

分子标记辅助选择在玉米抗病和抗虫育种上的应用

金锐, 张从合*, 朱全贵, 苏法 (安徽荃银高科种业股份有限公司/农业部玉米新品种创制重点实验室, 安徽合肥 230088)

摘要 在我国, 玉米的种植面积和产量均超过水稻和小麦, 成为第一大粮食作物。同时, 玉米也是食品、饲料、化工原料等重要原材料。因此, 利用分子标记辅助选择技术(molecular marker-assisted selection, MAS)与常规育种相结合来获得高产、优质、抗逆性强的玉米品种具有重要的意义。概述了常用的分子标记技术以及 MAS 在玉米抗病和抗虫育种中的应用, 同时分析了 MAS 的局限性, 也展望了未来 MAS 的发展前景和优势, 为我国种业企业服务或育种工作提供参考。

关键词 玉米; 分子标记辅助选择育种; 抗病; 抗虫

中图分类号 S435.13 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2021)16-0010-06

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.16.004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Application of Molecular Marker Assisted Selection in Maize Disease Resistance and Insect Resistance Breeding

JIN Rui, ZHANG Cong-he, ZHU Quan-gui et al (Winall Hi-tech Seed Co., Ltd., Key Laboratory of New Maize Variety Creation, Ministry of Agriculture, Hefei, Anhui 230088)

Abstract The planting area and output of corn both surpass that of rice and wheat and become the largest food crop. At the same time, corn is also an important raw material for food, feed and chemical raw materials. Therefore, it is of great significance to use molecular marker-assisted selection technology (MAS) in combination with conventional breeding to obtain high-yield, high-quality, and highly resistant corn varieties. This article outlined the commonly used molecular marker technology and the application of MAS in corn disease resistance and insect resistance breeding. At the same time, it clarified the limitations of MAS and looked forward to the future development prospects and advantages of MAS.

Key words Corn; Molecular marker-assisted selection breeding; Disease resistance; Insect resistance

在我国, 玉米是种植面积和总产量最高的粮饲兼用型作物, 并在工业、食品、医药等行业具有广泛的应用。近年来, 由全球气候变化导致环境恶劣, 世界范围内的玉米主产区病虫害多发, 再加上耕地面积有限, 致使玉米产量受损, 因而迫切需要抗逆性强、高产、优质的玉米新种质。当前我国玉米育种仍以常规育种为主, 而常规育种存在育种周期长、可供选择的优良种质稀少、选择效率低等问题, 无法满足育种要求。分子标记辅助选择(molecular marker-assisted selection, MAS)将分子标记技术与传统育种相结合, 与常规育种相比具有高效、可靠、安全等优点, 可以在作物全生育期进行选择, 极大地缩短了育种年限。随着国内外分子标记技术的发展与应用, 分子标记辅助选择在较难进行表型鉴定的品种选育中和多个优良性状的聚合中发挥着越来越重要的作用。

1 DNA 分子标记的种类和特点

DNA 分子标记是分子水平上遗传差异的直接表现。DNA 分子标记因检测方式的差异性可分为四大类^[1]。第一类是以 DNA-DNA 分子杂交为核心的技术, 不同的生物体 DNA 由特定限制性内切酶切分为长度不同的 DNA 分子片段, 以片段的长度作为衡量标准判断差异。这类分子标记具有稳定性好、不受环境影响等优点。其代表性标记是 RFLP^[2]; 第二类是基于 PCR 的分子标记。这类分子标记具有特异性强、操作简单方便和高效等优点。按 PCR 标记类型分为随机引物(RAPD 和 ISSR)和特异引物(SSR、SCAR、

STS), 其中 RAPD 和 SSR 是应用最为广泛的分子标记。第三类以限制性酶切和 PCR 技术相结合为基础, 主要包括 AFLP; 第四类以单核苷酸不同表现为基础(SNPs)。目前, DNA 芯片是该标记的一种主要研究手段, 且对其有更高的成本和技术要求。

1.1 SCAR 分子标记 SCAR 分子标记是由 RAPD 和 RFLP 技术孕育而生一种标记手段。通过这 2 种技术分析后确定并复制目标 DNA 的多态性片段, 随后对复制片段的两端测序, 根据测序结果设计含有原先 RAPD 和 RFLP 扩增片段的引物, 一般引物长度为 18~24 bp, 这个引物应含有原先 RAPD 和 RFLP 的扩增片段, 然后再进行扩增。由 RAPD 标记转化成 SCAR 标记, 该标记呈显性, 表现为扩增片段的有无。由 RFLP 转化为 SCAR 标记, 该标记呈共显性, 表现为片段大小多态性。随着分子生物学技术的不断发展, 一些 AFLP 和 SSR 标记都已经成功转化为 SCAR 标记。SCAR 标记的特点: ①设计引物时, 不用知道序列信息; ②显性遗传, 无法区分纯合子和杂合子; ③技术简便, 更加可靠; ④能够快速检测多个个体, 且成本低、稳定性高、试验结果重现性好。SCAR 标记的以上优点使其在杂种纯度鉴定和 MAS 方面应用较广, 尤其是在基因的精确定位和克隆方面发挥重要作用。

1.2 SSR 分子标记 SSR 是基于 PCR 技术的第二代分子标记, 是目前使用最多的分子标记技术, 它一般是由几个碱基对为重复单位组成的简单重复序列, 生物体基因组各个位置都有其存在, 最常见就是双核苷酸的重复单位。因为核苷酸序列重复次数、重复片段和序列的不同而产生的多态性差异, 且多态性易于检测, 所以具有广泛的应用前景。SSR 有以下几个优点: ①SSR 标记的数量非常多, 分布于生物的全

