麦类作物学报 2026,46(9):1156－1164
Journal of Triticeae Crops doi: 10.7606/j.issn.1009-1041.2026.09.04

网络出版时间:2026-04-10
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260409.1057.002

二穗短柄草功能基因组学研究进展及育种应用

杜美婷[1,2],陈慧泽[1,2]

(1.山西师范大学生命科学学院,山西太原 030000; 2.植物大分子逆境响应山西省重点实验室,山西太原 030000)

摘 要:二穗短柄草凭借其基因组精简、生命周期短及与麦类作物高度的亲缘关系,已成为解析温带禾本科植物复杂农艺性状的模式植物。本文系统综述了近年来二穗短柄草功能基因组学的核心进展及其在麦类育种中的应用。首先,阐述了该物种从单一参考基因组向泛基因组图谱的演进,以及高效遗传转化与多靶点CRISPR/Cas9基因编辑工具集的革新,这些突破为高通量基因功能解析奠定了坚实基础。其次,重点总结了二穗短柄草三大核心领域的发现:一是解析禾本科特有的II型细胞壁阿魏酸交联网络;二是揭示CBF依赖的冷驯化与ABA介导的抗旱信号通路,阐明"冷季型"草类的环境适应机制;三是作为病理学模型,解析麦类锈病、赤霉病等真菌病害的防御网络。最后,展望了在合成生物学与人工智能融合背景下,利用二穗短柄草作为"快速原型平台"加速小麦、大麦等作物精准设计育种的潜力与路径。

关键词:二穗短柄草;功能基因组学;抗逆性;作物育种

中图分类号:S512.1;S330 **文献标识码**:A **文章编号**:1009-1041(2026)09-1156-09

Advances in Functional Genomics of *Brachypodium distachyon* and Its Applications in Breeding

Du Meiting[1,2], **Chen Huize**[1,2]

(1. College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Taiyuan, Shanxi 030000, China;
2. Shanxi Key Laboratory of Plant Macromolecular Stress Response, Taiyuan, Shanxi 030000, China)

Abstract: *Brachypodium distachyon* has emerged as a pivotal model system for deciphering the complex agronomic traits of temperate grasses, owing to its compact genome, short life cycle, and high phylogenetic affinity with Triticeae crops. This article systematically reviews the core advances in *Brachypodium* functional genomics over the past years and their applications in cereal breeding. First, we elucidate the evolution from a single reference genome to a pangenome atlas, alongside innovations in efficient genetic transformation and multiplex CRISPR/Cas9 genome editing toolkits. These breakthroughs have laid a robust foundation for high-throughput gene function analysis. Second, we highlight key mechanistic discoveries in three core areas: (1)dissecting the ferulic acid cross-linking network of the unique grass Type II cell wall to guide biomass energy improvement; (2)revealing the CBF-dependent cold acclimation and ABA-mediated drought signaling pathways to elucidate the environmental adaptation mechanisms of "cool-season" grasses; and (3)serving as a plant pathology model to decipher defense networks against fungal diseases such as wheat rust and Fusarium head blight. Finally, we discuss the potential and pathways for utilizing *Brachypodium* as a "rapid prototyping platform" to accelerate precision design breeding in crops like wheat and barley, in the context of integrating synthetic biology and artificial intelligence.

收稿日期:2026-01-05 修回日期:2026-01-27
基金项目:国家自然科学基金项目(31900251);山西省基础研究计划项目(202203021212402,202403021211031);山西省留学归国人员科技择优项目(20230026)
第一作者 E-mail:dumt@sxnu.edu.cn(杜美婷)
通讯作者 E-mail:chenhz@sxnu.edu.cn(陈慧泽)

Keywords：*Brachypodium distachyon*；Functional genomics；Stress physiology；Crop breeding

在过去 30 年里，植物分子生物学领域取得了重大突破，这主要得益于双子叶模式植物拟南芥和单子叶模式植物水稻的研究进展。然而，随着全球粮食安全形势的日益严峻，主要粮食作物特别是小麦和大麦的遗传改良需求变得尤为迫切。

尽管拟南芥研究揭示了诸多基础生物学机制，但其作为十字花科植物，与禾本科作物在进化上存在约 1.5 亿年的分化历史[1]，导致许多关键农艺性状的分子通路无法在该模式植物中建立对应关系。水稻虽同属禾本科，但作为稻亚科的代表物种，其热带/亚热带起源特性与温带气候适应性存在本质差异。相比之下，以小麦、大麦、燕麦和黑麦草为代表的早熟禾亚科植物[3]，更倾向于表现出典型的“冷季型”生长特征[4]。这种系统发育差异造成了显著的“转化鸿沟”：在水稻中验证的基因功能往往难以直接应用于小麦育种。例如在抗冻性和特定真菌病害防御机制等研究领域，水稻并非理想的参考模型。此外，普通小麦的异源六倍体基因组结构及其庞大的重复序列含量，使得基因克隆与功能验证面临重大技术挑战。因此，寻找一种兼具基因组小、生命周期短、转化效率高以及与麦类作物具有高度进化亲缘关系的模式植物，已成为植物学界的普遍共识。二穗短柄草正是在这一研究需求背景下脱颖而出，被确立为解析早熟禾亚科作物复杂生物学问题的关键研究材料[5]。

在过去 10 年间，二穗短柄草的研究成果呈现显著增长。本文系统综述该物种作为温带麦类作物功能基因组学研究平台的核心进展，旨在为从事谷物生物学、逆境生理及细胞壁工程的科研工作者提供理论参考，并深入探讨如何通过“转化生物学”路径，将基础研究成果更高效地应用于麦类作物的农艺性状改良。

1　二穗短柄草的分类地位与生物学特征

二穗短柄草（*Brachypodium distachyon*（L.）P. Beauv.）隶属于禾本科早熟禾亚科短柄草族，与小麦、大麦的分化时间约为 3 200 万～3 500 万年，而水稻与麦类作物的分化时间则早在 4 000 万～5 000 万年前[6]。这意味着，在基因组共线性排列和基因序列同源性上，二穗短柄草比水稻更接近小麦。比较基因组学研究发现，二穗短柄草基因组与小麦基因组之间存在大片段的高度保守共线性区域，这使得利用二穗短柄草进行图位克隆来分离小麦同源基因成为可能[7]。

