

## 34份新选育玉米自交系抗瘤黑粉病鉴定及抗性遗传分析

肖明纲<sup>1,2</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院生物技术研究所, 黑龙江哈尔滨 150028; 2. 黑龙江省农业科学院博士后工作站, 黑龙江哈尔滨 150086)

**摘要** 2018—2020年连续3年对34份玉米自交系进行抗瘤黑粉病人工接种鉴定, 筛选到高抗玉米瘤黑粉病材料8份, 占鉴定总材料的23.5%; 抗材料4份, 占鉴定材料的11.8%; 中抗材料7份, 占鉴定材料的20.6%; 感病材料15份, 占鉴定材料的44.1%。利用F<sub>2</sub>群体对8份高抗材料进行瘤黑粉病抗性遗传分析, 抗感植株分离比例和适合性测验证明, 自交系Z17HEB-19、Z17HEB-29、Z17HEB-35和Z17HEB-38对玉蜀黍黑粉菌的抗性可能受1对显性单基因控制。该研究结果为今后我国玉米瘤黑粉病抗性种质的引进及利用提供重要参考。

**关键词** 玉米自交系; 瘤黑粉病; 抗性评价; 遗传分析

**中图分类号** S435.131 **文献标识码** A

**文章编号** 0517-6611(2023)06-0141-03

**doi**: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.06.034



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Identification of 34 Newly Maize Inbred Lines Resistance to Common Smut and Analysis of Resistance Genetics

XIAO Ming-gang<sup>1,2</sup> (1. Biotechnology Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150028; 2. Postdoctoral Programme, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract** From 2018 to 2020, 34 newly maize inbred lines were identified and evaluated for resistance to common smut. The results showed that eight maize inbreds were highly resistant to common smut, accounting for 23.5%. Four maize inbreds were resistant to common smut, accounting for 11.8%. Seven maize inbreds were moderately resistant to common smut, accounting for 20.6%. Fifteen maize inbreds were susceptible to common smut, accounting for 44.1%. *Ustilago zeae* was used to test the F<sub>2</sub> populations for analyzing the inheritance of common smut resistance in the eight highly resistance maize inbred lines. Genetic analysis suggested that Z17HEB-19, Z17HEB-29, Z17HEB-35 and Z17HEB-38 of eight inbred lines probably carried a single dominant gene conferring their resistance to common smut. The results provided useful information for the introduction of maize germplasms and genetic improvement for resistance to common smut.

**Key words** Maize inbred lines; Common smut; Resistance evaluation; Genetic analysis

玉米瘤黑粉病是我国玉米生产中的一种重要病害, 由玉蜀黍黑粉菌(*Ustilago zeae* (Beckm.) unger) 侵染引起, 在侵染部位形成形状各异、大小不一的肿瘤, 土壤、气流和种子均可传播, 且在整個生育期的不同时期均可侵染发病, 因此, 玉米瘤黑粉病在我国普遍发生, 发病率一般为5%~10%, 严重时可能造成30%~80%的产量损失<sup>[1-3]</sup>。近年来, 因耕作制度的变革、常年连作、推广品种缺乏抗性及适宜的气候条件, 使得瘤黑粉病在我国各玉米产区逐渐加重, 对玉米安全生产带来越来越大的影响<sup>[4-8]</sup>。河北省隆尧县2014年玉米瘤黑粉病大发生, 云南省大关县2015年玉米瘤黑粉病大发生, 及2016年河北省玉米瘤黑粉病大面积暴发, 均造成玉米大面积减产<sup>[9-12]</sup>。2014—2016年, 前期高温干旱、中后期低温多雨等适宜发病的环境条件导致玉米瘤黑粉病普遍发生, 东北三省受侵染玉米面积高达995.33万hm<sup>2</sup><sup>[13]</sup>。2015—2017年, 玉米瘤黑粉病在甘肃省天水市普遍发生, 一般田间病株率为5%~12%, 造成玉米产量损失高达15%以上<sup>[14]</sup>。因此, 有效防治玉米瘤黑粉病的发生和危害对于玉米的安全生产具有重要意义。

选育抗病品种是控制玉米瘤黑粉病发生和危害最经济有效的措施, 而丰富的抗病种质资源则是抗病育种的材料基础。国内很多学者对于玉米瘤黑粉病抗性种质资源筛选和鉴定做了大量工作。通过人工接种鉴定, 姜晓颖等<sup>[15]</sup>、薛春生等<sup>[16]</sup>、王泽浩<sup>[6]</sup>、贾娇等<sup>[17]</sup>均筛选到对瘤黑粉病具有抗性

