

苏州农业职业技术学院 2016届 学生优秀毕业设计(论文)选编

主编 夏 红 尤伟忠



苏州大学出版社

**苏州农业职业技术学院
2016 届学生优秀毕业设计(论文)选编**

主 编 夏 红 尤伟忠

苏州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

苏州农业职业技术学院 2016 届学生优秀毕业设计(论文)选编/夏红,尤伟忠主编. —苏州:苏州大学出版社,2016.12

ISBN 978-7-5672-2027-0

I. ①苏… II. ①夏… ②尤… III. ①高等职业教育—毕业论文—汇编—苏州—2016 IV. ①G642.477

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 323048 号

苏州农业职业技术学院
2016 届学生优秀毕业设计(论文)选编

夏 红 尤伟忠 主编

责任编辑 徐 来

苏州大学出版社出版发行

(地址:苏州市十梓街1号 邮编:215006)

苏州市立达印务有限公司印装

(地址:苏州市吴中区胥口胥江工业园上供路 邮编:215164)

开本 787 mm×1 092 mm 1/16 印张 7.5 插页 10 字数 200 千

2016 年 12 月第 1 版 2016 年 12 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5672-2027-0 定价:20.00 元

苏州大学版图书若有印装错误,本社负责调换
苏州大学出版社营销部 电话:0512-65225020
苏州大学出版社网址 <http://www.sudapress.com>

序

由我院副院长夏红教授、教务处处长尤伟忠教授主编的《苏州农业职业技术学院 2016 届学生优秀毕业设计(论文)选编》即将出版发行。

近年来,学院紧扣职业教育发展规律与要求,主动适应职业教育深化改革与构建现代职业教育体系的新形势,以整体教学改革为抓手,以产教融合人才培养模式改革为切入点,不断完善五位一体人才培养方案,稳步推进以“工学结合、理实一体、顶岗实习、项目教学”为主的教学改革,课程体系不断优化,教学质量不断提升。2016 年,我院学生在全国职业院校技能大赛中取得了 2 个一等奖、1 个二等奖、1 个三等奖的好成绩;2 个教师团队在全国职业院校信息化教学大赛中分获一、二等奖;数字型植物工厂、农产品质量安全检测获江苏省高等职业教育产教深度融合实训平台建设立项。

毕业设计(论文)作为高职人才培养过程中重要的环节,是高职学生参与毕业实习、提升专业理论水平和实践能力的必要过程,也是学生综合职业素质培养的关键环节。学院一直非常重视学生毕业设计(论文)工作,除了认真落实过程管理之外,还每年开展优秀毕业设计(论文)的评选活动,取得了显著成效,2017 年还将开展优秀毕业论文立项选题工作。

为了更好地发挥优秀毕业设计(论文)的引领示范作用,扩大学生毕业设计(论文)成果的影响,加强优秀毕业设计(论文)的交流与推广,学院组织编写出版了这本《苏州农业职业技术学院 2016 届学生优秀毕业设计(论文)选编》。我相信,本书的出版必将为广大毕业班的学生提供很好的学习和借鉴,有助于营造更加深厚的教研氛围,促进良好学习风气的形成,帮助学生进一步拓展思路,提升知识水平,增强能力素质,从而满足社会经济发展对人才的需求。

荀子曾曰:“积土而为山,乘之而后高,积水而为海,积之而后深。故圣者众之所积也。”韩愈亦言:“体不备,不可以为成人;辞不足,不可以为成文。”毕业设计(论文)作为全面检验大学生学习成效的重要载体,需要同学们脚踏实地,刻苦学习,日积月累,厚积薄发,才能真正做好。希望广大同学以本选编为借鉴,争取完成更多更优秀的毕业设计(论文)作品。

是为序。



2016 年 12 月 20 日

(本序作者为苏州农业职业技术学院长、教授)

编写说明

毕业设计(论文)是高职人才培养过程中重要的教学环节,是高职学生参与毕业实习、提升专业理论水平和实践能力的必要过程。在培养学生探求真知、强化社会意识、提高综合应用能力与职业素养等方面,毕业设计(论文)具有不可替代的作用。

2016 届广大学生在毕业实习期间,运用在校所学的专业知识与技能,结合自己实习岗位中的实际问题,理论联系实际,通过教师指导、查阅文献资料、自身实践检验和调查研究,完成了毕业设计(论文)的写作。在各二级院系推荐的 49 篇毕业设计(论文)中,学院聘请专家依据优秀毕业论文的评选指标,本着宁缺毋滥的原则,共评选出了一、二、三等奖共 31 篇院级优秀毕业设计(论文)。

为了更好地发挥优秀毕业设计(论文)的引领示范作用,扩大学生毕业设计(论文)成果的影响,加强 2016 届优秀毕业设计(论文)的交流与推广,以便引导学生撰写出更多的优秀毕业设计(论文),让更多的学生得惠于此,我们将获奖作品整理结集为《苏州农业职业技术学院 2016 届学生优秀毕业设计(论文)选编》正式出版。本书由学院副院长夏红教授、教务处处长尤伟忠教授担任主编,编委成员包括(按姓氏笔画排序):王锋、尤伟忠、邬雨刚、刘海明、江炳坤、李庆魁、时忠明、何钢、陈军、周军、赵茂锦、袁卫明、夏红、顾金锋、程培罡、解鹏。本书共收录优秀毕业设计(论文)全文 15 篇,其中一等奖 5 篇,二等奖中优秀毕业论文 7 篇,优秀毕业设计 3 篇;收录毕业设计(论文)中英文摘要 15 篇,优秀团队毕业设计(论文)报告 1 项。在此要感谢获奖学生的辛勤付出和所有参与指导的教师的精心指点,让优秀毕业设计(论文)这笔宝贵财富得以传承,供 2017 届毕业生学习与借鉴,营造更加深厚的教研氛围和良好的学习风气,让学生通过撰写出高质量的毕业设计(论文),提升职业能力,培养团队意识,锻炼表达能力,实现知识与能力的综合运用,从而满足社会经济发展对人才的需求,推动学院内涵发展。

