

小麦抗茎腐病种质筛选及鉴定新方法的建立

周森平, 姚金保, 张 鹏, 余桂红, 马鸿翔

(江苏省农业科学院生物技术研究所/江苏省农业生物学重点实验室, 南京 210014)

摘要:为筛选针对我国黄淮海区小麦茎腐病抗病新种质, 建立可区分小麦其他茎基部病害的茎腐病抗性鉴定方法, 本文采用室内苗期鉴定方法对主要来自黄淮海区的 108 份小麦品种和高代品系进行茎腐病抗性评价, 对其中 45 份小麦材料同时采用荧光定量 PCR 方法测定基部茎秆的禾谷镰刀菌 DNA 含量并与其茎腐病平均病级进行相关分析。共筛选到中抗茎腐病材料 22 份, 未发现高抗和免疫品种(系); 相关分析结果表明, 小麦基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量与其茎腐病平均病级呈极显著正相关($r=0.73^{**}$), 小麦基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量可以作为小麦茎腐病抗性的重要参考。抗病新种质的筛选和荧光定量 PCR 抗性评价方法的建立将为今后黄淮海区小麦抗茎腐病品种的培育提供帮助。

关键词:小麦; 茎腐病; 种质; 荧光定量 PCR

Screening of Germplasm and Establishment of New Evaluation Method for the Resistance to Wheat Crown Rot

ZHOU Miao-ping, YAO Jin-bao, ZHANG Peng, YU Gui-hong, MA Hong-xiang

(Institute of Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Provincial Key Laboratory of Agrobiolgy, Nanjing 210014)

Abstract: To screen the new wheat germplasm resistant to crown rot in Huang huai wheat area and establish the new identified method for the resistance which can distinguish the other disease in the basal straw of wheat, the resistance to crown rot of one hundred and eight varieties coming from Huanghuai wheat area was evaluated by seedling survey method in the house and the DNA contents of *Fusarium graminearum* in the basal straw of forty-five wheat varieties were detected simultaneously by Real-time PCR so as to analyze the relationship between the DNA content of *Fusarium graminearum* and the resistance to crown rot of wheat. Twenty-two varieties with moderate resistance to crown rot were screened out, but no more resistant or immune varieties were found. The correlation analysis showed that, between the *Fusarium graminearum* DNA content in the basal straw of wheat and the average disease grade, there was significant correlation with the correlation coefficient 0.73, indicating that the *Fusarium graminearum* DNA content in the basal straw of wheat could be used as the important reference to determine the resistance to crown rot of wheat. The new wheat gerplasm and the Real-time PCR method used for the resistance evaluation will be helpful to breeding of wheat cultivar resistant to crown rot in Huanghuai wheat area.

Key words: wheat; crown rot; germplasm; Real-time PCR

小麦茎腐病(crown rot)是由禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)或假禾谷镰刀菌(*Fusarium pseudograminearum*)等侵染小麦茎基部引起的一类世界性真菌病害^[1], 在南北美洲、欧洲、大洋洲和亚洲均有分布, 澳大利亚昆士兰州和美国西北太平洋沿岸麦区危害较为严重^[2]。在我国, 茎腐病主要在黄淮海区发生^[3]。该病害引起小麦茎秆基部腐烂, 严重时可造成分蘖或植株死亡, 从而影响

小麦产量,产量损失可高达 35% ~ 89%^[4-5]。茎腐病不仅造成产量损失,病原菌还在小麦子粒及其他组织器官中产生 DON 等真菌毒素残留,影响小麦的食用和饲用价值^[6]。抗病品种的选育和大规模应用是控制该病害最经济和有效的途径,抗源的使用和茎腐病抗性鉴定技术是保证抗病品种选育的关键。

目前,国内对茎腐病抗源的筛选报道较少,没有发现对该病免疫的材料,高抗的种质材料也极其匮乏^[7-8]。特别是缺乏针对黄淮麦区等主要病害区抗病种质。抗性鉴定方面,国内外主要以成株期田间接种^[9]以及苗期温室接种^[10-11]为主,田间接种不仅易受气候和环境条件的影响,而且易受小麦根基部其他病害如小麦纹枯病、小麦根腐病等的干扰,这些病害与茎腐病的早期发病症状不易区分,影响茎腐病抗性鉴定的准确性,因此,建立小麦茎基部不同病害的准确鉴定方法非常重要。

