李玥莹　邹剑秋　著

我国高粱主要病虫害抗性分子机理研究

科学出版社
www.sciencep.com

S435.14
I

我国高粱主要病虫害抗性分子机理研究

李玥莹　邹剑秋 著

昆明理工大学图书馆
呈贡校区
中文藏书章

03002097652

科学出版社
北京

内 容 简 介

本书是为了适应对我国现代农业科技发展全面推进新形势下而编写的。全书共分15章分四个方面阐述了高粱常见病害丝黑穗病、蚜虫和螟虫如何采用生理生化分析手段、分子标记等方法对高粱抗病虫的抗性分子机理进行研究，明确高粱抗性机制，进而定位抗性基因，为高粱抗性优良品种选育工作奠定了坚实的基础。

本书可供农学、医学和农科领域的科技人员参考，也可供有关研究部门管理者和相关农、医类高校师生参考。

图书在版编目(CIP)数据

我国高粱主要病虫害抗性分子机理研究 /李玥莹,邹剑秋 著. —北京：科学出版社，2011

ISBN 978-7-03-029874-4

Ⅰ.①我… Ⅱ.①李…②邹… Ⅲ.①高粱—病虫害—研究

Ⅳ.①S435.14

中国版本图书馆CIP数据核字（2010）第263354号

责任编辑：袁海滨 /责任校对：侯沈生

责任印制：李延宝 /封面设计：汤子海

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码：100717

http://www.sciencep.com

丹东印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011年5月第 一 版 开本：850×1168 1/32

2011年5月第一次印刷 印张：10

印数：1—2 000 字数：268 800

定价：53.00元

（如有印装质量问题，我社负责调换）

版权所有，侵权必究

举报电话：010-64030229；010-64034315；13501151303

昆明理工大学图书馆
呈贡校区
中文藏书章

前 言

高粱（*Sorghum bicolor*（L.）Moench）是世界上重要的禾谷类作物之一，主要分布在世界5大洲100多个国家的热带干旱和半干旱地区，是这一地区重要的粮食作物和饲料作物，温带和寒带地区也有种植。从世界范围看，它仅次于小麦、水稻、玉米、大麦，居第五位。在人类的发展史上，高粱曾起过相当重要的作用，特别是在非洲，由于干旱和饥饿，高粱更受重视。高粱作为“生命之谷”、“救命之谷”长期在非洲那些干旱、少雨、气候恶劣、土壤瘠薄的地区种植。至今，在非洲大陆的很多国家，高粱仍然是维系人类生命的重要粮食作物。高粱是我国最早栽培的禾谷类作物之一，曾为解决我国人民吃饭问题，保证国家粮食安全，促进我国经济发展立下过汗马功劳。目前，我国高粱生产仍处于较高水平，在高粱主产国中，单产水平排世界第二位。

高粱的高产育种已取得相当成就，一般推广良种的生产能力均可达到每公顷6000 kg以上，然而世界高粱的平均产量却不到每公顷1500 kg，现有基因型与所处逆境之间的矛盾，不仅造成产量不稳，而且也严重限制了单位面积产量的再提高，如美国高粱单产年增长率1950～1960年间为10.6%，1961～1971年间为4.1%，而1971～1980年间只有2.2%。因此，自70年代以来，高粱品种的抗逆性情况备受关注，表明高粱育种已进入抗性育种时代，研究高粱抗性的分子机理必将为抗性育种奠定坚实基础。

在我国影响高粱产量的主要病虫害是丝黑穗病、蚜虫和螟虫。丝黑穗病（*Sphacelotheca reiliana*（Kühn）Clinton）是遍布世界的重要高粱病害。高粱丝黑穗病于1868年在埃及发现后，1876年在印度、1895年在美国、1910年在澳大利亚及1926年在南非相继发生，此后这一病害几乎广泛分布于世界各高粱产