的资源, 抗性资源占比分别为81.0%、42.1%、100.0%和85.9%。而于玲玲等<sup>[18]</sup>、王铁兵等<sup>[19]</sup>、段灿星等<sup>[20]</sup>和张文洁<sup>[21]</sup>的鉴定结果则相反, 在所鉴定材料中, 仅有少量玉米自交系对瘤黑粉病具有抗性, 占比分别为25.0%、23.3%、32.9%和34.3%。严理等<sup>[22]</sup>采用苗期注射人工接种方法评价了22个玉米品种对瘤黑粉病的抗性, 结果表明, 73%的品种具有抗性。而施艳等<sup>[23]</sup>的鉴定结果表明, 参试玉米品种对瘤黑粉病的抗性水平在不同年份间差异较大。鲜食玉米新品种中也存在对瘤黑粉病具有抗性的品种, 周天旺等<sup>[24]</sup>认为鲜食玉米品种中抗瘤黑粉病品种比较丰富, 抗性品种占比为89.4%, 而郭成等<sup>[25]</sup>鉴定结果则表明, 鲜食玉米中抗瘤黑粉病的品种较为匮乏, 占比仅为11.9%。段灿星等<sup>[26]</sup>在田间自然发生条件下通过多年多点田间调查发现, 玉米瘤黑粉病的发生受环境条件影响较大, 需要自然发病和人工接种鉴定相结合才能获得精准表型。

目前玉米瘤黑粉病在我国各玉米种植区发生越来越普遍, 危害也越来越严重, 针对这种情况, 笔者利用人工接种方法, 对新选育的34份玉米种质资源进行玉米瘤黑粉病抗性鉴定和评价, 并对高抗种质资源进行连续多年鉴定, 探究其真实抗性水平, 以期玉米抗瘤黑粉病新品种培育筛选有效种质资源; 利用F<sub>2</sub>群体对高抗瘤黑粉病材料进行抗性遗传分析并初步定位抗病基因, 丰富抗玉米瘤黑粉病基因资源, 为抗病基因的进一步利用奠定基础。

### 1 材料与方法

**1.1 供试自交系** 34份新选育的稳定玉米自交系。抗病鉴定对照材料齐319高抗玉米瘤黑粉病, 掖478高感玉米瘤黑

**基金项目** 黑龙江省博士后基金项目(LB-Z14186)。

**作者简介** 肖明纲(1974—), 男, 河南虞城人, 副研究员, 博士, 从事玉米抗病种质资源鉴定及抗性遗传分析。

**收稿日期** 2022-05-15

粉病。2018—2020年连续3年对这些玉米材料进行了抗瘤黑粉病鉴定,抗性评价以3年数据最高级别计算。

**1.2 供试病原菌** 玉蜀黍黑粉菌(*Ustilago zaeae*),分离自黑龙江省玉米发病组织,由笔者所在课题组采集、分离、纯化、培养并保存。

**1.3 抗病鉴定圃设置<sup>[1]</sup>** 玉米抗瘤黑粉病鉴定圃设在哈尔滨呼兰,鉴定材料顺序排列,每份材料种植4行,行长5.00 m,行距0.65 m,每行留25~30株,株距略小于大田生产,每份材料至少保苗100株,田间正常管理。在玉米展6~8叶期,采用注射法接种,7 d后进行第2次接种,乳熟后期进行抗性调查。

**1.4 人工接种及抗性评价** 接种体制备、具体接种方法、反应分级及抗性评价标准参见《玉米病虫害田间鉴别手册》<sup>[1]</sup>。

**1.4.1 玉米瘤黑粉病接种体准备。**在田间采集玉米瘤黑粉病植株上的未破裂菌体,放置通风处阴干,在干燥条件下保存。接种前,将保存的瘤体破碎,并将厚垣孢子团充分碾碎,用50目细筛过筛,使病原菌成为均一的菌粉。在直径90 cm培养皿中放置2~3层滤纸并充分浸润,均匀撒入0.2 g菌粉/皿。25℃下保湿72 h,然后将每皿的菌粉洗入1 L水中,配制成浓度约为 $1 \times 10^5$ 孢子/mL接种液,接种液中加入0.5 g/L的葡萄糖<sup>[1]</sup>。

