

燕麦抗红叶病研究进展

郭建国¹, 袁伟宁¹, 赵彤²

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业信息中心, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 对燕麦红叶病的发病机理、欧美燕麦抗红叶病育种、燕麦红叶病抗病基因分子标记等方面的研究进行了综述。

关键词: 燕麦; 抗病性; 红叶病; 综述

中图分类号: S435.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)11-0069-03

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2017.11.022](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2017.11.022)

Research Progress on Resistance to Red Leaf Disease of Oat

GUO Jianguo¹, YUAN Weining¹, ZHAO Tong²

(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Gansu Agricultural Information Center, Lanzhou Gansu 730000, China)

Abstract: The pathogenesis of oat red leaf disease, the breeding of resistance to red leaf disease in Europe and America and the molecular marker of resistance genes in oat red leaf disease are reviewed.

Key words: Oat; Resistance; Red Leaf disease; Overview

燕麦是世界麦类品种改良的先锋种质和籽实圈窝草种。全球北纬 35~60℃ 的 40 多个国家种植燕麦以六倍体皮燕麦为主, 而中国是裸燕麦起源地, 常年种植面积约 100 万 hm², 主要分布于华北冀、晋、蒙, 西北六盘山麓陕、甘、宁和云、贵、川高寒山区。然而, 西北农牧交错带受科技水平因素制约, 品种更新换代步伐缓慢, 古老品种抗病性退化严重, 年际温带大陆性气候为大麦黄矮病毒(*Barley Yellow Dwarf Virus*, BYDV)传播提供了良好条件, 致使燕麦红叶病流行已成态势, “陇燕”和“定葆”系列等主栽品种的病株率和严重

度逐年增加, 不仅造成植株韧皮部组织坏死、碳氮代谢紊乱、根际硝酸盐累积, 而且致使光合效能下降, 生物量损失 30%~75%, 严重影响燕麦生产安全。基于近年来燕麦红叶病发病率和严重度增加, 开展耐病品种鉴定与基因发掘对该病害可持续控制具有重要实践意义。我们综述了燕麦红叶病抗性育种工作进展, 旨在挖掘抗病种质与基因资源, 为燕麦红叶病可持续控制提供新材料, 缓解抗性品种连续传代 BYDV 致病性变异分化与抗病育种工作滞后的生产矛盾, 实现燕麦红叶病绿色防控。

收稿日期: 2017-08-30; 修订日期: 2017-09-20

基金项目: 国家自然科学基金(31360444)。

作者简介: 郭建国(1977—), 男, 甘肃镇原人, 副研究员, 主要从事作物病虫害绿色防控研究工作。联系电话: (0)17789619745; E-mail: jguo1001@163.com。

反季节食用菌的生产。重点搞好食用菌产业市场培育与组织化程度, 加大地方适宜技术研发和新品种、新技术的推广, 提高技术的普及率。

参考文献:

- [1] 张金霞. 中国食用菌产业科学和发展[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009.
- [2] 马忠明, 吕晓东. 甘肃农业环境问题与保护技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 28-29.
- [3] 樊怀玉. 甘肃农村年鉴 2014[M]. 北京: 中国统计出版社, 2014: 209-216.

社, 2014: 209-216.

- [4] 魏胜文, 乔德华, 张东伟. 甘肃农业科技发展研究报告[M]. 北京: 社会科学文献出版社, 2016: 528-545.
- [5] 张桂香, 杨建杰, 杨琴, 等. 甘肃省食用菌产业现状及发展特点[J]. 中国食用菌, 2015, 34(5): 76-78.
- [6] 王晓英. 凉州区食用菌生产现状与可持续发展对策[J]. 甘肃农业科技, 2013(3): 41-42.