区。丝黑穗病在中国各高粱产区均有发生，以东北和华北地区危害最为严重，是影响我国高粱生产发展的主要病害之一。在我国，高粱丝黑穗病发病历史虽然较久，但直到1933年才有正式的记载，当时东北各地平均发病率为27.3%，1953年东北南部严重发病区发病率高达60%以上，1977年海城县平均发病率12.2%，减产约1.95万t；1994年阜新市高粱丝黑穗病大爆发，发病之重历史罕见：发病面积5.8万hm^2，发病率15~20%，高者达80%以上，减产损失严重，损失粮食5.4万t。

高粱蚜（*Aphis sacchari zehntne*）属同翅目，蚜虫科，是世界范围内谷物作物的主要虫害，不仅危害高粱，而且危害甘蔗、小麦、大麦、黍、玉米等农作物。一般减产15%左右，大发生年代防治不及时减产可达30%以上。在美国，自1949年起，在小麦、大麦和高粱中已多次爆发严重的蚜虫病害，经常使作物遭严重破坏而减产，并造成巨大的经济损失。根据1989报道，仅在美国，由蚜虫造成的损失及控制蚜虫所花费的费用该年就已超过389 000 000美元。在我国，辽宁、吉林、黑龙江、内蒙古、山西、山东、河北、河南、浙江、江苏、安徽、湖北、台湾、等省（自治区）发生普遍。其中，辽宁、山东、河北、吉林、内蒙古危害严重，每年都有不同程度的发生。高粱蚜具有极高的繁殖力，一旦大发生可能造成毁灭性的危害。过去采用化学药剂防治既费时、费工又产生抗药性，污染环境，因此选用抗品种是最为有效的途径。引进新的抗性基因、培育抗性品种既可提高作物对蚜虫的抵抗能力，又有利于环境保护，因此选用抗蚜品种是最为有效的途径。

亚洲玉米螟［*Ost rinia f urnacalis*（Guenée）］属鳞翅目*Lepidoptera*，螟蛾科*Py ralidae*，秆野螟属*Ost rinia*，在我国是为害高粱的主要螟虫之一，其发生世代，随纬度变化而异。在辽宁省，通常一年发生两代，第一代幼虫在6月中下旬7月上旬，在高粱孕穗之前，幼虫集中于心叶为害，最初表现为许多白色的小

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

斑点，以后产生大而不规则的伤痕，形成花叶，较大的幼虫钻蛀叶卷，叶片展开后表现为横排连珠孔。危害严重时，心叶会被咬得支离破碎，以至叶片不能正常抽穗。第二代幼虫在高粱的生育后期，主要为害穗颈和茎秆，将穗颈蛀空，蛀孔处出现褐红色，穗颈易折，造成穗粒不饱满，甚至籽粒不成熟，导致减产。而随着高粱育种国内外对玉米螟研究的进展，高粱抗螟虫抗性分子机理研究也受到普遍关注，利用抗螟性强的杂交种，可大量减少农药的使用量，减少环境污染，维护生态平衡，对农业经济的可持续发展有着极其重要的意义。

分子标记是继形态学标记（morphologic markers）、细胞学标记（cytological markers）及生化标记（biochemical markers）之后，在近二十年来不断发展和广泛应用的一种新的遗传标记（genetic markers）。与其它遗传标记相比，分子标记有许多特殊的优点，如：无表型效应、不受环境制约和影响等。它直接利用DNA分子中的核苷酸序列变异信息，数量丰富、多态性强，能对各发育时期的个体、组织、器官甚至细胞进行检测。

随着分子生物学技术的迅猛发展，为植物抗病虫害的研究开辟了新天地，目前许多科研单位和大专院校正集中力量，利用RFLP、RAPD及AFLP等分子标记技术，对水稻、小麦、玉米等作物的主要农艺性状基因进行识别、定位和分离研究，构建它们的基因图谱，并取得了较大的进展。然而，在高粱抗丝黑穗病、抗蚜和抗螟虫基因的分子标记研究上，国内仍属空白，国际报道也较少。

