

网络出版时间:2013-07-18 16:02
网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130718.1602.020.html>

小麦抗麦长管蚜相关基因的差异表达与鉴定分析

王春平^{1,2a,2b},赵惠燕^{2a},朱启迪^{2b},罗 坤^{2a}

(1 河南科技大学 农学院,河南 洛阳 471003;2 旱区作物逆境生物学国家重点实验室/西北农林科技大学
a 植物保护学院,b 农学院 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】筛选小麦抗麦长管蚜基因,以揭示小麦抗蚜虫的分子机制。【方法】利用 mRNA 差异显示反转录 PCR(Differential display reverse transcription PCR,DDRT-PCR)技术,以小麦抗蚜种质 98-10-35、感蚜种质 1376 及其 F₃ 代和 BC₁F₁ 代(98-10-35/1376//1376)为材料,分析了在抗蚜材料与感蚜材料之间差异表达基因的序列及功能。【结果】从 24 对引物组合中,共筛选到 8 对引物可以在 98-10-35/1376 的 F₃ 代抗性群体中扩增出 74 条差异条带,平均每对引物扩增条带数为 9.3,并对其中差异明显的 20 条条带进行了回收、克隆、测序和序列比对分析,其中 1 条在所有抗性样品池中特异表达,将其经电子克隆延长后获得了长度为 2 260 bp 的 cDNA 序列,经 ORF finder 软件翻译后,获得了一个含 642 个氨基酸的蛋白质,将其命名为 TA642,该蛋白与其他植物黏连蛋白质复合体亚基——STAG 域蛋白质高度同源,推测其主要通过参与真核生物的姊妹染色单体黏连作用而影响植物的生理生化代谢。【结论】获得了一些与小麦抗蚜性相关的差异表达基因序列,鉴定的 TA642 蛋白质可能与小麦麦长管蚜抗性分子机理有关。

【关键词】 小麦;麦长管蚜;候选基因;差异表达;同源性分析
【中图分类号】 S435.122⁺.2 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-9387(2013)08-0195-07

Identification and expression of anti-*Sitobion avenae* genes in wheat

WANG Chun-ping^{1,2a,2b},ZHAO Hui-yan^{2a},Zhu Qi-di^{2b},LUO Kun^{2a}

(1 College of Agronomy, Henan University of Science & Technology, Luoyang, Henan 471003, China;
2 State Key Laboratory of Crop Stress Biology in Arid Areas/a College of Plant Protection,
b College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The objective of this paper was to screen wheat genes to resist aphid, *Sitobion avenae* and to reveal the resistance mechanism. 【Method】 Sequences and functions of differential expressed genes between resistant and susceptible population were analyzed by mRNA differential display reverse transcription PCR (DDRT-PCR) with resistant parents of 98-10-35, susceptible parents of 1376, and their F₃ and BC₁F₁ (98-10-35/1376//1376) population. 【Result】 8 pairs specific primers out of 24 were selected were able to amplify 74 fragments with differential resistances. A mean of 9.3 amplification products were detected from above cDNA templates. 20 bands with significant differences were cloned, sequenced and compared. A cDNA sequence with 2 260 bp, encoding 642 amino acids, was obtained and named as TA642. TA642 was highly homologous to proteins in caderin complex subunit-STAG domain of other plants are highly homologous. It was assumed that it would affect physiological and biochemical metabolism by pla-

* [收稿日期] 2013-01-24
[基金项目] 国家“863”计划重大专项(2009AA101102);中德农业合作资助项目(2008/2009(04));河南科技大学人才基金项目(09001595)
[作者简介] 王春平(1969—),女,河南襄城人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事小麦遗传育种、种子工程及统计学在农业上的应用研究。E-mail:wcp@haust.edu.cn
[通信作者] 赵惠燕(1956—),女,河南西平人,教授,博士,博士生导师,主要从事昆虫生态遗传、昆虫生态与害虫综合治理及抗虫育种研究。E-mail:zhaohy@nwsuaf.edu.cn

ying a role in adhesion of sister chromatid in eukaryotes. 【Conclusion】 An expressed sequence tags (ESTs) sequence of wheat resistance gene, namely TA642, was obtained and it would participate in the resistance to *Sitobion avenae*.

