

现代植物病理学

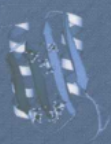
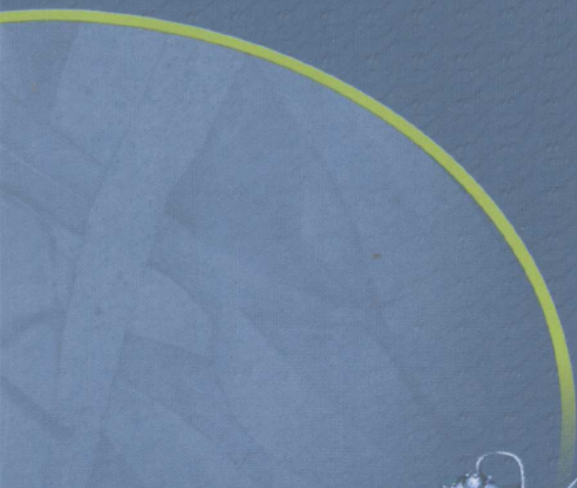
Xiandai Zhiwu Binglixue Yanjiu Fangfa

研究方法

陈捷 主编



中国农业出版社



现代植物病理学研究方法

Xiandai Zhiwu Binglixue Yanjiu Fangfa

封面设计 田 雨

ISBN 978-7-109-11400-5



9 787109 114005 >

定价: 158.00 元

现代植物病理学 研究方法

◆ 陈捷 主编

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

现代植物病理学研究方法/陈捷主编. —北京: 中国农业出版社, 2007. 2

ISBN 978-7-109-11400-5

I. 现… II. 陈… III. 植物病理学—研究方法 IV. S432.1-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 000096 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

责任编辑 张洪光 杨金妹

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2007 年 11 月第 1 版 2007 年 11 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 39.75

字数: 910 千字 印数: 1~1 500 册

定价: 158.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

内 容 简 介

本书共分七篇二十五章。第一篇介绍从微观到宏观诊断植物病害的主要方法。第二篇介绍信息技术和计算机电算技术在植物病害流行病学研究中的应用；第三篇介绍病原菌侵染过程、致病因子和罹病生理的研究方法；第四篇从不同层面上介绍植物抗病结构、抗病的生理生化机制和抗病性诱导方式的研究方法；第五篇介绍寄主植物—病原菌互作过程中信号转导、致病与抗性相关基因的克隆、抗病相关蛋白质组学等方面的研究方法；第六篇介绍植物病害综合治理决策系统构建、抗病基因工程、植物源与微生物源农药研制和转基因的安全评价方法等；第七篇介绍植物病理学中统计分析软件种类、使用方法和生物信息学。

本书是综合性大学和高等农业院校的植物病理学、植物学和生物技术等专业师生和广大科技工作者重要参考书。

《现代植物病理学研究方法》

编 著 者 名 单

- | | | |
|------|-----|-------------|
| 主 编: | 陈 捷 | 上海交通大学 |
| 副主编: | 徐书法 | 中国农业科学院 |
| | 陈晓斌 | 上海交通大学 |
| | 董金皋 | 河北农业大学 |
| | 高增贵 | 沈阳农业大学 |
| | 刘力行 | 上海交通大学 |
| 参 编: | 李博强 | 中国科学院植物研究所 |
| | 唐保宏 | 中国科学院微生物研究所 |
| | 刘军华 | 中国农业大学 |
| | 顾振芳 | 上海交通大学 |
| | 周晓英 | 上海交通大学 |
| | 郭红莲 | 天津科技大学 |
| | 范永山 | 河北农业大学 |
| | 傅俊范 | 沈阳农业大学 |
| | 曹远银 | 沈阳农业大学 |
| | 薛春生 | 沈阳农业大学 |
| | 刘 限 | 沈阳农业大学 |
| | 程根武 | 沈阳农业大学 |
| | 魏松红 | 沈阳农业大学 |
| | 范海延 | 沈阳农业大学 |
| | 刘彦群 | 沈阳农业大学 |
| | 庄敬华 | 沈阳农业大学 |
| | 王晓飞 | 沈阳农业大学 |

