

玉米染色体片段代换系对瘤黑粉病的抗性研究

吕爱枝¹, 王立秋², 曹熙敏¹, 张晓光¹

(¹河北北方学院农业科学系, 宣化 075131; ²张家口职业技术学院, 张家口 075000)

摘要:玉米瘤黑粉病能造成玉米严重减产, 抗性系的选育对于减少病害具有重要价值。本研究在拔节期采用注射法接种瘤黑粉孢子, 对第三染色体的 8 个染色体片段代换系进行抗性研究。结果表明, 8 个染色体片段代换系被代换的供体片段位点不同, 抗瘤黑粉病表型有 4 种变异。其中, chr3-7 系发病率、病级和病情指数均为 0, 表现高抗。与其他染色体片段代换系、Z3 受体亲本及 HB522 供体亲本相比, chr3-7 系产量高, 接种瘤黑粉孢子与对照产量差异不显著。chr3-7 系对于抗瘤黑粉病遗传研究和育种具有重要意义。

关键词:玉米; 瘤黑粉病; 抗性评价; 产量

Influence of common smut and anti-tumor screening of substitution lines

¹LV Ai-zhi, ²WANG Li-qiu, ¹CAO Xi-min, ¹ZHANG Xiao-guang

(¹Hebei North University, Xuanhua 075131; ²Zhangjiakou Vocation and Technical College, Xuanhua 075000)

Abstract: Common smut in maize reduces grain yield greatly. lines play an important role to minimize the losses caused by common smut. At the elongation stage, *Ustilago maydis* fungus was injected into 8 maize chromosome segment introgress lines (CSILs). Eight CSILs have different chromosome segments of donor maize HB522 respectively. There are four kinds of varieties in eight CSILs. is highly resist to common smut. Chr3-7's grain yield is highest among other seven CSILs and two parents. chr3-7 is good SSILs for Resistance to common smut study and resistance breeding.

Key words: Maize; Common smut; Resistance assessment; Yield

玉米瘤黑粉病 [*Ustilago maydis* (D. C.) Corda Unger] 是由玉米黑粉菌 (*Ustilago maydis*) 侵染所致, 病菌通过侵染玉米幼苗、叶片、茎节、腋芽、雌穗、雄穗和根的幼嫩分生组织, 产生大小不等的病瘤, 导致玉米严重减产。玉米瘤黑粉病是世界玉米产区的重要病害, 发病极为普遍。一般减产 2% 以下, 发病严重可减产 15% 以上^[1-3]。2000 年该病在我国巴林左旗中北部大流行, 发生面积达 1.3 万 hm^2 , 田间发病率平均 20%, 严重地块达 100% (5333 hm^2)^[4]。玉米瘤黑粉病在我国东北、华北、西北、华东等地区春玉米区和夏玉米区普遍发生^[5-7]。随着玉米连作年限增加, 发生呈上升趋势。针对玉米瘤黑粉病采取的消除病原、化学防治、加强

栽培管理等措施, 虽然有一定的防治效果, 但往往比较费时费力^[8,9], 而抗病品种的选育、鉴定和利用成为控制病害的有效措施^[10]。我国玉米育种工作者近年来针对当前主要种植品种、国家重点推广品种、国家及地方审定品种的抗病性鉴定开展了不少研究, 也鉴定出不少抗病的品种用于大面积推广种植^[11-13]; 同时也鉴定出一些抗病的骨干自交系, 并被用于实际育种。对抗玉米瘤黑粉病发挥了巨大作用。玉米抗瘤黑粉病遗传基础探究, 对于抗瘤黑粉病玉米新种质的创建与抗病品种的选育和利用具有重要意义。

生理学家和遗传育种家认为植物的抗病性状分为质量性状和数量性状。质量抗性受单基因控制,

收稿日期: 2010-11-29 修回日期: 2011-04-02

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (C2010001434); 张家口科技攻关项目 (0811038C)