在选育抗性品种过程中，如能明确其抗性机制，进而定位和克隆抗性基因，无论对于高粱还是其他广受害虫危害的农作物、园艺作物等都具有极其重要的理论意义和现实意义。为深入揭示高粱抗病虫分子机理进而指导高粱抗病虫育种，在国家科技支撑计划课题（2006BAD02B03）、国家“863”计划课题（2004AA241230）、高粱产业技术体系建设项目（nycytx－12）、

辽宁省自然科学基金项目（20022094，20061045）、沈阳市科技局国际合作项目（1091241－6－00）、辽宁省教育厅项目（20060806）的资助下，作者从1998年就开始对我国高粱主要病虫害抗性分子机理进行系统研究，至今已经有10余年的历史。通过这些年来的不懈努力，使得我国高粱主要病虫害的抗性机理方面的研究取得了较大的进展，这些都为高粱抗性优良品种选育工作奠定了坚实的基础。

特此，作者将10多年来的研究进行回顾和总结，对有关方面的工作加以介绍，和国内同行进行交流，以使高粱病虫害抗性分子机理的研究更加深入。

作者真诚希望从事相关研究的同仁们为本书提出宝贵意见，以便推动我国这项事业的进一步发展。

作者对在研究过程中以下的合作者以及所有提供过帮助的人员表示诚挚的谢意：沈阳师范大学：李雪梅教授、马纯艳教授、马莲菊副教授、陶思源高级实验师、徐昕高级实验师、陆丹同学、牛楠同学、刘旭同学；沈阳农业大学：刘世强教授、林凤教授；辽宁省农业科学学院：杨立国研究员、朱凯副研究员、段有厚助理研究员、王艳秋助理研究员。在此，笔者一并向他们表示感谢！

作　者

2010年10月于沈阳

目　录

第一篇　绪　论

第 1 章　高粱在世界农业生产中的地位与作用 …… 3
1.1　高粱在世界粮食生产中的特殊地位 …… 3
1.2　高粱的生物学特点 …… 5
1.2.1　光合效率高 …… 5
1.2.2　抗逆性强 …… 5
1.2.3　杂种优势强 …… 5
1.3　高粱的经济学优势 …… 6
1.3.1　高粱食品业 …… 6
1.3.2　高粱酿酒业 …… 7
1.3.3　高粱饲料业 …… 8
1.3.4　高粱能源业 …… 10
1.3.5　高粱淀粉业 …… 11
1.3.6　高粱色素业 …… 12
1.3.7　其它应用 …… 12
第 2 章　分子标记技术及其应用 …… 14
2.1　分子标记及其特点 …… 14
2.2　几种主要分子标记简介 …… 15
2.2.1　RFLP …… 15
2.2.2　RAPD …… 17
2.2.3　SCAR …… 19
2.2.4　AFLP …… 19
2.2.5　SSR …… 20
2.2.6　ISSR …… 21

2.2.7 AP-PCR 和 DAF …… 22
2.2.8 SNP …… 22
2.2.9 STS（序列标志位点） …… 23
2.2.10 RGA 标记 …… 24
2.2.11 几种主要分子标记技术的比较 …… 24
2.3 分子标记在植物遗传和育种研究中的应用 …… 25
2.3.1 基因定位 …… 25
2.3.2 构建遗传图谱 …… 32
2.3.3 研究植物遗传多样性 …… 34
2.3.4 鉴定品种纯度 …… 35
2.3.5 用于基因克隆 …… 35
2.3.6 分子标记辅助选择 …… 36

第二篇 高粱丝黑穗病抗性分子机理研究

第3章 丝黑穗病及其对高粱生产的影响 …… 41
3.1 高粱丝黑穗病的分布 …… 41
3.2 高粱丝黑穗病的发病症状 …… 42
3.3 高粱丝黑穗病病原菌及其生理分化 …… 42
3.3.1 高粱丝黑穗病病原菌 …… 42
3.3.2 高粱丝黑穗病菌的生理分化 …… 42
3.4 高粱丝黑穗病发病因素与防治措施 …… 43
3.4.1 高粱丝黑穗病的发病因素 …… 43
3.4.2 高粱丝黑穗病的防治措施 …… 44
3.5 高粱抗丝黑穗病鉴定技术 …… 45
3.5.1 土壤接种法 …… 45
3.5.2 病圃鉴定法 …… 45
3.5.3 菌粉拌种法 …… 46
3.5.4 苗期注射接种法 …… 46
3.5.5 苗期鉴定法 …… 46

