

玉米抗丝黑穗病遗传育种研究进展

曹士亮

(黑龙江省农业科学院 玉米研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 玉米丝黑穗病是我国春玉米产区的重要病害之一。选育与利用抗病品种是防治玉米丝黑穗的重要手段。对当前玉米丝黑穗病抗性的遗传研究、抗性鉴定及品种选育等方面做了简要的概述, 并分析了其中存在的一些问题, 指出分子生物技术与玉米常规育种技术的结合将推动玉米抗丝黑穗病育种取得新的进展, 希望对玉米抗丝黑穗病育种有所启示。

关键词: 玉米; 丝黑穗; 遗传研究; 抗病育种; 生物技术

中图分类号: S513.034 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)06-0157-03

Advance in Genetics and Breeding of Resistance of Maize to Head Smut

CAO Shi-liang

(Maize Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Head smut of maize is one of the most important disease in production area of spring maize. Breeding and application of resistant varieties is a key method to prevent and cure the disease. In this paper genetic research and identification of resistance to head smut in maize and varieties breeding were summarized. There were still many problems should be resolved. Combination of biotechnology and routine breeding may improve the progress of resistance to head smut in maize breeding.

Key words: maize; head smut; genetic research; resistance breeding; biotechnology

20 世纪 70 年代后期, 玉米丝黑穗病成为我国春玉米产区的重要病害, 主要分布于东北、华北、华中和西北。20 世纪 90 年代以来, 随着大量感病品种的种植及玉米多年连作, 玉米丝黑穗病逐年加重。白金铠报道在吉林、黑龙江、辽宁、内蒙、河北、山西、陕西、四川、广西等玉米产区, 每年由于丝黑穗病危害减产达 30 万 t^[1]。2002 年, 东北春玉米区玉米丝黑穗病大发生, 东北三省发病面积近 106.7 万 hm², 占玉米总面积的 19.5%, 给玉米生产带来了严重的损失。随着对寄主、病原物相互作用关系的深入研究和对农业生态系统的整体理解, 人们充分认识到作物抗病性在综合防治体系中所发挥的主导作用。玉米抗丝黑穗病遗传育种变得日益重要和紧迫起来。

从育种的角度来讲, 玉米抗丝黑穗病育种就是以玉米丝黑穗病抗病性为主要育种目标的玉米育种, 因此玉米抗丝黑穗病遗传育种至少应该主要包括抗源的

搜集、鉴定和筛选以及选育方法的研究。而对玉米丝黑穗病抗性遗传的研究则是开展玉米抗丝黑穗病育种的前提。

1 玉米丝黑穗病抗性遗传和抗性鉴定

1.1 玉米丝黑穗病抗性的数量遗传学研究

对玉米丝黑穗病抗性遗传研究是从探讨不同抗性自交系杂交后代抗病性的变异开始的。赵晋锋^[2]等研究表明玉米杂交种后代的抗性多介于双亲之间。马秉元^[3]等认为玉米对丝黑穗病的抗性属数量遗传, 受显性核基因、隐性基因或受非等位基因互作控制, 表现为多种遗传方式, 主要为基因加性效应。Ali^[4]的研究表明在低发病条件下, 抗病性表现为显性遗传; 在高发病条件下, 则以基因加性作用为主。当前比较统一的认识是玉米丝黑穗病抗性是多基因控制的, 基因作用加性为主的复杂的数量性状遗传, 这为玉米丝黑穗病遗传的进一步研究和抗病育种奠定了基础。

1.2 玉米抗丝黑穗病性基因定位研究

分子标记技术的出现和分子数量遗传学的发展为数量性状的遗传研究提供了新的手段, 人们可以将控制数量性状的多个基因剖分开, 并将其定位在染色体

收稿日期: 2009-04-14

基金项目: 黑龙江省自然科学基金(C200819)

作者简介: 曹士亮(1980-), 男, 黑龙江省哈尔滨市人, 硕士, 研究实习员, 从事玉米生物技术与遗传育种工作。E-mail: caoshiliang2003@126.com.