作为模式植物，二穗短柄草（以 Bd21 生态型为代表）具备一系列极具竞争力的生物学优势：一是精简的基因组，其单倍体基因组大小约为 272 Mb，仅为小麦基因组的 1/60，却包含了几乎所有小麦核心基因家族的直系同源基因。其基因组拥有 5 对染色体（2n＝10），重复序列含量相对较低（＜30％）；二是高效的生命周期，在长日照（20 h 光照）和适当温控下，二穗短柄草从种子萌发到种子成熟仅需 8～10 周，每年可繁衍 4～5 代，极大地加速了遗传学实验的进程；三是其不仅株型小巧（高度约 15～20 cm），无需复杂的田间设施，在人工气候室中即可高密度种植，而且它是自花授粉植物，易于保持遗传背景的纯合，也便于进行人工杂交；四是与麦类作物同属 C3 植物，使其成为研究温带谷物光合作用及光能利用率的理想模型[8]。

2　从基因组测序到功能基因组学的十年演变（2014—2024 年）

自 2010 年二穗短柄草全基因组测序结果被报道以来，有关其基因组学的研究从“结构基因组学”逐渐向“功能基因组学”发展。通过总结近 10 年（2014—2024 年）的文献，可将这一过程梳理为 3 个主要的发展阶段。阶段一：遗传工具集的完善（2010—2015 年），在二穗短柄草基因组发布后的最初几年，研究主要集中在构建高效的遗传转化体系和突变体库。通过优化农杆菌介导的转化法，特别是利用 AGL1 菌株和特定的愈伤组织诱导培养基，转化效率从最初的不到 1％提升至 40％以上[9-10]。与此同时，T-DNA 插入突变体库（如 Brachy Tag）和化学诱变库（TILLING）的建立为反向遗传学研究提供了宝贵资源[11]。阶段二：基因组多样性与泛基因组研究（2016－2020 年），随着重测序成本的降低，单一参考基因组（Bd21）的局限性日益凸显。Bd21 主要源自伊拉克，无法代表该物种在地中海盆地广泛分布的遗传多样性。Gordon 等[12]通过对 54 个不同生态型的重测序，构建了二穗短柄草的泛基因组。这一阶段的研究揭示了惊人的基因组结构变异（structural variations，SVs），特别是大量的存在/

缺失变异(presence/absence variations, PAVs),这些变异被证明与开花时间、春化需求及抗病性密切相关。阶段三:基因编辑与复杂性状解析(2020年至今),近 5 年来 CRISPR/Cas9 基因编辑技术在二穗短柄草中的广泛应用标志着功能基因组学时代的全面到来,研究者不再局限于描述表型,而是开始通过精准敲除和原位突变来解析复杂的信号网络。例如,在细胞壁生物合成[13]、非生物胁迫响应[14]以及根系与微生物互作领域,二穗短柄草研究均产出了大量机制性成果,用于指导小麦和大麦的分子育种。

3 基因组学资源与遗传工具的革新

3.1 突破单一参考基因组局限的泛基因组学

自二穗短柄草首个参考基因组发布以来,二穗短柄草一直是禾本科基因组学的标杆。然而,单一的基因组无法涵盖物种内丰富的遗传变异,特别是在应对环境异质性方面的适应性进化机制。随着高通量测序成本的降低,研究范式已迅速从单一基因组转向泛基因组。

Gordon 等[15]通过对 54 个具有广泛地理代表性的二穗短柄草自然生态型进行深度重测序,构建了该物种的首个泛基因组图谱。研究表明,二穗短柄草的泛基因组由核心基因组和可变基因组组成。令人惊讶的是,尽管其基因组较小,但结构变异极为丰富。核心基因主要涉及管家功能(如基础代谢、DNA 复制),而可变基因则显著富集在生物/非生物胁迫响应、开花时间调控及细胞壁修饰等途径中。这种基因组的"双层结构"解释了不同生态型(如耐旱的 Bd1-1 与早花的 Bd21)在表型上的巨大差异[16]。

近期研究则主要聚焦于大片段的存在/缺失变异(PAVs)。PAVs 并非随机分布,而是往往由转座子(transposable elements, TEs)的插入或重组驱动[17]。在某些晚花生态型中,*VRN1*(春化关键基因)启动子区域的 TE 插入或缺失决定了其春化需求[17]。这种由 TE 驱动的基因组可塑性,为理解小麦等复杂多倍体作物中的基因组进化提供了微观模型。

3.2 转座子动力学与表观遗传调控

与拟南芥不同,禾本科植物基因组中 TE 含量通常较高。二穗短柄草虽然基因组紧凑,但 TE 仍占约 30%。LTR 反转录转座子是二穗短柄草基因组扩张的主要动力[2,18]。Wicker 等[18]研究发现,二穗短柄草中的 LTR 转座子周转率极高,这种快速的"扩增—清除"动态平衡维持了其基因组的小型化,这与小麦基因组中 TE 的单向累积形成了鲜明对比。全基因组甲基化图谱显示,CHG 和 CHH 类型的甲基化主要集中在 TE 区域,通过 RdDM(RNA-directed DNA methylation)途径维持基因组稳定性,防止 TE 跳跃对邻近功能基因造成破坏。