目 录

MULU

一、优秀毕业设计(论文)

大麦理化诱变突变体赤霉病抗性变化的研究	方春燕(1)
盆栽风信子年宵花花期调控影响因素研究	彭慧菊(11)
弱光对五种优质樱桃番茄生长、产量及品质的影响	刘怡玲(20)
原料对苏式月饼皮品质影响研究	徐宏豪(28)
氮硅配施对不结球白菜养分吸收、产量和品质的影响	张燕妮(36)
水葫芦生长环境影响因素研究	江 丹(43)
锐翔上房物业江苏分公司客户满意度的调查	杨 梅(51)
抗老化剂对苏式月饼皮品质影响研究	孟令博(61)
苏州现代农业园入口标识景观现状调查与设计探索	窦信涛(71)
商务礼仪视角下酒店礼仪文化建设探讨 ——以苏州如家酒店为例	胡晨露(77)
松子、红豆、燕麦复合饮料的加工工艺研究	张玲玲(85)
HK2 基因对 Hela 细胞增殖、凋亡的影响	丁甜甜(92)

二、优秀毕业设计(论文)摘要

枣园林下养鸡对土壤物理性质影响的试验研究	陆歆艳(98)
不同浓度多效唑对水培郁金香品种矮化的影响	蒋源超(99)
郁金香的水培种植对不同品种成花的影响	陈晶金(100)
荷花池影园遗址公园柳树天牛防治现状与对策研究	王 恒(101)
大专院校校园景观多样性调查 ——以苏州农业职业技术学院为例	吴君霞(102)

酸性电解水对苦瓜白粉病防治效果的探究及应用·····	季志奇(103)
“悟茶——浮生若梦”	
——云南古树普洱茶艺编制·····	江心怡(103)
福亿公司造粒设备配电柜方案设计·····	许溢华(104)
基因敲除鼠的 PCR 鉴定方法探讨·····	陈伟文(104)
苏州市城区河道水质动态变化规律研究·····	顾梦婷(105)
十二生肖装饰画·····	孙方琰(106)
报关公司经营现状与问题分析	
——以苏州伟中报关为例·····	张晨希(107)
关于凤凰城物业费催缴问题的调查报告·····	姚齐雯(107)
浅谈自然拼读法对小学生英语学习的影响	
——以江苏省徐州市阿斯顿学校为例·····	谢晴晴(108)
超高效液相色谱-串联质谱法测定生鲜牛乳中的 7 种氟喹诺酮类药物残留	
·····	仲 苏(108)

三、优秀团队毕业设计(论文)报告

欧洲水仙生态型盆栽基质筛选·····	杨凯红 许 艳(109)
--------------------	--------------

四、优秀毕业设计图集

定格动画《我的 Iphone》·····	孙 宁(115)
西安益翔屋顶花园景观设计·····	戚 帅(119)
太仓生物医药产业园景观设计方案·····	蒋蕴棋(127)

一、优秀毕业设计(论文)

大麦理化诱变突变体赤霉病抗性变化的研究

方春燕,2013 级生态农业技术,指导教师:许乃霞

摘要:大麦赤霉病是我国长江中下游地区的主要病害,严重影响大麦的产量和品质。但是用于大麦抗赤霉病育种的抗源单一,造成遗传基础狭窄,因此筛选和创造新的抗源对于大麦赤霉病育种具有重要的意义。本实验室通过理化诱变获得一系列突变体,采用单花滴注法和喷雾法对部分突变体的赤霉病抗扩展性和抗侵染性进行评价,获得了 3 份抗扩展性和抗侵染性相对较好的材料,4 份抗扩展性和抗侵染性相对较差的材料。同时以材料 41 和材料 66 为供试材料,研究了赤霉菌诱导下的赤霉病抗病相关基因的表达,结果表明两者在赤霉病抗性方面存在明显差异,而且这些抗病相关基因在大麦赤霉病抗病反应过程中起重要作用。

关键词:大麦;赤霉病;突变体;理化诱变;基因表达

Study on resistance to *Fusarium* head blight of physical and chemical mutants of barley

Abstract: The *Fusarium* head blight (FHB) was the main disease of barley in the middle and lower reaches of the Yangtze River area in our country, seriously affecting the grain yield and quality. The narrow genetic basis of barley has limited the breeding for resistance to FHB. Screening and creating the new sources of FHB-resistant materials are of great importance to barley breeding. A series of mutants were acquired by the physical and chemical mutagenesis in our lab. The FHB resistances of some mutants were investigated by single floret injection and spray inoculation. The result showed there were three lines selected due to the relatively good resistance to spread as well as to infection of FHB, and four lines were identified in virtue of the relatively poor resistance to spread as well as to infection of FHB. Meanwhile, the expression patterns of five FHB resistance related genes induced by *Fusarium graminearum* were assessed by quantitative real-time PCR on an inoculation time-course of line 41 and line 66. The results suggest that the FHB resistance was significantly different between the two lines. These genes may make great contribution to resistance against FHB.