茎腐病病原菌也能侵染小麦穗部,造成小麦赤霉病。对小麦赤霉病,国内外已经有广泛的研究,基于荧光定量 PCR,已经建立了相应病原菌的定性和定量分析方法,对小麦组织内的病原菌生物量和 DNA 含量与其赤霉病抗性相关性进行了深入研究,结果表明,小麦穗部的镰刀病原菌 DNA 含量与小麦植株的病原菌生物量、赤霉病严重度、病麦粒比例和 DON 毒素含量均呈极显著相关^[12-15]。由于茎腐病和赤霉病病原菌相同,因此,能否借鉴这些分析方法,建立小麦基部茎秆的镰刀菌病原 DNA 含量荧光定量分析体系,进而分析病原菌 DNA 含量与小麦茎腐病抗性的相关性,建立可用于区别其他小麦茎基部病害的抗性鉴定方法,值得探讨。

本研究主要采用黄淮麦区小麦品种和高代品系为试材,筛选针对黄淮生态区的小麦茎腐病抗源,为今后该地区的抗小麦茎腐病育种提供帮助;同时以禾谷镰刀菌为病原菌,建立小麦基部茎秆病原菌 DNA 荧光定量(Real-time PCR)测定方法,探讨小麦基部茎秆内禾谷镰刀菌 DNA 含量与茎腐病严重度的关系,尝试该定量测定方法用于评价和筛选小麦抗茎腐病新种质的可能,提高小麦茎腐病抗性鉴定的准确性。

1 材料与方法

1.1 供试材料

小麦供试品种(系)共 108 份(表 1),均由江苏省农业科学院生物技术研究所麦类作物研究室

提供和保存。茎腐病病原菌禾谷镰刀菌菌株 F0609 和纹枯病病原菌禾谷丝核菌 R0301 由江苏省农业科学院植物保护研究所陈怀谷研究员提供。

1.2 小麦茎腐病抗性鉴定和小麦纹枯病接种

小麦茎腐病抗性评价参考 Y. X. Liu 等^[16]的方法略作修改,小麦种子经萌发催芽,芽长 5 mm 左右,浸于 1×10^6 个/mL 禾谷镰刀菌孢子悬浮液中,接种 10 min 后,10 粒发芽种子呈直线均匀置于灭菌的湿润纸巾(24 cm × 16 cm)上,芽的生长方向一致,指向纸巾边缘,芽上端离纸巾边缘 2 cm 左右,将纸巾从一端向另一端卷起,置于泡沫盒中,22 ℃,90% 湿度培养 15 d 后,按下列标准调查茎腐病发病情况,每份材料重复 3 次。

根据病害严重度将茎腐病病级分为 1 ~ 5 级:1 级为第一叶鞘病斑长度小于 1.0 cm;2 级为第一叶鞘病斑长度在 1.0 ~ 2.0 cm 之间;3 级为第一叶鞘病斑长度大于 2.0 cm,幼苗未萎蔫;4 级为幼苗出现萎蔫病症;5 级为幼苗死亡。计算平均病级。

小麦纹枯病接种与茎腐病类似,用粉碎的禾谷丝核菌菌丝悬浮液代替禾谷镰刀菌孢子悬浮液。

1.3 Real-time PCR 分析方法

1.3.1 禾谷镰刀菌和小麦基部茎秆总 DNA 的提取

收集 PDA 培养基上生长的禾谷镰刀菌菌丝,液氮磨碎,CTAB 法^[17]提取 DNA;小麦幼苗基部 1 cm 茎秆(含叶鞘)冷冻真空干燥,TissueLyser(QIAGEN 公司)磨碎,采用同样方法提取 DNA,Eppendorf Biophotometer 测定 DNA 浓度和质量。

1.3.2 Real-time PCR 反应体系

PCR 引物参考文献 P. Nicholson 等^[18],Fg16NF 和 Fg16NR 序列分别为:5'-ACAGATGACAAGATTTCAGGCACA-3'和 5'-TTCTTTGACATCTGTTCAACCCA-3'。Real-time PCR 反应采用 SYBR® GreenI (TaKaRa 公司)在 LightCycler 2.0 荧光定量 PCR 仪(Roche 公司)上进行,总体积为 10 μL,含 2 × SYBR® Premix Ex Taq™ 5 μL,5 μmol/L 正反向引物各 1 μL,模板 DNA 3 μL (15 ng/μL)。