基金项目 合肥市生物育种产业技术创新战略联盟(合科[2012]155号); 荃银高科自主研发项目“广适性玉米新品种研发”。

作者简介 金锐(1995—), 男, 安徽合肥人, 农艺师, 硕士, 从事玉米分子遗传育种研究。*通信作者, 研究员, 从事水稻、玉米等作物的育种及推广研究。

收稿日期 2020-11-16; **修回日期** 2020-12-05

基因组;②SSR 标记是共显性标记;③操作简单方便,稳定性和可信度高;④等位基因的位点较多。但 SSR 标记开发必须要知道重复序列上、下游 DNA 的序列信息,但相比于其众多优点,缺点也显得微乎其微。随着 SSR 标记技术的高密度遗传连锁图的不断完善及其被大规模的不断开发,分子标记辅助育种的可行性进一步得到了提高,广泛应用于 QTL 精细定位^[3]。

1.3 SNP 标记 SNP 指的是由单个核苷酸——A、T、C 或 G 的改变而引起的 DNA 序列的改变。与传统分子标记相比,SNP 在基因组中有分布广、遗传稳定性好、代表性强、效率高等优点,且其检测手段不随 DNA 片段长度的变化而变化^[4]。早期使用 SNP 技术主要是以凝胶电泳为基础,如 CAPS 标记和 AS-PCR 标记。目前 SNP 基因分型方法主要是直接测序法 DNA 和芯片。SNP 其中一种检测方法是直接测序法,效率可达 100%,高通量测序已成为 SNP 检测的重要方法之一;另一种是 DNA 芯片技术,其特点是快速高效和精确等。但 SNP 技术重复序列影响杂交的准确性,同时成本也高,不适合大规模检测和广泛使用^[5-7]。SNP 作为第三代杂交技术,加快了物种序列的获得,应用前景广阔。

2 MAS 在玉米抗病育种上的应用

2.1 MAS 在南方锈病上的应用 据报道,世界上共有 3 种锈病:南方锈病、热带锈病和普通锈病。目前,南方锈病 (*Puccinia polysora* Underw) 是我国的主要病害。该病害是以多堆柄锈菌引起的一种气传性真菌病害,主要侵害部位是玉米叶片^[8]。1891 年,该病首次被发现存在于摩擦禾属 (*Trip-sacum* L)^[9]。我国于 1972 年在海南省发现玉米南方锈病,近年来,随着耕作制度的变化,该病已成为我国玉米流行病害,且多发于黄淮海地区,造成玉米减产甚至绝收^[10]。因此,利用分子标记技术选育抗病品种是解决该病害最有效的途径之一。

陈翠霞等^[11]在不同环境下对 10 个骨干玉米自交系进行了玉米南方锈病抗性鉴定,结果表明仅齐 319 对南方锈病表现为高抗,178 为中抗,而其他自交系均感南方锈病。张发军等^[12]对 17 份玉米自交系进行了玉米南方锈病抗性鉴定,其中有 8 份自交系对南方锈病表现为高抗,为培育抗南方锈病玉米杂交种和进行遗传研究奠定了材料基础。李石初等^[13]于 2008 和 2009 年分别对 1 218 份玉米自交系进行了人工接种南方锈病抗性鉴定,其中高抗、抗病和中抗占比为 17.98%,其余均表现不同程度感病。张斌^[14]利用高抗材料齐 319 和多个感病自交系配置杂交组合,通过回交育种,得到良好的抗南方锈病的种质资源。陈翠霞^[15]利用齐 319 与感病品种 340 和鲁原 92 构建分离群体,通过 SSR 结合混池对其进行分析,将抗病基因 Rpp9-2 定位在 10 号染色体上,且与标记 phi118 和 phi041 紧密连锁,随后又进一步对其进行定位,又发现 3 个与南方锈病抗病基因紧密连锁的 SSR 标记。艾堂顺等^[16]以玉米抗病自交系 P178、感病自交系 G41 构建的 BC2F5 群体为材料,对 qSCR10.01 进行精细定位,抗病基因位于标记 UMC1380 和 C(10)3595071 之间,标记间的

物理距离为 1.34 Mb。

2.2 MAS 在玉米大斑病上的应用 玉米大斑病是造成玉米减产最严重的病害之一,是由玉米大斑凸脐蠕孢菌 [*Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard et Suggs] 侵染玉米引起的一种病害,主要发生在叶片部位^[17]。1876 年,该病在意大利发现以后,迅速蔓延至全世界,1899 年,我国首次在东北发现该病害^[18]。目前,我国已报道大斑病菌生理小种有 0,1,2,3,N,12,13,1N,23,2N,3N,12N,123N,123,23N 和 13N 共 16 个类型的生理小种^[19]。由于大斑病生理小种的变异,因此通过分子标记辅助选择对玉米大斑病抗病材料进行筛选,以期为培育大斑病抗病品种提供参考。

