

丁彬彬, 张旭, 吴磊, 等. 小麦 3B 短臂染色体抗赤霉病主效 QTL 区域候选基因的表达[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(1): 6-12.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.01.002

小麦 3B 短臂染色体抗赤霉病主效 QTL 区域候选基因的表达

丁彬彬^{1,2}, 张旭², 吴磊², 王秀娥¹, 马鸿翔²

(1. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省农业科学院江苏省农业生物学重点实验室/江苏省作物生产协同创新中心, 江苏 南京 210014)

摘要: 通过研究赤霉病菌接种后的基因表达, 筛选小麦赤霉病抗性相关基因。根据前人研究结果, 利用 FGENESH 软件对小麦 3B 短臂抗赤霉病主效 QTL 所在的小麦基因组测序获得的重叠群 *ctg0954* 核苷酸序列进行基因预测, 共预测得到 489 个基因。以携带该 QTL 的苏麦 3 号和未携带该 QTL 的扬麦 15 为材料, 在小麦花期进行赤霉病菌接种诱导基因表达, 接种后 0 h、4 h、8 h、12 h、24 h 对其中有功能注释的 259 个预测基因的表达进行半定量分析, 获得 27 个在品种间差异表达的基因。这 27 个基因的表达分为 4 类: 一直上调表达(I 型), 在接种后的早期上调表达后期下调表达(II 型), 接种后早期下调表达后期上调表达(III 型), 接种后一直下调表达(IV 型)。在差异表达基因中, 选择 6 个基因, 进行 Real-time PCR 分析, 结果表明这些基因在接种病原菌后均上调表达, 且在苏麦 3 号和扬麦 15 号品种间存在基因表达差异, 验证了半定量表达结果, 可作为与赤霉病抗性相关 3B 短臂主效 QTL 的候选基因。

关键词: 小麦; 赤霉病抗性基因; 半定量 PCR; 定量 PCR; 基因表达

中图分类号: S512.103.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2017)01-0006-07

Expression of candidate genes on the region of a major QTL for the resistance to *Fusarium* head blight on the short arm of chromosome 3B in wheat

DING Bin-bin^{1,2}, ZHANG Xu², WU Lei², WANG Xiu-er¹, MA Hong-xiang²

(1. State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. State Key Laboratory of Agrobiolgy, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/ Collaborative Innovation Center of Crop Production in Jiangsu Province, Nanjing 210014, China)

收稿日期: 2016-03-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(31561143004); 江苏省科技支撑计划(农业)重点项目(BE2015352、BE2013439); 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(15)1001]; 国家小麦产业技术体系项目(CARS-03); 江苏省“333”人才工程项目(BRA2014314)

作者简介: 丁彬彬(1987-), 男, 江苏徐州人, 硕士研究生, 研究方向为作物遗传育种。(Tel) 15150530830; (E-mail) dingbin1224@126.com

通讯作者: 马鸿翔, (Tel) 025-84390300; (E-mail) hxma@jaas.ac.cn

Abstract: In order to screen the candidate gene for the resistance to wheat *Fusarium* head blight, the gene expression after inoculation of *Fusarium* pathogen was investigated. Based on previous reports, 489 genes were predicted in the *ctg0954* where the major QTL for the resistance to wheat *Fusarium* head blight on short arm of chromosome 3B by using FGENESH software. Two wheat cultivars, Sumai 3 with the QTL and Yangmai 15 without the QTL, were selected as the material. 27 genes with different expression between Sumai 3 and Yangmai 15 among 259 functional predicted genes were obtained by RT-PCR in 0 h, 4 h, 8 h, 12 h, 24 h after *Fusarium* pathogen inoculation at anthesis. The differentially expressed genes in Sumai 3 in compari-

son with Yangmai 15 were grouped into four clusters; up regulated expression at most time (type I), up regulation expression at early time points and down regulated expression at later time points (type II), down regulated expression at early time points and up regulation expression at later points (type III), down regulated expression during all the time after inoculation (type IV). Six out of 27 differentially expressed genes were selected for Real-time PCR, and the results showed that the six genes were up regulated after pathogen inoculation and had differences in gene expression between Sumai 3 and Yangmai 15, which might be as the candidate genes of major QTL on the short arm of chromosome 3B associated with the resistance to *Fusarium* head blight for further research.