1.3.3 标准曲线的建立

禾谷镰刀菌 DNA 按不同浓度梯度分别掺入未接种的扬麦 158 DNA 溶液中(扬麦 158 DNA 最终浓度为 15 ng/μL),使禾谷镰刀菌 DNA 最终浓度分别为 10000 pg/μL、1000 pg/μL、100 pg/μL、10 pg/μL、1 pg/μL、0.1 pg/μL。以构建的不同浓度梯度禾谷镰刀菌

DNA 样品为 DNA 模板,按上述反应体系进行 Real-time PCR。采用 Excel 软件,以 Real-time PCR 获得的 C_t 值为纵坐标,禾谷镰刀菌 DNA 质量的对数为横坐标,建立标准曲线和回归方程式。

1.3.4 小麦茎秆 DNA 样品的检测 为摸索小麦接种后最佳取样时间,茎腐病感病品种扬麦 158 和中抗品种丽麦 16 按前述茎腐病鉴定方法接种,并于接种后 3 d、6 d、9 d、12 d、15 d 和 18 d 后各取 10 株小麦幼苗基部茎秆,称重,提取 DNA 并稀释至 $15\text{ ng}/\mu\text{L}$,进行荧光定量 PCR 检测,根据回归方程式、DNA 体积和样品质量计算小麦基部茎秆组织中禾谷镰刀菌 DNA 含量,重复 3 次。

其他 45 份供试小麦品种(表 2)样品按同样方法接种,于接种 15 d 后取样,DNA 提取和定量检测同上,重复 3 次。

1.4 数据分析

采用 SAS 9.0 统计分析软件进行相关分析。

表 1 小麦品种(系)茎腐病抗性

Table 1 The resistance of wheat varieties to crown rot

抗性类型 Resistance type	品种(系) Varieties
高抗 HR	无
中抗 MR	淮麦 21,淮麦 33,丽麦 16,连 9791-4,皖麦 39,徐麦 24,郑 9023,周麦 20,周麦 21,周麦 25,BHY11,BHY14,N33,N37,11B7,11E2,11E5,11E29,11E34,11E46,11E48,2112
中感 MS	矮抗 58,安农 8455,冠麦 1 号,丰德存麦 9 号,淮麦 18,淮麦 20,金丰 10 号,漯 86036,宁麦 6 号,山东 9625,陕 253,皖麦 48,皖麦 54,西风,小偃 22,小偃 54,信资 10-804,徐麦 25,徐麦 27,徐麦 30,徐麦 856,烟 2801,扬麦 12,扬麦 16,扬麦 19,豫麦 18,豫麦 49,豫麦 66-9,中优 16,中优 9507,AHY07,AHY11,AHY12,AHY13,BHY04,MvToBoR30,N43,11E25,11E27,11E28
高感 HS	白兔 3 号,百农 073110,登丰 168,邯鄹 6172,淮 9720,淮麦 25,济南 17,济麦 20,济麦 22,江麦 816,宁麦 9 号,宁麦 13,宁 S1129,宁 10F-735,陕 150,陕优 225,陕 229,石家庄 8 号,苏麦 3 号,皖麦 18,皖麦 38,皖麦 44,皖麦 52,皖麦 53,皖麦 55,新麦 23,信资 10-911,徐麦 26,徐麦 29,徐麦 31,烟优 361,扬麦 158,扬麦 11,扬麦 15,扬麦 18,郑 005,郑 9405,ARZ,N8,N27,PH82-2-2,11E6,11E17,11E20,7008