3.3 遗传转化体系的优化与迭代

高效的遗传转化是功能基因组学的先决条件。在过去 10 年中,二穗短柄草的转化体系经历了从"费时费力"到"高通量流水线作业"的革新。虽然基因枪法曾被使用,但目前农杆菌介导的未成熟胚转化已非常普遍。Alves 等[10]使用 AGL1 或 EHA105 菌株,配合含有铜离子和乙酰丁香酮的共培养基,显著提高了 T-DNA 的整合效率。此外,基因型依赖性的转基因也取得了突破。早期基因转化主要局限于 Bd21-3 基因型[19]。近年来的研究通过调整组织培养基中的激素配比,成功实现了对 Bd1-1、Bd3-1 等顽拗型生态型的转化,打破了基因型限制,使比较功能基因组学研究成为可能[20]。为了配合高通量筛选,人们开发了针对二穗短柄草的快速生活史系统。通过 22 h 光周期、特定光谱配比(增加远红光比例)以及未成熟胚的"胚挽救"技术,可将世代周期缩短至 6～7 周,一年可完成 6 代以上的遗传材料推进[14]。

3.4 基因编辑技术的飞跃:从敲除到精准替换

早期的 CRISPR 载体多基于双子叶植物(拟南芥)中广泛使用的启动子(如*CaMV35S*),但其在禾本科中效率低下。现在的二穗短柄草编辑系统普遍采用玉米泛素启动子(*ZmUbi*)或水稻肌动蛋白启动子(*OsActin*)驱动 Cas9 蛋白,并使用水稻 U3/U6 启动子驱动 sgRNA。这一改进将编辑效率从 10% 以下提升至 80% 以上[21]。此外,Weiss 等[22]在二穗短柄草中还实现了多靶点编辑。利用 tRNA-gRNA 串联结构,研究者已成功在二穗短柄草中实现一次性敲除整个基因家族(如 *BdCBF* 家族),这对于解析功能冗余基因至关重要。除了简单的 Indel(插入/缺失)突变,更高阶的编辑工具也已在二穗短柄草中建立。利用 nCas9-Deaminase 融合蛋白,实现了 C-to-T 或 A-to-G 的精准点突变,这对于模拟作物中的优异等位基因(如除草剂抗性位点)具有重要意义[23]。此外,通过分离后代,研究者可以快速获得不含

Cas9 外源 DNA 的纯合突变体，符合生物安全评估的高标准。

4　细胞壁生物合成与生物能源应用

随着第二代生物燃料技术的兴起，利用非粮作物秸秆生产生物乙醇已成为全球能源战略的重要组成部分。然而，植物细胞壁固有的“抗降解性”即细胞壁结构对酶解糖化的天然抵抗力，是限制其商业化应用的主要瓶颈。二穗短柄草凭借其与能源草（如柳枝稷 *Panicum virgatum*、芒草 *Miscanthus*）高度相似的 II 型细胞壁结构，成为了解析禾本科细胞壁合成网络及改良生物质品质的首选模型。

4.1　独特的草类 II 型细胞壁结构

利用高分辨率显微技术（如原子力显微镜 AFM）和免疫标记技术可以精细观察二穗短柄草细胞壁的结构。与拟南芥细胞壁中富含木葡聚糖（xyloglucan）不同，二穗短柄草的次生细胞壁中，半纤维素主要由葡萄糖醛酸阿拉伯木聚糖（glucurono-arabinoxylan，GAX）构成。研究发现，GAX 主链上的侧链修饰（如阿拉伯糖残基的取代度）直接影响纤维素微纤维的紧密程度。混合连锁葡聚糖（MLG）是含有 β-1,3 和 β-1,4 混合糖苷键的葡聚糖，是禾本科植物细胞壁特有的成分。虽然在成熟茎秆中 MLG 含量下降，但在快速伸长的组织中，其不仅提供机械支撑，还是重要的瞬时碳源储备[13]。

二穗短柄草细胞壁最显著的特征是阿魏酸（ferulic acid，FA）介导的交联网络。FA 通过酯键连接在 GAX 的侧链上，进而通过氧化偶联形成二聚体（Di-FA）甚至三聚体，将不同的木聚糖链交联在一起，或者将木聚糖与木质素共价连接[24]。这种“木质素-阿魏酸-半纤维素”复合体极大地阻碍了纤维素酶的物理接触。打破这些交联（例如过表达阿魏酸酯酶）能显著提升糖化效率，而不一定需要大幅降低木质素总量[24]。

4.2　木质素生物合成的精细调控网络

木质素是导致生物质抗降解的主要因素，也是近年来基因工程改良的重点靶标。二穗短柄草为解析单子叶植物特有的木质素合成途径提供了详尽的遗传学证据。利用 TILLING 突变体库，研究者系统鉴定了苯丙烷代谢途径中的关键基因 *BdCAD1*（cinnamyl alcohol dehydrogenase）和 *BdCOMT*（caffeic acid O-methyltransferase）。缺失 BdCAD1 会导致木质素单体合成受阻，使茎秆呈现特征性的红棕色，显著改变 S/G（紫丁香基/愈创木基）木质素比例。虽然木质素总量下降，但其生物质的酶解糖化效率提高了 40% 以上[25]。类似于玉米的 *bm3* 突变体，*BdCOMT* 的下调显著降低了 S 型木质素的含量，使得细胞壁结构更加疏松。木质素合成受到严格的转录调控。值得注意的是，某些转录因子（如 *BdGNRF*）表现出对木质素合成的负调控作用[26]。这类抑制因子的发现为“少木质素”育种提供了新的反向操作思路。

降低木质素含量往往伴随着植物生长受阻、倒伏风险增加以及抗病性减弱。这可能是细胞壁完整性信号通路被激活的结果。近年来的研究重点在于如何“解耦”这两者。Wu 等[27]通过精细调节 *C4H*（肉桂酸-4-羟基化酶）的表达量，发现存在一个“阈值”：在一定范围内降低木质素含量可以提升糖化效率，而不会触发严重的生长抑制。另外，引入外源基因（如细菌来源的酶）合成非典型的木质素单体，可以在保持细胞壁疏水性和机械强度的同时，引入易于化学降解的化学键（如酯键），这种“可设计细胞壁”理念在二穗短柄草中已取得初步验证。为了避免对维管束运输功能的影响，研究者利用二穗短柄草次生壁特异性启动子（如 *BdIRX* 启动子），将木质素修饰限制在厚壁组织中，从而在保证植株直立生长的前提下，提升了茎秆作为生物燃料原料的品质[28]。