Key words: wheat; gene resistant to *Fusarium* head blight; RT-PCR; real-time PCR; gene expression

由禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*) 为主要致病菌引起的小麦赤霉病 (*Fusarium* head blight, FHB) 是世界性小麦病害。随着气候变暖、小麦与水稻或玉米轮作面积的增加, 中国小麦赤霉病发生面积正不断扩大^[1]。小麦赤霉病不仅造成产量下降和品质变劣, 而且禾谷镰刀菌在侵染小麦后产生的脱氧雪腐镰刀烯醇 (Trichothecene deoxynivalenol, DON) 等真菌毒素同样进一步危害人、畜健康^[2-3]。通过栽培措施难以克服小麦赤霉病发生和蔓延, 依赖化学防治虽然对控制赤霉病流行和危害有一定效果, 但不可避免地造成成本增加和环境污染, 培育和利用抗病品种是克服小麦赤霉病危害的有效途径。而发掘小麦赤霉病抗性基因, 研究其遗传机制和抗病分子基础对培育抗病小麦品种具有重要意义。

为了明确小麦赤霉病抗性遗传机制, 国内外已从普通小麦或近缘种中定位了 100 多个与赤霉病抗性相关的 QTL^[4-5]。在这些 QTL 中, 来源于中国苏麦 3 号与望水白等抗源的 3B 短臂染色体上的抗赤霉病主效 QTL *Fhb1* 的表型变异解释率最高, 并且在不同遗传群体中得到多次证实^[6-14]。在此基础上, 国内外对该 QTL 进行精细定位, 获得了紧密连锁的分子标记^[15-18]。Liu 等发现 1 个与 *Fhb1* 共分离的标记 *UMN10*, 该标记在抗、感品种的 *Fhb1* 间表现出较好的多态性^[19]。

与此同时, 近年来小麦全基因组测序取得了较大进展, 利用 454 测序技术已经完成了中国春小麦全基因组序列框架^[20]。此前, Paux 等率先发表了小麦 3B 染色体物理图谱, 该图谱通过对 BAC 文库测序, 将 82% 染色体装配至 1 036 个重叠群中^[21]。根据序列比对, 与抗赤霉病主效 QTL *Fhb1* 共分离的 *UMN10* 标记位于 *ctg0954* 上, Hao 等比较了 *ctg0954* 重叠群的遗传多态性及连锁不平衡, 并以赤霉病抗性数据进行关联作图, 推测 *Fhb1* 抗性基因位于该重叠群^[22]。

本研究以 *ctg0954* 重叠群 3.1 M DNA 序列为基础, 通过生物信息学方法对候选基因进行预测, 以预测基因序列设计引物, 以苏麦 3 号和扬麦 15 为材料分析赤霉病菌诱导后的基因表达, 从而筛选差异表达基因, 为确定 3B 短臂染色体上的抗赤霉病主效 QTL *Fhb1* 的候选基因提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以苏麦 3 号为抗病材料, 扬麦 15 为对照。小麦幼苗在 4 ℃ 培养箱中春化 21 d, 然后转移到钵钵中 (营养土与泥土按照 1:1 混合)。温室中平均温度 18 ℃/12 ℃ (昼/夜), 每天光照 12~14 h。

禾谷镰刀菌菌种 Fg0609 为本实验室采集并保存的中等致病力菌株, 以绿豆汤在 26 ℃ 下振荡培养禾谷镰刀菌, 使其产生孢子。接种时用无菌水稀释悬浮孢子, 使孢子浓度为 1 ml 1×10^6 个。

1.2 组织处理与取样

在初花期以单花接种法接种禾谷镰刀菌分生孢子液, 每小花接种 10 μ l 菌液, 以无菌水处理为对照。接种后用透明塑料袋套袋保湿, 在接种后 0 h、4 h、8 h、12 h 和 24 h 采集颖壳用于病原菌诱导基因表达分析, 每个时间点分别取 3 个穗子, 3 次重复。在花期取小麦整株用于组织表达谱分析, 3 次重复。所有样品采集后立即放入液氮中, 后置于 -70 ℃ 冰箱冷冻保存。

1.3 总 RNA 提取、定量与完整性检测及 cDNA 合成

采用 Promega RNA 试剂盒提取样品总 RNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的质量, 使用 Eppendorf 公司分光光度计测定 260 nm、280 nm 处的吸光值, 计算 A_{260}/A_{280} 值, 估计总 RNA 的纯度, 通过 A_{260} 值分别对不同材料的总 RNA 进行定量。再利用 PrimeScript[®] RT reagent kit 试剂盒合成 cDNA 第一

链。根据 NCBI 公布的中国春 3B 染色体上重叠群 *ctg0954* 的核苷酸序列 (GenBank Accession: FN564434) 进行基因预测。根据预测结果,以 Primer Premier 5.0 设计引物。引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。