孙瑞东等^[20]通过人工接种大斑病的方法,在 2 年内对 185 份玉米自交系大斑病进行抗性鉴定,筛选出高抗 16 份材料,且自交系 Y6 和 J1577 可以稳定遗传。李晓光等^[21]对国内 434 份玉米种质进行大斑病抗性鉴定,结果高抗和中抗品种占 73.7%,为选育大斑病抗病品种提供重要种质资源。陈晓旭等^[22]在 2013 和 2014 年连续 2 年通过人工接种大斑病菌对东北 60 份主要玉米种质进行抗性鉴定,结果表明有 28 份材料表现出抗性,且通过进一步比较,证明国内抗病种质要优于国外种质。程品冰^[23]利用与 Ht3 抗性基因连锁的 SCAR 标记 5C-509656 和与 HtN 抗性基因连锁的 SCAR 标记 SC-S13314 对 100 份抗性资源进行鉴定,结果有 20 份材料中携带 Ht3 基因,10 份材料中携带 HtN 基因,且与基因推导方法的结果一致。郑祖平等^[24]以黄早四×Mo17 为亲本构建的包含 239 份 RIL 群体,利用 103 个 SSR 标记对其进行大斑病抗病鉴定,通过 CIM 作图方法检测到 2 号染色体有 3 个 QTL,分别与标记 bnlgl520、umc1635 和 bnlgl125 紧密连锁;8 号染色体有 2 个 QTL,分别与标记 umc1327 和 bnlgl2235 紧密连锁。田志强等^[25]以 P178 和 G41 为亲本构建的 BC5F2 群体,利用 KASP 标记对大斑病进行 QTL 定位,结果在 1、2、8、9 这 4 条染色体上定位到 6 个 QTL,贡献率为 4%~23%,且存在 2 个可稳定遗传的 QTL。高瑞^[26]构建 3 个 DH 群体,利用 Bin 标记对大斑病进行 QTL 定位,在 DH1 群体中,在 5 号和 8 号染色体上共检测到 2 个 QTL,可解释表型变异为 12.88%~14.97%;在 DH2 群体中,在 1、2、5、9 号染色体上共检测到 4 个 QTL,可解释表型变异为 8.31%~16.56%;在 DH3 群体中,在 1 号和 2 号染色体中共检测到 2 个 QTL,可解释表型变异为 15.34%~18.49%。

2.3 MAS 在玉米小斑病上的应用 玉米小斑病 (Southern corn leaf blight, SCLB) 是世界玉米主产区的重要病害之一,是由半知菌类长蠕孢属真菌 (*Helminthosporium maydis* Nisikado) 引起的一种真菌性病害,目前已报道 O、T、C、S 这 4 个小种^[27-30]。玉米小斑病对玉米造成严重减产,因此对其进行分子标记辅助育种及 QTL 定位研究具有重要意义。

杜学林等^[31]对 20 个玉米重要种质进行筛选,得到 2 个中抗小斑病种质,为防治小斑病和抗病育种提供理论依据。蒋锋等^[32]利用抗病自交系 T14 和感病自交系 T18 为亲本及 F₂ 群体对小斑病进行 QTL 定位,结果在 4 号和 6 号染色体上

共定位到5个抗小斑病QTL。仲恺农业工程学院选育出玉米自交系PT01、PT02、PT03、PT04为杂交亲本材料,配置228株4交F₂群体,利用SSR标记对小斑病进行QTL定位。结果在2、4、6、7号4条染色体上检测到6个单位面积病斑数QTL,贡献率为8.39%~53.7%;在2、4、6号3条染色体上检测到5个病斑数QTL,贡献率为7.6%~45.2%^[33]。陈趣^[34]以T8和T33为亲本配置的杂交组合,利用SSR标记通过对200株F₂群体进行抗小斑病QTL定位,在全株病斑叶面积检测到4个QTL,贡献率为8.95%~11.32%;在全株病斑面积检测到7个QTL,贡献率为4.86%~15.93%。

2.4 MAS在茎腐病上的应用 玉米茎腐病又称青枯病,是在世界玉米主产区普遍流行的一种土传性病害,严重影响玉米生产^[35]。因此,对玉米茎腐病的防治具有重要意义,而MAS是培育抗茎腐病玉米品种的前提条件^[36]。

王富荣等^[37]对1550份玉米品种进行茎腐病抗性鉴定,经过重复鉴定,得到76份具有稳定抗性的自交系。杨洋等^[38]在2013—2016年对1213份玉米种质进行茎腐病抗性鉴定,得到207份抗茎腐病种质,占总数的17.1%。宋燕春等^[39]利用人工接种的方式对287份玉米自交系进行茎腐病抗性鉴定,结果具有中抗水平的自交系171份,占总数的60%。Pe等^[40]利用自交系B89和33-16的F₂:3家系,通过95个RFLP和10个RAPD标记构建的遗传连锁图,定位了5个抗禾谷镰孢茎腐病的QTL,分别位于1、3、4、5、10号染色体上。王萍^[41]以1145和Y331为亲本配置杂交组合,利用RAPD技术将茎腐病的抗性基因Rpi1定位在第4染色体上,与OPZ191500紧密连锁。Yang等^[42]利用1145和Y331为亲本及其后代群体F₂和BC1F1,利用SSR和RFLP标记将抗病基因RFG1定位到mmc0241和bnl3.03之间,遗传距离分别为3.0和2.0 cM。Yang等^[43]以1145和Y331为亲本,配置BC6F1和BC8F1为后代群体,分别对*qRfg1*和*qRfg2*进行精细定位,将*qRfg1*定位在SSR334和SSR58标记之间,物理距离500 kb;将*qRfg2*定位在SSRZ319和CAPSZ459标记之间,物理距离300 kb。Ma等^[44]利用H127R和C7-2为亲本及后代RIL群体为材料,在3号染色体上定位到一个新的QTL-*qRfg3*。王金萍等^[45]对159份玉米自交系进行茎腐病抗性鉴定,检测到的4个抗茎腐病QTL及其紧密连锁的11个分子标记,结果发现分子标记STS01(*qRfg1*)、STSZ479(*qRfg2*)、bnlg1866(RpiQI319-1)和bnlg1716(RpiQI319-2)的阳性检测结果与田间表型符合度较高,可作为抗茎腐病分子检测的有效标记。

2.5 MAS在玉米矮花叶病上的应用 玉米矮花叶病(maize dwarf mosaic virus,MDMV)是世界上玉米产区普遍发生的病毒病害之一。1963年首先在美国俄亥俄州被发现,随后席卷全球,我国于1968年首次在河南发现该病,造成玉米减产甚至绝收,培育抗病品种是防治该病害的最有效途径^[46-48]。