5　非生物胁迫信号转导与早熟禾亚科的环境适应性

作为起源于地中海气候区并广泛分布于温带地区的禾本科植物，二穗短柄草在漫长的进化历程中演化出了应对干旱、极端温度（冷/热）及盐碱胁迫的精密信号网络。与起源于热带的稻亚科物种（如水稻）相比，二穗短柄草保留并扩增了早熟禾亚科特有的适应性模块，特别是针对低温驯化和季节性干旱的响应机制。以下内容将从受体感知、信号转导级联到基因表达调控，系统剖析其非生物胁迫响应的分子机理。

5.1　干旱与高渗透胁迫：ABA 核心信号通路的保守与特化

植物激素脱落酸（ABA）是应对水分亏缺的“核心指令”。基因组学与生化分析表明，二穗短柄草完整保留了 PYR/PYL/RCAR-PP2C-SnRK2 这一核心信号模块，但在基因家族扩增和功能分化上

展现出独特的调控复杂性。

通过全基因组鉴定，二穗短柄草含有 14 个 PYL(ABA 受体)基因，9 个 A 组 PP2C(2C 型蛋白磷酸酶)基因以及 10 个 SnRK2(蔗糖非发酵相关蛋白激酶 2)基因[29]。*BdPYL* 基因家族在进化上分为两个主要亚类。表达谱分析显示，*BdPYL1* 和*BdPYL2* 在干旱处理下的叶片中表达量上调超过 100 倍，表明其作为胁迫诱导型受体的主导地位；而*BdPYL8* 等成员则呈组成型表达，负责维持基础 ABA 信号的稳态[30]。与拟南芥类似，二穗短柄草的*BdSnRK2* 家族根据 C 端酸性结构域的差异分为三组(Subclass Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ)。其中，Subclass III 成员(如 BdSnRK2.2/2.3/2.6)是 ABA 依赖途径的关键激酶。生化实验证实，它们能被 ABA 强烈激活，不仅调控气孔关闭，还负责磷酸化下游的 bZIP 转录因子[31]。

在无胁迫状态下，PP2C(如*BdPP2CA6*)通过物理互作并去磷酸化 BdSnRK2 的关键丝氨酸/苏氨酸位点(Ser/Thr loop)，从而阻断信号传递。当胞内 ABA 浓度升高时，BdPYL 受体结合 ABA 分子，发生构象变化，进而紧密结合 BdPP2CA 的催化中心，抑制其磷酸酶活性。酵母双杂交(Y2H)和双分子荧光互补(BiFC)实验表明，BdPYL 与 BdPP2C 的互作具有高度的特异性。例如，*BdPYL1* 对*BdPP2CA* 的抑制常数(Ki)处于纳摩尔级别，显示出极高的亲和力。这种解除抑制机制使得 BdSnRK2 得以通过分子内自我磷酸化被激活，进而开启下游反应[32]。

被激活的 BdSnRK2 进入细胞核，磷酸化碱性亮氨酸拉链(bZIP)类转录因子。*BdABI5* 是拟南芥*ABI5* 的直系同源基因。Yang 等[33]研究发现，过表达*BdABI5* 的转基因二穗短柄草表现出对 ABA 的超敏感性和显著增强的耐旱性。染色质免疫共沉淀测序揭示，*BdABI5* 能够直接结合在*BdLEA*(晚期胚胎发生丰富蛋白)、*BdP5CS*(脯氨酸合成关键酶)以及*BdRAB18* 等抗逆基因启动子区域的 ABRE(ABA-responsive element)核心序列上。有趣的是，*BdABI5* 自身的启动子区域也包含 ABRE 元件，意味着*BdABI5* 可以诱导自身的表达，形成一个快速放大的正反馈回路，以应对突发的严重干旱[34]。

5.2 冷驯化与抗冻性：解析早熟禾亚科的生存智慧

作为冷季型草类，二穗短柄草是研究小麦和大麦越冬机理的最佳二倍体模型。与水稻遇到低温即发生冷害不同，二穗短柄草具备冷驯化能力。CBF 通路(C-repeat binding factor pathway)是冷驯化的主要途径。二穗短柄草基因组中存在多个 *CBF/DREB1* 同源基因(*BdCBF1*、*BdCBF2*、*BdCBF3* 和*BdCBF4*)，它们在染色体上呈串联排列。这种基因扩增现象在小麦和大麦中同样存在，而在水稻中较少见，被认为是温带作物适应寒冷的关键进化事件。*BdCBF* 基因对低温的响应极为迅速(15 min 内上调)，并在 2～4 h 达到峰值。与拟南芥不同，某些 *BdCBF* 成员在持续低温下能维持较长时间的高表达水平，这与冬小麦的表达模式高度相似，表明 ICE-CBF-COR 转录级联的进化保守性[35]。

CBF 的上游转录因子 ICE1(inducer of CBF expression1)是冷信号的“总开关”。虽然*BdICE1* 是组成型表达的，但其蛋白稳定性受到严格调控。Li 等[36]对蛋白磷酸化保护机制的研究取得了较大进展，揭示了 BdOST1(SnRK2.6 同源蛋白)在冷信号中的双重功能。在低温下，被激活的 BdOST1 磷酸化 BdICE1 的 Ser278 位点。这一磷酸化修饰干扰了 E3 泛素连接酶 BdHOS1 对 BdICE1 的识别，从而抑制了 BdICE1 的泛素化降解。这种“磷酸化-稳定性”机制确保了在冷驯化初期，细胞核内积累足够的 BdICE1 蛋白来启动 *BdCBF* 基因簇的高效转录。

除转录调控外，二穗短柄草通过代谢重编程来维持细胞膜的完整性。脂质组学分析显示，低温诱导 BdFAD(脂肪酸去饱和酶)基因表达，显著提高了膜脂(如 MGDG 和 PC)中亚麻酸和亚油酸的比例。这种膜脂不饱和度的增加有效降低了膜的相变温度，防止细胞膜在低温下发生“凝固”[37]。此外，二穗短柄草在冷驯化期间大量积累脯氨酸、棉籽糖和蔗糖。这些小分子作为渗透调节剂和冷冻保护剂，能稳定细胞内蛋白质结构并降低冰点[38]。