1.4 半定量 RT-PCR

以反转录后不同处理的 cDNA 为模板,通过内参引物的 PCR 扩增调整不同模板的 cDNA 用量,随后以设计的基因引物进行扩增。10.0 μ l PCR 反应体系:10 \times PCR Buffer 1.0 μ l,dNTP Mixture(10 mmol/L) 0.8 μ l,25 mmol/L Mg^{2+} 0.6 μ l,上、下游特异性引物(5 μ mol/L) 各 0.5 μ l,*Taq* mix DNA polymerase(5 U/ μ l) 0.5 ml,经内参引物扩增调整的 RT 产物 1.5~3.0 ml,ddH₂O 补齐至 10 ml。PCR 反应程序为:94 $^{\circ}$ C 3 min;94 $^{\circ}$ C 1 min,52 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,15 $^{\circ}$ C 保温。

1.5 荧光定量 PCR

根据预测候选基因的序列,设计特异的荧光定量 PCR,以接种赤霉菌后不同时间段的穗部 cDNA 和无菌水处理的颖壳 cDNA 为模板,利用 Roche LightCycler96 实时荧光定量 PCR 仪检测目的基因表达模式。内参基因为 *Tubulin*,其引物序列 *TublinF* 为 5'-GTGGAAGCTGGCTCTGGC-3',*TublinR* 为 5'-CGCTCAATGTCAAGGGA-3'。按照 SYBR Primix *Ex Taq* 试剂盒 (TaKaRa 公司产品) 说明书配制 PCR 反应体系。反应条件为 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 10 s, 55 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s,40 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法对目的基因进行相对定量表达分析。每个样品 3 次重复,每个处理有 3 次生物学重复。

2 结果与分析

2.1 重叠群 *ctg0954* 核苷酸序列的基因预测

根据已公开的中国春 3B 染色体上重叠群 *ctg0954* 的核苷酸序列,利用 FGESH 软件,对该重叠群内可能存在的基因进行预测,共预测得到 489 个基因。根据 KEGG 基因分类法,这些预测基因在功能通路上可以分为:代谢类 104 个、生物系统类 61 个、转运蛋白 4 个、中心体蛋白的形成和再生 1 个、组蛋白修饰蛋白 1 个、DNA 修复和重组蛋白 1 个、锌指结构 5 个、转录因子 3 个、环境信息处理 19 个、肌质网类 1 个、溶质载体家族 2 个、复制蛋白 2 个、

酶 46 个、遗传信息处理 22 个、线粒体生物合成 2 个、氨基酸生物合成 1 个、离子通道 1 个、信使 RNA 的生物合成 1 个、泛素系统类 4 个、沉默 9 个、胞外体蛋白 5 个、未注释基因 105 个,有注释但信号通路未知的有 89 个(表 1)。

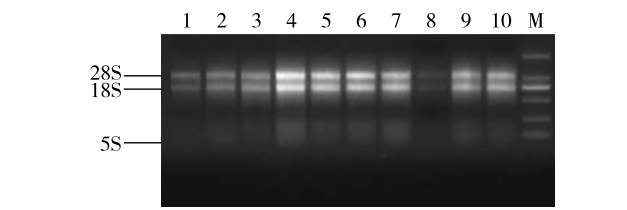
表 1 重叠群 *ctg0954* 基因预测结果及功能分类

Table 1 Functional classification of predicted genes in *ctg0954*

类型	数量	功能
代谢类	104	糖生物合成与代谢、氨基酸代谢、脂质代谢、核苷酸代谢
生物系统类	61	植物病原物相互作用
转运蛋白	4	运输作用
中心体蛋白	1	中心体蛋白的形成和再生
组蛋白修饰蛋白	1	甲基化、乙酰化、磷酸化、腺苷酸化、泛素化、ADP 核糖基化等修饰的过程
DNA 修复和重组蛋白	1	DNA 修复和重组
锌指结构	5	与基因表达的调控有关的功能蛋白
转录因子	3	对基因的表达起抑制或增强的作用
环境信息处理	19	膜转运、细胞过程、信号转导、运输和代谢
肌质网	1	钙结合蛋白质
溶质载体家族	2	转运作用
复制蛋白	2	DNA 的复制与修复
酶	46	催化功能
遗传信息处理	22	翻译、转录
线粒体生物合成	2	线粒体生物合成
氨基酸生物合成	1	合成氨基酸
离子通道	1	各种无机离子跨膜被动运输的通路
信使 RNA 的生物合成	1	携带遗传信息指导蛋白合成
泛素系统类	4	标记需要分解掉的蛋白质,使其被水
沉默	9	piRNA 通路
胞外体蛋白	5	将胞外体释放到细胞外环境
未注释基因	105	
有注释但信号通路未知	89	