上,分析其遗传效应。Lübberstedt^[5]等用欧洲的两个玉米自交系 D32×D145 杂交产生的 220 个 F₃ 家系分别于 1996 年在法国的 Chantonay 和 1998 年在中国吉林公主岭地区进行抗病性评价,分别定位了 3 个(第 6、8、9 染色体)和 8 个(第 1、2、3、4、5、6(2)、8 染色体)数量性状位点(QTL)。在 11 个 QTL 中有 10 个表现为显著的加性效应,仅有位于第 3 条染色体上的 QTL 表现为显著的显性效应。Lu^[6]等用 Hi34×Tz17 的 100 个重组近交系为作图群体,构建了含 116 个 RFLP 标记和 4 个 SSR 标记的玉米遗传连锁图谱,结合在南非自然条件下的抗病性评价,对玉米丝黑穗病进行抗性 QTL 分析。采用复合区间作图法进行抗病 QTL 检测(LOD>4.2),仅检测到 1 个 QTL。采用单一标记法确定在染色体 1、2、9、10 上含有抗性基因位点。国内学者高树仁^[7]用 Mo17×HZ4 的 F_{2:3} 家系利用复合区间作图法定位了玉米抗丝黑穗有关的 QTL。分别在染色体 1.02、2.08~2.09、2.09、3.04 和 8.02 区域检测到抗病 QTL。

随着大量的玉米抗病基因或数量性状位点(QTL)定位文献的发表,李新海^[8]等发现玉米抗病虫基因在染色体上的分布并不是随机的,这些抗性基因并非均匀地分布在玉米 10 条染色体上,而是簇聚于某一染色体臂或特定区域内。人们可以采用生物信息学手段将现有的来源于不同实验的有关玉米抗丝黑穗病 QTL 信息进行整合,确定“一致性”QTL 加以研究和利用。

2 玉米种质资源对丝黑穗病的抗性鉴定

2.1 玉米丝黑穗病抗性鉴定方法

根据玉米丝黑穗病原菌侵染玉米表征的不同,人们对玉米丝黑穗病抗性鉴定方法做了大量的研究。刘锡若^[9]等采用苯胺蓝、乳酸对幼苗生长锥染色的方法(配方:苯胺蓝 0.1 g、乳酸 50 mL、水 100 mL)镜检幼苗体内有无菌丝和菌丝在幼苗体内的分布,以田间发病率作对照,验证表明,幼苗带菌检查结果与田间发病率对比的结果基本相符。王金华^[10]等测得玉米自交系室内萌发第 4 天的胚芽含丁布量与发病率有极显著负相关($r=-0.942$),并以此作为一种快速鉴定玉米抗性的辅助手段。董玲^[11]等研究认为,玉米幼苗 1 叶期可溶性总糖的含量与田间接种鉴定的丝黑穗发病率有较高相关性,相关系数为 0.9868,并给出了两者关系的指数曲线回归方程。不同的抗性鉴定方法各有优缺点且鉴定结果难以整合,采用统一的抗性鉴定方法和评价标准可以有效地将不同的抗性鉴定试验结果整合起来加以分析。在诸多的抗性鉴定方法中,以通过田间接种鉴定对乳熟期发病率评价的结果最为准确可靠。通过长期研究和实践 2006 年 12 月 6 日国家农业部发布了由王晓鸣等起草的玉米抗丝黑穗病鉴定技术规范(NY/T 1248.3—2006),对鉴定方法,抗性评价标准等方

面进行了明确的规定。鉴定方法为田间接种鉴定法,以对乳熟期田间发病率为指标进行评价(见表 1)。

表 1 玉米抗丝黑穗病鉴定病情级别划分与抗性评价标准

病情级别	描述	抗性
1	发病株率 0~1%	高抗 Highly resistant(HR)
3	发病株率 1.1%~5.0%	抗 Resistant (R)
5	发病株率 5.01%~10%	中抗 Moderately(MR)
7	发病株率 10.1%~40%	感 Susceptible(S)
9	发病株率 40.1~100%	高感 Highly Susceptible(HS)