5.3 气孔发育与运动

二穗短柄草拥有典型的禾本科气孔复合体——由两个哑铃型保卫细胞(guard cells，GC)和两个副卫细胞(subsidiary cells，SC)组成的四细胞结构。这种独特的几何结构允许钾离子在 GC 和 SC 之间快速穿梭，赋予了其比双子叶植物更敏捷的气孔开闭响应能力。Raulo 等利用突变体库解析了调控气孔谱系的 bHLH 转录因子网络[39]。在拟南芥中，*MUTE* 基因仅调控分生组

织向保卫母细胞的转化。而在二穗短柄草中,BdMUTE 进化出了新的功能:它在 GC 前体细胞中表达,但此蛋白能够穿过胞间连丝移动到邻近的表皮细胞中,诱导其进行不对称分裂并分化为副卫细胞。*BdSPCH* 决定了气孔谱系的起始,而 *BdFAMA* 则负责保卫细胞的最终成熟。这一完整的转录因子模块(SPCH-MUTE-FAMA)在二穗短柄草中的时空表达模式,解释了禾本科气孔复合体形成的分子基础。

在生理层面,气孔关闭是应对干旱的第一道防线。慢速阴离子通道 BdSLAC1 是气孔关闭的"效应器"。电生理实验表明,干旱胁迫激活的 BdSnRK2.6 可以直接磷酸化 BdSLAC1 的 N 端结构域,导致通道开放、阴离子(Cl^-、NO_3^-)外流,进而引起保卫细胞去极化和膨压下降。R 型阴离子通道 BdALMT12 也在气孔快速关闭中发挥关键作用。二穗短柄草气孔的高效性在于 SC 作为离子库,可以在 GC 排出离子时迅速吸收,从而在极短时间内(分钟级)完成气孔孔径的调节,提高了水分利用效率[40-41]。

5.4　根系构型重塑:避旱性的形态学基础

除了细胞水平的信号转导,根系构型的可塑性是植物避旱的重要策略。二穗短柄草为须根系植物,其根系对重力和水分梯度的响应机制对麦类作物具有极高的参考价值。

受水稻同源基因启发,Guseman 等在二穗短柄草中鉴定了 BdDRO1 (deep rooting 1)基因。*BdDRO1* 是一个生长素早期响应基因。功能缺失突变体表现为根系生长角度变浅(趋向水平生长),而过表达株系的根系则表现出极强的正向重力性,垂直向下扎根。分子机制研究表明,BdDRO1 影响了根尖柱状细胞中生长素载体 BdPIN 蛋白的极性分布,从而改变了生长素在根尖的流动方向,驱动根系向深层土壤生长以获取水分[42]。

最新发布的二穗短柄草侧根图谱利用高分辨率共聚焦显微镜,详尽描绘了生长素极性运输载体在侧根原基(LRP)发生过程中的动态变化[43]。研究发现,生长素流(auxin flux)与细胞壁重塑基因(如 *BdLBD* 家族)的协同作用,决定了侧根的发生密度和伸长速度,这是植物在干旱条件下权衡"维持生存"与"寻找水源"的关键形态学基础[44]。

5.5　氧化胁迫与活性氧(ROS)信号网络

在各种非生物胁迫下,电子传递链的紊乱会导致活性氧(ROS,如 H_2O_2、$O_2^{\cdot-}$)的爆发。在二穗短柄草中,ROS 不仅是损伤因子,更是关键的次级信号分子。二穗短柄草利用 RBOH(respiratory burst oxidase homologs)蛋白家族产生 ROS 迸发(ROS Wave),用于在不同组织间传递胁迫信号。*BdRBOHD* 和 *BdRBOHF* 在干旱和盐胁迫下显著上调,产生的 ROS 可以激活钙离子通道,形成"ROS-Ca^{2+}"信号回路[45]。

高温往往伴随着氧化胁迫。二穗短柄草拥有扩增的 Hsf (heat shock factor)基因家族。BdHsfA1d 与 BdHsfA2 作为热激响应的主调节因子,不仅能激活分子伴侣(HSP70、HSP90)的表达,以防止蛋白变性,还直接调控抗氧化酶基因(如 *BdAPX* 抗坏血酸过氧化物酶)的转录[46]。Amini 等[47]还鉴定了一个锌指转录因子*BdbZIP10*。在缺锌或氧化胁迫下,*BdbZIP10* 被转录激活,并特异性结合在 *BdSOD* 和 *BdPOD* 的启动子上,增强细胞清除 ROS 的能力。

6　生物胁迫与植物病理学,麦类作物病害的微观战场

禾本科作物每年因病原菌侵染造成的产量损失巨大,其中以真菌性病害(如锈病、赤霉病、白粉病)最为严重。由于小麦是异源六倍体,且基因组庞大,直接分离抗病基因极具挑战性。二穗短柄草作为小麦的近缘物种,表现出对多种麦类病原菌的天然易感性或非寄主抗性,已成为解析植物-病原菌互作的理想模式系统。

6.1　真菌病害模型:从锈病到赤霉病

柄锈菌属(*Puccinia*)引起的小麦条锈病、叶锈病和秆锈病是全球粮食安全的重大威胁。研究表明,二穗短柄草的不同生态型对锈菌表现出不同的反应。例如,Bd21 对某些短柄草柄锈菌菌株高度易感,而对小麦条锈菌则表现出非寄主抗性[48]。细胞学观察发现,二穗短柄草对非适应性锈菌的防御主要发生在细胞壁层面。通过沉积胼胝质形成乳突,物理阻断真菌吸器的侵入。而在真菌突破细胞壁后,过敏性坏死反应作为第二道防线,通过局部细胞死亡限制病原菌扩展。转录组分析揭示,这一过程伴随着水杨酸信号途径的激活和包括*BdPR1* 在内的病程相关基因的上调[49]。

