

玉米抗南方锈病种质资源初步鉴定及遗传多样性分析

陈文娟^{1,2}, 李万昌¹, 杨知还², 孙素丽², 王晓鸣², 朱振东², 段灿星²

(¹河南师范大学生命科学学院, 新乡 453007; ²中国农业科学院作物科学研究所/国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程, 北京 100081)

摘要:南方锈病是玉米生产上的重要病害。2013-2015 年在广西南宁和北京昌平对 903 份玉米种质资源进行了抗南方锈病的初步鉴定与评价, 并利用 SSR 标记对筛选出的部分抗性材料进行了遗传多样性分析。结果表明, 在 903 份种质中, 8 份自交系在广西南宁和北京昌平对南方锈病表现高抗(HR), 占总鉴定种质的 0.9%; 29 份材料表现为抗病(R), 占比 3.2%, 包括 27 份自交系和 2 份农家种; 中抗种质(MR) 100 份, 占比 11.1%; 感病(S)和高感(HS)种质分别为 181 和 585 份, 占鉴定材料的 20.0% 和 64.8%。由此可见, 玉米资源中高抗南方锈病的种质较为匮乏, 在不同地点均表现高抗的材料是难得的抗源。不同地理来源的玉米种质对南方锈病的抗性水平存在较大差异, 其中抗性资源较为丰富的是源自内蒙古和山西的种质。42 对多态性 SSR 引物在 50 份抗锈病材料中, 共扩增出 141 个条带, 多态性条带 139 个, 多态位点百分率(PPB)为 98.58%。平均等位基因数(N_a)1.98, 平均有效等位基因数(N_e)1.59, 平均 Nei's 基因多样性(H)0.34, 平均多态性信息含量(PIC)0.78, 平均 Shannon's 信息指数(I)0.51; 通过 UPGMA 聚类分析, 50 份抗病材料被划分为 2 个类群, 其中, 第 I 类群又可划分为 5 个亚类, 表现出较高的遗传多样性, 为抗病育种中抗源的选择和利用提供参考信息。

关键词:玉米; 南方锈病; 抗性鉴定; SSR 标记; 遗传多样性

Preliminary Identification and Genetic Diversity Analysis of Maize Germplasm Resources for Resistance to Southern Corn Rust

CHEN Wen-juan^{1,2}, LI Wan-chang^{1,2}, YANG Zhi-huan², SUN Su-li²,
WANG Xiao-ming², ZHU Zhen-dong², DUAN Can-xing²

(¹College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007; ²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081)

Abstract: Southern rust is an important disease in maize production. A total of 903 maize accessions were screened for resistance to Southern Corn Rust in Nanning, Guangxi and Changping, Beijing from 2013 to 2015. And the SSR markers were adopted in genetic diversity analysis of the selected partially resistant materials. In Nanning, Guangxi and Changping, Beijing, both of the results showed that among the 903 germplasm, 8 inbred lines were highly resistant to southern corn rust, accounting for 0.88% of the total germplasm. Twenty-nine germplasm, including 27 inbred lines and 2 landraces were resistant to this disease, accounted for 3.2% of total accessions, 100 germplasm was moderately resistant, accounted for 3.2% of total accessions, 181 and 585 accessions was susceptible and highly susceptible to southern corn rust, accounting for 20.0% and 64.8% of the total materials, respectively. It can be seen that maize germplasm with high resistance to southern corn rust is relatively scarce and hence the highly resistant accessions expressed in both areas are the valuable resources. There exists difference in resistance to southern corn rust among maize germplasm from different geographical areas, the resistant germplasm was most frequently screened from Inner Mongolia, followed by Shanxi. Forty-two pairs polymorphic of SSR primers were detected.