(本文责编: 陈伟)

1 燕麦红叶病的发病机理

选育推广抗病品种是国际公认绿色防控手段,然而,抗性品系连续传代易使 BYDV 分化致病性更强的株系,致使抗病育种工作长期处于不能满足生产需求的被动地位。随着全球大气 CO₂ 浓度逐渐增加,植物内源激素平衡失衡与抗氧化防御系统破坏使得作物对病毒的敏感性增强,造成谷类作物病毒病流行呈现加重趋势。如 Malmstrom^[1] 研究发现,CO₂ 富集增加了 BYDV 在燕麦上的感染率,造成 700 μmol/mol CO₂ 下植株发病率显著高于 350 μmol/mol; Trebicki^[2] 研究发现,650 μmol/mol CO₂ 下小麦植株病毒滴度和症状严重度高于 400 μmol/mol。因此,开展高 CO₂ 浓度下燕麦耐 BYDV 品种鉴定与基因发掘研究具有重要前瞻意义,不仅可缓和当前抗性品种连续传代 BYDV 致病性快速变异分化与抗病育种工作滞后的生产矛盾,而且可为聚合耐病基因辅助选择持久耐病品系奠定基础,为积极应对气候变暖背景下作物与病毒竞争共存的协同进化研究提供依据。

2 燕麦抗红叶病育种研究

欧美国家有关燕麦红叶病抗病育种的研究表明,燕麦抗 BYDV 种质匮乏,无免疫和抗病资源,仅发现不实野燕麦(*A. sterilis*)、裂稃燕麦(*A. barbata*)、野燕麦(*A. fatua*)、裸燕麦(*A. nuda*)和砂燕麦(*A. strigosa*)等种质耐病,IL85-1538、IL86-1150、IL86-1156、IL86-4189、IL86-4407、IL86-5262、IL86-5698 和 IL86-6404 等近等基因系耐病。耐×耐杂交组合 F₁ 代超亲分离即可产生 Y_{d2} 基因一样的抗病性,耐×感杂交组合 F₁ 代和 F₂ 代群体轮回选择可以聚合耐病基因,增强耐病性,降低 F₃ 代和 F₄ 代群体的严重度。室内盆栽和田间穴播苗期定量接种是耐病性鉴定的标准程序,3 叶期至扬花期目测叶片褪绿变色度和定量测定根系与叶片病毒含量是耐病性初步筛选的有效方法。灌浆期系统调查病株率和严重度,计算耐病指数、病情指数和病毒增长曲线;成熟收获测定农艺参数和产量构成要素等农学指标,以及基本指数、约束指数、Smith 指数、累乘指数和最佳线性无偏预测模型^[3] (Best Linear Unbiased Predictor Model, BLUPs),分析耐病性状与农艺状参数相关性。独立淘汰法轮回选择成为耐病品种鉴定的有效方法,消除了 5 级与 7 级评价体系耐病性遗传的差异性。然而,燕麦对 BYDV 具有剂量反应,症状形成和产量损失易受株系交叉保护、病毒复制速率与运动速率

影响。已知燕麦叶片红化程度与叶绿素含量负相关,植株矮化度与农艺参数和产量构成要素负相关。BYDV 株系较多,PAV 和 MAV 依赖传播和交叉保护易使表型混杂^[4]。1 叶期混合接种 PAV 和 RPV 时,耐、感品系的严重度高于单一接种;2 叶期接种 24 h 内感病品系的病毒运动速率显著高于耐病品系;3 叶期接种 PAV 和 MAV 48 h 内感病品系的病毒含量显著高于耐病品系。100 头/株带毒蚜接种的产量损失高于 20 头/株带毒蚜接种的产量损失;一步式反转录聚合酶链式反应 RT-PCR 和多重反转录聚合酶链式反应 M-RT-PCR 能够实时定量检测植株病毒含量,检测灵敏度高于酶联免疫吸附 ELISA 测定和组织印记免疫 TBIA 测定,现已成为植株病毒浓度检测的有效工具。相对而言,国内相关研究仅见于我们的前期工作^[5],堆测法穴播、分蘖期接种、0~6 级标准评价是成株期抗性鉴定标准程序,地高辛 cDNA 探针斑点杂交和 TaqMan 探针 RT-PCR 检测是耐病性鉴定评价新兴辅助工具^[6]。借鉴国内外经验,以花期一致,农艺性状和表型抗性显著差异的抗、感病材料为亲本,设计抗×感二元组合,开展高和正常 CO₂ 浓度下杂交后代 F₁ 代和 F₂ 代群体耐 BYDV 持久性检测评价,约束指数、Smith 指数和 BLUPs 分析耐病性紧密连锁农艺性状,卡方检验遗传分离规律,独立淘汰法轮回选择出耐、感性状一致超越亲本的后代群体很有意义,可缓和当前抗性品种连续传代 BYDV 致病性变异分化与抗病育种工作滞后的矛盾,为 QTLs 位点标记奠定了一定的基础。