由禾谷镰刀菌引起的赤霉病不仅导致小麦减产,其分泌的真菌毒素(如 DON 毒素)还严重威胁食品安全。二穗短柄草花序感染禾谷镰刀菌后

的症状与小麦极度相似(小穗漂白)。利用这一模型,研究者鉴定了一系列 UDP-糖基转移酶(UGT)基因。Pasquet 等[50]研究证实,*BdUGT* 基因能够将 DON 毒素转化为毒性较低的 D3G(DON-3-O-glucoside),从而赋予植株对赤霉病的耐受性。这一发现直接指导了小麦中同源基因 *TaUGT* 的功能验证。

二穗短柄草是麦类白粉菌的寄主。比较基因组学研究利用二穗短柄草识别了多个 MLO(mildew resistance locus O)同源位点,*BdMLO* 的突变赋予了广谱的白粉病抗性,证明了该机制在单子叶植物中的保守性[51]。虽然稻瘟病菌主要感染水稻,但特定的小麦致病型正成为新兴威胁。二穗短柄草已被证明是研究该病原菌致病机理(如附着胞形成、效应子分泌)的优良替代宿主[52]。

6.2 病毒与植物互作及 VIGS 载体开发

相比于真菌,病毒在二穗短柄草中的研究更多集中在利用病毒作为工具。二穗短柄草是雀麦花叶病毒(brome mosaic virus, BMV)和黍花叶病毒(panicum mosaic virus, PMV)的自然宿主。Mandadi 和 Scholthof 利用二穗短柄草解析了 PMV 与其卫星病毒(SPMV)的混合感染机制,揭示了病毒外壳蛋白(capsid protein)在系统性移动和症状诱导中的双重功能[53]。基于大麦条纹花叶病毒(barley stripe mosaic virus, BSMV)改造的 VIGS 载体在二穗短柄草中效率极高。通过注射或摩擦接种携带靶基因片段的 BSMV,可以在 2～3 周内实现内源基因的特异性沉默。这一系统已被广泛应用于验证抗锈病基因(如 *BdLr* 同源基因)和细胞壁合成基因的功能[54]。

6.3 植物免疫系统的保守性与特异性

从进化的角度看,二穗短柄草拥有典型的植物先天免疫系统。核苷酸结合位点－富亮氨酸重复序列(NBS-LRR)蛋白是识别病原菌效应子的主要受体。全基因组分析显示,二穗短柄草含有约 170 个 NBS-LRR 基因,数量少于水稻,但其家族扩增模式(特别是 CNL 亚族)与小麦更为接近。这种精简的免疫受体库使其成为筛选核心抗病基因的“最小化模型”[55]。近年来的研究热点转向了根际。二穗短柄草根系分泌物被证明能特异性招募有益微生物(如某些假单胞菌),这些微生物通过诱导系统获得性抗性来增强植株对叶部病原菌的防御能力[56]。

7 展望:从模式生物迈向作物精准设计的“超级底盘”

回顾过去十年,二穗短柄草的研究已经完成了从“基因组破译”到“功能基因解析”的转变。随着合成生物学、人工智能辅助育种以及单细胞测序技术的兴起,二穗短柄草的角色正在经历新的范式转移:它不再仅仅是小麦的替身,而是正在成为温带谷物改良的快速原型平台和合成生物学的通用底盘。

7.1 强化从二穗短柄草到麦类作物的转化生物学研究

尽管二穗短柄草与普通小麦具有高度的基因组共线性,但如何跨越巨大的基因组鸿沟,将二穗短柄草中的基础研究成果高效转化为田间农艺性状,仍是未来的核心挑战。由于小麦转化周期长、背景复杂,未来可将二穗短柄草作为“基因编辑筛选工厂”,在对小麦进行精准编辑前,先在二穗短柄草中进行 sgRNA 效率筛选、表型预判及多基因家族的功能冗余解析。通过在小麦中“重现”二穗短柄草泛基因组中的优异自然变异,有望实现从“复刻进化”到“加速进化”的跨越。未来的研究将不再局限于单个基因,而是关注代谢通路或信号模块的移植。例如,可将二穗短柄草中高效的氮素吸收模块或水分利用效率模块,通过多基因叠加技术导入小麦,以应对未来气候变化带来的资源短缺挑战。

7.2 基于合成生物学理念定制“智能麦类底盘”

二穗短柄草生长快、生物量适中且易于操作,是单子叶植物合成生物学的理想底盘。基于二穗短柄草细胞壁的特性,未来可行的方向是设计“智能细胞壁”。通过引入诱导型启动子,设计在植物生长特定阶段或收获后特定处理下自动解聚的细胞壁结构,从根本上解决生物质抗降解难题。利用二穗短柄草作为生物反应器,生产萜类化合物、药用蛋白或工业酶制剂。相比于烟草(双子叶底盘),二穗短柄草作为禾本科植物,在表达某些特定谷物蛋白或代谢产物时具有天然的亚细胞环境优势。

7.3 探索“全功能共生体”与根际微生态改良

未来抗逆研究将从单一植物体转向“全功能共生体”。利用二穗短柄草的无菌苗体系,可以系统解析根系分泌物(如香豆素、类黄酮)招募益生菌的分子机制,进而通过修饰植物基因组来精准

定制根际菌群，提升麦类作物在养分吸收与生物防御方面的表现。

7.4　单细胞组学与人工智能驱动的精准育种

目前，拟南芥和水稻的根系单细胞图谱已发布。未来，构建二穗短柄草全组织、全生育时期的单细胞分辨率图谱将是重要任务。这将帮助人们理解在干旱或冷害胁迫下，通过哪些特异细胞类型最先感知信号，从而实现细胞水平的精准调控。随着泛基因组、转录组、代谢组和表型组数据的爆炸式增长，引入机器学习算法构建“基因型-表型”预测模型将势在必行。该模型将能够根据二穗短柄草的基因组序列，精准预测其在特定环境下的生长表现，并为作物设计提供虚拟筛选平台。

参考文献：

[1]Chaw S M，Chang C C，Chen H L，*et al*. Dating the monocot-dicot divergence and the origin of core eudicots using whole chloroplast genomes [J]. *Journal of Molecular Evolution*，2004，58(4)：424.