前言

随着生物技术和信息技术的迅速发展及在植物病理学领域内的广泛应用,植物病理学研究方法近年来发生了很大的变化,从传统的组织和细胞学水平上的研究,发展到利用生物技术、信息技术开展宏观和微观病理学研究。在微观水平上,已利用各种生理生化和分子生物学方法研究病害的分子诊断、病害的发生与抗性诱导机理、寄主—病菌分子识别与信号转导、抗病基因工程和蛋白质组、植物病害生物防治新技术等方面,其成果日新月异;在宏观病理学方面,利用 3S 技术、计算机网络技术、数据库技术研究植物病害流行动态等。虽然目前国内已有《植物病理学研究法》教材,但作为从事现代植物病理学研究的主力军研究生,非常需要一部能够反映现代植物病理学前沿性研究方法的专著;另一方面,反映前沿性研究进展有关文献主要是分散在国内外高水平的分子生物学、植物生理学、植物生物技术等综合性期刊上,缺少一部能够系统介绍现代植物病理学研究方法的专著,使科研工作者感到诸多不便。因此编著一部能够系统反映利用生物技术、信息技术研究植物病理学基本问题的方法学专著,对推动我国现代植物病理学快速发展具有重要意义。

《现代植物病理学研究方法》一书是根据目前国内各高等农业院校,尤其是农业院校从事植物病害生理研究工作的教师和研究生的需求编写的。通过从国内外各类权威杂志和专著收集、整理出一系列反映现代植物病理学最新成果的研究方法,编辑成工具书,有利于在我国植物病理学工作者中能实现资源共享,拓展生物技术和信息技术在植物病理学研究中的应用。

本书虽然很多内容涉及到植物生理生化和分子生物学研究手

前言

段,但又不是单纯的生物技术和生理生化实验指南,因为现代植物病理学研究中所涉及的生物技术具有明显植物病理学的专业特色。例如,对各类供试病害、病原样品专门化制备技术,病原菌—寄主亲和与非亲和互作产生各种酶系分析,寄主植物—病原菌的互作信号转导研究方法等方面均明显不同于一般的分子生物学和植物生理学意义上的研究,所以撰写本部《现代植物病理学研究方法》具有重要的实用价值。

《现代植物病理学研究方法》从微观到宏观全面介绍了现代植物病理学的研究方法。本书共分七篇二十五章,90万字。本书主要是阐述现代植物病理学研究的基本原理、研究策略选择及相应的实验方案。一方面介绍利用生物技术和信息技术研究植物病害诊断、预测、流行和防治决策的原理和方法;另一方面介绍如何利用显微和超微技术、免疫学技术、酶学技术和核酸技术研究植物病害发生和抵抗过程中生理学和分子生物学基础,介绍如何利用生物工程技术进行分子标记辅助抗性育种、生物农药创制、转基因抗病植物安全评价等方面,内容涵盖了现代植物病理学的主要领域。虽然这些研究方法基本上是当今生物学各领域应用最为普遍的生物技术,但为了适用于植物病理学研究的实际情况,我们重点阐述它们在植物病理学具体研究中的特殊技术要求,所提供的实验方案中大部分已经过反复验证,针对性强、步骤具体翔实、可操作性好;还有一些实验方案只是提供了一个基本的思路,使用时可根据具体情况进行充实。为了更好地掌握《现代植物病理学研究方法》主要内容,需要对已故著名植物病理学家方中达先生编著的《植病研究方法》有较系统的学习,同时需要有较好的生理生化和分子生物学的基础知识。

本书具有较强的启发性、实用性,比较适用于已掌握一定的植物病理学研究方法或从事比较深入植物病理学基础研究任务的高年级大学生、研究生、教师和科研人员。对其他从事植物和微生物生物技术工作者亦具有重要的参考价值。鉴于生理生化、分子生物技术和信息技术已在植物病理学研究中的大量