收稿日期: 2017-08-21 修回日期: 2017-09-23 网络出版日期: 2018-02-09

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180209.0900.014.html>

基金项目:作物种质资源保护子项(2016NWB036-12); 国家现代农业(玉米)产业技术体系(CARS-02); 中国农业科学院科技创新工程; 国家科技基础条件平台(NICGR2016-008)

第一作者研究方向为玉米抗病鉴定与抗性基因发掘, E-mail: 1273298205@qq.com。李万昌为共同第一作者

通信作者: 段灿星, 主要从事玉米种质资源抗病研究。E-mail: duancanxing@caas.cn

ted and a total of 141 alleles were amplified in the 50 accessions, including 139 polymorphic bands, with polymorphic site percentage (PPB) of 98.58%. The average number of alleles (N_a) was 1.98, the average effective number of alleles (N_e) was 1.59, with the average Nei's gene diversity (H) of 0.34. The average polymorphism information content (PIC) and Shannon's information index (I) were 0.78 and 0.51, respectively. Using UPGMA analysis, the 50 maize accessions were classified into two groups of which the first group contains five heterosis subgroups with relatively high genetic diversity, which can provide reference information for the selection and utilization of resistance sources in disease resistance breeding.

Key words: maize; southern corn rust; resistance identification; SSR marker; genetic diversity

玉米 (*Zea mays* L.) 是一年生禾本科农作物, 是全球范围内种植面积最大、总产量最高的粮食作物, 也是我国目前总产量最高的农作物^[1]。玉米南方锈病是由多堆柄锈菌 (*Puccinia polysora* Underw.) 引起的世界性气流传传播病害, 主要分布在东南亚、非洲、美洲中南部等热带、亚热带玉米种植地区^[2]。该病菌由 Underwood 于 1891 年在美国阿拉巴马州的鸭茅状摩擦禾 (*Tripsacum dactyloides*) 上首次发现, 并在 1897 年正式命名。直至 1949 年在非洲玉米生产区爆发流行并造成严重的产量损失才开始引起人们对该病的重视^[3]。我国发现该病害比国外较晚, 在 20 世纪 70 年代时主要发生在海南、广西和广东的少数地区。最早的报道是在 1972 年, 段定仁等^[4]在海南的三亚、陵水和乐东等地先后发现此病。病害流行时, 病菌橙黄色的夏孢子堆和散出的夏孢子覆盖在玉米叶片上, 致使其失去光合功能, 很快干枯死亡, 引起产量损失, 严重时可达 80%, 甚至绝收^[5-6]。1998 年该病首次北移, 在我国江苏、河南、山东、山西、河北、浙江等省爆发流行, 并有向北蔓延之势^[7]。2004 年南方锈病再次在我国主要玉米种植区爆发流行, 导致大面积减产, 其中山东省莱州的病田率高达 80%; 据河南省植保站不完全统计, 河南省发病面积 66.7 万 hm^2 , 占全省玉米面积的 27.8%, 病田率最高达 90%^[6,8-9]。

南方锈病的发生常与气候条件紧密相关, 尤其与台风的活动路径关系较为密切。因此, 该病害的发生往往具有一定的突发性和爆发性, 在生产实践中很难进行有效防控。种植和利用抗病品种是控制南方锈病最安全、经济和有效的措施, 但目前生产上绝大多数的主栽品种感南方锈病, 因此选育抗性品种或对现有的优良品种进行抗性改良, 是玉米育种的一个重要靶向。优异的抗性种质资源是进行抗病育种的重要物质基础。目前, 能用于培育抗病品种的优异抗性种质相对匮乏。R. A. Rodrigues 等^[5]对引进的美国玉米种质资源进行抗南方锈病鉴定发现, 大部分为感病品种。近年来, 国内也相继开展了