Key words: wheat; *Sitobion avenae* F.; candidate genes resistant on aphid; difference expression; homologous analysis

麦长管蚜(*Sitobion avenae* F.)是世界分布范围广泛的害虫,可使小麦产量损失高达 42%^[1-2]。在我国,麦长管蚜一般年份造成减产 15%~30%,严重时可达 60%^[3-5]。因此,选育和推广抗麦长管蚜的小麦品种是提高小麦产量最经济、安全和有效的途径。

为探究小麦抗麦长管蚜的机制,筛选抗蚜基因和抗虫品种,近年来,国内外学者从小麦种质资源对麦长管蚜的抗性进行了深入的研究^[6-19]。在麦长管蚜抗性的分子生物学方面,Stoger 等^[20]将韧皮部特异启动子调控下的 *gna* 导入小麦,发现转基因小麦株系对麦长管蚜有抗性,目的基因表达量高于 0.04% 的植株可以显著降低蚜虫繁殖率。喻修道等^[21]构建了 *cry Ia* 和 *pta* 双元表达载体,通过农杆菌介导法转入小麦,对 2 个转基因小麦株系进行抗虫性鉴定,蚜虫的存活率分别仅为对照的 54% 和 78%。目前应用于小麦抗蚜的基因主要是 *gna* 和 *pta*,抗蚜基因较为单一^[22-24]。同时 Dogimont 等^[25]、Dedryver 等^[26]和 Dangel 等^[27]报道,从植物中获得的 2 个抗蚜基因 *Vat* 和 *Mi-1*,是具有核苷酸结合部位和富亮氨酸拷贝区域(NBS-LRR)的抗性基因家族的成员,其编码的 NBS-LRR 蛋白具有识别蚜虫的特性^[25-28]。在小麦和蚜虫互作的分子机制研究中,祝传书等^[29]研究了小麦品种 98-10-35 在麦二叉蚜取食诱导和未取食诱导间的基因差异表达,获得了一些差异表达基因。王春平等^[30]研究表明,小麦品种 98-10-35 相对于 1376 的抗蚜性是由 1 对显性基因控制的,并将该抗蚜基因初步定位于小麦 7DL 染色体上,命名为 *Sa1*。本研究利用 mRNA 差异显示反转录 PCR (Differential display reverse transcription PCR,DDRT-PCR)技术,以抗蚜小麦种质 98-10-35 和感蚜小麦种质 1376 及其杂交的 F₃ 代和回交后代(BC₁F₁)群体为材料,分析了在小麦抗蚜种质与感蚜种质之间差异表达基因的序列及功能,旨在为揭示小麦抗蚜虫的分子机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为小麦品系 98-10-35、1376 及其

BC₁F₁ (98-10-35/1376//1376)、F₃ 代 (98-10-35/1376) 的抗麦长管蚜群体和高感麦长管蚜群体,其中 98-10-35 为抗蚜种质,1376 为感蚜种质^[8],所有材料均由陕西杨凌西北农林科技大学昆虫生态课题组提供。

1.2 田间试验设计

试验于 2008—2010 年在西北农林科技大学试验农场进行。采用完全随机设计,每个参试品种(系)播种 2 行,3 次重复,行长 1 m,行距 0.24 m,保护行种植 1376(对照)。采用常规的大田管理,整个生育期不喷农药。

1.3 抗蚜性鉴定

在大田自发蚜虫危害条件下,于小麦扬花期至灌浆期采用 10 点取样的方法,确定 10 株调查、记录麦长管蚜的数量,总计调查 4 次。参考 Painter^[31]的分级标准,以蚜情指数(每次某一品种(系)单株蚜虫平均数/所有品种(系)单株蚜虫平均数)作为抗性评价指标。

1.4 RNA 的提取与 cDNA 的合成

在小麦幼苗期,按单株取少量叶片低温冷冻(−70 ℃)保存。利用 Tiangen 公司的 RNAiso™ Plus 试剂盒按照操作说明进行总 RNA 提取。以各样品总 RNA 为模板,采用 PrimerScript™ RT reagent Kit 试剂盒(Takara 公司,大连)逆转录合成 cDNA。根据抗蚜鉴定结果,将 3~5 株样品采用等量混合方法,建立抗蚜亲本、感蚜亲本以及分离 F₃ 和 BC₁F₁ 群体的抗蚜样品池和感蚜样品池,用于 DDRT-PCR 分析。

1.5 DDRT-PCR 分析及差异条带的鉴定、克隆和测序

在前人研究的基础上,以 3 条反转录锚定引物和 8 条随机引物组合成 24 对引物(表 1),对抗蚜亲本、感蚜亲本以及后代的抗蚜植株与感蚜植株的 cDNA 进行 DDRT-PCR 差异扩增。PCR 反应体系为:cDNA 模板 2 μL,10 μmol/L 正、反向引物各 1 μL,10×PCR buffer (含 Mg²⁺) 2 μL,2.5 μmol/L 的 dNTPs 2 μL, *Taq* 酶 0.30 μL (1.5 个单位),ddH₂O 补足至 15 μL。PCR 扩增程序为:94 ℃预