Kuntze等^[49]通过人工接种矮花叶病毒,对122份玉米自交系进行抗性鉴定,筛选出3个具有完全抗性自交系D21、D32和FAP1360A。林肯恕^[50]对220份玉米重要种质进行抗

性鉴定,结果筛选到包括黄早4和获白在内的15份优良抗病自交系。吴建宇^[51]通过对我国主要育种材料的48个骨干自交系进行矮花叶病抗性鉴定,也证明黄早4具有较好的抗病性。张成和等^[52]鉴定了831份玉米材料,其中中抗及以上自交系共249份,占总数的30%。Scott等^[53]于1971年将GA209、ArkH44、MP319等自交系的抗病基因定位于6号染色体上。Louie^[54]和McMullen等^[55]利用分子标记将自交系Pa405的抗病基因Mdm1定位于6号染色体上,并证明该基因与RFLP标记Umc85和Bn16.29紧密连锁。Xia等^[56]用D32×D145的219个F₂单株和94个标记构建了标记连锁图谱,根据F₃家系的2年抗病性的鉴定,对SCMV进行QTL分析,检测到5个QTL,分别位于3、5、6、10染色体上,其中以染色体3和6上的QTL效应较大。2003年,王凤格^[57]利用黄早四×掖107群体,发现有3条染色存在抗病QTL,分别是第3、6和10染色体上,其中第3和第6的QTL效应较大。吕香玲等^[58]利用掖478与中白O1的近等基因系BC4F2群体,在玉米第3和第6染色体上发掘了3个QTLs。席章营等^[59]利用海9-21和掖478的BCzF群体,在抗病自交系海9-21上存在一个的隐性抗病基因,位于第3染色体短臂3.04~3.05区域,在SSR标记umc1965和bnlg420之间,遗传距离分别为45.7和6.5 cM。王永霞^[60]在利用F₂群体对抗病基因RSCMV1和RSCMV2初步定位的基础上,分别以感病亲本Mo17和抗病亲本四一为轮回亲本和供体亲本,对玉米矮花叶病抗病基因RSCMV1和RSCMV2进行了分子标记的开发和定位,结果证明SCMV1抗病基因在umc1018和umc2311之间,SCMV2抗病基因在umc1693和bnlg1601之间,为最终分离这2个抗病基因奠定基础。

2.6 MAS在玉米丝黑穗病上的应用 玉米丝黑穗病是在世界玉米主产区常见的一种土传性病害,最早于1876年在意大利发现该病害,随后迅速在世界范围内传播,我国首次发现该病害是在20世纪70年代,主要危害北方春玉米^[61]。该病害对玉米品种是毁灭性的,因此选育抗病品种是防治该病害的最佳途径。柏光晓等^[62]对51-3份玉米重要种质进行丝黑穗病抗性鉴定,结果仅有3份材料表现为高抗。谭康等^[63]利用136对重复性佳的SSR标记对贵州省10份常用玉米自交系进行丝黑穗病抗性鉴定,发现自交系T32和齐3169表现为高抗并可以稳定遗传。张建国^[64]对黑龙江农业科学院选育的龙早群通过多次杂交、回交及自交等方法选育出6份高抗丝黑穗病、配合力优且品质优质和农艺性状好的玉米自交系,通过试验筛选出3个可以用于对玉米种质进行抗丝黑穗病种质鉴定的分子标记umc1386、umc1525和umc2077。王春明等^[65]利用人工接种的方式,在2013—2014年对甘肃省97份玉米重要自杂交种进行丝黑穗病抗性鉴定,筛选出6份高抗材料。石红良^[66]利用齐319和M17这2个抗病品种与感病品种黄早4为亲本构建2个BC3群体,通过AFLP-BSA标记对丝黑穗病进行QTL定位,检测到有一个抗玉米丝黑穗病主效QTL-Bin2.09,且在标记bnlg1893附近;随后开发2个STS标记,进一步将该QTL定位在Bin1.09区域内。高

树仁^[67]对 133 份玉米常见种质和 24 个国内外群体进行了丝黑穗病抗性鉴定,采用 SSR 标记和 AFLP 标记技术对抗玉米丝黑穗病基因进行了 QTL 定位,检测到 Bin1.03、Bin2.09、Bin3.04-3.05 和 Bin8.02-8.03 区域均有抗丝黑穗病 QTL。Lübberstedt 等^[68]采用 CIM 方法分别在 6、8 和 9 号 3 个染色体上定位了 3 个 QTL;在第 1、2、3、4、5、6、2 和 8 号染色体上定位了 8 个 QTL,贡献率 13%~44%。Brewbaker 等^[69]采用 CIM 作图法进行检测,定位到 1 个 QTL,贡献率为 10.6%,位于标记 RFLP asg3 附近的染色体 bin1.04 区域内。吉林省农业科学院与中国农业大学合作,利用高抗自交系吉 1037 与感病自交系黄早四为亲本构建分离群体,将抗病基因定位在 bin2.09 和 bin5.03 区域内,利用 SNP、CAPS、STS 共 6 个标记,最终将主效 QTL 定位在 STS6 及 STS8 的 170 kb 抗病区段 qSHR1 范围内,在这 2 个标记之间重新开发 14 个分子标记,每个标记平均物理距离 10 kb^[70]。

3 MAS 在抗虫育种上的应用

虫害是影响玉米产量及品质最严重的因素之一,其中玉米螟的危害最大。玉米螟(*Ostrinia furnacalis*),又名钻心虫。根据其分布和种类不同,主要分为欧洲玉米螟(ECB)、西南玉米螟(SWCB)和亚洲玉米螟(ACB)。亚洲玉米螟是我国的主要虫害。