Key words: barley; *Fusarium* head blight (FHB); mutant; physical and chemical mutagenesis; gene expression

赤霉病主要是由禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)以及其他的一些镰刀菌引起的,是大小麦以及其他禾谷类作物主要的世界性病害^[1]。麦类作物从苗期到成熟期都有可能发生赤霉菌的感染,可引起苗腐、茎腐、秆腐和穗腐等多种不同的症状,其中以穗腐最为严重^[2]。赤霉菌危害大麦后,一般减产 10%~20%,甚至更严重^[3]。赤霉病不仅导致减产,更为严重的是病麦粒中含有真菌代谢产物脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Deoxynivalenol, DON)毒素,能够对人畜产生毒害^[4]。栽培措施和化学防治等方法都不能有效地控制赤霉病的流行,因此最经济、环保、有效的方法是改良作物品种的赤霉病抗性^[5]。通过物理化学诱变因素诱发植物基因突变,促进遗传基因重组,扩大遗传变异,是创造新种质、选育新品种的有效途径,为赤霉病的抗性改良提供了一种经济有效的手段。

在麦类作物中,赤霉病的抗性类型主要有五种:抗侵染和抗扩展^[6],抗 DON 毒素积累^[7],种子抗性以及对病害的耐受性^[8]。其中,抗侵染主要是指在田间自然发病或人工接种如土表接种、喷雾接种的条件下,寄主对病原菌侵入的抵抗能力;抗扩展是指通过人工单花

滴注接种病原菌后,寄主对病原菌在组织中扩展的抵抗能力。这两种抗性类型采用不同的接种方式,在接种后的一段时间统计病小穗数或病小穗率。病原物侵染作物以后,不同品种籽粒中积累的毒素含量不同,低 DON 毒素含量的品种通常被认为是抗 DON 毒素积累的品种,这可能与其麦粒产生降解毒素的基因有关,这类抗性需要对籽粒进行化学分析^[8]。目前,研究的重点集中于第一类抗性和第二类抗性,特别是第二类抗性研究最多。

大麦作为上海的主要农作物之一,是制造啤酒的主要原料,也是优良的饲料。大麦赤霉病是我国中下游麦区的主要病害,不仅导致大麦大面积减产,而且使品质严重变劣,直接影响到籽粒的加工和营养品质。病麦粒用于酿造,DON 等毒素会引起啤酒喷涌,而且毒素会逐渐释放影响人类健康^[3]。我国明确规定大麦赤霉病病粒率不能超过 4%。到目前为止还没有发现完全免疫的品种^[9,10],在大麦中由于鉴定材料有限,抗性好而稳定的材料更少,用于抗赤霉病育种的抗源单一,而且丰产性、品质、适应性及其农艺性状差难以改良,导致了抗性遗传基础狭窄,限制了大麦抗赤霉病育种的进展。因此,筛选和利用更多的新抗源是大麦抗赤霉病育种工作中最紧迫的任务。

本实验室利用理化诱变获得了一系列的突变体材料,通过田间赤霉病抗性鉴定筛选出抗性差异较大的株系,并从分子生物学方面对获得的突变体进行评价。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试材料

(1) 选取通过 EMS(甲基磺酸乙酯)诱变获得的其中 359 份材料以及空间诱变获得的其中 21 份材料,于 2015 年 4 月在上海农科院南门实验大田利用单花滴注方法对 380 份材料进行赤霉病抗扩展性鉴定。

(2) 根据 2015 年鉴定结果选取 12 份突变体在温室进行盆钵种植,材料编号分别为 15、23、37、41、48、51、52、58、63、64、66、69,利用单花滴注方法进行赤霉病接种,在接种后对不同材料进行 0h、12h、24h、48h、72h 取样,液氮速冻后, -80℃ 保存备用。

(3) 2016 年 4 月在这 380 份材料中选取 72 份抗感有差异的材料进行赤霉病抗侵染(喷雾法)及抗扩展(单花滴注)鉴定。

1.1.2 供试菌种

接种菌株为 F0609,由南京农业大学王秀娥教授提供。将保存的菌种用接种环挑取一点置于 PDA(Potato Dextrose Agar)培养基上 25℃ 活化,然后挑取活化后的菌丝放在 4% 绿豆汤中,25℃ 200r·min⁻¹ 培养 2~3d,接种前加无菌水稀释,接种浓度为用血小球计数法 10 倍显微镜视野下含 20 个左右分生孢子。

PDA 培养基的配制:马铃薯 200g(20%),蔗糖 10~20g(1%~2%),琼脂 17~20g(1.7%~2%),水 1000mL。方法是:将洗净去皮的马铃薯切碎倒入锅中加入 1000mL 水煮至沸腾,用厚纱布过滤后加水补足至 1000mL,然后加入蔗糖和琼脂粉,高温高压灭菌 20min,倒平板分装。

绿豆汤的配制:40g 绿豆于 1000mL 水中煮沸 10min 左右,保证绿豆不能破皮,过滤后定容至 1000mL,高温高压灭菌 20min,冷却后备用。

1.2 试验方法

1.2.1 赤霉病鉴定方法

大麦赤霉病抗扩展性主要利用单花滴注法进行鉴定,在大麦开花期,选取穗子中部一侧

小穗,剪去颖尖,接种 $10\mu\text{L}$ 菌液,并套袋保湿 $2\sim 3\text{d}$ 。接种 21d 后统计每穗感病小穗数和总小穗数,计算病小穗率。

大麦赤霉病抗侵染性主要利用喷雾法进行鉴定。在大麦开花期,对穗子进行喷雾接种,并套袋保湿 $2\sim 3\text{d}$ 。接种 21d 后统计每穗感病小穗数和总小穗数,计算病小穗率。