2.2 半定量 PCR 分析病原菌诱导的基因表达

采用 Promega RNA 试剂盒提取接种前后各个时间段的穗部总 RNA,RNA 质量检测结果表明,光密度比值 A_{260}/A_{280} 为 1.8~2.0,凝胶电泳显示有 28S、18S 和 5S 等 3 条明显的条带(图 1),说明提取的总 RNA 较完整。



1~5 依次为扬麦 15 接种后 0 h、4 h、8 h、12 h、24 h,6~10 依次为苏麦 3 号接种后 0 h、4 h、8 h、12 h、24 h,M 为 DL2000 marker。

图 1 赤霉菌诱导后不同时期扬麦 15 和苏麦 3 号总 RNA 电泳结果

Fig.1 Electrophoresis of total RNA in different stages induced by *F. graminearum* in Yangmai 15 and Sumai 3

以 *Tubulin* 作为内参基因将抗感材料样品的 cDNA 浓度均一化,调整各模板所加 cDNA 量,使凝胶电泳显示相同亮度。以该体积的 cDNA 为模板进行后续的 PCR 反应,确定目标基因的表达量。以苏麦 3 号为抗病材料,扬麦 15 为对照,剔除未注释或信号通路未知的 194 个基因,对 295 个预测基因在抗、感材料接种赤霉菌后 0 h、4 h、8 h、12 h 和 24 h 的基因表达进行分析,筛选出 27 个在病原菌诱导后苏麦 3 号和扬麦 15 间存在表达差异的基因(表 2)。根据两品种基因表达的相对差异,将 27 个差异表达基因分为 4 类:与扬麦 15 相比,苏麦 3 号接种后基因一直上调表达(Ⅰ型);在接种后的早期上调表达后期下调表达(Ⅱ型);接种后早期下调表达后期上调表达(Ⅲ型);接种后一直下调表达(Ⅳ型)。

由表 2 可见,病原菌接种后,根据苏麦 3 号与扬麦 15 间的基因表达差异,有 8 个基因归于Ⅰ型,15 个基因归于Ⅱ型,3 个基因归于Ⅲ型,1 个基因归于Ⅳ型。部分基因的半定量 PCR 电泳结果见图 2。

2.3 Real-time PCR 验证候选基因在赤霉病菌接种后的表达

从半定量 PCR 筛选出的 27 个差异表达基因中,选取基因 56、基因 273、基因 354、基因 362、基因 465 和基因 395 等 6 个基因进行 Real-time PCR 验证。结果(图 3)显示,与扬麦 15 相比,苏麦 3 号基因 56 在接种后 4 h 下调表达,接种后 8 h 上调表达,12 h 时达到最高;基因 354 和基因 456 在接种后 8 h 都下调,至 12 h 时上调表达;基因 273、基因 362、基因 395 在接种后一直呈现上调表达。

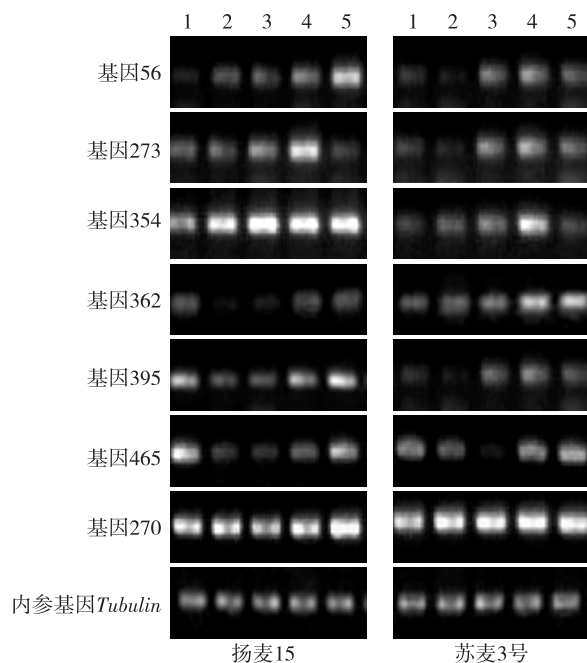
3 讨论

为了发掘抗赤霉病基因,国内外对小麦赤霉病

表 2 半定量 PCR 筛选出的病原菌诱导差异表达基因
Table 2 Differentially expressed genes screened out by semi quantitative PCR after pathogen induction

