

分子标记在高粱抗病虫基因定位上的研究进展

邢慧清,黄赛楠,张云鹤,李玥莹

(沈阳师范大学 化学与生命科学学院,辽宁 沈阳 110034)

摘要:高粱属禾本科是世界第五大粮食作物。具有耐干旱和耐高温等特性。一些病虫害的存在和发生严重影响了高粱的质量和产量。随着分子标记的迅速发展,逐渐地被应用到高粱的抗病虫基因研究中。现主要介绍了几种高粱常见的病虫害,并且评述了近年来分子标记在抗丝黑穗病和抗蚜虫基因定位方面的研究进展。

关键词:高粱;分子标记;抗病虫基因定位

中图分类号:S514

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)09-0139-04

高粱作为世界上最重要的粮食作物之一,其产量和质量受到全世界范围的关注和研究。虽然高粱具有耐干旱和耐高温等一些对恶劣环境的耐受性,但一些病虫害的存在严重降低了高粱的产量。所以防治病虫害的发生成为了提高高粱产量的重点。随着近年来分子标记方法的发展,利用分子标记方法对高粱抗病虫基因的研究逐渐增多并且取得了一定的成果,这就为高粱抗病虫基因的研究奠定了理论基础。

1 高粱生产的意义

高粱属禾本科作物,是 C_4 植物的模式作物,主要生长在热带干旱地区和半干旱地区。高粱的光合效率高,对于干旱、高温有耐受性,另外还具有抗盐碱性,由于具备这些特性,高粱备受瞩目。现如今,全球气候变暖,水资源严重短缺,但是,虽然在边际土地上生长,高粱仍然可以良好地生长。所以像高粱这类旱地作物越来越受到重视,除了在北美、亚洲,在世界上的其他国家,如澳洲、欧洲和南美的一些国家,高粱生产也日趋盛行。特别是在非洲,由于干旱和饥饿,高粱由于耐旱,被人们称为“救命之谷”。目前,我国的高粱单产水平在世界范围内排第二位,仅次于美国^[1-2]。高粱有很多用途,除了一般的日常食用外,还具有饲用、

酿酒及能源开发等特殊用途,在我国北方有较大的种植面积。

2 高粱主要病虫害

高粱病害主要有丝黑穗病、叶炭疽病、锈病、散黑穗病、高粱白斑病、黑束病和霜霉病等。虫害主要有(1)蝼蛄和蛴螬的地下害虫;(2)高粱长椿象等苗期害虫;(3)蚜虫、舟蛾和粘虫等食叶害虫;(4)玉米螟和条螟等蛀茎害虫;(5)穗部害虫。该综述主要介绍丝黑穗病和高粱蚜虫害。

2.1 丝黑穗病

丝黑穗病 [*Sporisorium reilianum* (Kühn) Clinton] 是重要的高粱病害,在世界范围内都有发生。也被称为“乌米”。丝黑穗病能够破坏穗部除了维管束以外的所有组织。被丝黑穗病破坏的穗在一开始被白色薄膜所包被,其内部充满了黑色粉末;当薄膜破裂之后,黑粉就会飞散,而剩下的维管束组织就会变成乱丝状。高粱在感染丝黑穗病后,植株矮小,幼穗变细。病穗在未抽出旗叶前就会膨大,幼嫩的时候,形状为白色棒状,在成熟之后,就会变成一个大灰包^[1]。高粱感染丝黑穗病后,病症在挑旗期表现得最为明显,病穗被旗叶紧包,中间鼓突,叶片在初期剥开后为白皮包着的丝状物,抽穗后,上部的白皮略显微红色,在外膜破裂之后,会散出黑粉,随后露出一团残留的丝状维管束组织^[3]。

高粱丝黑穗病是影响我国高粱生产发展的主要病害之一,在东北和华北地区的危害最为严重^[4]。高粱丝黑穗病在我国的发病史虽然久远,但 1933 年才出现比较正式的记载,当时东北各地平均发病率为 27.3%,张福耀等发现,在山西省高平市对高粱丝黑穗病免疫的高粱杂交种晋杂