玉米种质资源抗南方锈病的鉴定与评价工作, 筛选出一些抗性种质, 但绝大多数玉米品种和自交系对南方锈病表现感病或高感^[9-11]。

为避免因抗源单一而造成未来抗性丧失及损失的风险, 需要筛选不同来源或背景并具有稳定抗性的优异种质资源。本研究对 903 份玉米种质在广西南宁和北京昌平 2 个鉴定圃进行了抗南方锈病的接种鉴定, 并利用 42 对均匀分布于全基因组的多态性 SSR 标记对 50 份抗性种质进行遗传多样性研究, 了解不同抗性品种间的亲缘关系和变异程度, 以期筛选出一批抗性稳定、遗传差异较大的玉米种质, 为玉米抗南方锈病育种提供优异的抗性资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料: 玉米南方锈病抗性鉴定材料共 903 份, 其中自交系 715 份、农家种 185 份、国内群体 3 份, 分别占 79.2%、20.5% 和 0.3%; 抗性种质遗传多样性分析材料共 56 份, 包括 50 份抗性玉米种质: 9 份为本次鉴定中筛选的材料, 41 份为本课题组多年鉴定的具有稳定抗性的种质 (表 1) 和 6 个杂种优势亚群的标准测验种: B73、掖 478、Mo17、齐 319、黄早四和丹 340 (表 2)。由中国农业科学院作物科学研究所作物种质资源保护与研究中心提供。

菌种来源: 接种鉴定所用的玉米南方锈病病原菌从当年春玉米南方锈病典型病株叶上采集, 人工搓洗叶片, 过滤, 获得夏孢子悬浮液, 备用 (接种当天进行采集)。

1.2 田间接种调查

1.2.1 田间种植 2013-2015 年鉴定均在广西南宁和北京昌平试验基地进行。8 月中旬播种, 鉴定材料随机排列, 单行种植。每份材料播种行长 5 m, 行距 0.7 m, 每行留苗 20~25 株, 每 50 行设自交系齐 319 和黄早四为高抗和高感对照材料。按大田生产进行正常田间管理。

表 1 用于遗传多样性分析的 50 份抗性种质

Table 1 Fifty resistant maize accessions for genetic diversity analysis

编号 No.	种质名称 Name	抗性 Resistance	编号 No.	种质名称 Name	抗性 Resistance	编号 No.	种质名称 Name	抗性 Resistance
1	冀库 6	R	18	白玉米	HR	35	entry02	R
2	冀库 12	R	19	白苞谷	R	36	SW113	HR
3	辽 2202	HR	20	小黄玉米	HR	37	SW114	HR
4	辽 2204	HR	21	5304-48	HR	38	SW115	HR
5	遵 90110	HR	22	鲁 9801	R	39	CML180	HR
6	双 M9B-1	HR	23	金黄 55	HR	40	SW94	HR
7	A101	HR	24	紫苞谷	R	41	X178	R
8	A104	HR	25	金黄早	R	42	赤 556	HR
9	5362	R	26	3271	HR	43	KH13	R
10	5363	HR	27	W456	HR	44	CI24	R
11	5364	HR	28	丹 3130	HR	45	辽 5088	R
12	K36	HR	29	A69	HR	46	辽 51	R
13	SW107	HR	30	SW15	HR	47	5041	R
14	P25	HR	31	SW19	HR	48	5042	R
15	小白籽	HR	32	SW21	HR	49	赤 L382	R
16	八十天	HR	33	CA091	HR	50	CT3354	R
17	迟水白	R	34	LO932	HR			

表 2 标准测验种的划分

Table 2 Classification of standard test species

杂种优势群 Heterotic group	亚群 Subgroup	标准检测种 Standard test variety
Reid 种质(A)	BSSS	B73
	(Iowa 茎秆合成群体)	
	PA(美国现代 杂交种中 A 群种质)	掖 478
非 Reid 种质(B)	Lan	Mol7
	(典型 Lancaster 种质)	
	PB(美国现代 杂交种中 B 群种质)	齐 319
国内种质(D)	唐四平头	黄早四
	旅大红骨	丹 340

1.2.2 接种 在玉米生长至 8~9 叶期时进行人工接种鉴定。接种采用人工喷雾法,将获得的夏孢子悬浮液配成浓度为 6×10^4 个孢子/mL 的悬浮液,加入 0.02% 的吐温(v/v),充分搅匀,用背负式喷雾器在傍晚时分喷雾接种。每株玉米材料接种量为 7~8 mL 菌液,以保证田间湿度条件满足病菌的入侵和植株发病需求。若天气干旱时,需在接种后立即灌溉,提高田间的湿度。初次鉴定中表现感病和高感的种质被淘汰,而表现高抗、抗病和中抗的种质,次年采用相同方法进行重复鉴定。