作者简介: 吕爱枝, 在读博士, 副教授, 主要从事遗传学和分子生物学教学及作物育种研究工作。E-mail: Aizhi_l@yahoo.com.cn

王立秋为共同第一作者

容易进行研究。数量抗性受寡基因或多基因控制。数量性状易受环境条件的影响,对主效基因位点、数量、基因间互作、基因与环境的互作机制的揭示比较困难。在玉米中,大多数的抗病性状是数量性状^[14]。玉米瘤黑粉病抗性受寡基因控制^[15],研究者把它作为数量性状进行研究^[16-18]。T. Lubberstedt等^[19]利用4个骨干自交系构建的4个独立Fn系群体和RFLP标记进行了玉米抗瘤黑粉QTL定位,发掘了19个不同的QTL分布在全部10条染色体上。其中有5个QTL在第3染色体上,1个位于3.05bin,2个位于3.06bin,2个位于3.08bin。Ding等^[19]利用重组自交系和246个具多态性的SSR标记进行了玉米抗瘤黑粉QTL定位,发掘了6个QTL分布在3、5、8染色体上。其中在第3染色体上发现了3个QTL。在第3染色体上发现的QTL比较多。染色体片段代换系QTL鉴定、精细定位、图位克隆、互作分析和品种改良等的理想材料^[20]。本研究以骨干自交系综3(Z3)为受体,衡白(HB)为供体构建的染色体片段代换系(CSILs)为材料^[21],进行抗瘤黑粉病鉴定,为开展抗玉米瘤黑粉病基因的精细定位,以及分子标记辅助育种和种质资源创新奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及田间试验设计

试验材料:以骨干自交系综3(Z3)为受体,衡白522(HB522)为供体构建的染色体片段代换系(chromosome segment introgress lines, CSILs)8个及综3亲本,由华中农业大学提供。

田间试验设计:2008年4月20号整理上述56个材料。4月30日播种于河北北方学院农场,单行区,行长3m、行距60cm、株距30cm。随机试验设计,设一个处理组,一个为对照组,分隔种植。底施磷酸二铵40kg/667m²。拔节期及大喇叭口期各追肥1次,总肥量25kg/667m²。拔节期及开花期各浇水1次。

1.2 导入系的遗传结构评价

选取位于玉米第三染色体上在供体与受体亲本间具有差异的200个SSR标记对各染色体片段系的遗传背景进行全基因组扫描,选择位于第三染色体上的18个SSR标记(遗传距离范围-1.1~827.4),评价各染色体片段系中被代换的供体染色体片段。玉米叶片DNA提取采用改进的CTAB法^[22]。SSR分析的反应体系为:10×buffer 2μl,模

板DNA 6μl,甘油 2μl,5U/μl Taq 酶 0.15μl,2.5 mmol/L dNTP 0.7μl,5 μmol/L 引物 1.2μl,用DNase-free ddH₂O补足20μl。PCR产物于6%聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

1.3 瘤黑粉菌的室内培养和接种技术研究

试验材料:玉米黑粉菌(*Ustilago maydis*) a1和a2菌株,由华中农业大学提供。

瘤黑粉菌孢子悬浮液的制备参照Ding等^[18]方法。拔节期,取孢子悬浮液2ml(孢子悬浮液浓度为10⁸r/mL)滴注到心叶部位。

1.4 田间玉米瘤黑粉病发生情况调查

接种4周后,玉米营养器官及生殖器官出现病苞,进行田间调查。调查56个代换系发病株数,计算发病率,进一步调查根、茎、叶、雌穗及雄穗的发病情况,确定发病等级。

1.5 瘤黑粉病对玉米产量的影响研究

玉米成熟期分别收获处理组及对照组。进一步确定处理组雌穗的发病穗数。然后对处理组和对照组分别脱粒,计算小区产量。

1.6 数据处理及抗病株系的确定

(1)发病率(DI, Disease Incidence):发病(株)率(%) = 发病株数/调查总株数

(2)发病程度:用病情指数衡量。

病情指数(%) = $\sum(a\delta/NK) \times 100$,其中:a为感病植株数量,δ为感病等级,N为统计的植株总数,K为统计的最高发病等级。病级划分参考АнЮРку等^[6]方法。

(3)抗性评价 为依据Грисенко等^[6]依据植物病情指数确定具体植物抗性等级。HR发病率与抗性评价标准对应如下:>30%:HS;15.1%~30%:S;10.1%~15%:MR;2.1%~10%:R;≤2%。