欧洲玉米螟主要危害欧洲、美洲和非洲地区的玉米。Bohn 等^[71]利用 D06 为父本和 D408 为母本作为双亲配置杂交组合,选取 226 个 F₃ 群体,调查蛀茎隧道长度和茎秆损伤率作为表型,进行 QTL 定位,检测到 6 个与蛀茎隧道长度相关、5 个与茎秆损伤率相关的 QTL,贡献率为 50%,且多为加性效应。后来,Bohn 等^[71]又对该亲本配置的杂交群体 F₂:3 与 D171 进行侧交,获得 204 个后代并对其进行分子标记辅助选择和 QTL 定位,共发现 6 个与茎秆损伤率有关的 QTL,贡献率为 27.4%。Jampatong 等^[72]用抗病自交系 Mo47 和感病亲本 B73Ht 为双亲,构建 244 个 F₂:3 群体为 QTL 定位群体,与前人研究不同的是,得到的结果是对于一代玉米螟进行 MAS 比较好的是 4.01 和 6.02 区间内的 QTL,而对于二代玉米螟进行 MAS 较好的是位于 5.05、5.08 和 9.02 区间的 QTL。Krakowsky 等^[73]对利用易感自交系 B73 和抗性自交系 De811 为亲本构建的 191 个 RIL 群体进行研究,发现研究 ECB 抗性的最大的问题是没有找到一致的检测环境。西南玉米螟主要危害美洲地区玉米。Groh 等^[74]利用抗病自交系 CML67 和感病自交系 CML131 为亲本构建 170 个 RIL 群体进行 QTL 定位,结果针对叶侵食损伤这一性状,在侧交群体中检测到 4 个 QTL,且有 2 个与 RIL 中检测到的一致。Khairallah 等^[75]用抗病自交系 CML139 和感病自交系 Ki3 为亲本构建 472 个 F₃ 群体,对 SWCB 具有抗性的 QTL 进行了检测,检测到 5 个染色体上 11 个与株高相关的 QTL,贡献率为 43%,检测到的 QTL 除加性效应外,还有显性和半显性效应。Brooks 等^[76]利用 2 个不同的后代群体,对西南玉米螟和秋季赫虫作比较,2 个群体的种植模式相同,结果发现在第 1、5、7、9 号染色体上发现的 QTL 对 2 种害虫均有抗性,而抗

SWCB 于第 5、9 号染色体被检测到。亚洲玉米螟(ACB)是影响我国玉米产量和品质的重要害虫,导致玉米减产 10%~30%,严重时甚至绝收。于永涛^[77]利用 2 对亲本分别构建大小为 120 个 F₂:3 和 114 个 F₂:3 群体为作图群体,通过 80 个 SSR 标记和 12 个 AFLP 标记进行 QTL 定位,检测到 3 个与叶片侵害度有关的 QTL,分别在 1、5 和 8 号染色体上;检测到 3 个与茎秆虫孔数有关的 QTL,分别位于 4 和 10 号染色体上;检测到 2 个与茎秆隧道长度有关的 QTL,分别在 4 和 8 号染色体上。这些性状的 QTL 贡献率为 7.7%~51.8%。此外,该研究还发现检测到的 QTL 均多在 1、4、5、8、10 号染色体上,且 Bin1.02-1.03 和 Bin8.20-8.03 是 2 个群体共有的 QTL。根据以上研究推测,不同地区的玉米螟抗性机理之间存在一定的相关性,各玉米螟抗性有相同的 QTL,再进行 MAS 选择时,要综合考虑具有多效性的 QTL,提高育种效率,加快育种进程。

4 利用分子标记辅助选择育成的玉米品种

传统育种主要依赖作物表现型的选择,而环境因素、基因间的互作等因素都会影响表型选择效率。对于品质、株型性状等数量性状而言,仅通过表现型来选择会更加困难,因此采用以 DNA 多态性为基础的分子标记来对作物选择效率会更高且更加准确,其中 MAS 更被广泛接受。

在改良玉米品质中,Hao 等^[78]为了提高郑单 958 的含油量,利用 MAS 将高油自交系 By 804 的一个 QTL-qHO6 的有利等位基因导入郑单 958、郑 58 和长 7-2 的双亲中。通过回交 6 代,选育出郑 58-qHO6 和长 7-2-qHO6 这 2 个亲本自交系。2 个改良自交系的含油量都有所增加。因此,经改良的郑单 958-qHO 6 由郑 58-qHO6 向长 7-2-qHO6 杂交的含油量达 4.5%,相对含量和绝对含量分别比原郑单 958 提高了 0.71%和 18%。MAS 在培育高维生素 A 的杂交玉米上也有优势,印度育种者将 crtRB1 的等位基因从 β-胡萝卜素含量高的自交系导入到普通玉米中,回交 2 代后子代背景回复率就有 90%,β-胡萝卜素的含量最高增加了 17.5 μg/g,杂交后代的 β-胡萝卜素的含量从原来的 2.6 μg/g 增长到 21.7 μg/g^[79]。在玉米抗逆育种中,李玉杰^[80]利用抗粗缩病自交系 90110 为供体亲本,与 12 个感病自交系为轮回亲本进行杂交和回交,除个别后代群体,其余抗性均高于轮回亲本。通过 MAS 首次成功地改良了我国骨干玉米自交系粗缩病抗性,且仅需要一代的自交与选择就能提供一批高抗粗缩病的玉米种质。北京市农林科学院玉米研究中心以抗玉米丝黑穗病吉 1037 和抗茎腐病 1145 为供体亲本,玉米自交系京 24 为轮回亲本,利用分子标记辅助选择技术和回交转育技术,获得 5 份单抗丝黑穗病和 2 份单抗茎腐病的玉米自交系京 24,且改良后的京 24 与轮回亲本的背景一致^[81]。通过标记辅助的基因聚合,抗玉米叶枯病和南方锈病基因/QTL 也被聚合到 5 个优良玉米品系中,Ribaut 等^[82]利用分子标记辅助回交育种(MABC),对含有 2 200 个单株的 4 个世代的 3 个群体进行选择,4 代的背景回复率达 85%,其中最佳的 5 个 MABC 衍生杂交种的平均产量至少比对照杂种高 50%。