应用,而且本书的内容较多、学科跨度大且不断发展,因此在收集资料和整理实验方法时遗漏和不妥之处实在难免,务请读者指正。

参加本书编写的人员有:程根武、曹远银负责第一篇的编写;傅俊范负责第二篇的编写;陈捷、薛春生、董金皋、范永山、曹远银负责第三篇的编写;顾振芳、刘军华、李博强、陈晓斌负责第四篇的编写;郭红莲、陈捷、范海延、刘军华、魏松红、唐保宏负责第五篇的编写;陈捷、高增贵、徐书法、薛春生、刘限、魏松红、庄敬华负责第六篇的编写;高增贵、刘彦群负责第七篇的编写。本实验室的副研究员刘力行、博士后徐书法和研究生黄秀丽、王兵、王晓飞、李威、菅丽萍、屈中华、程根武、周晓英、高永东等为本书做了最后的校对工作,梁知洁同志为本书稿件的打印、编排和核校做了大量工作,我们深感谢意。

编者

2005年10月

前言

目 录

前言

第一篇 植物病害诊断方法与文献查询

第一章 植物病害诊断方法	3
第一节 微观诊断方法	3
一、免疫学方法	3
二、分子杂交检测法	9
三、多维显微观察法	35
四、超微观察	39
第二节 多媒体技术在病害诊断中的应用	45
一、多媒体技术的种类与原理	45
二、多媒体加工处理技术	47
三、病害诊断多媒体信息系统的构建	50
第二章 植物病害文献查询	52
第一节 数据库检索系统	52
一、Dialog 检索系统	52
二、Questel-ORBIT 系统	53
三、EINS 系统	53
四、STN 系统	54
五、OCLC FirstSearch 检索系统	54
六、EI Compendex Web	55
七、CSA——剑桥科学文摘	56
八、PQDD——博士、硕士论文数据库	56
九、Ingenta 检索系统	57
十、WOSP-ISTP	57
十一、万方数据资源系统	57
十二、中国期刊网全文数据库	58
十三、Kluwer Online Journals——电子期刊全文数据库	58
十四、ELSEVIER SCIENCE 电子期刊全文库	59

目录

十五、ProQuest Academic Research Library——全文 期刊与报纸数据库	59
第二节 Internet 植物病害信息的检索	59
一、搜寻引擎和搜寻方法	60
二、有关植物病理学科重要网站	61
三、数字化图书馆	62
四、国家科技图书文献中心简介	62
五、专利信息的网上检索	63
第三节 植物病害综合治理信息服务	64
一、工具类服务方式	64
二、讨论类服务方式	64
三、查询类服务方式	65
四、Internet 在植物病理学研究中的应用	65
五、虚拟化网络环境在植物病害综合治理 中的应用前景	66
参考文献	70
 第二篇 植物病害流行病学研究方法	
第一章 信息技术在病害流行病学研究中的应用	75
第一节 地理信息系统 (GIS)	75
一、数据的采集方法	77
二、数据的存储、管理、分析	79
三、系统软件的构建	83
四、地理信息系统在植物保护领域的应用	84
第二节 全球定位系统 (GPS)	89
一、全球定位系统 (GPS) 接受器的原理	89
二、全球定位系统 (GPS) 在植物保护中的应用	90
第三节 遥感技术 (RS)	91
一、遥感 (RS) 技术的原理	92
二、遥感 (RS) 技术在植物保护中的应用	96
第二章 电算模拟在植物病害流行病学研究中的应用	98
第一节 流行模拟	98
一、系统分析和电算模拟	98
二、系统模拟的工作步骤	100
三、模型模拟的应用前景	103
第二节 损失估计	104
一、损失的生理学	104