3 燕麦红叶病抗病基因分子标记研究

燕麦对 BYDV 的耐病性是能够稳定遗传的生物性状。*Avena sterilis* × *Lamar* 耐、感杂交群体耐病性受加性基因控制,*Otee*、*FF64/74*、*M 921* 和 *14492* × *Clintonland 64* 耐、感杂交群体耐病性受 2~4 个基因控制,IL86-8698 × *Clintonland 64* 和 *Kanota* × *Ogle* 重组自交系 AFLP 和 RFLP 连锁群分布相似,AFLP 连锁群使 RFLP 连锁群更加丰富,可标记更多相关性状基因。IL86-8698 × *Clintonland 64* 耐、感重组自交系耐病主位点 A、C、E 和微位点 R 位于六倍体燕麦 RFLP 连锁群 2、8、36、5 位点^[7]。*Kanota* × *Ogle* 重组自交系 21 个耐病染色体区段分布于 16 个 RFLP 连锁群,多元线性模型是回交育种分子标记选择最佳方法^[7]。*Ogle* × *MAM17-5* 耐、感重组自交系 4 个耐病数量性状位点 *BYDq1*, *BYDq2*, *BYDq3* 和 *BYDq4* 位于 *OM* 连

锁群 1、5、7 和 24 位点, 互相异位显性, 上位效应占总变异 50.3%~58.2%, 部分耐病 QTLs 密切连锁株高和抽穗日数^[8]。*Avena strigosa*×*Avena wiestii* 杂交群体 2 个抗病基因同源序列位于 RFLP 标记 *AswBF* 连锁群的两个位点, *Kanota* × *Ogle* 杂交群体 10 个抗病基因同源序列位于 RFLP 标记的 8 个连锁群^[9]。*Avena strigosa* × *Avena wiestii* 杂交群体 *Asw* 连锁图具有 *NBS/PK* 分析标记 184 个, *MN841801-1* × *Clintonland 64-2* 杂交群体 *MN* 连锁图具有 *NBS/PK* 分析标记 90 个^[10]。3-磷酸甘油醛脱氢酶 *GAPDH*、18S 小亚基单位核糖体核酸 18S-*rRNA*、 α -微管蛋白 *TUBA* 和 β -微管蛋白 *TUBB* 等管家基因是 BYDV 侵染燕麦基因精确表达的重要参考基因^[11-12], 聚合酶链式反应—单链构象多态性 *PCR-SSCP* 分析是寄主感染 BYDV 后株系毒性变化的定量检测工具^[13]。多样性序列芯片 DaRT 标记为燕麦基因组发现、比较作图和共识图谱构建奠定了坚实基础^[14], 高密度单核苷酸多态性 SNPs 标记的全基因组关联 GWAS 分析在 *Mrg17* 和 *Mrg04* 品系共识图谱 3C 和 18D 染色体臂上发现了 2 个数量性状位点 QTLs^[15]。因此, 以抗、感亲本和后代群体 F_1 和 F_2 代材料为对象, DNeasy 96 Kit 提取抗、感亲本和子代材料 DNA 后, 参考已知抗病基因同源保守序列设计特异引物, 以总 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 产物经琼脂糖凝胶电泳检测、回收纯化构建抗、感文库, 深度测序 *Illumina HiSeq™ PE 150* 平台获取抗、感亲本和子代材料碱基序列, FastQC 软件数据质控, Blast 同源比对基因序列, 高密度 SNPs 检测目的基因遗传连锁群, 复合区间作图法组建遗传连锁图谱, 结合已知 *KO*、*MN* 和 *Asw* 物理图谱, 全基因组关联 GWAS 分析, 即可定位耐病性状染色体目标区域和注释功能基因位点。