以病小穗率作为赤霉病抗性评价指标,小于 10% 为高抗株系, $10\%\sim 20\%$ 之间的为中抗株系, $20\%\sim 40\%$ 之间的为中感株系,大于 40% 的为高感株系^[10]。

1.2.2 RNA 的提取

所有用于 RNA 提取的研钵、研棒、药匙、镊子等均经高温高压灭菌两次, 37°C 烘干备用。所用的离心管、枪头均为 RNase free,购于 Axygen 公司。

使用 Trizol Reagent(Invitrogen)提取总 RNA,具体步骤如下:

(1) 取穗子中部的 5 个小穗于事先冷冻过的研钵中,加入液氮,快速研磨成粉末,将粉末转到盛有 1mL Trizol 的 2.0mL 离心管中,在涡旋器上剧烈混匀 30s 。

(2) 加入 $200\mu\text{L}$ 氯仿(三氯甲烷),振荡混匀 15s 以上,静置 $2\sim 3\text{min}$, 4°C 12000r 离心 15min 。

(3) 取上清液至 2.0mL 新管,加入 $24:1$ 等体积氯仿,振荡混匀, 4°C 12000r 离心 10min 。

(4) 取上清液至 1.5mL 新管,加入等体积(约 $400\mu\text{L}$)异丙醇沉淀,轻轻混匀, 4°C 12000r 离心 10min 。

(5) 弃上清液,加 1mL 75% 乙醇洗涤沉淀, 4°C 12000r 离心 2min 。

(6) 弃上清液,重复洗涤一次。

(7) 弃上清液,离心,吸干水。

(8) 干燥后加入 $20\sim 30\mu\text{L}$ RNase free 的 H_2O 充分溶解。

(9) 待充分溶解后采用 ND-1000 分光光度计(NanoDrop)进行 RNA 浓度和质量检测。

1.2.3 RNA 中基因组 DNA 的去除

参考 Promega 试剂盒说明书进行, $10\mu\text{L}$ 体系如下:

RNA 模板 $8\mu\text{L}$

RQ1 RNase-Free DNase $10\times$ Reaction Buffer $1\mu\text{L}$

RQ1 RNase-Free DNase $1\mu\text{L}$

37°C 加热 30min ,加入 $1\mu\text{L}$ RQ1 DNase Stop Solution, 65°C 加热 10min 。

1.2.4 cDNA 合成

利用 invitrogen qRT-PCR 试剂盒进行 cDNA 合成,按试剂盒说明书进行操作。

去除 DNA 的 RNA $11\mu\text{L}$

OligodT $1\mu\text{L}$

dNTPmixture $1\mu\text{L}$

65°C 加热 5min ,放在冰上冷却。

随后加入 $5\times$ PrimeScriptTM || Buffer $4\mu\text{L}$

RNase Inhibitor $0.5\mu\text{L}$

Prime ScriptTM || RTase $1\mu\text{L}$

RNase free dH_2O $1.5\mu\text{L}$

轻轻混匀,稍离心, 42°C 加热 60min , 95°C 加热 5min 终止反应,在 -20°C 下保存反转录产物。

1.2.5 荧光定量 PCR

根据 Genebank 中大麦病程相关基因非表达子(NPR, nonexpressor of pathogenesis related genes)、茉莉酸响应的病原体防御基因(JAV1, jasmonic acid)、乙烯响应因子(ERF, ethylene response factor)以及内参基因 ACTIN 的序列,运用 Primer 3 进行引物设计,引物序列如表 1 所示,由上海 Invitrogen 生物技术有限公司合成。

表 1 荧光定量 PCR 反应中所用引物序列

引物名称	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
HvNPR1	AGCTTGGAGAAGCATCGGTT	GCCAAAGCCACTCGGTTTTTC
HvNPR2	AGCAAAGACACGGCCGATAA	CGACACCCCGAGAAAACAGA
HvNPR3	TGCAGAACAAGAGACTGCGT	ATCCGAACAATGCGGGAAGT
HvJAV1	CCATCGAGACCACCCCTTTC	TTCTTGGAGGACTGCTCGGA
HvERF	ACAACCTTTGGCGTAGCTGTG	CTGCTTGCCCCATCCTCATT
HvACTIN	GCTGACCGTATGACCAAGGA	GGAAAGTGCTGAGTGAGGCT

采用 StepOne Real-Time PCR system (Applied Biosystem) 进行荧光定量 PCR, 反应试剂使用 THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (TOYOBO)。荧光定量 PCR 反应体系(20 μ L): 2 $\times$ Mix10 μ L, 引物(10 μ mol/L)各 0.8 μ L, 样品 cDNA(约 50ng/ μ L)2 μ L, ddH₂O 6.4 μ L。荧光定量 PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 10min; 95 $^{\circ}$ C 15s, 60 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 10s, 40 个循环。采用 2- $\Delta\Delta$ CT 法对目的基因进行相对定量表达分析。每个样品重复两次。