1.2.3 田间调查鉴定 调查时目测每份鉴定材料群体的发病状况。调查重点部位为玉米果穗的上下

部位的 3 叶,根据病害症状描述,逐一对每份材料进行调查并记载病情级别^[12]。再根据病情级别进行抗病性综合评价。病情级别划分标准见表 3。

表 3 玉米对南方锈病的抗性级别划分

Table 3 Evaluation standard of the resistance to southern corn rust

病情级别 Scale	症状描述 Symptom	抗性 Resistance
1	叶片上无病斑或仅有无孢子堆的过敏性反应	HR
3	叶片上有少量孢子堆,占叶面积少于 25%	R
5	叶片上有中量孢子堆,占叶面积 26%~50%	MR
7	叶片上有大量孢子堆,占叶面积 51%~75%	S
9	叶片上有大量孢子堆, 占叶面积 76%~100%,叶片枯死	HS

1.3 SSR 标记分析

1.3.1 供试材料 DNA 提取 每份种质随机选取 3 个单株,取幼嫩叶片混合,采用 CTAB 法提取 DNA。

1.3.2 SSR 引物 从 MAIZE GDB 上查找 221 对 SSR 引物,并从中筛选出 42 对多态性较好的引物。所有引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成。

1.3.3 PCR 扩增及产物检测 PCR 扩增反应体系为 20 μ L,包括 1.5 μ L 10 $\times$ PCR buffer, 0.5 μ L 10 mmol/L dNTP,上下游引物(2 μ mol/L)各 1.5 μ L, Tag 酶 1.25 U (TIANGEN 2.5 U/ μ L),模板 DNA 1.5 μ L,水补足 20 μ L。PCR 反应在 PTC-100 Peltier Thermal Cycler 上进行,扩增程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,

94 ℃变性 1 min, 55 ~ 60 ℃退火 30 s (因引物而定), 72 ℃延伸 1 min, 35 个循环, 最后 72 ℃延伸 10 min。

PCR 扩增产物在 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳, AgNO₃ 染色, NaOH 显色后观察扩增结果, 统计扩增条带。

1.3.4 统计分析 统计 42 对 SSR 引物的扩增带型, 相同迁移率位置上, 有带记为 1, 无带记为 0, 缺失记为 9, 利用群体遗传学分析软件 PopGene 32 计算出等位基因数、遗传相似度和遗传距离, 标记位点的多态性信息含量 (PIC) 按公式 $PIC = 1 - \sum f_i^2$ 计算, f_i^2 表示 i 位点的基因频率^[13]。利用 NTSYSpc 2.11 软件的 UPMGA 法对 56 份抗性种质进行聚类分析, 并绘制聚类分析图。

表 4 对南方锈病表现为高抗 (HR) 和抗 (R) 类型的玉米种质资源

Table 4 The maize accessions with highly resistant (HR) and resistant (R) to southern corn rust

统一编号 Accession number	名称 Name	病级 Scale	抗性 Resistance	来源 Source	种质类型 Germplasm type
L030285	冀 186	1	HR	中国河北	自交系
L050725	664062	1	HR	中国内蒙古	自交系
L050731	沈 11-17	1	HR	中国内蒙古	自交系
L050772	95036	1	HR	中国内蒙古	自交系
L050487	丹 3130	1	HR	中国内蒙古	自交系
L040306	65 长 35	1	HR	中国山西	自交系
L040232	164	1	HR	中国山西	自交系
L040281	YH09-272	1	HR	中国山西	自交系
201278	D9C2	3	R	中国广西	农家种
L030306	20104046	3	R	中国河北	自交系
L080638	9872	3	R	中国黑龙江	自交系
L080640	12084	3	R	中国黑龙江	自交系
L080642	6969	3	R	中国黑龙江	自交系
L060331	辽 5088	3	R	中国辽宁	自交系
L060332	辽 51	3	R	中国辽宁	自交系
L050516	赤 H16	3	R	中国内蒙古	自交系
L050519	赤 H7	3	R	中国内蒙古	自交系
L050525	162	3	R	中国内蒙古	自交系
L050560	赤 005	3	R	中国内蒙古	自交系
L050562	赤 007	3	R	中国内蒙古	自交系
L050567	丹 79-1	3	R	中国内蒙古	自交系
L050568	巴系 501	3	R	中国内蒙古	自交系
L050577	赤 74521	3	R	中国内蒙古	自交系
L050587	热带-1	3	R	中国内蒙古	自交系
L050488	KH13	3	R	中国内蒙古	自交系
L050497	5041	3	R	中国内蒙古	自交系
L050498	5042	3	R	中国内蒙古	自交系
L050505	赤 L382	3	R	中国内蒙古	自交系
L050692	52213	3	R	中国内蒙古	自交系
L040299	08F65	3	R	中国山西	自交系
L040307	9d1	3	R	中国山西	自交系
L040329	S7	3	R	中国山西	自交系
L040339	白 p	3	R	中国山西	自交系
L040197	03 长 130	3	R	中国山西	自交系
L040253	05-949	3	R	中国山西	自交系
L703256	CI24	3	R	墨西哥	自交系
703249	entry02	3	R	墨西哥	农家种