变性 5 min;94 ℃变性 30 s,60 ℃复性 1 min,每 1 个循环降低 1 ℃,72 ℃延伸 1 min,15 个循环;94 ℃变性 30 s,50 ℃复性 1 min,72 ℃延伸 1 min,15 个循环;72 ℃延伸 10 min;4 ℃保存。PCR 产物用 80 g/L 非变性聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳、银染法显色检测。将在抗蚜、感蚜亲本和株系间扩增出差异常条带的引物组合,重复扩增 1 次,对 2 次试验结果表现一致且长度在 100 bp 以上的目标差异条带,用干净刀片切下,置于 100 ℃ddH₂O 中溶解 10~15 min,离心(10 000 r/min 10 min),冷却后取上清液作为模板,进行第 2 次扩增(PCR 反应体系和反应

程序同上),将扩增产物利用 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳分离后,切下与差异条带长度一致的条带,利用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒回收后克隆连接到 pMD 18-T 载体(大连宝生物公司)上,再转染大肠杆菌感受态细胞 DH5 α ,进行蓝白斑筛选,阳性单克隆送大连宝生物公司进行测序,最后将测序结果在 GenBank 非冗余核酸或蛋白质数据库进行比对分析。最终获得了 1 条在所有抗性样品池中特异表达的长度为 308 bp 的 EST 序列,将其命名为 EST308。

表 1 本试验中用于 DDRT-PCR 分析的关键引物
Table 1 Main primers used in DDRT-PCR analysis in this experiment

引物名称 Name of primers	引物序列(5'→3') Sequence base of prime	引物名称 Name of primers	引物序列(5'→3') Sequence base of prime
H-T11A	AAGCTTTTTTTTTTTA	H-AP-4	AAGCTTCTCAACG
H-T11G	AAGCTTTTTTTTTTTTG	H-AP-5	AAGCTTAGTAGG C
H-T11C	AAGCTTTTTTTTTTTTC	H-AP-6	AAGCTTGCACCAT
H-AP-1	AAGCTTGATTGCC	H-AP-7	AAGCTTAACGAGG
H-AP-2	AAGCTTCGACTG T	H-AP-8	AAGCTTTTACCGC
H-AP-3	AAGCTTTGGTCAG		

1.6 差异片段的电子克隆与生物学信息分析

以 EST308 序列为种子序列,在 GenBank 小麦 EST 数据库进行同源检索,对检索结果利用 CAP3 在线拼接软件进行延伸,获得拼接结果 contig1,重复以上步骤,直到不能检索出新的同源序列,最终获得了 EST308 的延伸序列。利用 ORF finder 软件对 EST308 的延伸序列进行翻译,得到了一个蛋白,

并对其生物学信息进行分析。

2 结果与分析

2.1 小麦亲本及其后代抗麦长管蚜特性的鉴定

按照 Painter^[31]的分级标准,在均匀一致的大田试验环境下,采用田间自然感蚜,鉴定小麦的抗蚜性,结果见表 2。

表 2 小麦亲本及其后代抗麦长管蚜特性的评价
Table 2 Resistance evaluation of wheat parent or population to *S. avenae*

材料 Materials	鉴定植株数 Plants tested	抗性或感性(植株数) Plants of resistant or susceptible-wheat aphid	蚜情指数 Aphid index	抗性级别 Resistance scales
98-10-35	16	中抗 Moderately resistant (16)	0.465±0.092	MR
1376	16	高感 Highly susceptible (16)	3.504±0.056	HS
BC ₁ F ₁	16	中抗 Moderately resistant (8)	0.481±0.096	MR
		高感 Highly susceptible (8)	1.519±0.102	HS
F ₃	71	中抗 Moderately resistant (56)	0.428±0.074	MR
		高感 Highly susceptible (15)	2.014±0.275	HS

注:MR. 中抗麦长管蚜;HS. 高感麦长管蚜。
Note:MR. Moderate resistant to *S. avenae*; HS. Highly susceptible to *S. avenae*.