注:摘自中华人民共和国农业行业标准(NY/T 1248.3-2006)。

2.2 玉米种质资源的丝黑穗抗病抗性筛选与鉴定

对玉米种质丝黑穗病抗性筛选与鉴定是玉米抗丝黑穗病育种的前提 我国玉米遗传育种科研人员在玉米丝黑穗病抗源鉴定方面做了大量的工作。高洁^[12]等利用人工接种丝黑穗病菌的方法进行抗性鉴定,应用王晓鸣等的抗性评价标准(见表 1),对 162 份普通玉米自交系、22 份爆裂玉米自交系、59 份甜玉米自交系及 122 份糯玉米自交系进行评价,在普通玉米自交系中,感病和高感自交系占 47.53%,爆裂玉米自交系中感病自交系占 55.55%,甜玉米自交系中感病和高感自交占 57.62%,糯玉米自交系感病和高感自交系占 36.88%。王振华^[13]采用人工接种鉴定法(抗性评价标准与表 1 同)研究黑龙江省常用玉米自交系和部分国内骨干系对丝黑穗病的抗性,在 54 份自交系中,鉴定出 4 份高抗自交系和 8 份抗病自交系,感病和高感自交系占 64.9%。同时该研究还发现含 Mo17 和自 330 血缘的材料多表现抗或高抗玉米丝黑穗病,尤其是含 Mo17 血缘材料抗性更强,而含黄早四血缘的材料多表现高感玉米丝黑穗病,Reid 血缘材料多属于中抗或感病类型,这和高洁等的研究结果相类似。

以上研究说明 我国玉米抗丝黑穗病种质资源相对匮乏,同一类群玉米种质对丝黑穗病的抗性具有大致的相似性 面对生产过程中玉米种质资源利用不断集中,仅局限于少数几个骨干自交系的趋势,我国玉米抗丝黑穗病种质资源改良与扩增的工作应该不断加强。

3 玉米抗丝黑穗病育种研究进展

当前,我国玉米生产以杂交种为主,优良的杂交种来源于优良自交系的合理组配。选育优良的具有丝黑穗病抗性的玉米自交系为最终选育高抗丝黑穗病玉米新品种奠定了物质基础。针对我国玉米育种遗传基础狭窄的现状,育种工作者在种质资源扩增、改良及创新方面做了大量的工作,通过回交转育、群体轮回选择等方法选育了一批优良的抗玉米丝黑穗病自交系。近年来,以分子标记辅助育种和转基因育种为基本内容的玉米分子育种为玉米抗丝黑穗病育种开辟了新的途径,丰富了玉米抗丝黑穗病育种的内容。

3.1 玉米抗丝黑穗病种质资源扩增与创新

20 世纪 70 年代以来,在大量筛选抗病资源以及广泛进行抗性遗传研究的基础上,我国抗病育种工作有了突飞猛进的发展。选育了一批具有兼抗和多抗的玉米自交系和玉米杂交种,并先后投入生产。20 世纪 80 年代中期,从国外引入一批玉米优良杂交种,许多育种单位从中选获到一批优良二环系。中国农业大学、河南农业大学、吉林农业科学院、丹东市农业科学院和山东省农业科学院等利用外来种质的国外杂交种 78599 选育出优良自交系 178、P138、87-1、599-3、丹 598 和齐 319 等。其中齐 319 对玉米丝黑穗病抗性突出,已经被作为我国玉米抗丝黑穗病鉴定的抗病对照使用^[4]。通过对外来种质群体进行适应性改良,然后从中选择优良自交系直接应用或利用具有特异性状自交系作为中间材料,已被证明是行之有效的育种方法。黑龙江省农业科学院玉米研究所^[5]利用“北方早熟优质多抗春玉米群体”,按 S1 和半同胞综合选择法,在丝黑穗病菌接种鉴定条件下进行轮回选择,创造新的高抗丝黑穗病、优良玉米育种素材,与现有同类群的高抗丝黑穗病、高配合力的自交系进行复合杂交,选育新的自交系取得了一定成效。

3.2 玉米抗丝黑穗病分子育种

农作物分子育种学的研究范围包括分子标记辅助育种和转基因育种^[6]。对玉米抗丝黑穗病分子育种而言也应该至少包括两个方面。

3.2.1 玉米分子标记辅助抗丝黑穗病育种 玉米丝黑穗病田间鉴定的结果准确可靠,但存在着鉴定材料纯度要求高、用地量大、鉴定时间长(一般至少 2 a),同时需在多个环境鉴定的缺陷。因此,在分子标记技术出现以后,人们希望采用分子标记直接在 DNA 分子水平进行玉米抗丝黑穗病的抗性鉴定。然而,在当前的已大量定位 QTLS 中,由于受标记密度的局限,定位的 QTL 置信区间跨度较大,标记的有效性较低,将标记直接用于玉米丝黑穗病的抗性鉴定还只处于探索阶段。针对于此,邱红波^[7]等选用 85 对引物进行抗丝黑穗病基因的 SSR 扩增,其中引物 Bnlg1246、Bnlg1194 和 Bnlg125 在抗病材料和感病材料中表现出明显差异。可作为分析玉米抗丝黑穗病基因 SSR 标记的引物。倪深^[8]等利用丝轴黑粉菌 DNA 的特异引物对玉米材料进行 PCR 扩增,检测预期结果与开花期田间发病结果一致,表明利用特异引物 PCR 技术检测病原菌感染玉米状况及预测发病率是可行的。由此可见筛选和开发与玉米抗丝黑穗病相关的分子标记将是玉米抗丝黑穗病分子标记辅助育种的关键。

