	11.96 ~ 30.50	2020NIV, 2021DON
<i>QFhb. ahau - 1A - 2</i>	1A	589.79 ~ 590.34	$2.13 \times 10^{-5} \sim 4.64 \times 10^{-4}$	15.42 ~ 18.44	2020DON, 2021DON
<i>QFhb. ahau - 2A</i>	2A	715.30 ~ 717.94	$1.24 \times 10^{-4} \sim 1.75 \times 10^{-4}$	18.90 ~ 20.94	2020DI, 2020DON, 2020NIV
<i>QFhb. ahau - 2B</i>	2B	17.56 ~ 18.39	$3.33 \times 10^{-4} \sim 7.62 \times 10^{-4}$	12.21 ~ 18.40	2020DI, 2020NIV
<i>QFhb. ahau - 2D</i>	2D	577.08 ~ 577.10	$3.61 \times 10^{-4} \sim 3.66 \times 10^{-4}$	16.82 ~ 17.47	2020DI, 2021DI
<i>QFhb. ahau - 4A</i>	4A	599.84	$1.33 \times 10^{-4} \sim 2.87 \times 10^{-4}$	17.37 ~ 18.00	2020DON, 2021DON
<i>QFhb. ahau - 4B</i>	4B	18.16 ~ 18.66	$1.64 \times 10^{-7} \sim 3.02 \times 10^{-4}$	13.64 ~ 34.11	2020NIV, 2021DI
<i>QFhb. ahau - 5D</i>	5D	491.00	$4.87 \times 10^{-4} \sim 8.69 \times 10^{-4}$	13.64 ~ 34.11	2020NIV, 2021DI
<i>QFhb. ahau - 6A</i>	6A	603.14	$1.10 \times 10^{-4} \sim 6.32 \times 10^{-4}$	15.84 ~ 18.35	2020DON, 2021DON
<i>QFhb. ahau - 6B</i>	6B	716.01	$4.07 \times 10^{-4} \sim 5.49 \times 10^{-4}$	18.07 ~ 18.12	2020DON, 2021DON
<i>QFhb. ahau - 6D</i>	6D	461.32 ~ 462.63	$7.02 \times 10^{-4} \sim 8.26 \times 10^{-4}$	11.96 ~ 16.50	2020NIV, 2021DON

表 4 筛选获得的与小麦赤霉病抗性相关的候选基因信息

QTL	物理位置 (Mb)	基因	基因注释或编码蛋白
<i>QFhb. ahau - 2A</i>	715.779 117	<i>TraesCS2A01G633200LC</i>	glutathione S - transferase T3
	715.806 792	<i>TraesCS2A01G474700</i>	glycosyltransferase
	716.248 081	<i>TraesCS2A01G476500</i>	pathogenesis - related protein 1
	716.253 044	<i>TraesCS2A01G476600</i>	pathogenesis - related protein 1
	716.301 587	<i>TraesCS2A01G476700</i>	pathogenesis - related protein 1
	716.341 355	<i>TraesCS2A01G476800</i>	pathogenesis - related protein 1
	716.393 837	<i>TraesCS2A01G476900</i>	pathogenesis - related protein 1
	716.424 886	<i>TraesCS2A01G477000</i>	pathogenesis - related protein 1
	717.200 294	<i>TraesCS2A01G478700</i>	glycosyltransferase
	717.252 840	<i>TraesCS2A01G478900</i>	glycosyltransferase
<i>QFhb. ahau - 2B</i>	18.177 342	<i>TraesCS2B01G040000</i>	12 - oxophytodienoate reductase - like protein
	18.319 493	<i>TraesCS2B01G040500</i>	glycosyltransferase
<i>QFhb. ahau - 6D</i>	461.509 616	<i>TraesCS6D01G380900</i>	glutathione S - transferase T3
	462.404 899	<i>TraesCS6D01G383000</i>	glucan endo - 1,3 - beta - glucosidase, putative
	462.529 447	<i>TraesCS6D01G383700</i>	receptor - like kinase