基因编号	基因位置	基因注释	表达类型
M56	272 664~274 652	ATP 结合蛋白	Ⅲ型
M264	1 662 424~1 673 145	乙酰辅酶 A 羧化酶	Ⅲ型
M268	1 697 014~1 704 355	磷脂酰丝氨酸脱羧酶	Ⅰ型
M269	1 706 844~1 709 268	乙酰辅酶 A 羧化酶	Ⅱ型
T273	1 578 910~1 580 491	糖基转移酶	Ⅱ型
M279	1 757 361~1 759 745	乙酰辅酶 A 羧化酶	Ⅱ型
M280	1 760 705~1 763 721	细胞分裂素氧化酶/脱氢酶	Ⅱ型
M342	2 222 193~2 225 243	假定的抗性蛋白	Ⅳ型
M344	2 232 530~2 233 198	LZ-NBS-LRR 抗性蛋白	Ⅰ型
T354	2 114 937~2 115 312	假定蛋白	Ⅱ型
M355	2 320 469~2 320 870	LZ-NBS-LRR 抗性蛋白	Ⅱ型
T362	2 187 717~2 189 865	假定蛋白	Ⅱ型
M371	2 436 134~2 438 473	细胞分裂素氧化酶/脱氢酶	Ⅱ型
M386	2 502 094~2 504 808	假定 F-box 蛋白	Ⅱ型
T395	2 451 279~2 452 062	钙结合蛋白	Ⅱ型
M405	2 607 265~2 611 832	细胞分裂素氧化酶/脱氢酶	Ⅰ型
M407	2 619 676~2 620 729	假定的抗性蛋白	Ⅰ型
M416	2 658 965~2 664 420	乙酰辅酶 A 羧化酶	Ⅰ型
M418	2 674 161~2 675 922	乙酰辅酶 A 羧化酶	Ⅱ型
M419	2 679 505~2 680 862	细胞分裂素氧化酶/脱氢酶	Ⅱ型
M427	2 722 339~2 724 611	细胞分裂素氧化酶/脱氢酶	Ⅰ型
M428	2 736 483~2 736 806	细胞分裂素氧化酶/脱氢酶	Ⅰ型
M429	2 737 617~2 738 240	细胞分裂素氧化酶/脱氢酶	Ⅱ型
M436	2 776 737~2 779 489	乙酰辅酶 A 羧化酶	Ⅰ型
M454	2 877 365~2 879 839	细胞色素 P450	Ⅱ型
M457	2 896 250~2 899 971	谷胱甘肽-S-转移酶	Ⅱ型
T465	2 843 886~2 848 088	锌指结构	Ⅲ型

抗性 QTL 定位进行了大量研究。Bai 等以 Ning7840/Clark 群体作图,发现了与抗赤霉病主效 QTL 连锁的 AFLP 标记^[8]。Waldron 等在 3BS 染色体上定位了与 RFLP 标记 *cd0981* 连锁的主效 QTL *Fhb1*^[5],Aderson 等将其定位于 SSR 标记 *Xgwm533*



1~5 依次为接种后 0 h、4 h、8 h、12 h、24 h。

图2 小麦赤霉病抗性相关候选基因的 RT-PCR 结果

Fig.2 RT-PCR results of candidate genes associated with the resistance to wheat *Fusarium* head blight

和 *Xgwm493* 之间^[7], Zhou 等利用中国春缺失系将其定位于 3BS 的染色体的 0.78~0.87 物理位置上^[9], 该 QTL 进一步在包括望水白等抗源的不同遗传群体中得到证实^[10-12]。由于该主效 QTL 两侧标记遗传距离较大, Liu 等^[15] 和 Cuthbert 等^[23] 利用小麦与水稻基因组的共线性, 将同源区段的水稻基因文库与小麦 EST 比对开发了多个 STS 标记用于该基因的精细定位, 获得了紧密连锁的分子标记 *XSTS3B-80*、*XSTS3B-66* 和 *XSTS3B-142*。余桂红等利用定位于中国春缺失系该区段的 EST 设计引物, 获得了 2 个紧密连锁的 SSCP 标记^[24]。Zhou 等将该 QTL 定位于 0.6 cM 内^[18]。Bernardo 等自前人定位的 EST 中开发了 SNP 标记, 其中 7 个定位于 *Xgwm533* 和 *Xgwm493* 之间^[25]。Anderson 等^[7] 在 *Fhb1* 基因候选 BAC 克隆中获得了 1 个与 *Fhb1* 共分离的标记 *UMN10*, 该标记在抗、感品种间表现出较好的多态性, 可用于分子标记辅助选择。根据序列分析, *UMN10* 位于中国春小麦基因组测序构建的 *ctg0954* 重叠群上, Hao 等以 *ctg0954* 进行关联分析发现距离 *UMN10* 约 2.9 kb 的 *cfb6059* 标记具有最高的表型变异解释率^[26]。同样, 我们对此前报道的精细定位