从表 2 可以看出,随机鉴定的 16 株 1376 均表现为高感,蚜情指数为 3.504;16 株 98-10-35 均表现为中抗,蚜情指数为 0.465;而 BC₁F₁ 呈 1:1 分离;鉴定的 71 株 F₃ 代株系中,56 株表现为中抗,15 株表现高感,接近 3:1 的分离比率。并且 98-10-35、1376、F₃ 代和 BC₁F₁ 后代之间的蚜情指数差异较大,可进一步用于基因差异分析。

2.2 小麦 RNA 提取质量和反转录第一链 cDNA 质量的检测

取 1 μ L 各植株总 RNA,在 15 g/L 的琼脂糖凝胶上进行电泳检测,结果(图 1A)表明,提取的小麦总 RNA 样品的 28S、18S、5S rRNA 条带清晰,说明总 RNA 纯度较高,完整性较好,以其为模版进行反转录获得 cDNA 第一链,条带清晰明亮(图 1B),可满足后续 DDRT-PCR 反应对模板的要求。

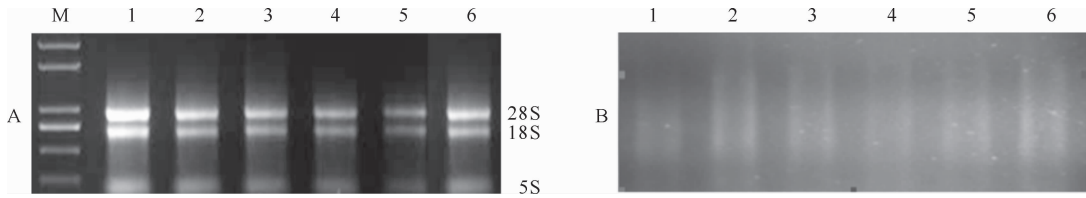


图 1 小麦 RNA (A)和反转录第一链 cDNA (B)的检测结果

M. DNA 分子量标准;1~6. 分别是抗麦长管蚜亲本 98-10-35,感麦长管蚜亲本 1376,BC₁F₁ 抗、感麦长管蚜植株,F₃ 抗、感麦长管蚜植株

Fig. 1 Detection of total RNA (A) and the first-strand cDNA (B) in wheat

M. DNA Marker;1-6. Resistant parent 98-10-35 to *S. avenae*,susceptible parent 1376 to *S. avenae*,resistant plants and susceptible plants of BC₁F₁ population and F₃ population to *S. avenae*

2.3 抗麦长管蚜候选基因的差异表达分析

利用 3 条锚定引物和 8 条随机引物组成 24 对引物组合,筛选后得到 8 对特异性引物组合,其均

能在亲本 98-10-35、1376 及其 F₃ 代抗蚜、感蚜植株中扩增出明显的差异性条带,扩增出的差异条带统计结果如表 3 所示。

表 3 抗麦长管蚜候选基因在不同小麦亲本及其后代中差异片段的扩增结果

Table 3 Differential fragments of candidate genes in different parents and the progenies plants of wheat

引物 Primer	亲本中扩增条带数 No. of amplified cDNA	差异条带数 No. of differentially expressed bands		
		F ₃ 抗性样品池 F ₃ resistance	98-10-35	1376
H-T11A+H-AP-1	30	12	9	9
H-T11A+H-AP-2	32	11	9	0
H-T11A+H-AP-4	30	13	15	6
H-T11G+H-AP-2	30	13	8	2
H-T11G+H-AP-4	20	3	2	1
H-T11C+H-AP-2	25	6	9	0
H-T11C+H-AP-5	10	5	1	0
H-T11C+H-AP-7	25	11	9	11
总计 Total	202	74	62	29
平均 Mean	25.3	9.3	7.8	3.6

由表 3 可以看出,8 对引物在亲本 98-10-35、1376 及其 F₃ 代抗性样品池中的总扩增条带数为 202,平均每对引物扩增条带数为 25.3;在 F₃ 代中扩增出的抗性差异条带数为 74,平均每对引物扩增条带数为 9.3。将 F₃ 代和抗性亲本 98-10-35 的差异表达片段经配对 *t* 测验, $P=0.9158$,差异不显著,说明 F₃ 代与抗性亲本 98-10-35 的变异一致;F₃ 代与其亲本 98-10-35、1376 在不同的引物之间扩增出的产物存在差异,出现了仅在 F₃ 代表达的基因产物。

对在抗蚜样品池(亲本 98-10-35、BC₁F₁ 群体抗蚜样品和 F₃ 代抗蚜样品池)以及感蚜样品池间具有明显差异的 20 条条带进行第 2 次扩增后,将能够重复出现的差异条带进行切胶回收、克隆测序,对测序获得的在抗、感植株间表现差异的 20 条 EST 序列进行比较,发现其中 1 条在所有抗性样品池中特异表达的 长度为 308 bp 的 EST 序列,将其命名为 EST308。候选抗麦长管蚜基因在不同抗性亲本、BC₁F₁ 及 F₃ 代的扩增结果如图 2 所示。