Zhao 等^[83]在玉米 2 号染色体上发现了一个主要的抗玉米丝黑穗病 QTL (qHSR 1), 以 Ji1037 为供体亲本, 利用 MAS 技术将 qHSR 1 具有高产潜力但对黑穗病感病的 10 个玉米自交系进行抗性改良。每 10 个高产系都与完全抗黑穗病的供体亲本 Ji1037 杂交, 然后与各自的轮回亲本进行 5 代回交。10 个转化自交系在黑穗病抗性上均表现出明显的提高。此外, 由转化系配制的杂交种对黑穗病的抗性也显著提高, 而对其他农艺性状的抗性基本保持不变。Xu 等^[84]利用多代回交和 MAS 技术将玉米粗缩病 (MRDD) 数量性状位点 qMrdd8 导入 3 个优良玉米自交系中。BC4F2 和 BC3F2 的植株, 以及那些轮回亲本基因组恢复率最高的植株来构建转化的纯合自交系。2017 年, 7 个转化自交系和 5 个杂交种表现出对 MRDD 的抗性增强, 而其他农艺性状在非致病性胁迫条件下没有受到影响。

5 展望

MAS 是玉米育种工作中必不可少的部分, 随着玉米育种技术的发展, 更要将现代生物技术与传统育种相结合。MAS 在目前的应用上, 多数还是单基因控制的优良性状的改良, 对于主效基因的导入已经取得不错的进展, 但在多个优良性状上的聚合还有所欠缺。由于稳定的 SSR 标记较少以及高成本的 SNP 鉴定体系, 因此通过 MAS 得到的优良种质资源较少。在传统育种中, 要利用好分子标记育种技术、基因编辑技术以及转基因育种技术等解决传统育种在获得高产优质、抗性好的新种质上的难题。相信随着玉米转基因育种放开、SNP 的完善和普及, 以及基因克隆和全基因组关联分析 (GWAS) 的应用, 在未来几年内, 分子标记辅助选择育种与其他生物技术联系会更加密切, 玉米育种工作会迎来新的技术革命。