分子标记与小麦测序结果进行比对, 发现有 16 个标记分布于 *ctg0954* 上, 因此, 有可能从 *ctg0954* 重叠群中筛选出抗赤霉病的候选基因。

基于重叠群 DNA 序列, 以生物信息学进行基因功能预测可初步筛选出所需的功能基因。本研究根据重叠群 *ctg0954* 的核苷酸序列进行生物信息学分析, 共预测得到 489 个基因, 分别涉及代谢、生物系统、转运蛋白、中心体蛋白、组蛋白修饰蛋白、DNA 修复和重组蛋白、锌指蛋白、转录因子、环境信息处理、钙结合蛋白等。由于小麦功能基因组学研究进展较为缓慢, 筛选到的基因有很多不能进行详细的功能分类或注释, 多数基因的注释和分析借助了模式植物拟南芥、水稻及二穗短柄草的基因信息。随着小麦基因组测序工作的完成以及分子生物学和生物信息学研究的不断深入, 小麦抗病表达谱分析所获得的大量未知功能基因将被发掘。

病原菌接种后基因差异表达是筛选抗病基因的重要手段。随着基因芯片技术的发展, 人们采用高通量的 DNA 微阵列在全基因组水平上分析赤霉病抗性基因的表达谱, 试图找到抗性基因。Hillambroz 等构建了苏麦 3 号接种病菌 24 h 后的 cDNA 文库, 检测到 80 个诱导表达基因, 推测这些基因可能在木质素形成、能量产生、植物抗毒素产生等过程中起重要作用^[27]。Kong 等构建了苏麦 3 号衍生系宁 7840 接种病菌后的 cDNA 文库, 利用消减抑制杂交 (SSH) 从 16 个特异表达的 cDNA 克隆中找到 3 个显著上调表达的 cDNA 克隆, 通过 BLAST 推测基因产物可能为肌动蛋白解聚因子及 S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶前体^[28]。Bernardo 等对宁 7840 和感病品种 Clark 接种禾谷镰刀菌, 利用基因芯片和 SSH 技术, 发现了 44 个在接种后 0~72 h 时间段内抗、感品种间表达差异显著的基因, 其中 3 个基因在宁 7840 中持续上调表达^[29]。Steiner 等从 164 个转录子片段 (TDF) 中找到 5 个与苏麦 3 号衍生系 CM82036 赤霉病抗性相关的 TDF^[30]。本研究中, 在抗、感品种间差异表达的 6 个基因中, 除 2 个基因为假定蛋白外, 其余 4 个基因预测功能分别为 ATP 结合蛋白、钙结合蛋白、糖基转移酶及锌指蛋白, 表明上述基因可能通过能量产生、信号转导、细胞分化、基因转录等途径参与赤霉病抗性的表达与调控。有研究结果表明, 钙调蛋白 (CaM) 可通过结合多种转录因子 (Transcription factors, TFs) 调控植物防卫相关基因