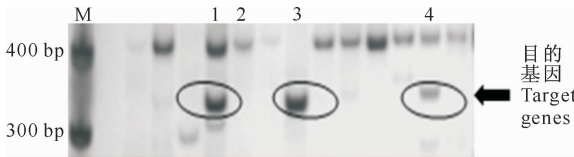


图 2 抗麦长管蚜目的基因在不同抗性小麦亲本及其后代中的差异表达检测

1~4. 分别为 F₃ 抗麦长管蚜植株、感麦长管蚜亲本 1376、抗麦长管蚜亲本 98-10-35 以及 BC₁F₁ 抗麦长管蚜植株;M. DNA 分子量标准

Fig. 2 Detection of differential expression of resistance genes in different parents and the progenies plants of wheat

1-4. F₃ resistant plants to *S. avenae*,susceptible parent 1376 to *S. avenae*,resistant parent 98-10-35 and BC₁F₁ resistant plants to *S. avenae*;M. DNA Marker

2.4 差异片段的生物学信息分析

对 EST308 进行电子拼接获得一个最终长度为 2 260 bp 的延伸片段,该延伸产物与小麦非冗余核酸序列库中 2 条来自中国春小麦品种的已知序列(AK335746 和 AK335746.1)分别具有 99%和 98%的相似性,表明新克隆的序列与其部分碱基有差异,

这种差异可能是品种间的基因多态性所致。利用 ORF finder 软件对新克隆序列进行翻译后,获得了一个含有 642 个氨基酸的蛋白质,将其暂命名为 TA642。

通过 BLAST 工具检索 GenBank 非冗余蛋白质数据库,获得了一些与 TA642 相似性较高的同源蛋白质(表 4),这些同源蛋白质应归属于相应物种的黏连蛋白质复合体亚基——STAG 域蛋白,推测 TA642 主要在真核生物的姊妹染色单体黏连中起作用。TA642 与 Paterson^[32]等报导的高粱抗旱蛋白质 SORBIDRAFT_05g025690(序列登录号:XP_002451197.1)的相似性为 76%;与水稻假定蛋白质 OsJ_17396(其参与氧化还原酶的代谢过程,登录号:

EEE62593.1)的相似性为 81%;与葡萄假定蛋白质(其参与了天门冬酰胺合成酶的合成,登录号:XP_002270509.2)的相似性为 57%,Velasco 等^[33]研究表明,天门冬酰胺合成酶与葡萄品种的品质、次生代谢物和病原菌的侵染过程密切相关,与毛果杨预测蛋白(登录号:XP_002301633.1)的相似性为 52%,而 Tuskan 等^[34]报道该预测蛋白参与了木质部的合成以及分生组织的生长、抗病性及代谢;与 2 种蓖麻假定的基质抗原(登录号:XP_002520706.1 和 XP_002532143.1)的相似性分别为 66%和 48%。因此,根据对同源蛋白质功能的检索,推测克隆的新蛋白质 TA642 有一定的生物抗性,可能与小麦抗蚜机理有关,但还需要进一步验证。

表 4 GenBank 非冗余蛋白质数据库中 与 TA642 序列相似性较高的同源蛋白质的检索结果 (2013-01-01)
Table 4 Search results of the new protein TA642 in non-redundant protein database in GenBank (2013-01-01)

登录号 Accession number	同源蛋白 Putative protein	生物 Organism	期望值 E-value	序列相似性/% Sequence identities
XP_002451197.1	SORBIDRAFT_05g025690	高粱 <i>Sorghum bicolor</i>	0	76
EEE62593.1	OsJ_17396	水稻 <i>Oryza sativa</i>	0	81
XP_002270509.2	假定蛋白 Hypothetical protein	葡萄 <i>Vitis viniferas</i>	0	57
XP_002301633.1	预测蛋白 Predicted protein	毛果杨 <i>Populus trichocarpa</i>	9e ⁻¹⁸⁰	52
XP_002520706.1	假定的基质抗原 Stromal antigen, putative	蓖麻 <i>Ricinus communis</i>	8e ⁻³⁴	66
XP_002532143.1	假定的基质抗原 Stromal antigen, putative	蓖麻 <i>Ricinus communis</i>	6e ⁻¹⁵⁴	48