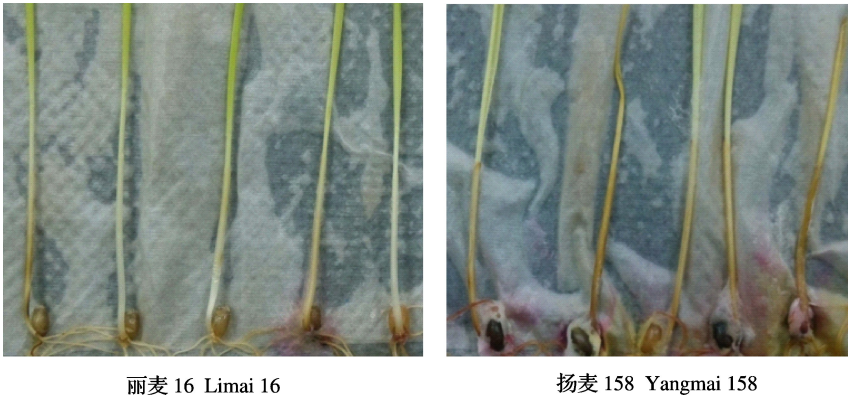


图 1 小麦茎腐病病症

Fig. 1 Symptoms of wheat crown rot

2 结果与分析

2.1 抗茎腐病小麦种质的筛选

108 份小麦品种和高代育种品系,包括 94 份黄淮麦区小麦材料以及 14 份长江中下游麦区小麦材料,于接种 15 d 后,调查茎腐病发病情况,根据茎腐病病症严重程度,以平均病级小于 1.0(包含 1.0)为高抗、1.0~2.0(包含 2.0)为中抗、2.0~3.0(包含 3.0)为中感、3.0 以上为高感的分类标准,将这些材料分为 3 类(表 1)。没有筛选到高抗和免疫品种;中抗品种(系)22 份,占 20.4%,均为黄淮麦区小麦材料;中感品种(系)41 份,占 38.0%,包括黄淮麦区小麦材料 36 份,长江中下游麦区小麦材料 5 份;其余为高感品种(系)。中抗品种中郑 9023、周麦 20 和淮麦 33 等都是大面积推广品种,广适性好,农艺性状优良,作为小麦茎腐病抗源,可以节省抗源改造时间,与野生小麦和地方品种抗源相比,优势明显。

2.2 禾谷镰刀菌 DNA 定量测定标准曲线的建立

采用 P. Nicholson 等^[18]由 RAPD 扩增条带转化而成的 RT-PCR 引物,对掺有禾谷镰刀菌 DNA 的小麦 DNA 样品进行 PCR 扩增,只有 280 bp 一条带出现,表明小麦基因组中没有同源性序列,可以用于小麦组织样品中禾谷镰刀菌 DNA 的定量检测。进一步优化荧光定量 PCR 仪 Real-time PCR 扩增条件,采用的反应条件为:95 ℃ 预变性 30 s;95 ℃ 5 s,62 ℃ 10 s,72 ℃ 20 s,40 个循环。

采用掺入不同浓度梯度禾谷镰刀菌 DNA 的小麦 DNA 样品进行 Real-time PCR 扩增,发现除了 0.1 pg 样品未能有效扩增外,其余样品均有扩增产物,且重复性好。以 Real-time PCR 测得的 Ct 值为纵坐标,样品中禾谷镰刀菌 DNA 质量的对数值为横坐标,建立检测标准曲线(图 2),回归方程为 $y = -3.55x + 30.82$,在 1 ~ 10000 pg 的范围内,线性较好, $R^2 = 0.998$ 。