2 结果与分析

2.1 玉米种质资源对南方锈病的抗性鉴定与评价

抗病鉴定对照材料齐 319 和黄早四分别表现为稳定高抗和高感, 表明接种成功。从 903 份被鉴定的玉米资源中共筛选出丹 3130、164、冀 186 等 8 份在广西南宁和北京昌平两地均是高抗南方锈病的种质, 占鉴定材料的 0.9%, 均为自交系; 29 份种质 (162、赤 H7、赤 H16 等) 表现抗病, 占总鉴定材料数的 3.2%, 包括 27 份自交系和 2 份农家种 (表 4); 100 份种质表现中抗、181 份和 585 份资源分别表现为感病和高感, 占鉴定材料的 11.1%、20.0% 和 64.8%。

2.2 不同地理来源的玉米种质对玉米南方锈病的抗性水平

在鉴定的 903 份玉米种质资源中,721 份来自中国的 11 个省份和自治区,182 份种质资源来自美国和墨西哥。其中 8 份高抗种质资源来自国内,主要是内蒙古和山西。29 份抗性种质有 27 份来自中国的内蒙古和山西,2 份来自墨西哥。从源自内蒙古的 246 份种质中筛选出 4 份高抗和 14 份抗性种质,分别占该地区总鉴定材料的 1.62% 和

5.69%;从源自山西的 158 份种质中筛选出 3 份高抗和 6 份抗性种质,占比分别为 1.90% 和 3.80%;在源自河北的 62 份种质中筛选出 1 份高抗和 1 份抗性种质;从中国的广西、黑龙江、辽宁及墨西哥的较少的种质资源中也筛选到了抗性种质;而从中国的湖北、吉林、陕西、上海、云南及美国的种质中未鉴定到抗性种质。表明不同地理来源的种质对玉米南方锈病的抗性水平存在较大的差异。具体情况如表 5 所示。

表 5 不同地理来源的玉米种质对玉米南方锈病的抗性统计

Table 5 Number of maize germplasm from different geographic areas tested for southern corn rust

来源 Origin	数量 No. of accessions	抗性 Resistance				
		HR	R	MR	S	HS
中国广西	8	0	1	3	2	2
中国河北	62	1	1	8	14	38
中国黑龙江	38	0	3	2	10	23
中国湖北	1	0	0	0	0	1
中国吉林	34	0	0	2	3	29
中国辽宁	19	0	2	2	4	11
中国内蒙古	246	4	14	18	34	176
中国山西	158	3	6	21	27	101
中国陕西	29	0	0	3	4	22
中国上海	3	0	0	1	1	1
中国云南	121	0	0	16	33	72
美国	166	0	0	14	44	108
墨西哥	18	0	2	10	5	1