注: 物理位置和基因注释参考 IWCSC RefSeq annotation v1.0。

TraesCS6D01G383000 编码葡聚糖内切-1,3- β -葡萄糖苷酶 (glucan endo-1,3-beta-glucosidase), *TraesCS6D01G383700* 编码受体激酶蛋白 (receptor-like kinase, 简称 RLK)。

3 讨论与结论

近年来,受秸秆还田、轮作制度和极端天气影响,赤霉病对我国小麦主产区的威胁逐渐北移。小麦赤霉病的发生不仅影响其产量和品质,一旦毒素累积量超标丧失商品价值等于绝收,严重威胁人民生命健康和国家粮食安全。抗毒素积累在很多欧美国家的小麦赤霉病育种中越发受到重视,在加拿大用于评估赤霉病抗性品种的公式中,DON 含量已经占据了最高的权重^[15],然而在我国还没有引起足够的重视。小麦的病情指数与籽粒毒素累积量分别是抗扩展 (Type II) 和抗毒素累积 (Type III) 抗性的评价指标,本研究结果表明二者存在一定的相关性,但又有各自的遗传特征。徐飞等的研究表明,不同小麦品种的平均病害严重度与籽粒中毒素含量存在极显著正相关^[16]。陈怀谷等研究认为,病小穗率和毒素含量具有一定的相关性,但在不同年度间表现不同,也初步证明二者可能不是由同种基因所控制的^[17]。巩性涛等发现,小麦中赤霉病粒含量和 DON 含量不存在完全对应的线性关系,不能以赤霉病粒含量的多少来预测籽粒中 DON 含量^[18]。在我国的西北地区气候干燥,赤霉病很少发生,但 2018 年的一项调查表明,在这些地区 82.9% 的小麦样品被 DON 污染,平均浓度为 0.5 mg/kg,10% 的样品 DON 含量高于我国规定的限量值^[19]。有些小麦的毒素含量高可能是存在晚期感染的可能性,有研究表明,晚期感染通常不会引起明显的赤霉病症状,但会导致 DON 的高积累量^[20]。

小麦的基因组较为庞大,以往关联分析多采用简单重复序列 (SSR) 标记,随着高通量测序技术的发展,SNP 标记的分布更广且定位精度较好,逐渐成为 QTL 定位的主流。本研究将亲缘关系纳入到混合线性模型中,采用 MLM + Q + K 相结合的方法,即使群体的数量不大,也可以表现出较好的关联能力,增加了关联结果的准确性。小麦赤霉病抗性由主效基因和微效基因共同控制,是极为复杂的数量性状。本研究在 2 年间定位到的位点不完全一致,可能存在环境条件的影响,一些抗性基因在特定的情况下能够表达,同时还会受到关联群体大小、分

子标记密度等多种因素影响。本研究中,关于病情指数共检测到 30 个显著相关的 SNP 位点,其中 2D 染色体上的 *QFhb. ahau - 2D* 在 2 年被重复检测到,且表型贡献率达 16.82% ~ 17.47%;关于 DON 累积量的显著关联位点 56 个,其中 *QFhb. ahau - 1A - 2*、*QFhb. ahau - 4A*、*QFhb. ahau - 6A* 和 *QFhb. ahau - 6B* 位点在 2 年中均被检测到。Semagn 等在染色体 1AL、1BL、6BS 和 7AL 上发现了与赤霉病抗性相关的 QTL,同时还可以减少 DON 的含量,其中 1AL 上的标记位置与本研究的 *QFhb. ahau - 1A - 1* 位置较为接近^[21]。*Fhb. ahau - 2A* 在 3 个性状中都能关联到,与郑彤整理的高置信度一致性数量性状位点 (meta quantitative trait loci, 简称 MQTL) 区间 *hcMQTL - 12* 属同一位置^[22],且该位点也与 Type II 和 Type III 抗性关联。He 等在 3BL 和 3DL 染色体上发现了 2 个对减少 DON 含量有显著作用的 QTL^[15],前者对 Type II 和 Type IV 型抗性影响较小,后者则没有影响;虽然全球范围内关于赤霉病抗性 QTL 的研究较多,但由于试验材料和研究方法的不同,共同定位的标记较少且不稳定,因此挖掘和鉴定 QTL 在目前的条件下仍然是必要的。