2 结果与分析

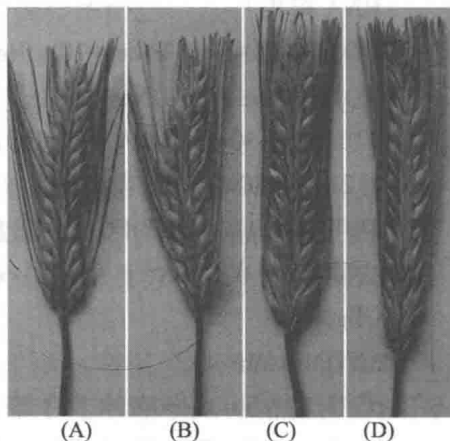
2.1 田间赤霉病鉴定结果

2.1.1 2015 年大田赤霉病鉴定结果

选取 EMS 诱变得到的 380 份突变体材料以及抗感病对照一共 382 份材料进行大田赤霉病抗性鉴定。由于在开花期碰见连绵阴雨以及低温, 导致赤霉病发病效果不是很理想。在 380 份材料中, 病小穗率小于 10% 的材料有 364 份, 占总数的 95.8%; 病小穗率在 10%~20% 之间的有 15 份, 占总数的 3.9%; 病小穗率在 20%~40% 之间的只有 1 份材料, 占总数的 0.3%; 没有病小穗率大于 40% 的材料。抗病对照的病小穗率为 3.59%, 仍然为高抗品种; 而感病对照的病小穗率仅为 20.28%, 处于中抗和中感的边缘。

2.1.2 2016 年大田赤霉病鉴定结果

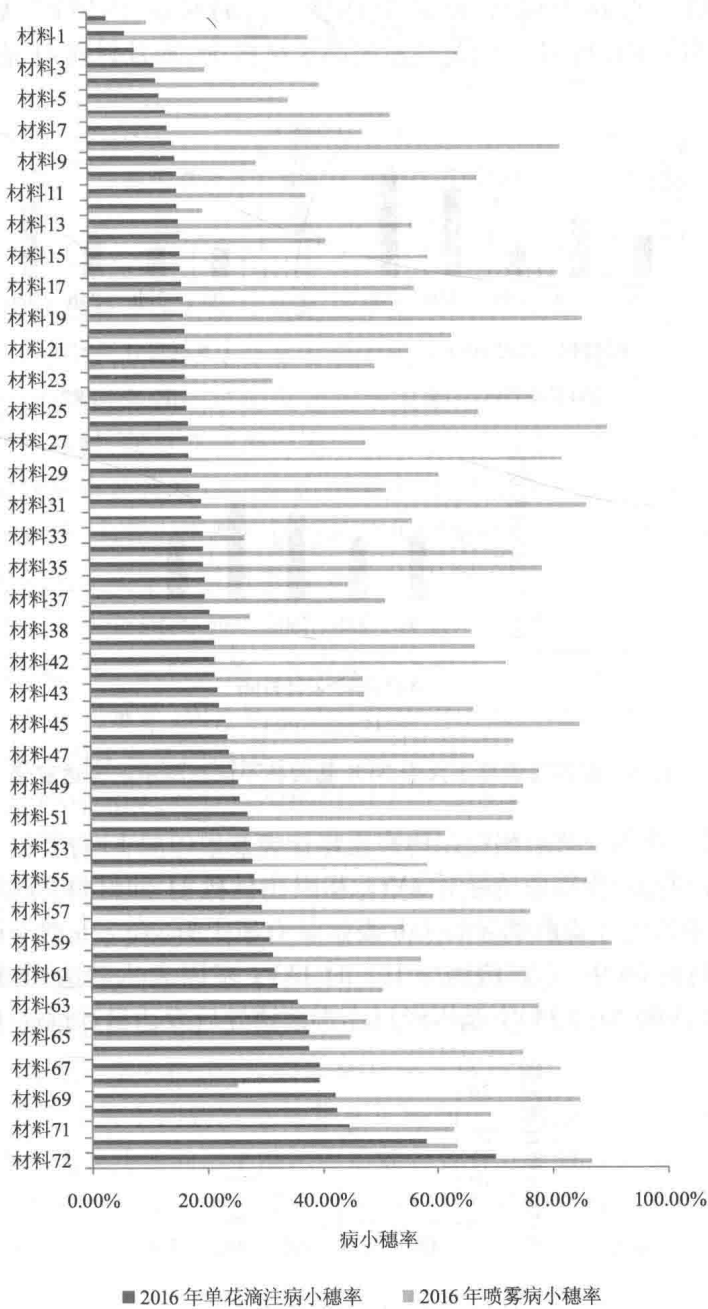
根据 2015 年的鉴定结果, 从中选取了病小穗率差异比较明显的 72 份材料进行重复鉴定, 分别采取了喷雾法和单花滴注两种方法进行大麦突变体抗侵染和抗扩展鉴定。结果表明, 同一个株系通过喷雾进行接种的病小穗率大都高于通过单花滴注进行接种的病小穗率。该结果说明, 大麦对病原菌侵入的抵抗能力低于在穗子中扩展的抵抗能力(图 1)。在单花滴注抗性鉴定中平均病小穗率 < 10% 的株系有



- (A) 材料 12 单花滴注接种
- (B) 材料 12 喷雾法接种
- (C) 材料 63 单花滴注接种
- (D) 材料 63 喷雾法接种

图 1 不同抗性类型田间表现

两份,占总数的 2.78%;平均病小穗率介于 10.1% ~20% 之间的中抗株系有 35 份,占总数的 48.61%;平均病小穗率介于 20.1% ~40% 之间的中感株系有 32 份,占总数的 44.44%;平均病小穗率大于 40.1% 的感病株系有 4 份,占总数的 5.56%。而在喷雾接种中,病小穗率都在 20% 以上,包括抗病对照的喷雾病小穗率已经超过 10%,所有的株系都处于中感(病小穗率介于 20.1% ~40%)和重感(病小穗率 >40.1%)。导致这样的结果可能是由于孢子液的浓度较高,每穗喷施的量过大。但是不同的突变体材料之间的差异还是比较大的,抗扩展性和抗侵染性相对比较好的材料有 3 份,分别是 3、9、12;抗扩展和抗侵染性相对比较差的材料有 69、70、71、72 四份。2016 年鉴定结果如图 2 所示。