收稿日期:2012-07-06

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(20092070);沈阳市科技局国际合作资助项目(1091241-6-00);辽宁“百千万人才工程”资助项目(2008921058)

第一作者简介:邢慧清(1988-),女,内蒙古自治区通辽市人,在读硕士,从事高粱抗丝黑穗病基因的分子标记研究。E-mail: xinghuiqing1988@yahoo.com.cn。

通讯作者:李玥莹(1966-),女,辽宁省沈阳市人,博士,教授,硕士研究生导师,从事分子进化和分子生物学研究工作。E-mail: yueyinglicn@yahoo.com.cn。

12 零星地发生丝黑穗病,在 2002 年普遍发生,严重地区发病率高达 60%,影响了高粱的产量^[5]。

2.2 高粱蚜虫

高粱蚜(*Melanaphis sacchari*)对高粱形成了主要危害,除了高粱之外,也危害甘蔗、小麦、大麦、黍和玉米等粮食作物,是一种间歇性发生的猖獗害虫,它的存在严重危害了作物的产量和质量,每 3~4 a 突发 1 次。虫害爆发时,常常多到可以盖满高粱叶背,被蚜虫侵害的作物轻的叶色变红,除此之外,其正常的生理功能也受到影响,被侵害严重的叶片枯萎,茎秆也会变得弯曲脆弱,从而导致植株不能正常地抽穗或者抽穗不良,严重的甚至会导致植株死亡。蚜虫除了可以将营养直接从植物体内吸取外,还可分泌大量的蜜露污染作物,影响了植物的光合作用。蚜虫盛行时,作物的叶片泛油光,这就会阻碍植株正常的光合作用,从而影响了作物的正常生长。高粱蚜引起的危害一般减产 15% 左右,严重时可达 30% 以上,甚至可造成高达 50% 的损失^[6-7]。对作物的质量和产量影响及其严重。

3 分子标记技术在高粱抗病虫基因研究的应用

3.1 分子标记特点

遗传标记主要有 4 种类型,分别为形态标记、细胞学标记、生化标记和分子标记。形态标记是以生物的外部特征,如:株高、穗长、粒色、花色和粒重等宏观性状作为遗传研究的标志。最初的细胞学标记主要是指染色体的核型,后来又发展出了染色体显带技术。生化标记主要指同工酶和贮藏蛋白等生化物质。前 3 种都是以基因的表达结果(表现型)为基础,是基因的间接反应;而分子标记是建立在 DNA 基础之上的,是基因的直接反应^[8]。与形态学标记、细胞学标记、生化标记这 3 种标记比较,分子标记的特点^[7]:第一,分子标记检测的准确度比较高,它以 DNA 为直接的形式表现,并且在植物体的各个发育时期和各个组织都能够检测到,不受基因表达与否的限制;第二,它的信息量大,分析效率比较高;第三,遗传多态性高;第四,表现为“中性”,与不良性状之间没有必然的连锁,不影响目标性状的表达;第五,共显性遗传,能够鉴别出纯合基因型和杂合基因型;第六,分布均匀,提供完整的遗传信息;第七,稳定性、重复性好。

3.2 分子标记种类及应用

3.2.1 分子标记种类 RFLP 标记是发展最早而且应用最广的一种分子标记技术,基于 DNA 分子杂交技术。20 世纪 80 年,Botstein 等首先提出 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism,限制性片段长度多态性)可以作为遗传标记,从此就进入了直接应用 DNA 多态性时期。20 世纪 80 年代后期,随着 PCR(聚合酶链式反应)技术的产生,随后便产生了基于 PCR 反应的多种新的分子标记技术,如 AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism,扩增片段长度多态性)标记、RAPD(Random Amplified Polymorphism DNAs,随机扩增多态性 DNA)标记、SCAR (Sequence Characterized Amplified Region,序列特异性扩增区)标记、SSR(Simple Sequence Repeat,简单序列重复)标记、加锚微卫星寡核苷酸(Anchored Microsatellite Oligonucleotides,ISSR)等。还有几种新型分子标记,例如 SNP(Single Nucleotide Polymorphism)即单核苷酸多态性、SRAP(Sequence Related Amplified Polymorphism)即相关序列扩增多态性标记,又称为基于序列扩增多态性(Sequence-based Amplified Polymorphism,SBAP)。与此同时,各种电泳技术的发展,提高了电泳分辨率的能力,为分子标记的发展提供了一定的条件基础^[9]。