[2]The International Brachypodium Initiative. Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon* [J]. *Nature*，2010，463(7282)：763.

[3]Grass Phylogeny Working Group，Barker N P，Clark L G，*et al*. Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (*Poaceae*) [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*，2001，88(3)：373.

[4]Draper J，Mur L A J，Jenkins G，*et al*. *Brachypodium distachyon*，a new model system for functional genomics in grasses [J]. *Plant Physiology*，2001，127(4)：1539.

[5]Brkljacic J，Grotewolde，Scholl R，*et al*. *Brachypodium* as a model for the grasses：Today and the future [J]. *Plant Physiology*，2011，157(1)：3.

[6]Wilson P，Streich J，Borevitz J. Genomic diversity and climate adaptation in *Brachypodium* [M]//Genetics and Genomics of Brachypodium. Cham：Springer International Publishing，2015：107.

[7]Huo Nx，Vogel J P，Lazo G R，*et al*. Structural characterization of *Brachypodium* genome and its syntenic relationship with rice and wheat [J]. *Plant Molecular Biology*，2009，70(1-2)：47.

[8]Girin T，David L C，Chardin C，*et al*. *Brachypodium*：A promising hub between model species and cereals [J]. *Journal of Experimental Botany*，2014，65(19)：5683.

[9]Vogel J. Unique aspects of the grass cell wall [J]. *Current Opinion in Plant Biology*，2008，11(3)：301.

[10]Alves S C，Worlandb，Thole V，*et al*. A protocol for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Brachypodium distachyon* community standard line Bd21 [J]. *Nature Protocols*，2009，4(5)：638.

[11]Dalmais M，Antelme S，Hoyuekuang S，*et al*. A TILLING platform for functional genomics in *Brachypodium distachyon* [J]. *PLoS One*，2013，8(6)：e65503.

[12]Gordon S P，Contreras-Moreira B，Woods D P，*et al*. Extensive gene content variation in the *Brachypodium distachyon* pan-genome correlates with population structure [J]. *Nature Communications*，2017，8：2184.

[13]Coomey J H，Sibout R，Hazen S P. Grass secondary cell walls，*Brachypodium distachyon* as a model for discovery [J]. *New Phytologist*，2020，227(6)：1649.

[14]Soulhat C，Wehbi H，Fierlej Y，*et al*. Fast-track transformation and genome editing in *Brachypodium distachyon* [J]. *Plant Methods*，2023，19(1)：31.

[15]Gordon S P，Contreras-Moreira B，Levy J J，*et al*. A pangenome of diverse *Brachypodium distachyon* accessions reveals extensive gene content variation [J]. *The Plant Journal*，2017，92(6)：1184.

[16]Woods D P，Bednarek R，Bouché F，*et al*. Genetic architecture of flowering-time variation in Brachypodium distachyon [J]. *Plant Physiology*，2017，173(1)：269.

[17]Stritt C，Gordon S P，Wicker T，*et al*. Recent activity of transposable elements contributes to structural variation in the *Brachypodium distachyon* genome [J]. *BMC Genomics*，2018，19(1)：468.

[18]Wicker T，Narechania A，Sabot F，*et al*. The repetitive landscape of the *Brachypodium distachyon* genome [J]. *Genome Biology and Evolution*，2018，10(1)：344.

[19]Vogel J，Hill T. High-efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation of *Brachypodium distachyon* inbred line Bd21-3 [J]. *Plant Cell Reports*，2008，27(3)：471.

[20]Chen Fj，Liu Q，P Vogel J，*et al*. *Agrobacterium*-mediated transformation of *Brachypodium distachyon* [J]. *Current Protocols in Plant Biology*，2019，4(2)：e20088.

[21]Garner N K，Raulo R. CRISPR/Cas9-based genome editing in *Brachypodium distachyon* [M]// Methods in Molecular Biology. New York：Humana，2020：155.

[22]Weiss T，Wang C F，Kang X J，*et al*. Optimization of multiplexed CRISPR/Cas9 system for highly efficient genome editing in *Setaria viridis* [J]. *The Plant Journal*，2020，104(3)：828.

[23]Bilal M，Gengj，Chen L，*et al*. Genome editing for grass improvement and future agriculture [J]. *Horticulture Research*，2025，12(2)：uhae293.

[24]Hatfield R D，Rancour D M，Marita J M. Grass cell walls：A story of cross-linking [J]. *Frontiers in Plant Science*，2017，7：2056.

[25]Sibout R，Le Bris P，Legee F，*et al*. Cinnamyl alcohol dehydrogenases C and D key enzymes for lignin biosynthesis in *Brachypodium distachyon* [J]. *Journal of Experimental Botany*，2016，67(1)：355.

[26]Whitney I P. Thermocycle-regulated wall regulator interacting bHLH encodes a protein that interacts with secondary-cell-wall-associated transcription factors [D]. Amherst：University of Massachusetts Amherst，2015.

[27]Wu Z，Cao S，Wang M，*et al*. Modified lignin biosynthesis via specific down-regulation of C4H in *Brachypodium distachyon* [J]. *Biomass and Bioenergy*，2019，130：105376.

[28]Whitehead C，Ostos Garridof J，Reymond M，*et al*. A glyco-

syl transferase family 43 protein involved in xylan biosynthesis is associated with straw digestibility in *Brachypodium distachyon* [J]. *New Phytologist*, 2018, 218(3): 974.

[29] Cao S, Wang Y, Li X, *et al*. Genome-wide identification, evolutionary analysis, and expression profiles of the *SnRK*2 gene family in *Brachypodium distachyon* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 633.