3 讨 论

DDRT-PCR 技术是将 RNA 的反转录(RT)和 cDNA 的聚合酶链式扩增(PCR)相结合的 cDNA 差异显示技术。该技术灵敏度高且用途广泛,已成功应用于植物的抗逆、抗病性以及植物与真菌互作的有关基因表达等方面^[35-37]。本研究利用 DDRT-PCR 技术从 RNA 水平探索小麦抗蚜育种过程中目的基因的表达差异,分析不同引物在小麦亲本 98-10-35 和 1376 及其 F₃ 代群体中总扩增条带的差异,结果发现,平均每对引物扩增条带数为 25.3,总差异条带数为 202。前人的研究都是针对具有差异条带的候选基因全部进行分析^[37-38],而本研究通过对小麦抗性亲本、F₃ 抗性后代和 BC₁F₁ 抗性后代的比较,从三者共有的候选基因中选择目的基因,使得候选基因数目减少,对目的基因的选择更具针对性,为减少试验的盲目性提供了一种新方法。

本研究对差异片段 EST308 延伸序列的生物信息学进行了分析,结果可知获得的 TA642 蛋白可能主要在真核生物的姊妹染色单体黏连中起作用^[39-40],具有一定的生物抗性。关于其具体功能还需进一步研究。

[参考文献]

[1] George K, Gair R. Crop loss assessment on winter wheat attacked by the grain aphid, *Sitobion avenae* (F.), 1974-77 [J]. Plant Pathology, 1979, 8(3): 143-149.

[2] Razmjou J, Ramazani S, Naseri B, et al. Resistance and susceptibility of various wheat varieties to *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae) in Iran [J]. Appl Entomol Zool, 2011, 46: 455-461.

[3] 张跃进, 王建强, 姜玉英, 等. 2007 年全国农作物重大病虫害发生趋势预测 [J]. 中国植保导刊, 2007, 27(2): 32-35.
Zhang Y J, Wang J Q, Jiang Y Y, et al. Occurring trends of major crop pests in national significances in 2007 [J]. China Plant Protection, 2007, 27(2): 32-35. (in Chinese)

[4] 张跃进, 王建强, 姜玉英, 等. 2008 年全国农作物重大病虫害发生趋势预测 [J]. 中国植保导刊, 2008, 28(3): 38-40.
Zhang Y J, Wang J Q, Jiang Y Y, et al. Occurring trends of major crop pests in national significances in 2008 [J]. China Plant Protection, 2008, 28(3): 38-40. (in Chinese)

[5] 张跃进, 姜玉英, 冯晓东, 等. 2009 年全国农作物重大病虫害发生趋势预测 [J]. 中国植保导刊, 2009, 29(3): 33-35.
Zhang Y J, Jiang Y Y, Feng X D, et al. Occurring trends of major crop pests in national significances in 2009 [J]. China Plant Protection, 2009, 29(3): 33-35. (in Chinese)

[6] 蔡青年, 张青文, 高希武, 等. 小麦体内次生物质对麦蚜的抗性作用研究 [J]. 中国农业科学, 2003, 36(8): 910-915.
Cai Q N, Zhang Q W, Gao X W, et al. Effect s of the secondary