3.2.2 玉米抗丝黑穗病基因及抗病候选基因的分离和克隆 目前,植物抗病基因的克隆方法主要有转座子标签技术(Transposon tagging)和图位克隆技术(Map-based cloning),由于多拷贝基因的存在以及插

入位点的随机性极大地限制了转座子标签法的应用范围^[9]。而图位克隆法依赖高密度的分子标记遗传图谱构建,这限制了该方法的广泛应用。功能基因组学和生物信息学知识的发展,为分离未知产物及未能精细定位的基因提供了越来越多的策略和思路。其中利用同源序列法分离克隆抗病候选基因成为一条很受重视的途径。吉海莲^[20]等在构建玉米抗丝黑穗“一致性”图谱的基础上,采用 NCBI 网站在线软件 BLASTx 通过同源比对在 2 个“一致性”QTL 区间内初步获得 4 个抗病位置候选基因。借助比较基因电子定位策略,将 69 个水稻和玉米抗性基因定位于玉米 IBM2 图谱上,在 2 个“一致性”QTL 区间内分别发现 1 个水稻抗性基因,初步推断为玉米抗丝黑穗病位置候选基因。近年来,一种依据抑制 PCR 效应和差减杂交技术建立起来的减法分离差异表达基因的有效方法——抑制差减杂交(Suppression Subtractive hybridization, SSH)得到了广泛应用。倪深^[21]等采用抑制性消减杂交技术测定玉米抗丝黑穗病过程中与正常植株 mRNA 的差异,寻找与抗病有关的特异 mRNA,获得 cDNA 克隆。同时结合已有的 Mo17 均一化全生育期 cDNA 文库进行芯片杂交,获得表现 2 倍以上差异表达的克隆 76 个,其中有 55 个 TUGS(tentative unique genes)。

以上只是在玉米丝黑穗病抗病基因的分离和克隆方面的一些研究,在实践上实现抗丝黑穗病玉米转基因育种方面的报道还比较少见,近几年人们对几丁质酶基因对提高植物抗病性的研究不断深入,杜建中曾报到采用花粉介导方法将带有几丁质酶基因质粒 pGL II_RC_1 成功导入玉米自交系海 92_1 中,获得了 T₀、T₂、T₃ 植株,检测结果显示,目的基因已整合到转化植株基因组中并可随植株世代稳定遗传。根据分子检测及田间抗病鉴定结果,得到 GH05024 和 GH05028 抗丝黑穗病的纯合转基因株系。

4 小结

随着玉米分子遗传学和基因组学的发展,人们对玉米丝黑穗病的研究越来越深入。玉米对丝黑穗病的抗性属于较为复杂的数量遗传,这就使人们难以像质量性状或少数基因控制的数量性状那样选用少数几个标记对玉米丝黑穗病的抗性进行鉴定和辅助选择研究。所以,常规育种仍然是玉米抗丝黑穗病育种的主要手段,但随着生物信息学和玉米基因工程技术的进步,玉米抗丝黑穗病分子育种也已经提到日程上来。因而注重分子生物技术与玉米常规育种技术的结合必将推动玉米抗丝黑穗病育种取得新的进展。

参考文献:

- [1] 白金铠,宋佐薇,陈捷,等.玉米病害的病菌变异与抗病品种选育[J].玉米科学,1994(1):67-72.
- [2] 赵晋锋,宋殿珍,张文忠,等.玉米丝黑穗病的发生与防治及对抗病育种的一些探讨[J].山西农业科学,2002,30(2):60-62.