3.6 高粱抗丝黑穗病遗传机制 …… 47
3.7 高粱抗丝黑穗病育种进展 …… 48
3.7.1 抗病资源鉴定筛选 …… 48
3.7.2 抗病杂交种选育 …… 48
第4章 高粱抗丝黑穗病菌3号生理小种遗传机制研究 …… 50
4.1 材料与方法 …… 50
4.1.1 供试材料 …… 50
4.1.2 试验方法 …… 51
4.1.3 高粱丝黑穗病鉴定分级标准 …… 51
4.2 结果与分析 …… 52
4.2.1 F_1 代植株抗病性与亲本的关系 …… 52
4.2.2 F_2 代对丝黑穗病3号生理小种的抗性遗传模型初探 …… 54
4.3 结论与讨论 …… 56
4.3.1 高粱对丝黑穗病3号生理小种的抗性属于质量性状遗传，F_1 代抗性为显性，只要亲本之一抗病，F_1 代即表现抗病 …… 56
4.3.2 高粱对丝黑穗病菌3号生理小种的抗性可能受2对彼此独立的非等位基因影响，并且基因之间存在着互作 …… 56
4.3.3 高粱育种选育要有适当的分离群体 …… 56
4.3.4 高粱对丝黑穗病遗传机制研究的结果不完全一致 …… 57
第5章 高粱抗丝黑穗病生理生化机制 …… 58
5.1 材料与方法 …… 62
5.1.1 实验材料 …… 62
5.1.2 实验设计 …… 62
5.1.3 测定指标 …… 63
5.1.4 数据分析 …… 65

5.2 结果与分析 …… 65
5.2.1 苗期抗、感高粱的生理差异 …… 65
5.2.2 拔节期和抽穗期抗、感高粱差异 …… 81
5.3 讨论 …… 92
5.3.1 抗、感高粱防御酶与抗丝黑穗病的关系 …… 92
5.3.2 抗、感高粱可溶性糖与抗丝黑穗病的关系 …… 93
5.3.3 抗、感高粱细胞壁酶与抗丝黑穗病的关系 …… 94
5.4 结论 …… 95
5.4.1 高粱抗丝黑穗作用过程是多种因子起作用 …… 95
5.4.2 酶活性升高来增强植株的抗病性 …… 95
5.4.3 鉴定成熟期高粱抗、感丝黑穗病的生化指标 …… 95
第6章 高粱DNA提取方法的优化与比较 …… 97
6.1 材料与方法 …… 98
6.1.1 实验材料 …… 98
6.1.2 实验方法 …… 99
6.2 结果与分析 …… 101
6.2.1 DNA样品纯度分析 …… 101
6.2.2 DNA的SSR-PCR扩增结果 …… 102
6.2.3 高盐低pH法提取高粱DNA过程的优化 … 103
6.3 结论 …… 105
第7章 高粱抗丝黑穗病3号生理小种基因RAPD标记的筛选以及SCAR标记的建立 …… 106
7.1 材料与方法 …… 107
7.1.1 实验材料 …… 107
7.1.2 实验方法 …… 108