二、损失估计模型	105
三、损失估计的类型	108
四、产量损失模型的数据要求	108
五、植物病害损失估计的研究方法	109
参考文献	114

目录

第三篇 植物致病生理的研究方法	
第一章 植物病原侵染过程的观察	119
第一节 植物病原物与寄主的识别	119
一、识别的类型	119
二、致病性相关识别的研究方法	120
第二节 侵入过程的超微和显微观察	122
一、侵染器官观察	122
二、侵染过程的组织学观察	123
第三节 植物病株内病原物分布的免疫细胞化学研究	124
一、植物免疫化学发展简况	124
二、免疫化学基本原理	125
三、免疫化学操作基本步骤	127
第二章 植物病原物产生的角质酶的致病作用分析	134
第一节 角质酶及其致病作用	134
一、酶的特性	134
二、致病作用	134
第二节 角质酶提取与致病性测定	135
一、酶的获得与活性测定	135
二、酶在病程中的作用	136
第三章 植物病原物产生的细胞壁降解酶的致病作用分析	138
第一节 细胞壁降解酶的种类与一般特性	138
一、酶的种类与特性	138
二、酶的致病作用	142
第二节 细胞壁降解酶的提取、纯化与活性测定	154
一、胞外细胞壁降解酶的提取、纯化	154
二、细胞壁降解酶活性测定	155
第三节 细胞壁降解酶致病作用的确定	156
一、离体下的鉴定方法	156
二、活体下的鉴定方法	156
三、细胞壁降解酶致病作用鉴定与评价	160
第四节 细胞壁降解酶编码基因的表达与调控	162

目录

一、植物病原细菌产生的细胞壁降解酶基因的 表达与调控	162
二、植物病原真菌产生的细胞壁降解酶基因的 表达与调控	164
第四章 植物病原菌毒素的致病作用分析	166
第一节 植物病原菌毒素的种类和来源	166
一、毒素的概念及其演化	166
二、寄主选择性植物病原菌毒素的特点及来源	167
三、非寄主选择性植物病原菌毒素的特点及来源	172
第二节 植物病原菌毒素的生物测定	178
一、毒素致毒活性的确定	178
二、植株水平的生物测定	179
三、组织器官水平的生物测定	180
四、细胞水平的生物测定	182
五、细胞器水平的生物测定	183
六、酶及代谢水平的生物测定	186
第三节 植物病原菌毒素的定量化学分析	191
一、电导率法 (电阻法)	191
二、分光光度法	192
三、色谱法	193
四、差重法	196
第四节 植物病原菌毒素作用机制	196
一、植物病原菌毒素致病作用确定	196
二、受体蛋白分离	200
三、受体蛋白功能鉴定	204
四、毒素对寄主代谢的影响	206
第五章 植物病原菌毒素的纯化与结构鉴定	207
第一节 植物病原菌的产毒条件	207
一、培养基选择	207
二、营养条件	213
三、环境条件	216
第二节 植物病原菌毒素的分离	218
一、活体外病原菌毒素的分离	218
二、活体内病原菌毒素的分离	220
三、毒素的萃取方法	221
第三节 植物病原菌毒素纯化方法	225
一、分馏纯化	225
二、重结晶纯化	228

目录

三、色谱纯化	230
第四节 植物病原菌毒素的结构鉴定	239
一、毒素的红外光谱分析	239
二、毒素的气—质联用分析	241
三、毒素的高分辨率色谱分析	242
四、毒素的核磁共振分析	245
第六章 植物病原菌毒素的应用实践	247
第一节 植物病原菌毒素与作物品种抗病性测定	247
第二节 毒素与抗病突变体的筛选	251
一、基本原理	252
二、操作基本步骤	252
第三节 植物病原菌毒素与病原菌生理小种鉴定	254
一、基本原理	254
二、鉴定方法	255
三、应用实例	255
第四节 植物病原菌毒素与生物农药研制	255
一、毒素生物合成抑制剂	256
二、毒素活性钝化剂	256
三、毒素与感病植物受体结合的干扰剂	257
四、毒素间交互抑制	258
五、毒素的抗菌物质	258
第七章 激素失调的致病作用分析	260
第一节 激素的种类及来源	260
一、生长素	260
二、赤霉素	261
三、细胞分裂素	262
四、脱落酸	262
五、乙烯	264
六、油菜素甾醇类	264
七、水杨酸类	265
八、茉莉酸类	265
九、多胺	266
第二节 植株体内激素含量的测定	266
一、生物测试技术	266
二、免疫血清学技术	267
三、物理化学检测技术	269
四、其他方法	271
第三节 激素致病作用确定	271