2 结果与分析

2.1 染色体片段代换系抗瘤黑粉病表型变异

8个染色体片段代换系和Z3亲本被接种瘤黑粉病菌孢子4周后,症状表现稳定,即调查植株瘤黑粉病发病情况。Z3受体亲本雌穗部发病严重,86%的植株雌穗顶部出现4cm×3cm或3cm×2cm及以下面积的病瘤,数量最多12个,最少1个。HB522供体亲本和染色体片段代换系chr3-7均未发病。染色体片段代换系chr3-8和chr3-2分别有64%和40%植株雌穗部均有病瘤发生,病瘤最大面积10cm×10cm。染色体片段代换系chr3-3、chr3-4和chr3-5的雌穗部均有病瘤发生,病瘤最大面积

4cm×4cm,病瘤数5个左右,比chr3-8和chr3-2少。发病较轻的为chr3-1和chr3-6,雌穗顶有4cm×2cm或3cm×2cm及以下等1~2个病瘤出现。结果表明,8个染色体片段代换系间及其与供、受体亲本间瘤黑粉病发病程度存在显著差异,说明它们的抗病性存在差异。

2.2 染色体片段代换系对瘤黑粉病抗性的鉴定

8个染色体片段代换系、Z3受体亲本及HB522供体亲本对瘤黑粉病抗性差异显著(表2)。植株发病率的变动范围为0~86%,其中HB522和chr3-7发病率为0,Z3发病率最高。病级的变动范围为0~6级,其中Z3病级最高,HB522和chr3-7最低。病情指数的变动范围为0~85.71,其中Z3的病情指数最高,HB522和chr3-7最低。研究表明,8个染色体片段代换系中,HB522和chr3-7表现为高抗;chr3-1表现为中抗;chr3-6表现为感病;chr3-2、chr3-3、chr3-4、chr3-5表现为高感。本试验中Z3表现高感,且穗部感病严重,衡白522表现高抗。chr3-7为抗性较好的系。

表2 染色体片段代换系对瘤黑粉病抗性

Table 2 CSILs resistance to *Ustilago maydis*

CSILs	发病率 Disease Incidence	病级 Disease class	病情指数 disease index	抗性评价 Resistance assessment
Z3(CK)受体	0.86	6.00	85.71	HS
HB522(CK)供体	0.00	0.00	0.00	HR
chr3-1	0.11	2.00	3.70	MR
chr3-2	0.40	4.00	26.67	HS
chr3-3	0.40	2.00	13.33	HS
chr3-4	0.50	2.00	16.67	HS
chr3-5	0.43	2.00	14.29	HS
chr3-6	0.29	2.00	9.52	S
chr3-7	0.00	0.00	0.00	HR
chr3-8	0.64	3.00	31.82	HS

2.3 瘤黑粉病对小区产量的影响

玉米成熟期分别收获处理组及对照组,对处理组和对对照组分别脱粒,考察小区产量(表3)。除chr3-7外,7个染色体片段代换系及Z3处理组与对照组相比,产量下降了115.00~1041.53g,占20.72%~48.60%,两者差异显著。其中chr3-8接种瘤黑粉菌后产量下降幅度最大;其次为chr3-2,产量下降了878.00g,占47.08%。HB522供体亲本和高抗系chr3-7处理和对照产量无显著变

化。chr3-7产量超过两亲本及其他系,表现最高为2193.75g。

表3 接种瘤黑粉菌染色体片段代换系的小区产量

Table 3 yield of CSILs inoculated *Ustilago maydis*

CSILs	处理(g) Treatment	CK(g)	降幅(%) Descender extent
Z3(受体)	867.00	1212.5	28.49
HB522(供体)	816.45	851.55	4.12
chr3-1	440.00	555	20.72
chr3-2	987.00	1865	47.08
chr3-3	657.50	1305	49.62
chr3-4	990.00	1485	33.33
chr3-5	1151.25	1410	18.35
chr3-6	957.86	1550	38.20
chr3-7	2211.43	2193.75	-0.81
chr3-8	1101.67	2143.2	48.60