本研究根据中国春参考基因组注释信息,预测了稳定关联位点区段内的候选基因。其中 *TraesCS2A01G633200LC* 和 *TraesCS6D01G380900* 编码谷胱甘肽 S-转移酶 T3,它在生物体的防御机制中具有解毒的功效^[23]。*Fhb7* 编码的蛋白能使 DON 的环氧基团打开,并催化其形成谷胱甘肽加合物 (DON - GSH),从而产生解毒效应^[24-25]。编码糖基转移酶的 *TraesCS2A01G474700* 等 3 个基因可能在毒素解毒和赤霉病抗性中发挥关键作用^[26]。Li 等研究发现,在大麦中表达的 UDP-葡萄糖基转移酶 *HvUGT13248* 当在转基因小麦中表达时,可以使 DON、NIV 解毒且明显提高了 NIV 的抗性,提出可以将该基因作为抗赤霉病的候选基因^[27]。*TraesCS2B01G040000* 编码的 12-氧代植物二烯酸还原酶可能参与信号分子氧化脂质的合成与代谢。植物氧化脂质中的茉莉酸对禾谷镰刀菌的生长有抑制作用,其启动相应的防卫反应,从而提高小麦赤霉病抗性^[28]。*TraesCS6D01G383700* 编码受体激酶蛋白,在识别病原体相关分子模式和调节植物入侵真菌的免疫反应 (包括谷物对真菌疾病的防御) 中发挥重要作用,据报道可以响应 DON 以及抗赤霉病扩展^[29]。*TraesCS2A01G476500* 等基因编码病程

相关蛋白 PR1, *AtNPR1* 在易感病小麦中表达时, 调节系统获得抗性的激活, 可以提高小麦抗赤霉病扩展能力^[30]。 *TraesCS6D01G383000* 编码的葡聚糖内切-1,3- β -葡萄糖苷酶在温室和大田条件下均能增强小麦对赤霉病的抗性并减少 DON 积累量^[31]。防卫素以及其他一些富含半胱氨酸的蛋白可以与脂质和鞘脂互相作用, 破坏真菌的细胞膜^[32], 阻止病原菌入侵。

参考文献:

- [1] Jiang D F, Chen J D, Li F H, et al. Deoxynivalenol and its acetyl derivatives in bread and biscuits in Shandong Province of China[J]. Food Additives & Contaminants; Part B, 2018, 11(1): 43–48.
- [2] Schroeder H W, Christensen J J. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae* [J]. Phytopathology, 1963, 53: 831–838.
- [3] Mesterhazy A. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat[J]. Plant Breeding, 1995, 114(5): 377–386.
- [4] 戚莉梅, 胡怡, 李磊, 等. 浅议小麦赤霉病抗性类型与鉴定方法的对应性[J]. 生物技术进展, 2021, 11(5): 554–559.
- [5] 翟俊鹏, 李海霞, 毕惠惠, 等. 普通小麦主要农艺性状的全基因组关联分析[J]. 作物学报, 2019, 45(10): 1488–1502.
- [6] Ma Z Q, Xie Q, Li G Q, et al. Germplasms, genetics and genomics for better control of disastrous wheat *Fusarium* head blight [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2020, 133(5): 1541–1568.
- [7] 王洋, 孙连发. 小麦赤霉病主要抗源抗赤霉病基因分子标记及其应用研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2008(5): 14–18.
- [8] Arruda M P, Brown P, Brown – Guedira G, et al. Genome – wide association mapping of *Fusarium* head blight resistance in wheat using genotyping – by – sequencing[J]. The Plant Genome, 2016, 9(1): 10. 3835/plantgenome2015. 04. 0028.
- [9] Wang R, Chen J L, Anderson J A, et al. Genome – wide association mapping of *Fusarium* head blight resistance in spring wheat lines developed in the Pacific northwest and CIMMYT[J]. Phytopathology, 2017, 107(12): 1486–1495.
- [10] 朱展望. 利用全基因组连锁分析和关联分析定位小麦赤霉病抗性基因及分子标记开发[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
- [11] Foroud N A. Investigating the molecular mechanisms of *Fusarium* head blight resistance in wheat[J]. University of British Columbia, 2011.
- [12] 李长成. 小麦赤霉病籽粒抗性评价体系的建立[D]. 扬州: 扬州大学, 2018.
- [13] 中华人民共和国农业部. 小麦赤霉病测报技术规范: GB/T 15796—2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [14] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study [J]. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611–2620.
- [15] He X Y, Dreisigacker S, Singh R P, et al. Genetics for low correlation between *Fusarium* head blight disease and deoxynivalenol (DON) content in a bread wheat mapping population[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132(8): 2401–2411.
- [16] 徐飞, 杨共强, 宋玉立, 等. 不同小麦品种(系)对赤霉病的抗性和麦穗组织中 DON 毒素积累分析[J]. 植物病理学报, 2014, 44(6): 651–657.
- [17] 陈怀谷, 蔡志祥, 陈飞, 等. 不同小麦品种抗赤霉病性类型和抗毒素积累能力分析[J]. 植物保护学报, 2007, 34(1): 32–36.
- [18] 巩性涛, 王培, 宋永泉, 等. 小麦中呕吐毒素的分布规律及加工影响[J]. 粮食加工, 2020, 45(1): 27–29.
- [19] Zhao Y J, Guan X L, Zong Y, et al. Deoxynivalenol in wheat from the Northwestern region in China [J]. Food Additives & Contaminants. Part B, Surveillance, 2018, 11(4): 281–285.
- [20] Del Ponte E M, Fernandes J M C, Bergstrom G C. Influence of growth stage on *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat[J]. Journal of Phytopathology, 2007, 155(10): 577–581.
- [21] Semagn K, Skinnies H, Bjørnstad Å, et al. Quantitative trait loci controlling *Fusarium* head blight resistance and low deoxynivalenol content in hexaploid wheat population from ‘Arina’ and NK93604 [J]. Crop Science, 2007, 47(1): 294–303.
- [22] 郑彤. 小麦赤霉病抗扩展性 (Type II) 和抗毒素积累 (Type III) QTL 元分析及全基因组关联分析[D]. 扬州: 扬州大学, 2020.
- [23] Hayes J D, Pulford D J. The glutathione S – transferase supergene family: regulation of *GST* and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance part I [J]. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 1995, 30(6): 445–520.
- [24] 葛文扬, 孙思龙, 王宏伟, 等. 天然“转基因”使小麦获得赤霉病抗性[J]. 自然杂志, 2020, 42(4): 340–346.
- [25] He Y, Ahmad D, Zhang X, et al. Genome – wide analysis of family – I UDP glycosyltransferases (UGT) and identification of *UGT* genes for FHB resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 67.
- [26] Zhao L F, Ma X, Su P S, et al. Cloning and characterization of a specific *UDP – glycosyltransferase* gene induced by DON and *Fusarium graminearum* [J]. Plant Cell Reports, 2018, 37(4): 641–652.
- [27] Li X, Michlmayr H, Schweiger W, et al. A barley UDP – glucosyltransferase inactivates nivalenol and provides *Fusarium* head blight resistance in transgenic wheat [J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(9): 2187–2197.
- [28] Qi P F, Balcerzak M, Rocheleau H, et al. Jasmonic acid and abscisic acid play important roles in host pathogen interaction between *Fusarium graminearum* and wheat during the early stages of fusarium head blight [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2016, 93: 39–48.
- [29] Thapa G, Gunupuru L R, Hehir J G, et al. A pathogen – responsive leucine rich receptor like kinase contributes to *Fusarium* resistance

杨 眉,田春晖,孙富余,等. 不同形态指标用于二化螟幼虫龄期划分的研究[J]. 江苏农业科学,2022,50(22):114-118.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.22.016

不同形态指标用于二化螟幼虫龄期划分的研究

杨 眉¹, 田春晖¹, 孙富余¹, 刘欣宇², 于凤泉¹

[1. 辽宁省农业科学院植物保护研究所, 辽宁沈阳 110161; 2. 中国农业大学有机循环研究院(苏州), 江苏苏州 215100]