**1.4.2 玉米瘤黑粉病人工接种方法。**在玉米6~8叶期时采用注射法人工接种。接种时,在植株中部接近生长点的部位从外向内且刺入心叶内,注射菌液2 mL/株。7 d后进行第2次接种,接种后田间正常管理<sup>[1]</sup>。

**1.4.3 玉米瘤黑粉病抗性评价。**在玉米进入乳熟后期进行调查,逐株调查每份材料,分别调查总株数、发病株数,计算发病株率。发病株率0~1.0%为1级(HR),发病株率1.1%~5.0%为3级(R),发病株率5.1%~10.0%为5级(MR),发病株率10.1%~40.0%为7级(S),发病株率40.1%~100%为9级(HS)<sup>[1]</sup>。

**1.5 高抗玉米瘤黑粉病材料抗性遗传分析** 用高抗玉米材料与感病自交系掖478杂交,产生F<sub>2</sub>分离群体,在玉米6~8叶期时人工接种相应的F<sub>2</sub>群体和感病对照掖478,7 d后第2次人工接种,乳熟后期调查每个F<sub>2</sub>单株发病状况<sup>[1]</sup>。计算

各群体抗、感个体的分离比例,用SAS 8.2软件(SAS Institute, Raleigh, NC, USA)计算分离比例的 $\chi^2$ 值和概率值,进行分离比例的适合性测验。

## 2 结果与分析

**2.1 新选育自交系对瘤黑粉病的抗性鉴定与评价** 2018和2019年连续2年采用注射法评价了34份玉米自交系对瘤黑粉病的抗性,抗病对照齐319发病株率分别为0和0.8%,表现为高抗,感病对照掖478感病株率为89.3%和89.1%,表现为高感,抗感对照发病率差异明显,鉴定结果有效。在34份待鉴定材料中,共筛选到19份玉米自交系对瘤黑粉病具有抗性,占鉴定材料的55.9%,其中高抗材料8份(Z17HEB-17、Z17HEB-19、Z17HEB-20、Z17HEB-29、Z17HEB-31、Z17HEB-35、Z17HEB-38和Z17HEB-39),占鉴定材料的23.5%,抗材料4份(Z17HEB-12、Z17HEB-22、Z17HEB-32和Z17HEB-42),占鉴定材料的11.8%,中抗材料7份(Z17HEB-14、Z17HEB-24、Z17HEB-25、Z17HEB-27、Z17HEB-34、Z17HEB-37和Z17HEB-44),占鉴定材料的20.6%,感病材料9份(Z17HEB-11、Z17HEB-16、Z17HEB-18、Z17HEB-21、Z17HEB-30、Z17HEB-33、Z17HEB-36、Z17HEB-40和Z17HEB-43),占鉴定材料的26.5%,高感材料6份(Z17HEB-13、Z17HEB-15、Z17HEB-23、Z17HEB-26、Z17HEB-28和Z17HEB-41),占鉴定材料的17.6%。鉴定结果表明,在新选育的34份玉米材料中,有丰富的玉米瘤黑粉病抗原,可用于抗病亲本的选育及抗病材料的改良,以减轻玉米瘤黑粉病的危害,减少制种成本,提高制种产量。

**2.2 高抗材料抗玉米瘤黑粉病重复鉴定** 2020年对8份高抗玉米瘤黑粉病材料,又进行了重复鉴定,感病对照掖478发病株率为87.1%,抗病对照齐319发病株率为0,抗感对照充分发病,人工接种鉴定有效。结果发现,自交系Z17HEB-17、Z17HEB-19、Z17HEB-20、Z17HEB-29、Z17HEB-31、Z17HEB-35、Z17HEB-38和Z17HEB-39共8份材料3年间玉米瘤黑粉病抗性表现稳定,反映了其真实抗性水平(表1)。这些自交系可作为玉米抗瘤黑粉病的重要抗性资源,以拓展我国玉米抗瘤黑粉病种质的遗传基础。

表1 8份玉米自交系对玉米瘤黑粉病多年抗性鉴定

Table 1 Identification of resistance to *Ustilago maydis* of 8 newly maize inbred lines across years

自交系 Inbred lines	2018		2019		2020	
	病株率 Disease incidence//%	抗性评价 Resistance evaluation	病株率 Disease incidence//%	抗性评价 Resistance evaluation	病株率 Disease incidence//%	抗性评价 Resistance evaluation
Z17HEB-17	0.8	HR	0.9	HR	0.9	HR
Z17HEB-19	0.8	HR	0.9	HR	0.8	HR
Z17HEB-20	0.8	HR	0.8	HR	0.8	HR
Z17HEB-29	0.8	HR	0.8	HR	0.9	HR
Z17HEB-31	0.9	HR	0.9	HR	0.8	HR
Z17HEB-35	0.9	HR	0.9	HR	0.8	HR
Z17HEB-38	0.9	HR	0.9	HR	0.8	HR
Z17HEB-39	0.8	HR	0.8	HR	0.8	HR

注:HR,高抗。

Note:HR,Highly resistant.