2.4 染色体片段代换系的遗传结构

通过位于第3染色体上18个SSR标记对8个染色体片段代换系的遗传结构分析发现,每一个ILs中均含有一到多个供体亲本的基因组片段。除chr3-4和chr3-5在bnlg1447标记处有相同的供体片段外,其余各系均含有不同的供体片段。不同的IL系中所含有的供体片段数目不同,chr3-5系含3个供体片段,chr3-4和chr3-2系各含2个供体片段,其余5个系各含一个供体片段。通过除上述18个SSR标记外的其余182个SSR标记对8个染色体片段代换系的受体遗传背景进行检测,均恢复为受体。chr3-7系只在phi046位点及附近被替换为供体染色体片段,导致对瘤黑粉病抗性增强。结果表明,8个染色体片段代换系遗传结构不同,因此抗病性有显著差异。

表4 染色体片段代换系的遗传结构

Table 4 hereditary constitution of CSILs

CSILs	供体染色体区段位置 Locus of chromosome segment of donor		
chr3-1	phi049		
chr3-2	bnlg1325	(nc030)	
chr3-3	bnlg1647		
chr3-4	umc2369	bnlg1447	
chr3-5	bnlg1447	umc1012	phi036
chr3-6	umc1644		
chr3-7	phi046		
chr3-8	umc1010		

3 结论与讨论

染色体片段代换系常被用于作为遗传研究和育种的重要材料。本研究以骨干自交系 Z3 为受体, 衡白 522 为供体构建染色体片段代换系为材料, 通过对 8 个 CSILs 前景和背景进行 SSR 分子标记分析, 它们均为第 3 染色体代换系, 有 5 个系为是单片段代换系, 其余 3 个系含有 2~3 个供体染色体片段。通过对 8 个遗传结构不同的染色体片段代换系筛选, 期望获得极端抗瘤黑粉病的育种新材料, 并揭示其抗性实质。

在玉米生长阶段, 通过人工接种瘤黑粉菌的方法能够获得稳定的表型用于遗传评价^[19]。目前国内玉米抗瘤黑粉病的田间鉴定接种方法为孢子注射法^[23-24]。本研究在拔节期采用心叶注射接种瘤黑粉菌, 通过玉米幼嫩组织器官侵入植株。试验区植株发病均匀。

本试验中 HB522 为高抗供体亲本, Z3 受体亲本穗部高感瘤黑粉病, 两者差异很大。来源于上述两亲本的 8 个染色体片段代换系表现出对瘤黑粉病抗性变异。8 个染色体片段代换系供体片段位置不同。Chr3-7 是 Z3 在 phi046 位点附近片段被供体 HB522 的片段所代换的染色体片段代换系, 表现高抗瘤黑粉病。chr3-7 所含的供体染色体片段改变了 Z3 表型, 产量超过亲本, 成为具抗性表型的新材料。

瘤黑粉病抗性被许多研究者作为数量性状进行研究。8 个染色体片段代换系出现 4 种表型, 即高抗 (chr3-7)、中抗 (chr3-1)、感病 (chr3-6) 和高感 (chr3-2, chr3-3, chr3-4, chr3-5), 表现出数量性状特征。Andrew 等^[25]通过 A188 和 CMV3 构建的重组自交系群体为材料进行 QTL mapping 研究, 指出在 3.05 和 3.08bin 附近存在抗瘤黑粉病 QTL。Ding 等^[18]以豫玉 22 两个骨干自交系构建的重组自交系群体为材料进行研究发现, 3.01bin、3.08bin 和 3.09bin 附近存在抗瘤黑粉病 QTL, 且具有显著的加性遗传效应^[19]。chr3-7 是 phi046 位点附近 (3.07bin) 单片段代换系, 它与供体 Z3 的表型差异来源于供体染色体片段的插入, 可能对该位点原有基因的敲除或插入了具有抗瘤黑粉病的增效基因, 实质性的原因有待试验来进一步揭示。chr3-7 抗性系的获得, 对于进一步揭示抗瘤黑粉病遗传实质具有重要意义。