目录

一、生长素	271
二、赤霉素	274
三、细胞分裂素	274
四、脱落酸	275
五、乙烯	276
参考文献	278

第四篇 植物抗病生理研究方法

第一章 植物组织结构抗性的观察	285
第一节 植物抗性结构种类与功能	285
一、植物固有的形态结构抗性	285
二、植物被诱发的形态结构抗性	286
第二节 抗性结构的显微观察方法	288
一、光学显微镜	288
二、荧光显微镜	290
三、抗性结构观察	292
第三节 抗性结构的超微观察方法	295
一、电子显微镜原理	295
二、电子显微镜制片	295
三、抗性结构的超微观察	298
第二章 生理生化抗性分析	304
第一节 致病因子的抑制因子分离与鉴定	304
一、果胶酶抑制因子的特性	304
二、果胶酶抑制因子的分离鉴定	307
三、木质素的测定	310
第二节 侵染诱发的抗病性和获得抗性	313
一、侵染诱发抗性和诱导抗性原理	313
二、激发子的种类与工作模式	314
三、抗性诱导方法	315
四、诱导抗性的生理效应	320
参考文献	341

第五篇 植物—病原物分子互作

第一章 植物抗病信号转导研究	349
第一节 寄主—病原菌互作过程中的信号转导	349
一、病菌侵染诱发抗病性的信号种类	349

目录

二、信号转导系统	349
三、防御反应的发生	353
第二节 信号转导的研究方法	354
一、标记配体法检测受体	354
二、亲和技术提纯受体	354
三、分子克隆技术获取微量受体	355
第三节 寡糖素信号测定	355
一、寡糖素的提取	355
二、寡糖素的检测	356
第四节 钙信号的测定	357
一、钙调素的定量测定	357
二、钙调素的分布与定位	359
三、钙调素结合蛋白 (CaMBP) 的检测	359
第五节 蛋白质磷酸化活性的测定	360
一、钙依赖蛋白激酶 (CDPK) 待测样制备	360
二、液闪法测定钙依赖蛋白激酶 (CDPK) 活性	360
三、放射自显影法测定钙依赖蛋白激酶 (CDPK)	361
第六节 G 蛋白的测定	362
一、GTP 结合实验	362
二、GTPase 活性实验	362
三、细菌毒素诱导的核糖基化实验	362
四、免疫转移电泳实验	362
第七节 水杨酸和茉莉酸含量的测定	362
一、水杨酸含量的测定	362
二、茉莉酸含量的测定	363
第八节 信号物质功能鉴定	363
一、寡糖素	363
二、钙离子 (Ca^{2+}) 和钙调蛋白 (CaM)	364
三、水杨酸	364
四、茉莉酸	364
五、G 蛋白	365
六、活性氧	365
第九节 信号转导过程	365
一、信号分子级联转导	365
二、信号分子转导效应分析实例	369
第二章 植物病原致病性的分子机理	373
第一节 病原菌致病基因与相关基因	373
一、病原菌致病基因	373

目录

二、病原菌致病相关基因	376
第二节 病菌生理分化的遗传学基础	382
一、病菌遗传多态性	382
二、生理分化分子鉴定技术	382
第三章 植物抗病的分子机理	391
第一节 植物与病原物互作的遗传基础	391
一、抗病基因的种类及功能	391
二、抗病基因的克隆	396
三、抗病基因的转化	407
第二节 防御反应基因的诱导表达	414
一、防御反应基因种类与功能	414
二、防御反应基因的克隆与序列分析	418
第三节 无毒基因的诱导表达	419
一、无毒基因的种类与功能	419
二、无毒基因的克隆	424
第四节 蛋白质组学技术在植物—病原菌互作 研究中的应用	428
一、蛋白质组学的概念	428
二、蛋白质组学研究的意义	428
三、蛋白质组学研究的技术体系	429
四、蛋白质芯片技术	436
五、酵母双杂交系统	436
六、蛋白质组学在植物病理学研究中的应用	437
参考文献	445
 第六篇 植物病害防治技术研究方法	
第一章 植物病害综合治理决策系统的构建	455
第一节 病害决策系统概述	455
第二节 决策系统构建的基本原理	456
第三节 决策系统构建的方法	457
一、病害综合治理决策系统方法	457
二、病害综合治理决策系统建立过程	459
三、病害决策支持系统应用实例——小麦病害 防治决策支持系统 EIPRE	459
第二章 植物抗病基因工程原理和方法	461
第一节 植物抗病基因工程原理	461
一、目的基因的转化	461