3.2.2 分子标记在高粱抗病虫基因研究中的应用

(1)分子标记在高粱抗蚜基因研究中的应用。2004 年,赵雪梅等采用抗蚜与感蚜品种进行杂交,在当年加代得到 F₂、BC₁群体,接种蚜虫后调查结果表明:高粱的抗蚜基因对感蚜基因表现为显性,并且受主效单基因控制。2006 年,Y Q Wu. 对 26 个高粱品种对麦二叉蚜生物型 I 的遗传差异进行了分析,采用了 AFLP 荧光标记方法,确定了遗传相关系数为 0.69~0.90。2006 年常金华^[6]等人用微卫星标记(SSR 标记)和分离群体分析法(BSA 法),对抗蚜基因进行了分析,发现了 1 个与抗蚜基因连锁的 SSR 标记,与抗蚜基因的遗传距离为 8.7 cM。该标记位于第 9 连锁群上,所以将该基因初步定位到了第 9 连锁群。李玥莹^[10]等人,利用高粱试验试材 BTAM428(抗亲)和 ICS-12B(感亲)杂交,得到 F₂群体,在抗感池间筛选出了具有多态性谱带的 10 个引物,试验应用了 AFLP 荧光标记方法。并将 RAPD 标记转化成 SCAR 标记,对抗蚜基因进行了定位,并

且对 F_3 及部分抗感品种进行 SCAR 检测,得到了特异性谱带,为分子标记辅助育种提供了依据。Wu Yanqi^[11] 等利用 westlandAline 和 PI550610 杂交获得的 277 个 F_2 单株及其 $F_2:F_3$ 家系,并且利用了 118 个 SSR 标记对抗蚜基因进行了 QTL 定位分析,发现了 2 个与抗蚜基因相关的 QTL 位点,位于高粱的第 9 染色体,SSR 标记 Xtxp358、Xtxp289、Xtxp67 和 Xtxp230 分别紧密位于 2 个 QTL 位点的两侧。1999 年, TexasA&M 大学对高粱对麦二叉蚜的抗性进行分析,采用 RFLP 分子标记方法得出抗蚜基因分布于 9 个位点,8 个连锁群的结论,分别以寄主植物和蚜虫的种属命名^[12]。