参考文献

- [1] 陈北波. 分子标记的种类及其在作物遗传育种中的应用[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(11): 2179-2181, 2148.
- [2] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. Am J Hum Genet, 1980, 32(3): 314-331.
- [3] 刘国栋. 基于 SSR 的棉花品种分子检测技术体系的建立与应用[D]. 济南: 山东师范大学, 2017.
- [4] 周琳, 段玉, 文博, 等. SNP 分子标记及其在木本植物遗传育种的应用[J]. 亚热带植物科学, 2018, 47(2): 187-193.
- [5] DRENKARD E, RICHTER B G, ROZEN S, et al. A simple procedure for the analysis of single nucleotide polymorphisms facilitates map-based cloning in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiol, 2000, 124(4): 1483-1492.
- [6] THIEL T, KOTA R, GROSSE I, et al. SNP2CAPS: A SNP and INDEL analysis tool for CAPS marker development[J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32(1): 1-5.
- [7] HELYAR S J, LIMBORG M T, BEKKEVOLD D, et al. SNP discovery using next generation transcriptomic sequencing in atlantic herring (*Clupea harengus*) [J]. PLoS One, 2012, 7(8): 1-11.
- [8] JULIATTI F C, FIGUEIRÓ A A, ALVES É O. Severity evaluation methods for southern polsora corn rust [J]. Biosci J, 2016, 32(4): 969-977.
- [9] RENFRO B L. Maize rusts[M]//CASELA C R, RENFRO B, KRATTIGER A F. Diagnosing maize diseases in Latin America. Ithaca, NY: ISAAA Briefs, 1998(9): 8-14.
- [10] ZHANG Y, XU L, ZHANG D F, et al. Mapping of southern corn rust-resistant genes in the W2D inbred line of maize (*Zea mays* L.) [J]. Mol Breed, 2010, 25(3): 433-439.
- [11] 陈翠霞, 杨典洱, 于元杰, 等. 南方玉米锈病及其抗性鉴定[J]. 植物病理学报, 2003, 33(1): 86-87.
- [12] 张发军, 孟昭东, 穆春华, 等. 抗南方锈病玉米自交系的筛选及评价[J]. 山东农业科学, 2008, 40(9): 77-79.
- [13] 李石初, 杜青. 玉米种质资源抗南方玉米锈病鉴定初报[J]. 现代农业科技, 2010(21): 187, 189.
- [14] 张斌. 分子标记辅助选择玉米兼抗粗缩病和南方锈病的育种材料[D]. 济南: 山东大学, 2012.
- [15] 陈翠霞. 南方玉米锈病的抗病性鉴定、抗病基因的遗传分析、分子标记和精细定位[D]. 泰安: 山东农业大学, 2002.
- [16] 艾堂顺, 田志强, 李会敏, 等. 玉米南方锈病抗病 QTL 鉴定和效应分析[J]. 河南农业大学学报, 2018, 52(4): 514-518.
- [17] 高卫东, 戴法超. 玉米大斑病研究的新进展[J]. 植物病理学报, 1993, 23(3): 193-195.
- [18] 杨歌斌. 我国玉米大斑病生理小种动态与抗玉米大斑病材料筛选[J]. 农业科技通讯, 2014(6): 35-37.
- [19] 石凤梅, 马立功. 黑龙江省玉米大斑病菌小种生理分化的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2013(2): 63-65.
- [20] 孙瑞东, 臧振原, 慈佳宾, 等. 玉米自交系对大斑病菌的抗性鉴定及抗性来源分析[J]. 作物杂志, 2020(2): 65-70.
- [21] 李晓光, 董本春, 王晓蕾, 等. 玉米种质对玉米大斑病的抗性鉴定与评价[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(16): 141-142, 148.
- [22] 陈晓旭, 岳辉, 王作英, 等. 辽宁省抗玉米大斑病骨干自交系的筛选与评价[J]. 农业科技通讯, 2016(6): 107-108.
- [23] 程品冰. 玉米抗大斑病种质的抗性基因分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
- [24] 郑祖平, 刘小红, 黄玉碧, 等. 玉米大斑病抗性基因的 QTL 定位[J]. 西南农业学报, 2007, 20(4): 634-637.
- [25] 田志强, 艾堂顺, 邓策, 等. 玉米自交系 P178 的大斑病抗性 QTL 定位和效应分析[J]. 河南农业科学, 2018, 47(2): 73-76, 97.
- [26] 高瑞. Bin 标记和 QTL 对玉米大斑病全基因组选择预测精度的影响研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019.
- [27] 王晓鸣, 晋齐鸣, 石洁, 等. 玉米病害发生现状与推广品种抗性对未来病害发展的影响[J]. 植物病理学报, 2006, 36(1): 1-11.
- [28] HOOKER A L, SMITH D R, LIM S M, et al. Physiological races of *Helminthosporium maydis* and disease resistance[J]. Plant Dis Rep, 1970, 54: 1109-1110.
- [29] HOOKER A L. Southern leaf blight of corn—present status and future prospects[J]. J Environ Qual, 1972, 1(3): 244-249.
- [30] ULLSTRUP A J. History of southern corn leaf blight[J]. Plant Dis Rep, 1970, 54: 1100-1102.
- [31] 杜学林, 邢光耀. 不同玉米品种对小斑病抗性研究[J]. 种子, 2005, 24(9): 65-66.
- [32] 蒋锋, 刘鹏飞, 张金凤, 等. 玉米小斑病抗性的遗传分析与 QTL 定位[C]//中国农业产业经济发展协会. 2010 植物免疫机制研究及其调控研讨会论文集. 北京: 北京晟勋国际会议服务中心, 2010: 100-109.
- [33] 林欢. 玉米小斑病抗性和叶片性状的分子标记定位[D]. 广州: 仲恺农业工程学院, 2013.
- [34] 陈趣. 甜玉米小斑病抗性及其主要农艺性状 QTL 定位[D]. 广州: 仲恺农业工程学院, 2015.
- [35] YANG Q, YIN G M, GUO Y L, et al. A major QTL for resistance to *Gibberella* stalk rot in maize[J]. Theor Appl Genet, 2010, 121(4): 673-687.
- [36] 王晓鸣, 戴法超, 朱振东, 等. 玉米自交系和杂交种的抗病特性研究[J]. 中国农业科学, 2000, 33(21): 132-140.
- [37] 王富荣, 石秀清. 玉米品种抗茎腐病鉴定[J]. 植物保护学报, 2000, 27(1): 59-62.
- [38] 杨洋, 陈国康, 郭成, 等. 玉米种质资源抗腐霉茎腐病鉴定[J]. 作物学报, 2018, 44(8): 1256-1260.
- [39] 宋燕春, 裴二芹, 石云素, 等. 玉米重要自交系的肿囊腐霉茎腐病抗性鉴定与评价[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(5): 798-802.
- [40] PÉ M E, GIANFRANCESCO L, TARMINO G, et al. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for resistance to *Gibberella zeae* infection in maize[J]. Mol Gen Genet, 1993, 241(1/2): 11-16.
- [41] 王萍. 玉米肿囊腐霉茎腐病抗性基因的分子标记研究及其初步定位[D]. 北京: 中国农业科学院, 2000.
- [42] YANG D E, ZHANG C L, ZHANG D S, et al. Genetic analysis and molecular mapping of maize (*Zea mays* L.) stalk rot resistant gene *Rfg1* [J]. Theor Appl Genet, 2004, 108(4): 706-711.
- [43] YANG Q, YIN G M, GUO Y L, et al. A major QTL for resistance to *Gibberella* stalk rot in maize[J]. Theor Appl Genet, 2010, 121(4): 673-687.
- [44] MA C, MA X N, YAO L S, et al. *qRfg3*, a novel quantitative resistance locus against *Gibberella* stalk rot in maize[J]. Theor Appl Genet, 2017, 130(8): 1723-1734.