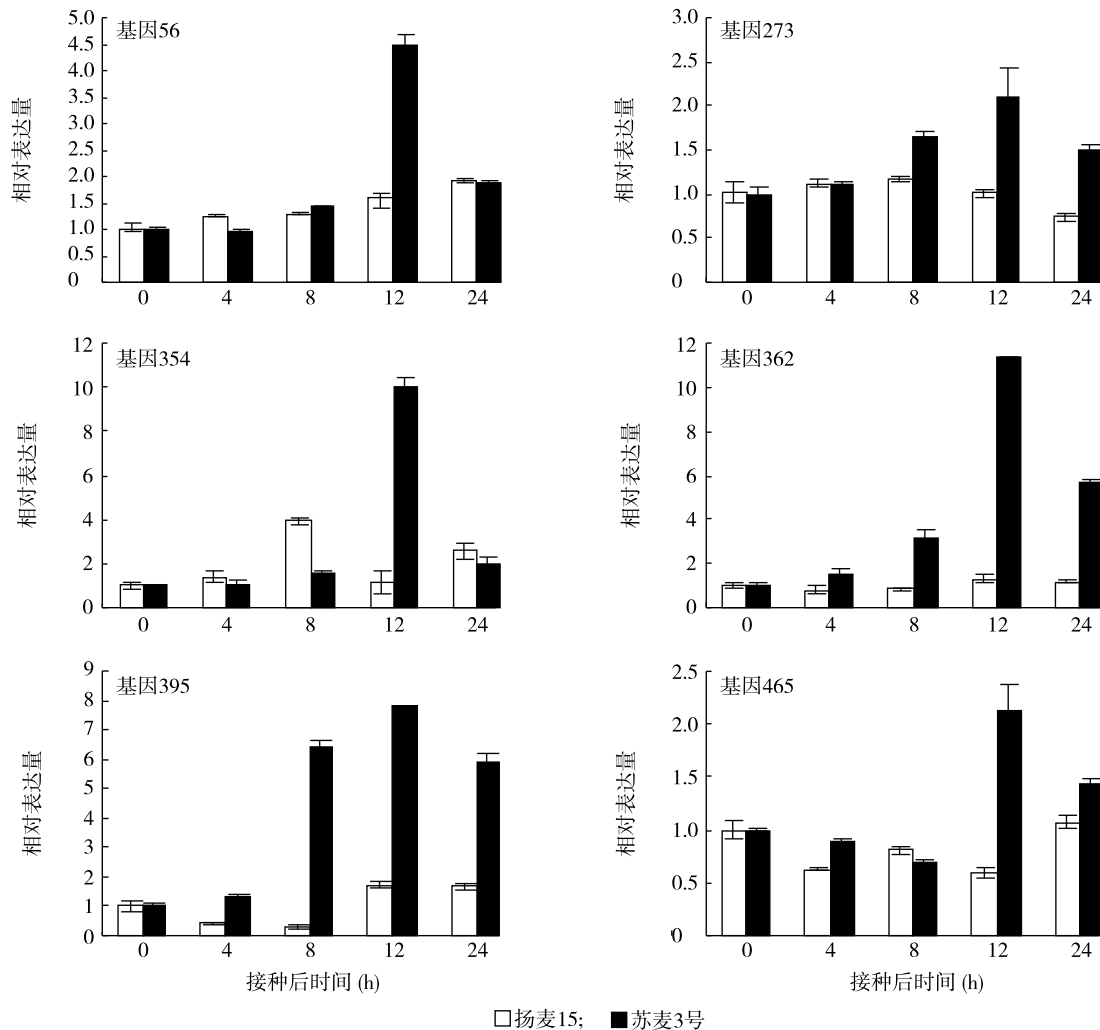


图3 禾谷镰刀菌诱导的小麦赤霉病抗性相关候选基因相对表达量

Fig.3 Relative expression of candidate genes associated with the resistance to wheat *Fusarium* head blight induced by *F. graminearum*

的表达^[31]。病菌侵染后通过上调水杨酸代谢途径中的2个基因表达诱导水杨酸产生,而这2个基因表达受CaM结合的TFs的调节,因而导致植株对病菌的抗性表达受到影响^[32]。因此Ca²⁺/CaM介导的信号传输促进了水杨酸的产生和水杨酸途径的植物防卫反应,同时又防止了Ca²⁺的过度聚集对正常细胞造成伤害。马信也发现糖基转移酶基因TaUGT4和TaUGT5在禾谷镰刀菌及DON毒素处理下均参与了小麦对赤霉病菌的应答响应^[33]。进一步研究上述基因的结构与功能,将为小麦抗赤霉病机制及抗赤霉病育种提供参考依据。

参考文献:

- [1] 马鸿翔,陆维忠. 小麦赤霉病抗性改良研究进展[J]. 江苏农业学报,2010,26(1):197-203.
- [2] 康振生.我国植物真菌病害的研究现状及发展策略[J]. 植物保护,2010,36(3):9-12.
- [3] 段成鼎,任兰柱,范建芝,等. 种子包衣结合扬花期喷雾对小麦赤霉病防治效果研究[J]. 山东农业科学,2015,47(6):104-106.
- [4] BUERSTMAYER H, BAN T, ANDERSON J A. QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review [J]. Plant Breeding, 2009, 128(1):1-26.
- [5] LI T, BAI G, WU S, et al. Quantitative trait loci for resistance to *Fusarium* head blight in the Chinese wheat landrace Huangfangzhu [J]. Euphytica, 2012, 185:93-102.
- [6] WALDRON B L, MALDRON-SEVILLA B, ANDERSON J A. RFLP mapping of QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat[J]. Crop Science, 1999, 39: 805-811.
- [7] ANDERSON J A, STACK R W, LIU S, et al. DNA markers for