(2) 分子标记在高粱抗丝黑穗病基因研究中的应用。目前,国内外对高粱抗丝黑穗病基因的分子标记分析还比较缺少。魏鑫等^[13] 以甜高粱抗丝黑穗病品种 LTR102、甜高粱感丝黑穗病品种 LTR106 为试材,应用 SSR 分子标记技术对甜高粱丝黑穗病基因进行分析,所用的 20 个 SSR 引物中有 16 个引物能扩增出清晰的多态性谱带,完全可应用于甜高粱丝黑穗病抗病基因的初步定位。其中有 4 个引物扩增出了差异带,引物号为: Xtxp279、Xtxp284、Xtxp36 和 Xtxp228。2007 年,李玥莹^[14] 等以高粱 2381 恢复系(抗病)、矮四恢复系(感病)、7050B 保持系(抗病)和 TX622B 保持系(感病)为材料,应用 RAPD 分子标记技术对试材提取的 DNA 进行多态性扩增,从 RAPD 反应中所用的 48 个随机引物中,其中有 28 个引物扩增出了条带,引物 OPM-05300 和 OPM-13450 扩增出了差异谱带,可以应用于抗丝黑穗病基因的定位。2010 年,邹剑秋^[15] 等采用 SSR 技术,应用分离群体分组分析法,分别利用恢复系分离群体(2381R/矮四)和保持系分离群体(Tx622B/7050B),筛选抗丝黑穗病菌 3 号生理小种基因的分子标记,最后在所用的 SSR 引物中筛选出 4 个, Xtxp13、Xtxp145、Xtxp13 位于 B 染色体上, Xtxp145 位于 I 染色体上,与抗病基因的重组率分别为 9.6% 和 10.4%,距离抗病基因的遗传图距分别约为 9.6 cM 和 10.4 cM。牛楠^[16] 从 150 对引物中筛选出 102 对 SSR 引物有扩增产物,且条带清晰、稳定,有 1 对引物 IS10264 在抗、感亲与抗、感池之间差异一致。引物 IS10264 位于 I 染色体上,用引物 IS10264 对 F_2 群体的抗病个体和感病个体 DNA 进行扩增,得到引物

IS10264 与抗病基因的重组率为 9.8%,相对遗传距离为 9.8 cM。

(3) 分子标记在高粱其它抗病基因研究中的应用。Tao 等^[17] 以 ICSV745 和 90562 为亲本获得重组自交系材料,对抗高粱蚊虫的相关基因进行了定位分析。Mcilltyre 等对高粱抗锈病的相关研究就着重利用了 SSR 标记。Boora^[18] 等用抗性亲本 SC326-6 与感病亲本 BTX623 杂交,对 F_2 群体利用 RAPD 标记分析发现了标记 OPD12 与抗病性出现了共分离现象。并将 RAPD 标记转换成 SCAR 标记,发现了与抗源基因紧密连锁,交换率为 8.6%。Klein 等用 Sureno(抗病亲本)与 RTX4309(感病亲本)杂交的 RIL 群体,发现了由 1 对显性基因决定了霜霉病(SDM)的抗性,利用 RFLP 分子标记方法分析发现了抗性位点 Sdm,与标记 psbTX552 和 psbTX361 共分离,遗传距离分别为 5.0 cM 和 7.9 cM,但由于标记差异,没能在相应连锁群上对相应的位点进行准确定位。

4 结论

采用分子标记技术,对高粱的抗病虫基因进行定位,可以实现实验室对抗病的选择,免去了田间复杂的选择步骤。但目前在国内外的应用报道很少,所以分子标记在高粱及其它作物的育种应用上,有很大的发展前景和潜力,相信随着分子标记的迅速发展,会对抗病品种的选育工作做出更大的贡献。

参考文献:

- [1] 董良利,赵威军. 高粱丝黑穗病研究综述[J]. 山西农业科学, 2006, 34(2): 82-83.
- [2] 余传涨,翟国伟,邹桂花,等. 41 个高粱品种遗传多样性的 SSR 标记检测[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(2): 248-249.
- [3] 王振录,孔雪华,韩瑞东. 甜高粱病虫害及其防治[J]. 特种经济动植物, 2004(6): 43-44.
- [4] 马宜生. 高粱抗丝黑穗病育种初报[J]. 辽宁农业科学, 1982(4): 33-37.
- [5] 马宜生. 高粱品种对于丝黑穗病抵抗性的研究[J]. 高粱研究, 1982(1): 46-51.
- [6] 常金华,夏雪岩,张丽,等. 高粱抗蚜基因的遗传分析和 SSR 标记定位[J]. 草业学报, 2006, 15(2): 113-118.
- [7] 薛薇. 高粱抗蚜基因的定位及分子标记辅助选择的研究[D]. 保定:河北农业大学, 2009: 3-6.
- [8] 李玥莹,邹剑秋,徐秀明. 高粱 SSR 分子标记反应体系的建立和优化[J]. 杂粮作物, 2007, 27(5): 331-335.
- [9] 陈秋玲,高建明,罗峰,等. 分子标记技术在禾本科作物基因定位上的研究进展[J]. 中国农学通报, 2010, 26(9): 42-48.
- [10] 李玥莹,赵妹华,杨立国,等. 高粱抗蚜基因分子标记的建