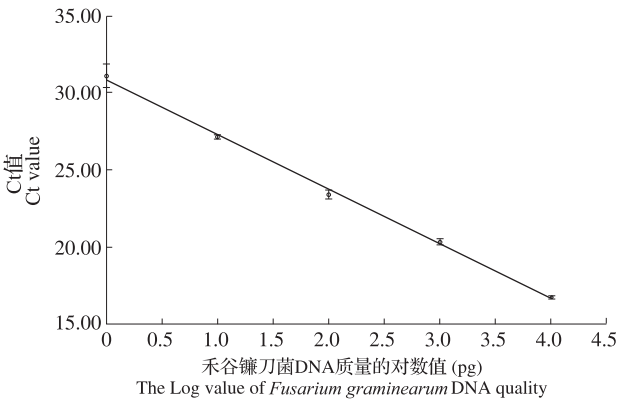


图 2 标准曲线
Fig. 2 Standard curve

2.3 小麦基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 定量测定取样时间的确定

为寻找合适的 DNA 抽提取样时间,茎腐病感病品种扬麦 158 和中抗品种丽麦 16 分别于接种后 3 d、6 d、9 d、12 d、15 d 和 18 d 取样,提取 DNA,进行禾谷镰刀菌 DNA 含量的 Real-time PCR 定量分析,并根据回归方程计算小麦基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量的变化(图 3),发现随着时间的推移,两品种基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量均呈指数增长。接种 12 d 内,尽管两品种均未有明显的茎腐病病症出现,仍能从他们的基部茎秆中检测到禾谷镰刀菌,但品种间差异不显著;接种 15 d,感病品种扬麦 158 基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 平均含量为 8840.5 ng/g,而中抗品种丽麦 16 平均含量仅为 2021.3 ng/g,差

异十分显著;接种 16 d,扬麦 158 基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 平均含量高达 13389.4 ng/g,是丽麦 16 的 3.6 倍。其他品种或品系均采用接种 15 d 作为 DNA 提取取样和病害调查时间。

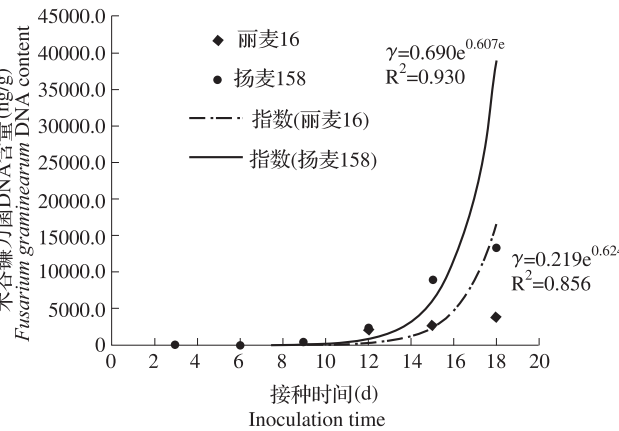


图 3 接种后丽麦 16 和扬麦 158 基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量变化
Fig. 3 The changes of *Fusarium graminearum* DNA content in the basal straw of Limai 16 and Yangmai 158 after inoculation

2.4 小麦基部茎秆中禾谷镰刀菌 DNA 含量与小麦茎腐病抗性的关系

为探索小麦基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量与小麦茎腐病抗性的关系,从 94 份黄淮麦区小麦材料中根据抗性不同选取 45 份用于病害鉴定和茎秆禾谷镰刀菌 DNA 定量分析(表 2)。小麦茎腐病平均病级为 2.9,变幅在 1.3 ~ 3.9 之间,基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 平均含量为 2895.6 ng/g,变幅在 88.9 ~ 11909.8 ng/g 之间,除少部分品种(系),中抗品种的禾谷镰刀菌 DNA 含量多在 100 ~ 800 ng/g 之间,中感品种多在 800 ~ 3000 ng/g 之间,而高感品种则大多高于 3000 ng/g。江麦 816 比较特别,与同病级的邯邯 6172、皖麦 38 和皖麦 55 相比,其基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量高出很多,表明该品种茎秆中的禾谷镰刀菌生物量较高,实际抗性可能比病症表现出来的抗性更差。相关分析发现,45 份小麦材料茎腐病平均病级与其基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 平均含量呈极显著相关,相关系数 $r = 0.73$ ($P < 0.001$),即茎腐病平均病级较低的品种或品系,其茎腐病抗性较好,基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 平均含量也相对较低,反之亦然(图 4),小麦基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量可作为判定其茎腐病抗性的重要参考。

表 2 小麦茎腐病平均病级与茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量

Table 2 The average disease grade of wheat crown rot and *Fusarium graminearum* DNA content