- substance s on wheat resistance to *Sitobion avenae* (F.) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(8): 910-915. (in Chinese)
- [7] 段灿星, 王晓鸣, 朱振东. 小麦种质对麦长管蚜的抗性鉴定与评价 [J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(3): 297-300.
- Duan C X, Wang X M, Zhu Z D. Screening and evaluation of wheat germplasm for resistance to the aphid (*Sitobion avenae*) [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2006, 7(3): 297-300. (in Chinese)
- [8] 杜利锋, 赵惠燕, 袁 锋, 等. 小麦抗蚜品种(系)或材料的抗性遗传测定及筛选 [J]. 西北植物学报, 1999, 19(6): 68-73.
- Du L F, Zhao H Y, Yuan F, et al. Resistance to aphid determining and screening in wheat species (lines) or sources [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 1999, 19(6): 68-73. (in Chinese)
- [9] 胡想顺, 赵惠燕, 胡祖庆, 等. 麦二叉蚜在 10 个小麦品种(系)室内苗期生物学反应及抗性分析 [J]. 植物保护, 2007, 33(4): 38-42.
- Hu X S, Zhao H Y, Hu Z Q, et al. Biological parameters of greenbugs feeding on the seedlings of 10 wheat varieties and resistance analysis [J]. Plant Protection, 2007, 33(4): 38-42. (in Chinese)
- [10] 胡想顺, 赵惠燕, 胡祖庆, 等. 麦长管蚜在 3 个小麦品种上取食行为的 EPG 比较 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(7): 1989-1994.
- Hu X S, Zhao H Y, Hu Z Q, et al. EPG Comparison of *Sitobion avenae* (Fab.) feeding behaviors on three wheat varieties [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(7): 1989-1994. (in Chinese)
- [11] 李贤庆, 郭线茹, 李克斌, 等. 不同小麦品种(系)对麦长管蚜的抗性 [J]. 昆虫学报, 2006, 49(6): 963-968.
- Li X Q, Guo X R, Li K B, et al. Resistance of wheat varieties (lines) to *Sitobion miscanthi* (Takahashi) (Aphidoidea: Aphididae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2006, 49(6): 963-968. (in Chinese)
- [12] 刘新伦, 王亚娟, 桑利群, 等. 小麦种质资源的抗蚜性及其与表型性状的关系 [J]. 麦类作物学报, 2006, 26(6): 24-28.
- Liu X L, Wang Y J, Sang L Q, et al. Relationship between morphological characters of wheat germplasm and their resistance to *Sitobion avenae* (F.) [J]. Journal of Triticeae Crops, 2006, 26(6): 24-28. (in Chinese)
- [13] 桂佳英, 尚勋武, 王化俊, 等. 春小麦种质对麦长管蚜的抗蚜性鉴定 [J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 2008, 44(5): 40-43.
- Shi G Y, Shang X W, Wang H J, et al. Screen the resistance to aphid of spring wheat germplasm [J]. Journal of Lanzhou University: Natural Science, 2008, 44(5): 40-43. (in Chinese)
- [14] 王春平, 罗 坤, 朱启迪, 等. 基于 GIS 小麦种质资源对麦长管蚜的抗性分析 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2011, 39(4): 41-47.
- Wang C P, Luo K, Zhu Q D, et al. Analysis on resistance of wheat germplasms by GIS to *Sitobion avenae* F. [J]. Journal of Northwest A&F University: Nature Science Edition, 2011, 39(4): 41-47. (in Chinese)
- [15] 王春平, 罗 坤, 赵惠燕, 等. 14 份小麦种质资源抗麦长管蚜遗传多样性的 SSR 分析 [J]. 核农学报, 2011, 25(4): 639-644.
- Wang C P, Lun K, Zhao H Y, et al. Genetic diversity of wheat germplasm resistance to the aphid (*Sitobion avenae* F.) by SSR markers [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2011, 25(4): 639-644. (in Chinese)
- [16] 王美芳, 杨会民, 刘进前, 等. 黄淮冬麦区小麦品种抗蚜性鉴定及蚜虫对小麦产量和品质的影响 [J]. 河南农业科学, 2010(4): 16-20.
- Wang M F, Yang H M, Liu J Q, et al. Effect of aphid damage on wheat yield and quality in Yellow and Huai Valleys Winter Wheat Region [J]. Journal of Henan Agricultural Science, 2010(4): 16-20. (in Chinese)
- [17] 于 洋, 庞保平, 高书晶, 等. 春小麦品种对麦长管蚜生长发育和繁殖的影响 [J]. 应用生态学报, 2006, 17(2): 354-356.
- Yu Y, Pang B P, Gao S J, et al. Effect of spring wheat varieties on growth, development and fecundity of *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: Aphididae) [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(2): 354-356. (in Chinese)
- [18] 赵惠燕, 李东鸿, 张改生, 等. XZ 系列杂种小麦对麦长管蚜抗性机制的研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2002, 30(1): 73-75.
- Zhao H Y, Li D H, Zhang G S, et al. The study on the resistance of hybrid wheat varieties XZ and its series to *Macrosiphum avenae* [J]. Journal of Northwest A&F University: Nature Science Edition, 2002, 30(1): 73-75. (in Chinese)
- [19] Kerzicnik L M, Peairs F B, Harwood J D. Implications of russian wheat aphid, *Diuraphis noxia*, falling rates for biological control in resistant and susceptible winter wheat [J]. Arthropod-Plant Interactions, 2010, 4(2): 129-138.
- [20] Stoger E, Williams S, Keen D, et al. Constitutive versus seed specific expression in transgenic wheat; Temporal and spatial control [J]. Transgenic Research, 1999, 8(2): 73-82.
- [21] 喻修道, 徐兆师, 陈 明, 等. 小麦转基因技术研究及其应用 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(8): 1539-1553.
- Yu X D, Xu Z S, Chen M, et al. The progress and application of wheat transformation technology [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(8): 1539-1553. (in Chinese)
- [22] 徐琼芳, 田 芳, 陈 孝, 等. 转基因抗虫小麦中 *sgna* 基因的遗传分析及抗虫性鉴定 [J]. 作物学报, 2004, 30(5): 475-480.
- Xu Q F, Tian F, Chen X, et al. Inheritance of *sgna* gene and insect 2 resistant activity in transgenic wheat [J]. Acta Agonomica Sinica, 2004, 30(5): 475-480. (in Chinese)
- [23] 徐琼芳, 李连城, 陈 孝, 等. 基因枪法获得 GNA 转基因小麦植株的研究 [J]. 中国农业科学, 2001, 34(1): 5-8.
- Xu Q F, Li L C, Chen X, et al. Study on the obtaining of transgenic wheats with GNA alien gene by biolistic particle [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2001, 34(1): 5-8. (in Chinese)
- [24] 梁 辉, 朱银峰, 朱 祯, 等. 雪花莲凝集素基因转化小麦及转基因小麦抗蚜性的研究 [J]. 遗传学报, 2004, 31(2): 189-194.
- Liang H, Zhu Y F, Zhu Z, et al. Obtainment of transgenic