- 立[J]. 作物学报, 2003, 29(4): 534-540.
- [11] Wu Yanqi, Huang Yinghua. Molecular mapping of QTLs for resistance to the green bug *Schizaphis graminum* (Ron-dani) in *Sorghum bicolor* (Moench)[J]. Theor Appl Genet, 2008, 117(1): 117-124.
- [12] 夏雪岩. 高粱抗高粱蚜遗传分析及 SSR 标记研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2004: 1-36.
- [13] 魏鑫, 陆水怡, 庄严, 等. 甜高粱抗丝黑穗病分子标记的建立[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(36): 15794-15796.
- [14] 李玥莹, 彭霞, 李鹤, 等. 高粱抗丝黑穗病基因的 RAPD 初步分析[J]. 生物技术, 2007, 17(5): 6-9.
- [15] 邹剑秋, 李玥莹, 朱凯, 等. 高粱丝黑穗病菌 3 号生理小种抗性遗传研究及抗病基因分子标记[J]. 中国农业科学, 2010, 43(4): 713-720.
- [16] 牛楠. 高粱抗丝黑穗病 3 号生理小种基因的 RAPD 及 SSR 标记分析[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2010: 9-27.
- [17] 余传涨. 高粱大规模 SSR 标记的开发以及应用[D]. 浙江: 浙江师范大学, 2007: 1-8.
- [18] 梁小红. 高粱重要抗性性状的基因定位研究综述[J]. 作物杂志, 2005(3): 7-9.

Research Advances of Mapping the Sorghum's Resistance Genes to Disease and Inset by Molecular Markers

XING Hui-qing, HUANG Sai-nan, ZHANG Yun-he, LI Yue-ying

(Chemistry and Life Science College of Shenyang Normal University, Shenyang, Liaoning 110034)

Abstract: Sorghum, belonging to gramineous crops, is the world's fifth largest food crop. Besides resistances to drought and temperature, sorghum has many other characteristics. The existence and occurrence of some pests and diseases impact on the quality and yield of sorghum seriously. With the rapid development of molecular markers, it is gradually applied to the study of resistance genes to disease and insect in sorghum. In this review, mainly introduced several pests and diseases of sorghum, and analyzed the research progress of molecular markers applying to mapping the resistance genes to head smut and aphid in recent years.

Key words: sorghum; molecular markers; mapping the resistance genes to disease and insect

(上接第 114 页)

总之,教师通过合理安排教学内容、灵活采用多种教学方式、加强实验教学,可以从一定程度上调动学生的学习积极性,使其更好地掌握《家畜育种学》原理、方法和技术的主要内容,实现教学目的,并为后续课程的学习奠定良好的基础。

参考文献:

- [1] 刘榜,朱猛进,赵书红,等.《家畜育种学》课程改革互动教学

模式研究[J]. 高等农业教育, 2003, 8(8): 62-63.

- [2] 刘小林,陈宏,耿社民,等. 动物遗传育种系列课程双螺旋循环教学模式的建立与实践[J]. 西北农林科技大学学报, 2002, 2(2): 89-93.
- [3] 李婉涛,赵金艳,程璞. 动物遗传育种学教学方法改革的再探讨[J]. 郑州牧业工程高等专科学校学报, 2005, 25(4): 293-294.

Analysis on the Teaching Model of 'Animal Breeding' Course

NIU Bu-yue

(Animal Science and Technology College of Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: In order to improve the students' interesting in 'Animal Breeding' course and the teaching quality, the present situation of teaching model on 'Animal Breeding' course was analyzed, the teaching content, teaching model and experiment course teaching reform were discussed and the related proposal were put forward.

Key words: animal breeding; teaching model; suggestion