2.3 引物的多态性分析

使用选取的 221 对 SSR 标记,对 50 份玉米种质资源进行了多态性分析,筛选出扩增带型稳定、多态性丰富且重复性好的 42 对 SSR 标记。利用筛选出的 42 对引物在 50 份抗南方锈病的种质中共扩增出 141 个条带,扩增片段长度为 60~250 bp,每对引物扩增条带数为 2~6 个,平均为 3.36 个,多态性条带为 139 个,多态位点百分率(PPB)为 98.58%。多态信息含量(PIC)变幅为 0.64~0.89,平均为 0.78。全部位点的 PIC 值都大于 0.50,均为高度多态位点,其中 umc1015、umc1403、umc1065 和 bnlgl863 位点的 PIC 值最高,为 0.89,umc2018 位点的 PIC 值最低,为 0.64。

2.4 抗性材料的遗传多样性

根据 PopGene 32 的分析结果,得到 50 份抗性材料之间的遗传相似系数范围在 0.44~0.95 之间,平均为 0.64。5363 与 5364 之间的遗传相似系数最高是 0.95,5041 与 5042 次之是 0.94,5363 与辽

2202、SW107 与遵 90110、SW113 与 SW115 间的相似系数在 0.9~0.92,部分材料间的遗传相似系数在 0.8~0.9,表明上述材料的遗传背景差异较小。除上述材料之间的遗传相似系数较高外,其余多数材料之间的相似系数在 0.75 之下,说明这些抗性材料中存在较高的遗传变异或遗传多样性。

利用 UPGMA,根据遗传相似系数对 6 份标准测验种和 50 份抗南方锈病种质构建聚类图(图 1)。当相似系数是 0.55 时,56 份材料被划分为 2 大类群,在 0.646 时,进一步将第 I 类群划分为 5 个亚群。这 5 个亚群依次是以齐 319 为代表的 PB 亚群,包括 5362、辽 2202、遵 90110、SW107、A104、5363、5364、P25、冀库 12、冀库 6、辽 2204、双 M9B-1、A101 和 K36 共 14 份材料;以黄早四为代表的唐四平头亚群,包括迟水白、鲁 9801、小黄玉米、小白籽、八十天、金黄早、白玉米、紫苞谷、5304-48、W456、白苞谷、金黄 55 和 3271 共 13 份材料;以丹 340 为代表的旅大红骨亚群,包括丹 3130、CA091、A69、SW19、

SW15、SW21、LO932 和 entry02 共 8 份材料;以 B73 为代表的 BSSS 亚群,包括 SW113、SW114 和 SW115 共 3 份材料;以 Mo17 为代表的 Lan 亚群,包括 SW94、CML180、CT3354、CI24、X178、赤 L382、辽 5088 和 KH13 共 8 份材料。以掖 478 为代表的 PA 群,包括赤 556、辽 51、5041 和 5042 共 4 份材料聚为

第 II 类群。本研究 SSR 聚类结果与所涉及玉米材料的系统进化基本一致。聚到 PA 亚群的 5 份材料和其他亚群材料之间的遗传相似系数较小,可能存在不同的抗源。上述研究表明所选材料范围较广,遗传多样性较丰富,为玉米育种家发掘新的抗源和科学利用抗病种质提供了十分有价值的信息。