注：材料 1 之前的是抗病对照,材料 71 和 72 之间的为感病对照

图 2 2016 年大田赤霉病鉴定结果

2.2 材料41和材料66在赤霉菌诱导下的赤霉病抗病相关基因表达

2.2.1 赤霉菌诱导下大麦病程相关基因非表达子(NPR)的表达变化

从图3(A)中可以看出,材料41经过赤霉菌诱导12h后,HvNPR1基因表达量迅速升高,24h降低,随后一直升高,并且远远高于材料66;在材料66中,HvNPR1基因在24h达到最高值,随后一直处于下降的趋势。从图3(B)中可以看出,HvNPR2基因在材料41中随着赤霉菌诱导表达量逐渐上升,在48h达到最高值,而在材料66中与接种前相比处于一直下降趋势;从图3(C)中可以看出,HvNPR3基因在材料41和材料66中经过赤霉菌诱导后表达量在12h均有所降低,然后均逐渐升高,而且都在48h达到最高,但是经过诱导后,HvNPR3在材料41中的表达量一直高于材料66的表达量。总的来说HvNPR1基因及其同源基因HvNPR2和HvNPR3在材料41中的表达量要高于材料66,而且材料41能够更快地响应赤霉菌的诱导。

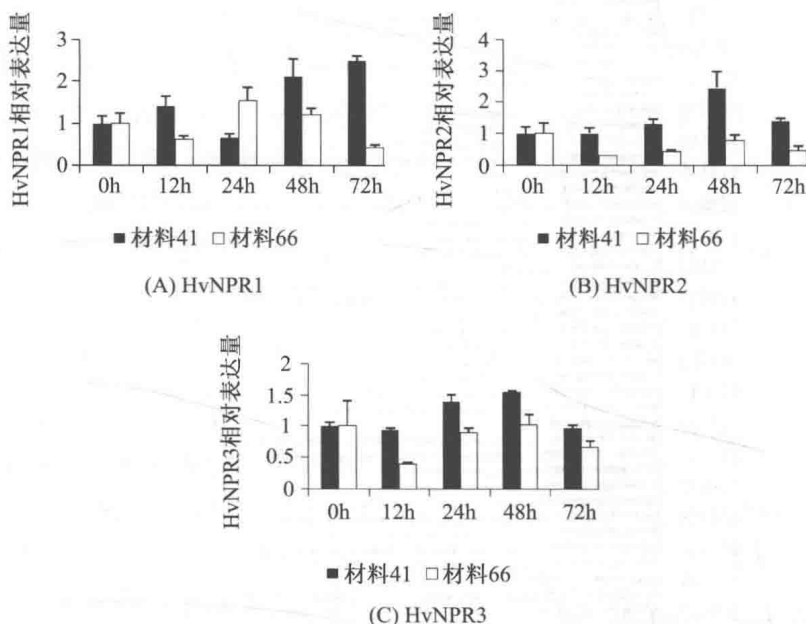


图3 赤霉菌诱导下大麦 NPR 基因在不同材料中的表达变化

2.2.2 赤霉菌诱导下茉莉酸响应的病原体防御基因(JAV1)的表达变化

从图4中可以看出,赤霉菌诱导后JAV1基因在材料41和材料66的表达差异很大,在材料41中JAV1基因经赤霉菌诱导后48h表达量有所上升,到72h时下降,与0h相比处于下降趋势。而在材料66中,赤霉菌诱导12h时JAV1基因表达量达到最大值,随后逐渐下降。总体来说,材料66中的JAV1基因经过赤霉菌诱导后表达量远远高于材料44。

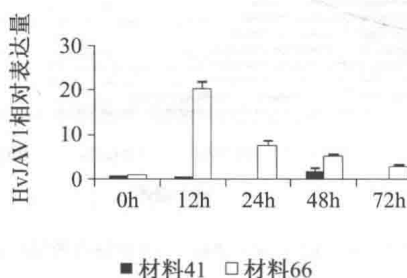


图4 赤霉菌诱导下大麦 JAV1 基因在不同材料中的表达变化

2.2.3 赤霉菌诱导下乙烯响应因子(ERF)的表达变化

从图5中可以看出,在经过赤霉菌诱导12h后,ERF基因在两个材料中的表达都明显升高,在材料66中达到峰值,24h表达量降低,随后有所升高;而在材料41中,经赤霉菌诱导24h后表达量达到最高,48h后降低,72h有所升高。两份材料相比,经赤霉菌诱导后ERF基因在材料41中能够快速响应,而且表达量远远高于材料66。

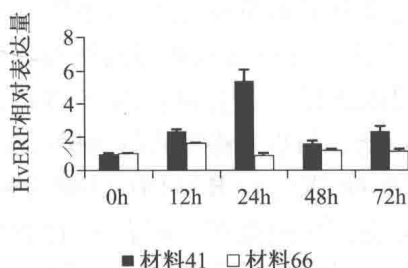


图5 赤霉菌诱导下大麦 ERF 基因在不同材料中的表达变化

3 讨论

3.1 大麦赤霉病接种方法与抗侵染及抗扩展

赤霉病对谷物的产量、品质以及食品安全方面具有多重威胁,解决赤霉病危害的根本途径是培育抗病品种,而筛选和创制抗源又是抗病品种培育的关键。本实验室利用理化诱变获得了一系列突变体材料,通过连续两年对72份突变体材料进行大田赤霉病接种鉴定,获得了一些赤霉病抗性具有显著差异的株系,这些株系之间具有高度相似的遗传背景而仅在赤霉病抗性上具有差异,为我们提供了很好的遗传研究材料,为赤霉病抗性分子机制研究和挖掘可能的新抗源奠定了实验材料的基础。