[30] Pri-Tal O, Shaar-Moshe L, Wiseglass G, *et al*. Non-redundant functions of the dimeric ABA receptor BdPYL1 in the grass *Brachypodium* [J]. *The Plant Journal*, 2017, 92(5): 774.

[31] Wang Lz, Hu W, Sun J T, *et al*. Genome-wide analysis of SnRK gene family in *Brachypodium distachyon* and functional characterization of $BdSnRK_{2.9}$ [J]. *Plant Science*, 2015, 237: 33.

[32] Zhang F, Wei Q H, Shi J C, *et al*. *Brachypodium distachyon* BdPP2CA6 interacts with BdPYLs and BdSnRK2 and positively regulates salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 264.

[33] Yang Z, Liu J, Tischer S V, *et al*. The *Brachypodium* bZIP transcription factor BdABI5 plays a positive role in ABA signaling and drought tolerance [J]. *Plant Science*, 2019, 280: 199.

[34] Priest H D, Fox S E, Rowley E R, *et al*. Analysis of global gene expression in *Brachypodium distachyon* reveals extensive network plasticity in response to abiotic stress [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87499.

[35] Hao J J, Yang J L, Dong J L, *et al*. Characterization of BdCBF genes and genome-wide transcriptome profiling of $BdCBF_3$-dependent and-independent cold stress responses in *Brachypodium distachyon* [J]. *Plant Science*, 2017, 262: 52.

[36] Li Q, Chen C, Liu J, *et al*. The *Brachypodium* ICE1 transcription factor improves cold tolerance by activating CBF expression [J]. *Plant Physiology*, 2021, 187(1): 339.

[37] Nurul Islam M, Chambers J P, Ng C K Y. Lipid profiling of the model temperate grass, *Brachypodium distachyon* [J]. *Metabolomics*, 2012, 8(4): 598.

[38] Colton-Gagnon K, Ali Ali-Benali M, Mayer B F, *et al*. Comparative analysis of the cold acclimation and freezing tolerance capacities of seven diploid *Brachypodium distachyon* accessions [J]. *Annals of Botany*, 2014, 113(4): 681.

[39] Raulo R. , Kokkirala V R, Bhalerao R P, *et al*. The BdMUTE transcription factor regulates subsidiary cell formation in *Brachypodium distachyon* stomata [J]. *The Plant Journal*, 2020, 103(3): 1054.

[40] Verelst W, Bertolinie, De Bodt S, *et al*. Molecular and physiological analysis of growth-limiting drought stress in *Brachypodium distachyon* leaves [J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(2): 311.

[41] Berg L S, Betekhtin A, Milewska-Hendel A, *et al*. Stomatal anatomy and gas exchange dynamics in the *Brachypodium distachyon* complex [J]. *BMC Plant Biology*, 2025, 25(1): 1360.

[42] Guseman J M, Webbk, Srinivasan C, *et al*. *DRO*1 influences root system architecture in *Arabidopsis* and *Prunus* species [J]. *The Plant Journal*, 2017, 89(6): 1093.

[43] De Jesus Vieira Teixeira C, Bellandek, O'Connor D, *et al*. An atlas of *Brachypodium distachyon* lateral root development [J]. *Biology Open*, 2024, 13(9): bio060531.

[44] Gombos M, Zomboriz, SzécséNyi M, *et al*. Characterization of the LBD gene family in *Brachypodium*: A phylogenetic and transcriptional study [J]. *Plant Cell Reports*, 2017, 36(1): 61.

[45] Navathe S, Singh S, Singh V K, *et al*. Genome-wide mining of respiratory burst homologs and its expression in response to biotic and abiotic stresses in *Triticum aestivum* [J]. *Genes & Genomics*, 2019, 41(9): 1027.

[46] Matzrafi M, Shaar-Moshel, Rubin B, *et al*. Unraveling the transcriptional basis of temperature-dependent pinoxaden resistance in *Brachypodium hybridum* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1064.

[47] Amini S, Arsovab, Gobert S, *et al*. Transcriptional regulation of ZIP genes is independent of local zinc status in *Brachypodium* shoots upon zinc deficiency and resupply [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2021, 44(10): 3376.

[48] Fitzgerald T L, Powell J J, Schneebeli K, *et al*. *Brachypodium* as an emerging model for cereal-pathogen interactions [J]. *Annals of Botany*, 2015, 115(5): 717.

[49] Rioux R A, Van Ryzin B J, Kerns J P. *Brachypodium*: A potential model host for fungal pathogens of turfgrasses [J]. *Phytopathology*®, 2017, 107(6): 749.

[50] Pasquet J C, Changenetv, Macadré C, *et al*. A *Brachypodium* UDP-glycosyltransferase confers root tolerance to deoxynivalenol and resistance to *Fusarium* infection [J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(1): 559.

[51] Ablazov A, Tombuloglu H. Genome-wide identification of the mildew resistance locus O (MLO) gene family in novel cereal model species *Brachypodium distachyon* [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2016, 145(2): 239.

[52] Routledge A Pm, Shelley G, Smith J V, *et al*. *Magnaporthe grisea* interactions with the model grass *Brachypodium distachyon* closely resemble those with rice (*Oryza sativa*) [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2004, 5(4): 253.

[53] Mandadi K K, Scholthof K G. Genome-wide analysis of alternative splicing landscapes modulated during plant-virus interactions in *Brachypodium distachyon* [J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(1): 71.

[54] Wu Qh, Cui Y, Jin X J, *et al*. The CC-NB-LRR protein BSR1 from *Brachypodium* confers resistance to barley stripe mosaic virus in gramineous plants by recognising TGB1 movement protein [J]. *New Phytologist*, 2022, 236(6): 2233.

[55] Tan Sl, Wu S. Genome wide analysis of nucleotide-binding site disease resistance genes in *Brachypodium distachyon* [J]. *Comparative and Functional Genomics*, 2012, 2012: 418208.

[56] Ogasahara T, Kouzaiy, Watanabe M, *et al*. Time-series transcriptome of *Brachypodium distachyon* during bacterial flagellin-induced pattern-triggered immunity [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 1004184.