品种(系)	平均病级	DNA 含量(ng/g)	品种(系)	平均病级	DNA 含量(ng/g)
Varieties	Average disease grade	DNA content	Varieties	Average disease grade	DNA content
徐麦 24	1.3 ± 0.2	128.0 ± 3.4	新麦 23	3.2 ± 0.2	2379.5 ± 65.5
连 9791-4	1.5 ± 0.1	342.3 ± 31.4	信资 10-911	3.3 ± 0.1	4196.6 ± 57.7
郑 9023	1.5 ± 0.4	357.5 ± 25.3	宁 S1129	3.3 ± 0.0	3260.6 ± 164.4
淮麦 33	1.8 ± 0.2	447.5 ± 38.7	淮 9720	3.3 ± 0.5	3238.3 ± 104.0
周麦 20	1.9 ± 0.3	613.4 ± 71.9	徐麦 26	3.3 ± 0.1	4554.3 ± 250.3
11E29	1.9 ± 0.2	88.9 ± 16.2	徐麦 31	3.3 ± 0.4	2474.2 ± 406.7
11B7	2.0 ± 0.2	399.4 ± 34.7	11E20	3.4 ± 0.1	2957.3 ± 251.8
淮麦 21	2.0 ± 0.3	800.6 ± 98.9	郑 005	3.4 ± 0.2	3015.5 ± 265.0
11E25	2.2 ± 0.4	560.0 ± 69.7	徐麦 29	3.4 ± 0.4	6288.3 ± 604.7
淮麦 18	2.4 ± 0.4	1144.5 ± 170.4	登丰 168	3.4 ± 0.4	3084.8 ± 318.9
山东 9625	2.5 ± 0.1	788.4 ± 78.1	淮麦 25	3.5 ± 0.5	4952.1 ± 136.3
漯 86036	2.6 ± 0.4	1472.4 ± 40.5	邯鄲 6172	3.6 ± 0.5	3638.5 ± 50.1
小偃 54	2.6 ± 0.5	3280.7 ± 290.3	江麦 816	3.6 ± 0.2	11909.8 ± 1090.9
陕 229	2.7 ± 0.2	1736.9 ± 179.7	皖麦 38	3.6 ± 0.1	7665.1 ± 155.7
豫麦 18	2.7 ± 0.1	1555.6 ± 7.1	皖麦 55	3.6 ± 0.1	5918.8 ± 135.7
BHY04	2.7 ± 0.3	860.0 ± 47.3	烟优 361	3.7 ± 0.1	2538.9 ± 69.9
淮麦 20	2.8 ± 0.5	1187.4 ± 114.2	宁 10F-735	3.7 ± 0.4	3044.2 ± 55.9
小偃 22	2.8 ± 0.4	2927.9 ± 26.9	济麦 20	3.8 ± 0.2	5568.6 ± 306.3
豫麦 49	2.8 ± 0.1	1095.1 ± 165.1	百农 073110	3.8 ± 0.1	2900.7 ± 119.7
徐麦 27	2.9 ± 0.0	2144.9 ± 59.0	皖麦 53	3.9 ± 0.1	7425.8 ± 186.9
信资 10-804	2.9 ± 0.3	1618.8 ± 96.5	PH82-2-2	3.9 ± 0.1	5097.9 ± 23.4
AHY11	3.0 ± 0.1	3916.5 ± 376.6	陕优 225	3.9 ± 0.3	4156.6 ± 114.4
陕 150	3.1 ± 0.2	2570.5 ± 299.2			

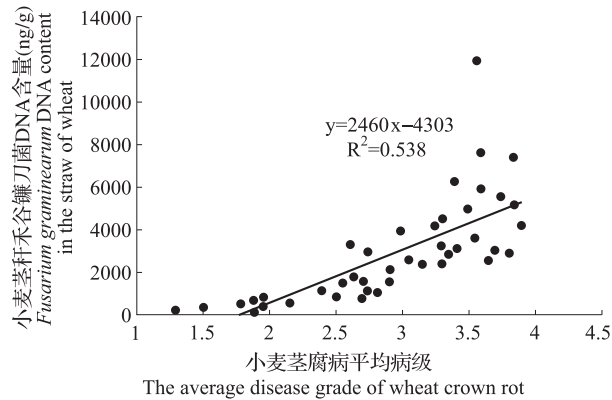


图 4 小麦茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量与茎腐病平均病级的相关性

Fig. 4 Correlation between *Fusarium graminearum* DNA content in wheat straw and its disease grade of crown rot

对这 45 份小麦材料同时采用纹枯病菌禾谷丝核菌接种,采用相同的荧光定量分析方法对其基部茎秆 DNA 样品进行检测,均未检测到扩增产物,表明该体系具有禾谷镰刀菌特异性,可以将 2 种病害