参考文献:

[1] MALMSTROM C M, FIELD C B. Virus-induced differences in the response of oat plants to elevated carbon dioxide[J]. *Plant, Cell and Environment*, 1997, 20 (2): 178-188.

[2] TREBICKI P, NANCARROW N, COLE E, et al. Virus disease in wheat predicted to increase with a changing climate[J]. *Global Change Biology*, 2015, 21 (9): 3511-3519.

[3] MONTESINOS-LOPEZ O A, MONTESINOS-LOPEZ A, PEREZ-RODRIGUEZ P, et al. Threshold models for genome-enabled prediction of ordinal categorical traits in plant breeding[J]. *G3: Gene-Genomes-Genetics*, 2015,

5(2): 291-300.

- [4] WEN F, LISTER R M, FATTOUH F A. Cross-protection among strains of barley yellow dwarf virus[J]. *Journal of general virology*, 1991, 72(4): 791-799.
- [5] 郭建国, 郭满库, 郭成, 等. 燕麦抗蚜性和抗 BYDV 病毒病鉴定及利用评价[J]. *中国农业科学*, 2012, 45(3): 575-583.
- [6] ZHANG X, ZHOU G H, WANG X F. Detection of wheat dwarf virus (WDV) in wheat and vector leafhopper (*Psammotettix alienus* Dahlb.) by real-time PCR[J]. *Journal of Virological Methods*, 2010, 169 (2): 416-419.
- [7] JIN H, DOMIER L L, KOLB F L, et al. Identification of quantitative loci for tolerance to barley yellow dwarf virus in oat[J]. *Phytopathology*, 1998, 88(5): 410-415.
- [8] BARBOSA-NETO J F, SIRIPOONWIWAT W, O'DONOUGHUE L S, et al. Chromosomal regions associated with barley yellow dwarf virus resistance in oat [J]. *Euphytica*, 2000, 114(1): 67-76.
- [9] ZHU S, KOLB F L, KAEPLER H F. Molecular mapping of genomic regions underlying barley yellow dwarf tolerance in cultivated oat (*Avena sativa* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 106 (7): 1300-1306.
- [10] IRIGOYEN M L, LOARCE Y, FOMINAYA A, et al. Isolation and mapping of resistance gene analogs from the *Avena strigosa* genome[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109(4): 713-724.
- [11] SANZ M J, LOARCE Y, FOMINAYA A, et al. Identification of RFLP and NBS/PK profiling markers for disease resistance loci in genetic maps of oats[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(1): 203-218.
- [12] ZHANG K, NIU S F, DI D P, et al. Selection of reference genes for gene expression studies in virus-infected monocots using quantitative real-time PCR [J]. *Journal of Biotechnology*, 2013, 168(1): 7-14.
- [13] DELAUNAY A, LACROIX C, MORLIERE S, et al. SSCP-derived quantitative variable to monitor the virulence of a barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) isolate during adaptation to the TC14 resistant wheat line[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2010, 11 (5): 651-661.
- [14] TINKER N A, KILIAN A, WIGHT C P, et al. New DaRT markers for oat provide enhanced map coverage and global germplasm characterization [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10(1): 1-22.
- [15] FORESMAN B J, OLIVER R E, JACKSON EW, et al. Genome-wide association mapping of barley yellow dwarf virus tolerance in spring oat (*Avena sativa* L.). [J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): 1-12.

(本文责编: 陈珩)