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

7.2 结果与分析 …… 111
7.2.1 DNA 纯度检测 …… 111
7.2.2 RAPD 反应体系的优化 …… 111
7.2.3 抗丝黑穗病基因的 RAPD 多态性标记筛选 …… 118
7.2.4 抗丝黑穗病基因 RAPD 多态性差异谱带标记分析 …… 125
7.2.5 抗丝黑穗病基因 RAPD 多态性差异的共分离分析 …… 128
7.2.6 RAPD 多态性标记的回收克隆及测序 …… 130
7.2.7 RAPD 标记转化为 SCAR 标记 …… 133
7.3 结论 …… 136
第 8 章 高粱抗丝黑穗病 3 号生理小种基因 SSR 标记的筛选 …… 138
8.1 材料与方法 …… 138
8.1.1 实验材料 …… 138
8.1.2 SSR 引物及 PCR 扩增试剂 …… 139
8.1.3 仪器设备 …… 139
8.1.4 试剂及其配制 …… 139
8.1.5 实验方法 …… 140
8.2 结果与分析 …… 143
8.2.1 反应体系中各组分对 SSR - PCR 扩增的影响 …… 143
8.2.2 聚丙烯酰胺凝胶电泳两种染色方法 …… 147
8.2.3 高粱抗丝黑穗病基因近等基因池的 SSR 分析 …… 149
8.2.4 高粱抗丝黑穗病基因 SSR 多态性标记 …… 152
8.3 结论与讨论 …… 162
8.3.1 建立了 SSR 最佳反应体系 …… 162

8.3.2 优化了两种 PAGE 的电泳方法 …… 162
8.3.3 筛选了 SSR 引物 …… 162
8.3.4 找到了与抗丝黑穗病基因紧密连锁的 SSR 分子标记 …… 162
8.4 结论 …… 163

第三篇 高粱抗蚜虫抗性分子机理研究

第 9 章 高粱抗蚜性鉴定方法的研究 …… 171
9.1 材料和方法 …… 171
9.1.1 材料 …… 171
9.1.2 方法 …… 171
9.2 结果分析 …… 172
9.2.1 田间鉴定 …… 172
9.2.2 叶片化学物质含量的分析 …… 173
9.2.3 高粱叶片中游离氨基酸含量的分析 …… 174
9.2.4 叶片形态及组织结构与抗蚜的关系 …… 175
9.3 结论与讨论 …… 178
9.3.1 高粱抗蚜的鉴定采用自然初鉴和人工复鉴相结合的方法 …… 178
9.3.2 测定不同高粱叶片中某种化学物质含量进行抗性鉴定 …… 179
9.3.3 高粱植株抗蚜性与其内部化学物质有关 … 179
9.3.4 抗性试材单宁的含量高于感性试材且呈显著差异 …… 179
9.3.5 可抗感鉴定为辅助手段，减少田间调查的工作量 …… 180
9.3.6 游离氨基酸的含量作为抗蚜性鉴定的辅助指标 …… 180
9.3.7 以田间鉴定为基础，找出植株本身抗蚜的

特征 …… 180
第 10 章 高粱叶片 DNA 提取纯化方法的比较及 RAPD 反应条件的建立及优化 …… 182
10.1 材料和方法 …… 183
10.1.1 植物材料 …… 183
10.1.2 DNA 的提取 …… 183
10.1.3 DNA 纯度检测方法 …… 184
10.1.4 RAPD 反应条件 …… 185
10.2 结果分析 …… 185
10.2.1 不同提取方法所得 DNA 纯度的检测 …… 185
10.2.2 高粱 RAPD 反应体系的建立 …… 186
10.3 结论与讨论 …… 190
第 11 章 应用 RAPD 技术筛选与抗蚜基因连锁的分子标记并将 RAPD 标记转化为 SCAR 标记 …… 192
11.1 材料和方法 …… 193
11.1.1 供试材料 …… 193
11.1.2 F_2 分离群体抗蚜性鉴定 …… 193
11.1.3 仪器设备 …… 193
11.1.4 近等基因池的建立 …… 194
11.1.5 RAPD 分析 …… 194
11.1.6 产物检测 …… 194
11.1.7 连锁分析 …… 194
11.1.8 多态性片段的回收 …… 195
11.1.9 回收片段的克隆与鉴定 …… 195
11.1.10 含有目的片段的重组质粒的测序 …… 199
11.1.11 RAPD 标记转化为 SCAR 标记 …… 199
11.2 结果分析 …… 200
11.2.1 高粱抗蚜基因近等基因池的 RAPD 分析 …… 200