摘要:明确二化螟幼虫的龄数及龄期的划分,可为科学防治二化螟提供理论依据。采用室内饲养法对二化螟各龄期幼虫的头壳宽度、体长、体质量及体宽进行测定,并根据频次分布图、Dyar 定律、Crosby 生长法则和回归分析判断二化螟幼虫的龄数以及用于二化螟幼虫分龄的最佳形态指标。结果显示,二化螟幼虫头壳宽度的频次分布呈现出 7 个明显的集中区域,体长、体质量及体宽的频次分布集中区域不明显;在 Crosby 指数方面,只有头壳宽度的 Crosby 指数绝对值 <0.1 ,其余指标均存在 Crosby 指数绝对值 >0.1 的现象。由此可见,二化螟幼虫共可分为 7 龄,而头壳宽度可作为二化螟幼虫分龄的最佳形态指标。

关键词:水稻;二化螟;形态指标;龄期

中图分类号:S435.112⁺.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)22-0114-05

二化螟 [*Chilo suppressalis* (Walker)] 是农业生产中的重要害虫之一,尤其对水稻及茭白的危害尤为严重。前人通过对水稻及茭白 2 种寄主二化螟种群的研究,发现两者在生物学、形态学特征上存在一定的差别^[1]。针对二化螟形态学的研究表明,二化螟不同寄主种群在头壳宽度、个体大小、体长等指标上具有一定差异^[2]。但以形态指标为依据对二化螟进行分龄的报道不多,且相关报道之间存在着较大的差异。宋慧英等于 1958 年针对二化螟幼虫进行分龄研究,认为在田间宜采用体长、体色、体线等指标对二化螟幼虫进行分龄^[3];危寅如于 1980 年利用幼虫背板作为指标对二化螟幼虫进行了分龄^[4];GB/T 15792—2009《水稻二化螟测报调查规范》选取了二化螟幼虫的头壳宽度及体长作为分龄

的指标^[5]。除此之外,另有部分学者认为,幼虫体宽等指标对二化螟幼虫龄期的划分也具有一定的指导意义^[6-7]。

由于二化螟是钻蛀性害虫,蛀入水稻茎秆之后,各项防治措施均难以生效,故精准掌握二化螟幼虫的龄期是化学防治的关键环节。Dyar 测定了 28 种鳞翅目昆虫各龄期幼虫的头壳宽度,发现幼虫头壳宽度与龄期呈指数模型关系,可用于幼虫龄期的划分^[8]。本研究通过室内饲养二化螟,获得各龄期幼虫,完成头壳宽度、体质量、体长及体宽等 4 项指标的测定,明确二化螟幼虫的龄期,探索划分二化螟幼虫虫龄的最佳形态指标,旨在为科学防治二化螟提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本研究于 2021 年在辽宁省农业科学院植物保护研究所进行。供试二化螟虫采集自辽宁省东港市新兴区土房北村水稻田,置于恒温光照培养箱中用水稻植株继代饲养,温度设定为 28 ℃,每日光照时间 16 h、黑暗时间 8 h。始终保持饲养种群数不少

收稿日期:2021-12-17

基金项目:国家重点研发计划(编号:2018YFD0200208-A02);辽宁省农业科学院学科建设项目-农作物昆虫学(编号:2019DD082612)。

作者简介:杨 眉(1982—),女,辽宁沈阳人,硕士,助理研究员,主要从事水稻虫害研究。E-mail:yangmei6@163.com。

通信作者:于凤泉,研究员,主要从事水稻虫害综合防控技术研究。E-mail:yfq69@aliyun.com。

in cereals[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 867.

[30] Makandar R, Essig J S, Schapaugh M A, et al. Genetically engineered resistance to *Fusarium* head blight in wheat by expression of *Arabidopsis* NPR1 [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2006, 19(2): 123-129.

[31] Mackintosh C A, Lewis J, Radmer L E, et al. Over expression of

defense response genes in transgenic wheat enhances resistance to *Fusarium* head blight [J]. *Plant Cell Reports*, 2007, 26(4): 479-488.

[32] Walter S, Nicholson P, Doohan F M. Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease [J]. *The New Phytologist*, 2010, 185(1): 54-66.