- [45] 王金萍,刘永伟,孙果忠,等.抗茎腐病分子标记在 159 份玉米自交系中的验证及实用性评价[J].植物遗传资源学报,2017,18(4):754-762.
- [46] WILLIAMS L E,ALEXANDER L J.Maize dwarf mosaic,a new corn disease[J].Phytopathology,1965,55(7):802-804.
- [47] JANSON B F,ELLETT C W.A new corn disease in Ohio[J].Plant Disease Reporter,1963,47(12):1107-1108.
- [48] 高文臣,魏宁生.玉米矮花叶病研究进展[J].西北农业大学学报,2000,28(1):86-91.
- [49] KUNTZE L,FUCHS E,GRÜNTZIG M,et al.Resistance of early-maturing European maize germplasm to sugarcane mosaic virus (SCMV) and maize dwarf mosaic virus (MDMV)[J].Plant Breed,1997,116(5):499-501.
- [50] 林肯恕.玉米矮花叶病抗性鉴定的研究[J].中国农业科学,1989,22(1):57-61.
- [51] 吴建宇.玉米对矮花叶病抗性的鉴定和遗传研究[D].南京:南京农业大学,1997.
- [52] 张成和,刘爱国,张晓青,等.河北省玉米自交系和杂交种对矮花叶毒病的抗性鉴定[J].河北农业科学,1992(3):13-16.
- [53] SCOTT G E,ROSENKRANZ E.A new method to determine the number of genes for resistance to maize dwarf mosaic in maize[J].Crop Sci,1982,22(4):756-761.
- [54] LOUIE R.Effects of genotype and inoculation protocols on resistance evaluation of maize to maize dwarf mosaic virus strains[J].Phytopathology,1986,76(8):769-773.
- [55] MCMULLEN M D,LOUIE R.The linkage of molecular markers to a gene controlling the symptom response in maize to maize dwarf mosaic virus[J].Mol Plant Microbe Interact,1989,2(6):309-314.
- [56] XIA X C,MELCHINGER A E,KUNTZE L,et al.Quantitative trait loci mapping of resistance to sugarcane mosaic virus in maize[J].Phytopathology,1999,89(8):660-667.
- [57] 王凤格.玉米矮花叶病抗性 QTL 的初步分析[D].北京:中国农业科学院,2001.
- [58] 吕香玲,李新海,郝转芳,等.基于近等基因导入系发掘玉米抗甘蔗花叶病毒主效基因[J].玉米科学,2007,15(3):9-14.
- [59] 席章营,张书红,李新海,等.一个新的抗玉米矮花叶病基因的发现及初步定位[J].作物学报,2008,34(9):1494-1499.
- [60] 王永霞.玉米矮花叶病抗病基因的分子标记开发及定位[D].郑州:河南农业大学,2009.
- [61] 高洁.特用玉米抗丝黑穗病遗传分析及其病菌致病性的遗传多样性[D].长春:吉林农业大学,2005.
- [62] 柏光晓,任洪,兰仲模,等.贵州玉米种质资源的抗病性鉴定与评价[J].种子,2007,26(3):51-54.
- [63] 谭康,李春红,杨梅,等.10 份贵州常用玉米自交系丝黑穗病抗性鉴定及遗传多样性分析[J].南方农业学报,2019,50(11):2384-2391.
- [64] 张建国.高抗玉米丝黑穗病种质创新及相关分子标记的筛选和验证[J].黑龙江农业科学,2011(7):7-9.
- [65] 王春明,郭满库,郭成,等.玉米杂交种抗大斑病和丝黑穗病鉴定与评价[J].西北农业学报,2019,28(2):183-190.
- [66] 石红良.玉米抗丝黑穗病分子标记开发与主效抗病基因定位[D].雅安:四川农业大学,2009.
- [67] 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,2005.
- [68] LÜBBERSTEDT T,XIA X C,TAN G,et al.QTL mapping of resistance to *Sporisorium reilianum* in maize[J].Theor Appl Genet,1999,99(3/4):593-598.
- [69] BREWBAKER J L,LU X W.Molecular mapping of QTLs conferring resistance to *Sphacelotheca reiliana* (Kühn) Clint[J].Maize genetics cooperation newsletter,1999,73:36.
- [70] 李莉.玉米丝黑穗病抗性种质创制与选择[D].长春:吉林农业大学,2012.
- [71] BOHN M,SCHULZ B,KREPS R,et al.QTL mapping for resistance against the European corn borer (*Ostrinia nubilalis* H.) in early maturing European dent germplasm[J].Theor Appl Genet,2000,101(5/6):907-917.
- [72] JAMPATONG C,MCMULLEN M D,BARRY B D,et al.Quantitative trait loci for first-and second-generation European corn borer resistance derived from the maize inbred Mo47[J].Crop Sci,2002,42(2):584-593.
- [73] KRAKOWSKY M D,LEE M,WOODMAN-CLIKEMAN W L,et al.QTL mapping of resistance to stalk tunneling by the European corn borer in RILs of maize population B73 × De81[J].Crop Sci,2004,44(1):274-282.
- [74] GROH S,KHAIRALLAH M M,GONZÁLEZ-DE-LEÓN D,et al.Comparison of QTLs mapped in RILs and their test-cross progenies of tropical maize for insect resistance and agronomic traits[J].Plant Breed,1998,117(3):193-202.
- [75] KHAIRALLAH M M,BOHN M,JIANG C,et al.Molecular mapping of QTL for southwestern corn borer resistance,plant height and flowering in tropical maize[J].Plant Breed,1998,117(4):309-318.
- [76] BROOKS T D,BUSHMAN B S,WILLIAMS W P,et al.Genetic basis of resistance to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae) leaf-feeding damage in maize[J].J Econ Entomol,2007,100(4):1470-1475.
- [77] 于永涛.玉米对亚洲玉米螟抗性的 QTL 分析[D].保定:河北农业大学,2003.
- [78] HAO X M,LI X W,YANG X H,et al.Transferring a major QTL for oil content using marker-assisted backcrossing into an elite hybrid to increase the oil content in maize[J].Mol Breed,2014,34(2):739-748.
- [79] 国际农业生物技术应用服务组织 (ISAAA).科学家利用标记辅助导入技术开发富含维生素 A 的玉米品种[J].中国生物工程杂志,2015,35(1):121.
- [80] 李玉杰.利用分子标记技术改良玉米粗缩病抗性[D].济南:山东大学,2010.
- [81] 余辉,宋伟,赵久然,等.分子标记辅助选择育成的玉米自交系京 24 单抗丝黑穗病和茎腐病改良材料性状分析[J].分子植物育种,2014,12(1):56-61.
- [82] RIBAUT J M,RAGOT M.Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: The backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives [J].J Exp Bot,2007,58(2):351-360.
- [83] ZHAO X R,TAN G Q,XING Y X,et al.Marker-assisted introgression of qHSR1 to improve maize resistance to head smut[J].Mol Breed,2012,30(2):1077-1088.
- [84] XU Z N,HUA J G,WANG F F,et al.Marker-assisted selection of *qMrdd8* to improve maize resistance to rough dwarf disease[J].Breed Sci,2020,70(2):183-192.