- wheat with the insecticidal lectin from snowdrop (*Galanthus nivalis* agglutinin, GNA) gene and analysis of resistance to aphid [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(2): 189-194. (in Chinese)
- [25] Dogimont C, Bendahmane A, Chovelon V, et al. Host plant resistance to aphids in cultivated crops: Genetic and molecular bases, and interactions with aphid populations [J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2010, 333(6/7): 566-573.
- [26] Dedryver CA, Le Ralec A, Fabre F. The conflicting relationships between aphids and men: A review of aphid damage and control strategies [J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2010, 333(6/7): 539-553.
- [27] Dangl J L, Jones J D G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection [J]. *Nature*, 2001, 411(6839): 826-833.
- [28] Cevik V, King G. High-resolution genetic analysis of the Sd-1 aphid resistance locus in *Malus* spp [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 105(2): 346-354.
- [29] 祝传书, 赵惠燕. 诱导处理小麦对蚜虫生长发育的影响及小麦特异基因的表达 [J]. *应用生态学报*, 2006, 17(4): 668-672.
- Zhu C S, Zhao H Y. Effects of elicitors on aphid growth and development and on specific genes expression in wheat [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(4): 668-672. (in Chinese)
- [30] 王春平, 赵惠燕, 张改生, 等. 小麦抗麦长管蚜基因 *Sa1* 的基因定位 [C]//中国作物学会 50 周年庆祝会暨 2011 年学术年会论文集. 四川成都: 中国作物学会, 2011.
- Wang C P, Zhao H Y, Zhang G S, et al. Location of *Sa1* genes for resistance to wheat aphid [C]//The 50 anniversary celebration of Chengdu, Sichuan Province. Chengdu, Sichuan: The Crop Science Society of China. (in Chinese)
- [31] Painter R H. Resistance of plants to insects [J]. *Ann Rev Entomol*, 1958, 3: 267-290.
- [32] Paterson A H, Bowers J E, Bruggmann R, et al. The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses [J]. *Nature*, 2009, 457(7229): 551-556.
- [33] Velasco R, Zharkikh A, Troggio M, et al. A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety [J]. *Plos One*, 2007, 2(12): 1326.
- [34] Tuskan GA, Difazio S, Jansson S, et al. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray) [J]. *Science*, 2006, 313(5793): 1596.
- [35] 熊勇华, 许 杨. 基因表达的系列分析方法研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2002, 18(3): 377-380.
- Xiong Y H, Xu Y. Technological advances of serial analysis of gene expression [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2002, 18(3): 377-380. (in Chinese)
- [36] Delp G, Gradin T, Hman I, et al. Microarray analysis of the interaction between the aphid *Rhopalosiphum padi* and host plants reveals both differences and similarities between susceptible and partially resistant barley lines [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2009, 281(3): 233-248.
- [37] 陈永华, 赵 森, 严钦泉, 等. 利用差异显示法研究水稻耐淹涝相关基因 [J]. *农业生物技术学报*, 2006, 14(6): 894-898.
- Chen Y H, Zhao S, Yan Q Q, et al. Studies on genes related to submergence tolerant using differential display technique in rice [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2006, 14(6): 894-898. (in Chinese)
- [38] Botha A M, Lacock L, Niekerk C, et al. Is photosynthetic transcriptional regulation in *Triticum aestivum* L. cv. 'TugelaDN' a contributing factor for tolerance to *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) [J]. *Plant Cell Reports*, 2006, 25(1): 41-54.
- [39] Botha A M, Li Y, Lapitan N L V. Cereal host interactions with Russian wheat aphid: A review [J]. *Journal of Plant Interactions*, 2006, 1: 211-222.
- [40] Botha W J, Jaftha J B, Bloem J F, et al. Effect of soil bradyrhizobia on the success of soybean inoculant strain CB 1809 [J]. *Microbiological Research*, 2004, 159(3): 219-231.