赤霉病的发病状况主要取决于侵染源菌量、气候环境和寄主生育期的配合。大小麦在开花期遇到多雨、潮湿的天气,在具备一定菌源的条件下可引发赤霉病的大流行。有利于赤霉菌生长的环境持续时间越长,病害发生就越严重^[11]。2015年单花滴注接种鉴定的结果要远远低于2016年单花滴注鉴定的结果,就是由于在大麦开花期遇到低温多雨的天气,几乎错过开花期,导致接种时间晚,而且持续的低温天气也不利于赤霉病发病。而2016年在大麦开花前后气候环境比较有利于赤霉病发病,不仅是接种鉴定的材料,田间自然发病的状况也十分严重。在利用孢子喷雾法进行抗侵染鉴定时发现,几乎所有的突变体的抗侵染能力都小于抗扩展能力,而且不同突变体材料都被划分为中感和重感,没有筛选到中抗和高抗的材料,造成这种现象的原因可能是由于鉴定抗侵染类型时孢子液浓度过大导致的。有研究表明,当每穗喷洒量超过10000个孢子时,所有麦穗均表现出感病症状,各品种间没有显著差别^[12],而大麦属于闭花授粉作物,如果孢子液浓度过低,病原菌难以侵入,也会导致不发病。因此,孢子液浓度大小的调节也是非常关键的^[13]。根据今年的鉴定结果,喷雾法的孢子液的浓度低于单花滴注法的孢子液浓度可能会更有利于抗侵染材料的筛选。在本实验中筛选到3份抗侵染和抗扩展性相对较好的材料和4份抗侵染性和抗扩展性相对较差的材料。对于鉴定出的这7份突变体株系有待进一步进行赤霉病抗侵染和抗扩展鉴定,明确其真实抗性。

3.2 大麦抗赤霉病相关基因的表达分析

植物与病原菌在长期的相互作用、共同进化过程中产生了一套完整的防御体系,从而有

效地抵御病原菌对自身的伤害。植物激素中的信号分子水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)以及乙烯(ET)在植物抗病信号传导途径中起重要作用^[14-17]。NPR1 基因是水杨酸(SA)介导的由病原菌诱导产生的系统获得性抗性(SAR)反应中的核心调控元件^[18,19],同时依赖于茉莉酸(JA)和乙烯(ET)介导的诱导系统抗性(ISR)反应也需要 NPR1 的参与^[20],因此作为必需的调控基因,NPR1 参与调控 SAR 与 ISR 反应并在整个抗病网络中发挥重要作用。SA 通过 NPR1 在拟南芥抵抗赤霉菌侵染时起着基础抗性的作用^[21];在拟南芥中,NPR1 的同源物 NPR3 和 NPR4 对 NPR1 介导的抗病反应起到重要的调控作用^[22]。在抗病小麦中,TaNPR1 和 TaNPR3 能够快速响应赤霉菌的侵染而上调表达,而 TaNPR2 对赤霉菌的侵染无显著响应,推测 TaNPR1 和 TaNPR3 可能参与小麦赤霉病的抗病反应过程^[23]。在本研究中,选用了抗性具有差异的两份材料 41 和 66 进行 NPR 基因的表达分析,结果表明,在三个 NPR 基因中,材料 41 均能够快速响应赤霉菌的侵染而上调表达,而材料 66 不可以,因此说明了材料 41 的赤霉病抗性要好于材料 66,同时也表明这三个基因均有可能参与了大麦赤霉病的抗病反应过程。

JAV1 基因是茉莉酸通路中的一个关键基因,它作为一个负调控因子来控制植物的防御反应,当植物遭遇病原菌侵染时,茉莉酸在植物体内积累并启动 JAV1 降解来激活防御反应基因的表达,从而提高对病原菌的抗性^[24]。在本研究中,材料 41 和材料 66 在经过病原菌诱导时,JAV1 基因的表达模式完全不同,材料 66 处于上调表达的过程,而材料 41 处于下调表达的过程,有可能说明在经过赤霉菌诱导时,在材料 41 中启动 JAV1 的降解来激活抗病基因的表达,从而增强了对赤霉病的抗性,说明材料 41 对赤霉病的抗性要高于材料 66。

ERF1 基因是茉莉酸和乙烯介导抗病反应中的关键基因^[25],该基因在小麦抗病品种望水白中受赤霉菌诱导上调表达^[26]。在材料 41 和材料 66 中,ERF1 基因经过赤霉菌诱导后均上调表达,但是材料 41 的表达量要高于材料 66,说明两个材料的抗赤霉病性具有一定的差异。

4 结论

(1) 采用单花滴注法和喷雾法对部分突变体的赤霉病抗扩展性和抗侵染性进行评价,获得了 3 份抗扩展性和抗侵染性相对较好的株系,4 份抗扩展性和抗侵染性相对较差的株系。

(2) 以材料 41 和材料 66 为供试材料,研究了赤霉菌诱导下的赤霉病抗病相关基因的表达,结果表明,两者在赤霉病抗性方面存在明显差异,而且这些抗病相关基因在大麦赤霉病抗病反应过程中起重要作用。