**2.3 高抗玉米瘤黑粉病材料抗性遗传分析** 8 份高抗自交系与感病对照掖 478 配制杂交组合,人工接种  $F_2$  群体, $F_2$  单株对玉蜀黍黑粉菌的抗感表现结果表明,组合掖 478/Z17HEB-19、掖 478/Z17HEB-29、掖 478/Z17HEB-35 和掖 478/Z17HEB-38 的  $F_2$  群体抗感植株比例都符合 3:1 的分离比,而组合掖 478/Z17HEB-17、掖 478/Z17HEB-20、掖 478/Z17HEB-31 和掖 478/Z17HEB-39 的  $F_2$  群体抗、感植株比例不符合 3:1 的分离比(表 2),说明自交系 Z17HEB-19、Z17HEB-29、Z17HEB-35 和 Z17HEB-38 对玉蜀黍黑粉菌的抗性可能受 1 对显性单基因控制。

表 2 8 个  $F_2$  群体对玉蜀黍黑粉菌的抗性反应

Table 2 Reactions of 8  $F_2$  populations to *Ustilago maydis* of common smut

杂交组合 Cross	抗病植株数 R	感病植株数 S	分离比 $\chi^2$	P
掖 478/Z17HEB-17	549	215	4.020 9	0.044 9
掖 478/Z17HEB-19	551	158	2.787 5	0.095 0
掖 478/Z17HEB-20	549	151	4.388 6	0.036 2
掖 478/Z17HEB-29	547	157	2.734 8	0.098 2
掖 478/Z17HEB-31	550	150	4.761 9	0.029 1
掖 478/Z17HEB-35	548	155	3.266 5	0.070 7
掖 478/Z17HEB-38	546	153	3.609 4	0.057 5
掖 478/Z17HEB-39	546	152	3.868 2	0.049 2

### 3 讨论

玉米瘤黑粉病属于土传病害,一旦传入很难根除,防治困难。玉米瘤黑粉病在整个生育期都能发生,田间喷药很难起效,同时从生产成本和环境保护角度看,化学方法也不能作为防治玉米瘤黑粉病的首选措施。

连续 2 年人工接种鉴定评价了 34 份玉米自交系对瘤黑粉病的抗性,共筛选到 19 份玉米自交系对瘤黑粉病具有抗性,占鉴定材料的 55.9%,其中高抗材料 8 份,且抗性稳定,感病材料 15 份,占鉴定材料的 44.1%。这些抗病资源将会在一定程度上拓宽我国玉米抗病种质遗传基础,对我国玉米抗病资源创制及抗病品种培育具有重要的应用价值。

8 份高抗自交系与感病对照掖 478 配制杂交组合,人工接种  $F_2$  群体,利用  $F_2$  群体抗感表现型对 11 份高抗玉米瘤黑粉病材料进行抗性遗传分析,结果表明组合掖 478/Z17HEB-19、掖 478/Z17HEB-29、掖 478/Z17HEB-35 和掖 478/Z17HEB-38 的  $F_2$  群体抗感植株比例都符合 3:1 的分离比,说明自交系 Z17HEB-19、Z17HEB-29、Z17HEB-35 和 Z17HEB-38 对玉蜀黍黑粉菌的抗性可能受 1 对显性单基因控制。

尽管质量抗性基因和数量抗性基因有明显的不同,但在某些情况下,质量抗性基因更像一个主效 QTL<sup>[27-28]</sup>。自交系 Z17HEB-17、Z17HEB-19、Z17HEB-29、Z17HEB-31、Z17HEB-35 和 Z17HEB-38 年际间感病植株百分率均有波动,而自交系 Z17HEB-20 和 Z17HEB-39 年际间感病植株百分率比较恒定,均为 0.8%,但病瘤数量、病瘤大小和病瘤产

生部位可能有差异。仅根据病情级别,自交系 Z17HEB-19、Z17HEB-29、Z17HEB-35 和 Z17HEB-38 对瘤黑粉病的抗性可能受 1 对显性单基因控制,而如果综合考虑病情级别、病瘤大小、病瘤数量、危害程度及环境因素,自交系 Z17HEB-19、Z17HEB-29、Z17HEB-35 和 Z17HEB-38 对瘤黑粉病的抗性也可能受少数主效 QTL 控制,存在微效基因的作用。下一步将重点开展质量单基因或主效 QTL 位点的定位。