参考文献

- [1] Martinez-Espinoza A D, Garcia-Pedrajas M D, Gold S E. The Ustilaginales as Plant Pests and Model Systems[J]. *Fungal Genet Biol*, 2002, 35(1): 1-20
- [2] 张满良. 普通植物病理学[M]. 西安: 世界图书出版社, 1997
- [3] 刘正坪, 赵占军. 玉米瘤黑粉病菌冬孢子生物学特性研究[J]. *现代化农业*, 1998(1): 12-13
- [4] 李春民, 徐雅洁, 于俊香, 等. 2000 年巴林左旗玉米瘤黑粉病大发生的原因及防治对策[J]. *内蒙古农业科技*, 2001(5): 42-43
- [5] 姜晓颖, 薛春生, 高颖, 等. 东北地区玉米骨干自交系对瘤黑粉病抗性的研究[J]. *种子*, 2009, 28(20): 57-58
- [6] 谢颖. 甘州区玉米瘤黑粉病发生及防治[J]. *甘肃农业科技*, 2010(7): 59-60
- [7] 刘志吉, 王士龙, 侯兰芳. 淄博市玉米瘤黑粉病重发生原因与防治技术[J]. *中国农技推广*, 2008, 24(12): 34
- [8] 李晓丽, 李凤岭, 臧少先, 等. 玉米瘤黑粉病药剂防治研究[J]. *河北职业技术师范学院学报*, 2002, 16(2): 13-15
- [9] 夏艺明. 制种田玉米瘤黑粉病的防治[J]. *现代种业*, 2003(2): 30
- [10] 鄂文弟, 王振华, 张立国, 等. 玉米瘤黑粉病的研究进展[J]. 2006, 14(1): 153-157
- [11] 李海春, 傅俊范. 玉米瘤黑粉病抗病性研究[J]. *植物保护*, 2006(3): 62-64
- [12] 荆绍凌, 赵树仁, 叶青江, 等. 玉米抗病性遗传改良[J]. *玉米科学*, 2008, 16(5): 42-46
- [13] 王晓鸣. 玉米新品种对病虫害抗性鉴定的现状与未来发展[C]. 中国玉米品种科技论坛. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2007: 193-202
- [14] Randall J W, Peter J, Balint K, et al. Nelson The Genetic Architecture of Disease Resistance in Maize: A Synthesis of Published Studies[J]. *Phytopathology*, 2006, 96(2): 120-129
- [15] Christensen J J. Corn smut caused by *Ustilago maydis*[J]. *Am Phytopathol Soc Monogr*, 1963, 2
- [16] Kerns M R, Dudley J W, Rufener G K. QTL for resistance to common rust and smut in maize[J]. *Maydica*, 1999, 44: 37-45
- [17] Saboe L C, Hayes H K. Genetic studies of reactions to smut and firing in maize by means of chromosomal interchanges[J]. *J Am Soc Agron*, 1941, 33: 463-470
- [18] T. Lubberstedt D. Klein A E. Melchinger. Comparative QTL mapping of resistance to *Ustilago maydis* across four populations of European maize[J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 1321-1330
- [19] Ding J Q, Wang X M, Chander S, et al. Identification of QTL for maize resistance to common smut by using recombinant inbred lines developed from the Chinese hybrid Yuyu22[J]. *J Appl Genet*, 2008, 49(2): 147-154
- [20] 朱文银, 王才林. 作物染色体片段置换系研究进展[J]. *江苏农业学报*, 2008, 24(6): 963-968
- [21] 王立秋, 赵水锋, 薛亚东, 等. 玉米衔接式单片段导入系群体的构建和评价[J]. *作物学报*, 2007, 33(4): 663-668
- [22] Sahai-Maroo M A, Biyashev R M, Yang G P. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal location and population dynamics[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91: 5466-5470
- [23] 张春民, 刘玉英, 石洁, 等. 玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术研究[J]. *玉米科学*, 2005, 13(3): 111-113
- [24] 石菁, 张金文, 陆继有. 玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术的评价[J]. *玉米科学*, 2010, 18(1): 139-142
- [25] Baumgarten A M, Suresh J, May G, et al. Mapping QTLs contributing to *Ustilago maydis* resistance in special plant tissues of maize[J]. *Theor Appl Genet*, 2007, 114: 1229-1238