11.2.2 高粱抗蚜基因的 RAPD 多态性标记 …… 202
11.2.3 高粱抗蚜基因的 RAPD 多态性标记图谱分析 …… 203
11.2.4 与抗蚜基因连锁的 RAPD 多态性标记 …… 205
11.2.5 与抗蚜基因连锁的 RAPD 多态性标记的回收，克隆及测序 …… 208
11.2.6 将 RAPD 标记转化为 SCAR 标记 …… 211
11.2.7 抗蚜基因连锁群的建立 …… 212
11.3 结论与讨论 …… 213
第 12 章 对高粱 F_3 代及部分抗感品种的 SCAR 分析 …… 215
12.1 材料和方法 …… 216
12.1.1 材料 …… 216
12.1.2 方法 …… 216
12.2 结果与分析 …… 217
12.2.1 对 BTAM428 × ICS - 12B 杂交 F_3 代的跟踪鉴定 …… 217
12.2.2 对几种抗感品种的 SCAR 分析 …… 219
12.3 结论与讨论 …… 220
12.4 结论 …… 221

第四篇 高粱抗螟虫抗性分子机理研究

第 13 章 高粱抗螟育种研究进展 …… 227
13.1 玉米螟的为害 …… 227
13.2 玉米螟的研究进展 …… 228
13.3 高粱的抗螟机制 …… 228
13.4 高粱抗螟性筛选与鉴定 …… 229
13.5 抗螟育种的方法及现状 …… 231
13.6 高粱抗螟育种的发展趋势和建议 …… 232

第 14 章　亚洲玉米螟高粱上蛀孔分布及其与产量损失的关系 …… 233
14.1　材料和方法 …… 233
14.1.1　供试材料 …… 233
14.1.2　蛀孔分布的调查 …… 233
14.1.3　产量损失测定 …… 234
14.2　结果分析 …… 234
14.2.1　两代蛀孔在高粱植株上的分布 …… 234
14.2.2　蛀孔及其在植株上的部位对高粱产量的影响 …… 236
14.3　讨论 …… 237
第 15 章　高粱抗螟虫 SSR 分子遗传图谱的构建及偏分离分析 …… 239
15.1　材料与方法 …… 240
15.1.1　作图群体 …… 240
15.1.2　SSR 引物 …… 240
15.1.3　样品总 DNA 提取 …… 241
15.1.4　SSR 标记分析 …… 241
15.1.5　数据收集和连锁分析 …… 242
15.2　结果与分析 …… 242
15.2.1　SSR 多态性引物筛选 …… 242
15.2.2　SSR 标记在作图群体中的分离检测与分析 …… 242
15.2.3　遗传图谱的构建 …… 245
15.3　讨论 …… 246
15.4　结论 …… 247
参考文献 …… 248

附 录

附录Ⅰ 抗丝黑穗病基因 SSR 分析中所用引物名称(165 对) …… 266
附录Ⅱ 抗螟虫基因 SSR 分析中所用引物名称(104 对) …… 279
附录Ⅲ RAPD 分析中的随机引物表(生工——400 条) …… 288
附录Ⅳ RAPD 分析中的随机引物表(Operon 公司 500 条) …… 292
附录Ⅴ OPN－07_{727}及 OPN－08_{373}克隆菌落 …… 298
附录Ⅵ pMD 18－T Vector 克隆及酶切位点 …… 299
附录Ⅶ OPN－07_{727}酶切位点图谱 …… 300
附录Ⅷ OPN－08_{373}酶切位点图谱 …… 301
附录Ⅸ 特异片段 OPN－07_{727} R 端测序彩色波形图 …… 302
附录Ⅹ OPN－07_{727} F 端测序彩色波形图 …… 303
附录Ⅺ OPN－08_{373}测序彩色波形图 …… 304
附录Ⅻ 英文缩写的中文名称 …… 305
附录XIII Marker 图谱 …… 307
作者发表的相关论文和著作 …… 308
后 记 …… 312

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com