- Fusarium* head blight resistance QTLs in two wheat populations [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2001, 102(8):1164-1168.
- [8] BAI G, KOLB F L, SHANER G, et al. Amplified fragment length polymorphism markers linked to a major quantitative trait locus controlling scab resistance in wheat [J]. Phytopathology, 1999, 89(4):343-348.
- [9] ZHOU W, KOLB F L, BAI G, et al. Genetic analysis of scab resistance QTL in wheat with microsatellite and AFLP markers [J]. Genome, 2002, 45(4):719-727.
- [10] BUERSTMAYR H, LEMMENS M, HARTL L, et al. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (Type II resistance) [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2002, 104(1):84-91.
- [11] BUERSTMAYR H, STEINER B, HARTL L, et al. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2003, 107(3):503-508.
- [12] ZHANG X, ZHOU M, REN L, et al. Molecular characterization of *Fusarium* head blight resistance from wheat variety Wangshuibai [J]. Euphytica, 2004, 139(1):59-64.
- [13] 周森平,任丽娟,张旭,等. 3B染色体短臂小麦赤霉病抗性主效QTL的分析[J]. 遗传学报, 2003, 30(6):571-576.
- [14] YANG Z, GILBERT J, FEDAK G, et al. Genetic characterization of QTL associated with resistance to *Fusarium* head blight in a doubled-haploid spring wheat population [J]. Genome, 2005, 48(2):187-196.
- [15] LIU S, ANDERSON J A. Targeted molecular mapping of a major wheat QTL for *Fusarium* head blight using ESTs and synteny with rice [J]. Genome, 2003, 46:817-823.
- [16] LIU S, ZHANG X, PUMPHREY M O, et al. Complex microcolinearity among wheat, rice, and barley revealed by fine mapping of the genomic region harboring a major QTL for resistance to *Fusarium* head blight in wheat [J]. Functional & Integrative Genomics, 2006, 6(2):83-89.
- [17] YU B Y, BAI G H, CAI S B, et al. New *Fusarium* head blight-resistant sources from Asian wheat germplasm [J]. Crop Science, 2008, 48: 1090-1097.
- [18] ZHOU M P, HAYDEN M J, ZHANG Z Y, et al. Saturation and mapping of a major *Fusarium* head blight resistance QTL on chromosome 3BS of Sumai 3 wheat [J]. Journal of Applied Genetics, 2010, 51(1):19-25.
- [19] LIU S, PUMPHREY M O, GILL B S, et al. Toward positional cloning of Fhb1, a major QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat [J]. Cereal Research Communications, 2008, 36(1): 195-201.
- [20] BRENCHELEY R, SPANNAGL M, PFEIFER M, et al. Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing [J]. Nature, 2012, 491(7426):705-710.
- [21] PAUX E, SOURDILLE P, SALSE J, et al. A physical map of the 1-gigabase bread wheat chromosome 3B [J]. Science, 2008, 322(5898): 101-104.
- [22] HAO C Y, PERRETANT M R, CHOULET F, et al. Genetic diversity and linkage disequilibrium studies on a 3.1-Mb genomic region of chromosome 3B in European and Asian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) populations [J]. Theor Appl Genet, 2010, 121: 1209-1225.
- [23] CUTHBERT P A, SOMERS D J, THOMAS J, et al. Fine mapping Fhb1, a major gene controlling *Fusarium* head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2006, 112(8):1465-1472.
- [24] 余桂红. 小麦赤霉病抗性遗传分析及分子标记的开发[D]. 上海:上海交通大学, 2008.
- [25] BERNARDO A N, MA H, ZHANG D, et al. Single nucleotide polymorphism in wheat chromosome region harboring Fhb1 for *Fusarium* head blight resistance [J]. Molecular Breeding, 2012, 29(2):477-488.
- [26] HAO C, WANG Y, HOU J, et al. Association mapping and haplotype analysis of a 3.1-Mb genomic region involved in *Fusarium* head blight resistance on wheat chromosome 3BS [J]. Plos One, 2012, 7(10):e46444.
- [27] HILLAMBROZ K, WEBB C A, MATTHEWS A R, et al. Expression analysis and physical mapping of a cDNA library of *Fusarium* head blight infected wheat spikes [J]. Crop Science, 2006, 46(6):15.
- [28] KONG L, ANDERSON J M, OHM H W. Induction of wheat defense and stress-related genes in response to *Fusarium graminearum* [J]. Genome, 2005, 48(1):29-40.
- [29] BERNARDO A, BAI G, GUO P, et al. *Fusarium graminearum*-induced changes in gene expression between *Fusarium* head blight-resistant and susceptible wheat cultivars [J]. Functional & Integrative Genomics, 2007, 7(1):69-77.
- [30] STEINER B, KURZ H, LEMMENS M, et al. Differential gene expression of related wheat lines with contrasting levels of head blight resistance after *Fusarium graminearum* inoculation [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2009, 118(4):753-764.
- [31] MOORE J W, LOAKE G J, SPOEL S H. Transcription dynamics in plant immunity [J]. Plant Cell, 2011, 23(8):2809-2820.
- [32] WANG L, TSUDA K, SATO M, et al. Arabidopsis CaM binding protein CBP60g contributes to MAMP-induced SA accumulation and is involved in disease resistance against *Pseudomonas syringae* [J]. Plos Pathogens, 2009, 5(2):717-721.
- [33] 马信. 小麦抗赤霉病相关基因的克隆及功能分析[D]. 泰安:山东农业大学, 2014.

(责任编辑:张震林)