玉米染色体片段代换系对瘤黑粉病的抗性研究

作者: [吕爱枝](#), [王立秋](#), [曹熙敏](#), [张晓光](#), [LV Ai-zhi](#), [WANG Li-qiu](#), [CAO Xi-min](#),
[ZHANG Xiao-guang](#)

作者单位: [吕爱枝, 曹熙敏, 张晓光, LV Ai-zhi, CAO Xi-min, ZHANG Xiao-guang \(河北北方学院农业科学系, 宣化, 075131\)](#), [王立秋, WANG Li-qiu \(张家口职业技术学院, 张家口, 075000\)](#)

刊名: [植物遗传资源学报](#) **ISTIC|PKU**

英文刊名: [JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)

年, 卷(期): 2011, 12(3)

参考文献(25条)

1. Baumgagen A M;Suresh J;May G [Mapping QTLs contributing to Ustilago maydis resistance in special plant tissues of maize](#) 2007
2. 石菁;张金文;陆继有 [玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术的评价](#) 2010(01)
3. 张春民;刘玉英;石洁 [玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术研究](#) 2005(03)
4. Sahai-Maroo M A;Biyashev R M;Yang G P [Extmordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley:species diversity,chromosomal location and population dynamics](#) 1994
5. 王立秋;赵永锋;薛亚东 [玉米衔接式单片段导入系群体的构建和评价](#) 2007(04)
6. 朱文银;王才林 [作物染色体片段置换系研究进展](#) 2008(06)
7. Ding J Q;Wang X M;Chander S [Identification of QTL for maize resistance to common smut by using recombinant inbred lines developed from the Chinese hybrid Yuyu 22](#) 2008(02)
8. T. Lubberstedt;D. Klein;A E. Melehinger [Compantive QTL mapping of resistance to Ustilagomaydis across four populations of Europeanint-maize](#) 1998
9. Saboe L C;Hayes H K [Genetic studies of reactions to smut andfiring in maize by means of chromosomal interchanges](#) 1941
10. Kerns M R;Dudley J W;Rufener C K [QTL for resistance to common rust and smut in maize](#) 1999
11. Christensen J J [Corn smut caused by stilagomaydis](#) 1963(02)
12. Randall J W;Peter J;Balint K Nelson [The Cenetic Architecture of Disease Resistance in Maize:A Synthesis of Published Studies](#) 2006(02)
13. 王晓鸣 [玉米新品种对病虫害抗性鉴定的现状与未来发展](#) 2007
14. 荆绍凌;赵树仁;叶青江 [玉米抗病性遗传改良](#) 2008(05)
15. 李海春;傅俊范 [玉米瘤黑粉病抗病性研究](#) 2006(03)
16. 鄂文弟;王振华;张立国 [玉米瘤黑粉病的研究进展](#) 2006(01)
17. 夏艺明 [制种田玉米瘤黑粉病的防治](#) 2003(02)
18. 李晓丽;李凤岭;臧少先 [玉米瘤黑粉病药剂防治研究](#) 2002(02)
19. 刘志吉;王士龙;侯兰芳 [淄博市玉米瘤黑粉病重发生原因与防治技术](#) 2008(12)
20. 谢颖 [甘州区玉米瘤黑粉病发生及防治](#) 2010(07)
21. 姜晓颖;薛春生;高颖 [东北地区玉米骨干自交系对瘤黑粉病抗性的研究](#) 2009(20)
22. 李春民;徐雅洁;于俊香 [2000年巴林左旗玉米瘤黑粉病大发生的原因及防治对策](#) 2001(05)
23. 刘正坪;赵占军 [玉米瘤黑粉病菌冬孢子生物学特性研究](#) 1998(01)
24. 张满良 [普通植物病理学](#) 1997

25. Martinez-Espinoza A D;Gareia-Pedrajas M D;Gold S E The Ustilaginales as Plant Pests and Model Systems 2002(01)

引证文献(1条)

1. 李成璞. 白苇. 翟立红. 陶勇生. 张祖新 玉米穗行数QTL及其互作分析[期刊论文]-植物遗传资源学报 2011(6)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201103028.aspx