### 参考文献

- [1] 王晓鸣,石洁,晋齐鸣,等.玉米病虫害田间手册:病虫害鉴别与抗性鉴定[M].北京:中国农业科学技术出版社,2010.
- [2] 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.
- [3] 鄂文弟,王振华,张立国,等.玉米瘤黑粉病的研究进展[J].玉米科学,2006,14(1):153-157.
- [4] 张成华,刘铁山,高新学,等.我国玉米抗病育种进展及育种对策[J].玉米科学,2006,14(S1):5-6.
- [5] 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):131-134.
- [6] 王泽浩,张掖市制种玉米品种对瘤黑粉病和丝黑穗病抗病性鉴定[J].现代农业科技,2013(19):141-143.
- [7] 谢颖,乔喜红,杨成德,张掖市玉米瘤黑粉病及锈病发生进程初探[J].甘肃农业大学学报,2013,48(2):58-61.
- [8] 李锦龙,贺建华,柳晓玲.兰州市旱作玉米瘤黑粉病发生特点及防治措施初探[J].中国植保导刊,2015,35(3):41-44.
- [9] 高炳华,隆尧县玉米瘤黑粉病发生情况及防治措施[J].中国农技推广,2015,31(5):48-49.
- [10] 袁晓逸.玉米瘤黑粉病发生与防治[J].中国农业信息,2016(4):108-109.
- [11] 边亚辉.玉米瘤黑粉病的危害与防治[J].河北农业,2016(1):39-40.
- [12] 张书.皖北玉米瘤黑粉病的发生与防治[J].现代农业科技,2017(12):124,128.
- [13] 梁爽.玉米抗瘤黑粉病 QTL 定位[D].沈阳:沈阳农业大学,2018.
- [14] 王双全,谢谦,张升恒,等.天水市玉米瘤黑粉病发生情况调查及药剂防治研究[J].现代农业科技,2018(9):135-136.
- [15] 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(2):57-58.
- [16] 薛春生,姜晓颖,高颖,等.19 种骨干自交系对 5 种玉米主要病害的抗性鉴定研究初报[J].玉米科学,2009,17(3):124-126.
- [17] 贾娇,张伟,孟玲敏,等.71 份新选育自交系对主要玉米病害的抗性分析[J].东北农业科学,2021,46(5):47-50.
- [18] 于玲玲,李媛,黄艳红,等.20 份黄改系玉米自交系抗病性鉴定及配合力分析[J].种子,2020,39(5):110-113.
- [19] 王铁兵,王鹏,蒋建军,等.玉米自交系对瘤黑粉病抗性鉴定及遗传多样性分析[J].西北农业学报,2020,29(11):1729-1740.
- [20] 段灿星,朱振东,武小菲,等.玉米种质资源对六种重要病虫害的抗性鉴定与评价[J].植物遗传资源学报,2012,13(2):169-174.
- [21] 张文洁.瘤黑粉菌侵染玉米的组织细胞学差异及自交系抗性鉴定[D].沈阳:沈阳农业大学,2020.
- [22] 严理,李智敏,陈佳,等.不同玉米品种对瘤黑粉病抗性的初步鉴定[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2017,43(1):42-46.
- [23] 施艳,燕照玲,王珂,等.河南省夏玉米品种对 6 种主要病害的抗性评价[J].河南农业科学,2019,48(6):95-98,105.
- [24] 周天旺,王春明,张小杰,等.47 份鲜食玉米对丝黑穗病和瘤黑粉病的抗性鉴定与评价[J].中国蔬菜,2020(3):51-55.
- [25] 郭成,张小杰,王春明,等.42 份鲜食玉米品种对丝黑穗病和瘤黑粉病的抗性[J].西北农业学报,2021,30(9):1427-1433.
- [26] 段灿星,董怀玉,李晓,等.玉米种质资源大规模多年多点多病害的自然发病抗性鉴定[J].作物学报,2020,46(8):1135-1145.
- [27] BADU-APRAKU B, GRACEN V, BERGSTROM G. A major gene for resistance to anthracnose stalk rot in maize[J]. Phytopathology, 1987, 77(6):957-959.
- [28] JUNG M, WELDEKIDAN T, SCHAFF D, et al. Generation-means analysis and quantitative trait locus mapping of anthracnose stalk rot genes in maize[J]. Theoretical and applied genetics, 1994, 89(4):413-418.