黄瓜单倍体育种研究进展

叶永亮, 杜 波, 鹿 娜
(哈尔滨市农业科学院, 黑龙江 哈尔滨 150070)

摘要: 综述了近几年来黄瓜单倍体育种的最新研究进展。包括黄瓜单倍体获得的途径, 主要为辐射花粉培养、未授粉子房(胚珠)培养和花药培养等; 单倍体培养时 PGRs 的种类及浓度, 以及单倍体培育的制约因素等; 分析了黄瓜单倍体试验中存在的问题和今后发展的方向。
关键词: 黄瓜; 单倍体; 辐射花粉; 未授粉子房; PGRs
中图分类号: S642.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)06-0160-03

Progress of Cucumber(*Cucumis sativus* L.) Haploid Breeding

YE Yong-liang DU Bo, LU Na
(Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150070)

Abstract: This paper reviewed the latest research of cucumber haploid breeding in the recent years. The study including access to gain for cucumber haploid, that mainly were radiation pollen culture, no pollination ovary (ovule) and anther culture and so on, the type and concentration of PGRs of haploid culture as well as constraint factors of haploid and so on. Then, the existing problems and future development direction were analyzed.
Key words: cucumber; haploid; radiation pollen; no pollination ovary; PGRs

培育抗逆性强、抗多种病害、适应性广、产量高且

商品性好的黄瓜新品种是黄瓜育种工作的核心任务^[1]。传统的育种方法费时、费力且效率较低; 加之资源匮乏, 选育品质好、产量高的新品种就变得更加困难。采用单倍体育种方法进行品种选育弥补了传统育种的许多不足, 成为人们关注的焦点。单倍体育种是利用花

收稿日期: 2009-03-24
第一作者简介: 叶永亮(1981-), 男, 河北省南皮县人, 学士, 农艺师, 从事黄瓜分子育种研究。E-mail: yyl8998@126.com。

[3] 马秉元, 李亚玲, 段双科. 玉米对丝黑穗病的抗性与遗传初步研究 [J]. 中国农业科学, 1983(4): 12-17.

[4] Ali A, Baggett J R. Inheritance of resistance to head smut disease in corn[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1990, 115(4): 668-672.

[5] Lübberstedt T, Xia X G, Tan G, et al. QTL mapping of resistance to Sporisorium reilianum in maize[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99: 593-598.

[6] Lu X W, Brewbaker J L. Molecular mapping of QTLs conferring resistance to sphacelotheca reilianum (k hn) clint[J]. Maize Genetics Cooperation Newsletter (MNL), 1999, 73: 36.

[7] 高树仁. 玉米抗丝黑穗病遗传分析及数量性状基因定位[D]. 长春: 吉林大学博士研究生论文, 2005.

[8] 李新海, 韩晓清, 张锦芬, 等. 玉米矮花叶病毒抗性资源鉴定的研究 [J]. 华北农学报, 2001, 16(2): 38-42.

[9] 刘锡若, 薛国典. 玉米品种对丝黑穗病的抗病性和幼苗诊断的研究 [J]. 植物保护学报, 1983, 10(4): 274-275.

[10] 王金华, 王铨茂. 玉米丁布对玉米丝黑穗病菌抗性关系的研究 [J]. 植物保护学报, 1989, 16(3): 187-190.

[11] 董玲, 金益, 王振华. 玉米资源抗丝黑穗病快速鉴定方法的初步研究 [J]. 2005, 18(5): 653-657.

[12] 高洁, 祁新, 蔚荣海. 玉米种质资源对丝黑穗病的抗性鉴定[J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(2): 142-147, 151.

[13] 王振华, 鄂文弟, 于天江, 等. 玉米丝黑穗病种质鉴定及遗传研究 [J]. 东北农业大学学报, 2004, 35(3): 8-10.

[14] 刘文国, 王绍萍, 钱淑玲, 等. 78599 系列自交系在吉林省玉米育种中的优缺点及对策[J]. 吉林农业科学, 2003, 28(1): 18-19.

[15] 张建国, 赵伟, 李树军. 高抗丝黑穗病优良玉米种质资源的创新与改良 [J]. 黑龙江农业科学, 2005(2): 24-25.

[16] 李建生. 玉米分子育种研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2007, 9(2): 10-13.

[17] 邱红波, 彭忠华, 胡安龙, 等. 玉米抗丝黑穗病基因 SSR 分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(8): 3139-3141.

[18] 倪深, 肖炎农, 王凤格, 等. 基于 PCR 技术的玉米丝轴黑粉菌侵染率及扩展进程的研究 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(9): 1804-1809.

[19] 吕香玲, 卢峰, 宋波. 利用同源序列发掘抗病候选基因的方法 [J]. 华北农学报, 2007, 22(增刊): 10-12.

[20] 吉海莲, 李新海, 谢传晓, 等. 基于元分析的抗玉米丝黑穗病 QTL 比较定位[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(2): 132-139.

[21] 倪深. 玉米抗丝黑穗病相关基因的筛选及抗病机理初探[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.