区分开来。

3 讨论

近几年来,我国黄淮麦区小麦茎腐病普遍发生,部分地区危害严重,产量损失高达 30% 以上,对茎腐病抗病种质的筛选和防治日趋重视^[3]。张鹏等^[7]采用温室接种对 82 份国内外种质材料进行茎腐病抗性鉴定,筛选到中抗材料 13 份,但未能筛选到高抗种质。程睿等^[8]对 169 份普通小麦、硬粒小麦、小黑麦和野生小麦进行苗期茎腐病鉴定,共筛选到 43 份抗病材料,没有发现免疫材料,同时发现栽培品种和地方品种中抗病材料比例高于野生材料。本研究采用室内苗期茎腐病抗性鉴定方法从 108 份小麦品种和育种高代品系中,筛选到中抗材料 22 份,这些材料农艺性状好,抗性稳定,不需更多改造,可以直接作为黄淮麦区小麦茎腐病抗源使用。

Real-time PCR 由于具有高特异性和高灵敏度且操作简便、易于进行高通量分析等优点,近年来在植物病原菌的鉴别和定量分析中应用广泛。在对

Fusarium 病原菌的鉴别中,先后采用核糖体 ITS(internal transcribed spacers of ribosomal DNA) 序列、 β -tubulin 基因的 IGS(intergenic spacers) 序列、tefl α (1 alpha translation elongation factor) 基因、毒素合成 *Tri5* 和 *Tri6* 基因以及 *MAT*(mating type protein) 基因为目标基因的 PCR 鉴别体系,部分目标基因开发出 Real-time PCR 定量分析体系^[14-15,19-23]。本研究采用 P. Nicholson 等^[18] 由 RAPD 扩增条带转化而成的 RT-PCR 引物,也成功建立了 Real-time PCR 定量分析方法,结果显示,在小麦 DNA 背景下,在 1 ~ 10000 pg 的范围内,禾谷镰刀菌 DNA 质量的对数值与 Real-time PCR 的 *Ct* 值具有较好的线性关系,可以用于小麦基部茎秆的禾谷镰刀菌 DNA 含量测定。

小麦赤霉病与小麦茎腐病可以由相同的病原菌,如禾谷镰刀菌,分别侵染小麦穗部和茎秆基部引起。国内外对小麦赤霉病的研究较为深入,采用 Real-time PCR 定量分析方法发现,小麦穗部组织禾谷镰刀菌 DNA 含量与禾谷镰刀菌的生物量、赤霉病的严重度、病麦粒比例以及残留的 DON 毒素等具有较高的相关性。本研究结果与此类似,发现小麦基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量与小麦茎腐病的平均病级高度相关,可以作为小麦茎腐病抗性鉴定的重要参考,特别在田间鉴定中,小麦茎腐病、纹枯病和根腐病早期症状易于混淆时,可以发挥重要作用。另外,在茎腐病病症不明显的情况下,该方法可作为区别不同抗性的重要指标。目前,该项研究只针对室内接种的小麦幼苗,田间自然发病的情况下,小麦基部茎秆禾谷镰刀菌 DNA 含量与小麦茎腐病抗性之间的相关性如何,尚需进一步的试验证实。