谢 辞

本文是在陆瑞菊老师、高润红老师和许乃霞老师的悉心指导下完成的。从论文的选题到论文的修改,再到整个实验过程的设计和完成都倾注了老师们的心血。老师们渊博的学识、丰富的实践经验、认真严谨的作风以及坚持不懈的精神值得我学习,在此我谨向各位老师表达衷心的感谢和深深的敬意。

本文是在实习单位上海农科院生物技术研究所植物细胞工程研究室经过一系列相关实验后撰写完成的,在此对该单位表示衷心的感谢!非常感谢陆瑞菊和高润红两位老师在实验过程和论文完成中给予我的指导和帮助,也要感谢科室同事们在日常生活和工作中的关

心和帮助。感谢许乃霞老师对本论文的指导。同时感谢学校同学和各位任课老师,是他们让我在大学期间学到了很多丰富的知识,也教会了我如何待人处事,在此我深表谢意。

还有一些在此不能一一列举的老师和朋友,他们给我的帮助,我也会铭记于心,在此表示衷心的感谢!

最后,非常感谢在百忙之中抽出时间给我审阅论文的老师。

谨以此文献给所有支持和给予帮助的人们!

参考文献

- [1] Ito M, Sato I, Koitabashi M, et al. A novel actinomycete derived from wheat heads degrades deoxynivalenol in the grain of wheat and barley affected by *Fusarium* head blight [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 96(4):1059-1070.
- [2] 陆琼娟,杨慧勇,徐剑宏,等. 大麦品种赤霉病抗性鉴定[J]. 江苏农业学报,2008,24(4):533-535.
- [3] 汪军妹,沈秋泉,杨建明,等. 大麦赤霉病抗性研究进展[J]. 大麦科学,2005,22(2):1-4.
- [4] 余大昭. 麦类赤霉病研究进展[J]. 植物保护,2009,35(3):1-6.
- [5] Mardi M, Buerstmayr H, Ghareyazie B, et al. Combining ability analysis of resistance to head blight caused by *Fusarium graminearum* in spring wheat[J]. Euphytica, 2004, 139(1):45-50.
- [6] Schroeder HW, Christensen JJ. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae* [J]. Phytopathology, 1963, 53(7):831-838.
- [7] Miller JD, Yong JC, Trenholm HL. Deoxynivalenol and *Fusarium* head blight resistance in spring cereals [J]. J Phytopathol, 1985, 113(4):359-367.
- [8] Mesterhazy A. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight [J]. Plant Breeding,1995, 114(5):377-386.
- [9] 杨文新,沈秋泉,杨建明,等. 大麦赤霉病抗性研究及其抗源开拓[J]. 麦类作物学报,2002,22(2):91-93.
- [10] 戈和静,马鸿翔,陆维忠,等. 大麦赤霉病抗扩展性鉴定与评价[J]. 植物遗传资源学报,2006,7(4):409-414.
- [11] 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.
- [12] Bai GH. Scab of wheat: epidemiology, inheritance of resistance, and molecular markers linked to cultural resistance [D]. West Lafayette: Purdue University, 1995.
- [13] 戈和静. 大麦赤霉病抗性鉴定及抗性基因位点多态性分析[D]. 扬州:扬州大学,2007.
- [14] Durrant WE, Dong X. Systemic acquired resistance [J]. Annu. Rev. Phytopathol., 2004, 8(42):185-209.
- [15] Chaturvedi R, Shah J. Salicylic acid in plant disease resistance [A]. 2007, Pages 335-370 in: Salicylic Acid-A Plant Hormone. S. Hayat and A. Ahmad, Eds[C]. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- [16] Adie BAT, P rez-P rez J, Pérez-Pérez MM, et al. ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in Arabidopsis [J]. The Plant Cell, 2007, 19:1665-1681.
- [17] Browse J. Jasmonate passes muster: A receptor and targets for the defense hormone [J]. Annu. Rev. Plant Biol., 2009, 60:183-205.
- [18] Gaffney T, Friedrich L, Vernooij B, et al. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance[J]. Science, 1993, 261:754-756.
- [19] Mukhtar MS, Nishimura MT, Dangl J. NPR1 in plant defense: it's not over'til it's turned over [J]. Cell, 2009, 137:804-806.

- [20] Pieterse CMJ, Van Wees SCM, Van Pelt JA, et al. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis [J]. Plant Cell, 1998, 10: 1571 – 1580.
- [21] Makandar R, Essig JS, Schapaugh MA, et al. Genetically engineered resistance to *Fusarium* head blight in wheat by expression of Arabidopsis NPR1 [J]. Mol Plant-Microb Interact, 2006, 19: 123 – 129.
- [22] Fu ZQ, Yan SP, Saleh A, et al. NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants [J]. Nature, 2012, 486: 228 – 233.
- [23] 杨在东,马信,吴世文,等. 小麦 NPR1-like 基因的克隆及赤霉菌诱导下的表达分析[J]. 作物学报,2013,39(10):1775 – 1782.
- [24] Hu P, Zhou W, Cheng Z, et al. JAV1 Controls Jasmonate-Regulated Plant Defense [J]. Molecular Cell, 2013, 50: 504 – 515.
- [25] Lorenzo O, Piqueras R, Solano R, et al. Ethylene response factor1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense[J]. Plant Cell, 2003, 15: 165 – 178.
- [26] Ding LN, Xu HB, Yi HY, et al. Resistance to hemi-biotrophic *F. graminearum* infection is associated with coordinated and ordered expression of diverse defense signaling pathways [J]. PLOS ONE, 2011, 6 (4): e19008.

(该论文获 2016 年度苏州农业职业技术学院院级优秀毕业设计(论文)评选一等奖)