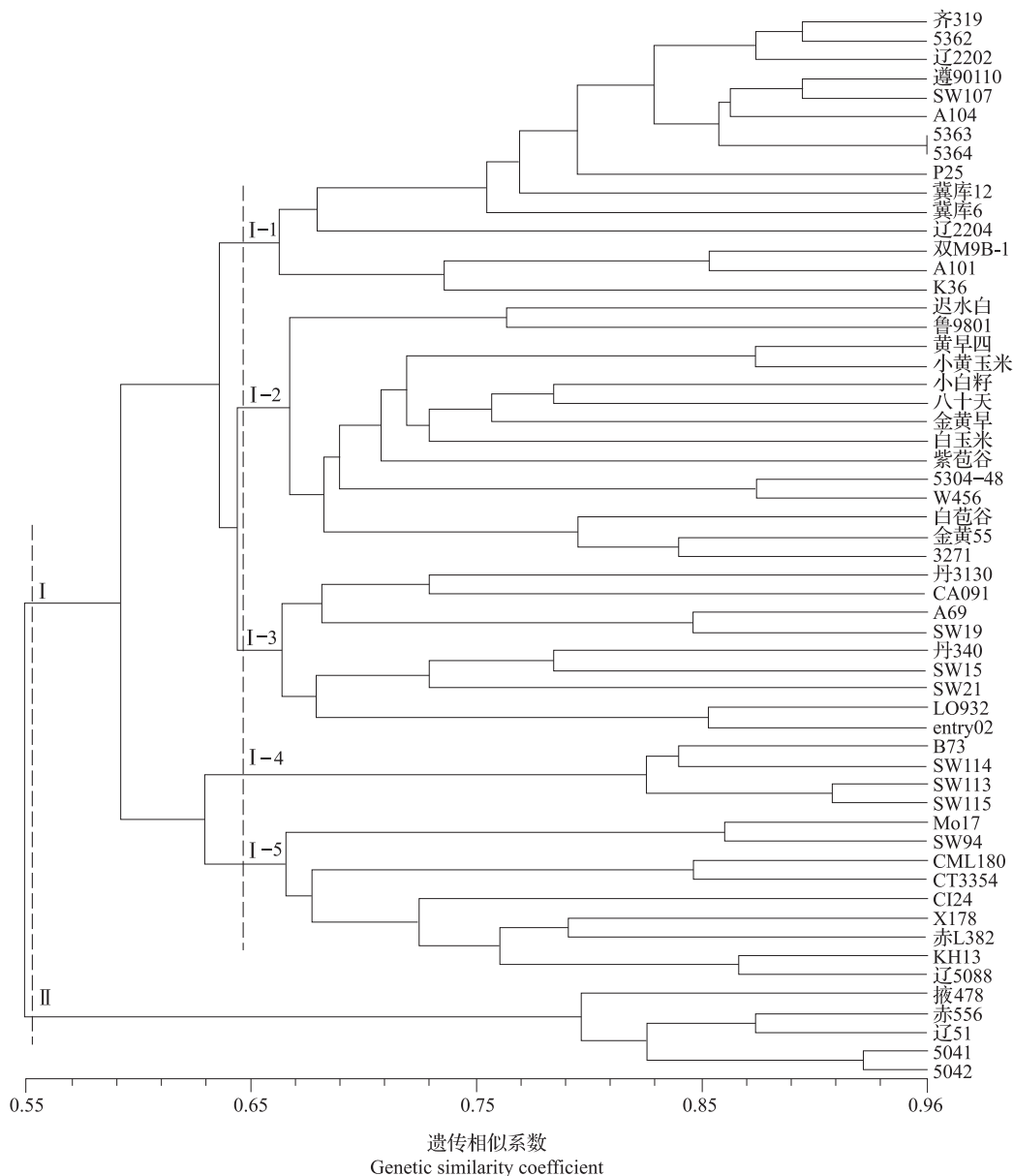


图 1 基于 SSR 标记的抗南方锈病玉米材料的聚类分析

Fig. 1 Dendrogram of southern rust resistance maize lines clustered by UPGMA based on SSR markers

3 讨论

筛选抗南方锈病优良种质,最基础的条件是具有广泛来源的玉米种质资源。收集不同地理来源的种质材料,扩大种质资源的覆盖范围,进行精确鉴定和科学评价,是获得抗南方锈病种质的一条重要途

径^[14]。本试验通过对 903 份玉米种质资源在广西南宁和北京昌平进行抗南方锈病的鉴定与评价,获得 8 份高抗种质,29 份抗性种质,100 份中抗种质,其余为 181 份感病和 585 份高感种质,分别占 0.9%、3.2%、11.1%、20.0%、64.8%。鉴定得到的 37 份抗性材料可为抗病基因定位、克隆等更进一步