参考文献

- [1] Backhouse D, Abubakar A A, Burgess L W, et al. Survey of *Fusarium* species associated with crown rot of wheat and barley in eastern Australia[J]. Australas Plant Pathol, 2004, 33: 255-261
- [2] Chakraborty S, Liu C J, Mitter V, et al. Pathogen population structure and epidemiology are a key to wheat crown rot and *Fusarium* head blight management [J]. Plant Pathol, 2006, 35: 1-13
- [3] 周海峰, 杨云, 牛亚娟, 等. 小麦茎基腐病的发生动态与防治技术[J]. 河南农业科学, 2014, 43(5): 114-117
- [4] Smiley R W, Gourlie J A, Easley S A, et al. Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest [J]. Plant Dis, 2005, 85: 595-604
- [5] Klein T A, Burgess L W, Ellison F W. The incidence and spatial patterns of wheat plants infected by *Fusarium graminearum* Group 1 and the effect of crown rot on yield [J]. Aust J Agric Res, 1991, 42: 399-407
- [6] Mudge A M, Dill-Macky R, Dong Y H, et al. A role for the mycotoxin deoxynivalenol in stem colonisation during crown rot disease of wheat caused by *Fusarium graminearum* and *Fusarium pseudograminearum* [J]. Physiol Mo Plant Pathol, 2006, 69: 73-85
- [7] 张鹏, 霍燕, 周森平, 等. 小麦禾谷镰孢菌茎基腐病抗源的筛选与评价[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(3): 431-435
- [8] 程睿, Kansaye A, 杜向红, 等. 不同麦类种质资源苗期冠腐病抗性鉴定与分析[J]. 西北农业学报, 2011, 20(9): 31-34
- [9] Wildermuth G B, McNamara R B, Quick J S. Crown depth and susceptibility to crown rot in wheat [J]. Euphytica, 2001, 122: 397-405
- [10] Mitter V, Zhang M C, Liu C J, et al. A high-throughput glasshouse bioassay to detect crown rot resistance in wheat germplasm [J]. Plant Pathol, 2006, 55: 433-441
- [11] 霍燕, 张鹏, 任丽娟, 等. 小麦茎基腐病苗期快速接种鉴定方法研究[J]. 江西农业学报, 2010, 22(8): 93-96
- [12] Burlakoti R R, Estrada R, Rivera J V, et al. Real-time PCR quantification and mycotoxin production of *Fusarium graminearum* in heat inoculated with isolates collected from potato, sugar beet, and wheat [J]. Phytopathology, 2007, 97(7): 935-841
- [13] Brandfass C, Karlovsky P. Up scaled CTAB-based DNA extraction and Real-time PCR assays for *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* DNA in plant material with reduced sampling error [J]. Int J Mol Sci, 2008, 9: 2306-2321
- [14] Horevaj P, Milus E A, Bluhm B H. A real-time qPCR assay to quantify *Fusarium graminearum* biomass in wheat kernels [J]. J Appl Microbiol, 2011, 111: 396-406
- [15] Zhang Y J, Fan P S, Zhang X, et al. Quantification of *Fusarium graminearum* in Harvested Grain by Real-Time Polymerase Chain Reaction to Assess Efficacies of Fungicides on *Fusarium* Head Blight, Deoxynivalenol Contamination, and Yield of Winter Wheat [J]. Phytopathology, 2009, 99(1): 95-100
- [16] Liu Y X, Yang X M, Ma J, et al. Plant height affects *Fusarium* Crown Rot severity in wheat [J]. Phytopathology, 2010, 100(12): 1276-1281
- [17] Saghai-Maroo M A, Soliman K, Jorgensen R A, et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley Mendelian inheritance chromosomal location, and population dynamics [J]. PNAS, 1984, 81: 8014-8018
- [18] Nicholson P, Simpson D R, Weston G, et al. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays [J]. Physiol Mol Plant Pathol, 1998, 53: 17-37
- [19] Schnerr H, Niessen L, Vogel R F. Real time detection of the *tri5* gene in *Fusarium* species by LightCycler-PCR using SYBR® Green I for continuous fluorescence monitoring [J]. Inter J Food Microbiol, 2001, 71: 53-61
- [20] Reischer G H, Lemmens M, Farnleitner A, et al. Quantification of *Fusarium graminearum* in infected wheat by species specific real-time PCR applying a TaqMan Probe [J]. J Microbiol Meth, 2004, 59: 141-146
- [21] Demeke T, Gräfenhan T, Clear R M, et al. Development of a specific TaqMan® real-time PCR assay for quantification of *Fusarium graminearum* clade 7 and comparison of fungal biomass determined by PCR with deoxynivalenol content in wheat and barley [J]. Inter J Food Microbiol, 2010, 141: 45-50
- [22] Stakheev A A, Ryazantsev D Y, Gagkaeva T Y, et al. PCR detection of *Fusarium* fungi with similar profiles of the produced mycotoxins [J]. Food Control, 2011, 22: 462-468
- [23] Hogg A C, Johnston R H, Johnston J A, et al. Monitoring *Fusarium* crown rot populations in spring wheat residues using quantitative Real-time polymerase chain reaction [J]. Phytopathology, 2010, 100(1): 49-57