的研究提供基础材料,并为抗南方锈病品种的培育提供可选择抗源。本研究采用多点多年的鉴定方法,所鉴定出的抗性种质不再局限于单个地点,对实际应用于育种生产有更高的价值。本次鉴定得到的高抗种质均为自交系,29 份抗性种质中自交系有 27 份,农家种 2 份,其中来自内蒙古和山西省的高抗和抗性种质资源占抗性种质的 73%,内蒙古和山西地区的种质对玉米南方锈病的抗性较强,表明抗性种质资源和地理来源有关,这与段灿星等^[15]对茎腐病和镰刀穗腐病抗性种质资源鉴定的结果较一致。造成不同地理来源的种质对玉米南方锈病的抗性水平存在较大差异的原因可能是:筛选种质资源的基数不同,导致不同地区的种质抗性水平差异较大;湖北、吉林、陕西和上海未筛选出抗性种质可能是筛选基数太小导致,而中国云南和美国未筛选出抗性种质,在一定程度上说明该地区抗南方锈病种质相对缺乏,也可能是筛选资源的覆盖度不够广泛所致。此次鉴定表明,感病材料所占比例明显高于抗病材料,且高抗材料所占比例最少。要获得高抗种质,除了扩大范围进行收集、鉴定和筛选高抗自交系外,还可通过种质创新或改良,解决现有种质资源中抗源相对匮乏的限制,打破抗源遗传背景单一的现状,以此实现对玉米南方锈病的长久有效控制。

玉米抗南方锈病种质在遗传组成上同源性越低,遗传基础越宽,对杂交育种越有利。根据中国玉米的育种基础材料,杂种优势群又细分为 6 个亚群。因此,抗病材料的有效选择和利用也需要明确其类群归属。所以,本研究利用多态性 SSR 标记对 6 个标准测验种和 50 份抗性材料进行遗传多样性分析。本试验中的 50 份抗性材料聚到了 6 个亚群中,说明这些材料具有丰富的遗传变异,对抗病育种中抗源的选择和利用提供有效的参考信息。本试验中聚类分析得到的结果与段灿星等^[15]、刘志斋等^[16]的研究结果基本一致。不同之处是本研究中将 3271 划分到唐四平头亚群,而段灿星等将其划分到 Lan 亚群中,可能是因为引物选取不同所致,可做进一步研究,精确其亚群划分。国内材料多为农家种,想要明确其遗传背景较困难。本试验利用 SSR 分子标记对其进行遗传基础研究,将小黄玉米、白玉米、八十天和小白籽等农家种划分到了唐四平头亚群,可为农家种在育种上的利用提供有效的信息。聚类结果

中有 14 份材料划分到了 PB 亚群中,13 份划分到了唐四平头亚群,说明这两个亚群中抗南方锈病的材料多于其他亚群,而且本试验中划分到 PB 亚群和唐四平头亚群的大部分种质为地理远缘,有较高的配合力,可获得抗多种病害的优良杂交种,为玉米育种工作者发掘并合理有效的利用抗源提供参考。辽 51、辽 5088 和辽 2202 分别划分到 PA、Lan 和 PB 亚群;丹 3130 和 5041 划分到旅大红骨和 PA 亚群;SW113、SW94、SW107 和 SW19 分别划分到 BSSS、Lan、PB 和旅大红骨亚群。说明同一地理来源的不同种质其遗传背景相差较大,可从中发掘新的抗源,为抗病育种工作者提供更多的选择。

利用分子标记研究南方锈病抗性种质资源的遗传多样性,可对育种方法、育种策略提供重要的参考信息,为提高育种水平和研究进化历程提供可靠的分子依据。因 SSR 标记具有多态性高、可靠性好,与目标基因共显性及重复性好、操作简单等优点,已被广泛用于玉米及多种生物的遗传多样性及其他研究^[17]。本研究利用筛选出的 42 对多态性 SSR 引物对来自不同地区的 50 份抗性材料进行扩增,平均每对引物检测到 3.36 个等位基因,多态性信息含量为 0.64~0.89,平均为 0.78。段灿星等^[18]利用 40 对多态性 SSR 引物在 45 份抗玉米南方锈病材料中扩增出 115 个等位基因位点,平均每对引物检测到的等位基因位点为 2.88 个,多态性信息含量平均为 0.46;崔永霞等^[19]以山西省 38 份玉米地方品种为材料,用 48 对 SSR 引物共检测出 368 个等位基因,多态性信息含量平均为 0.66;李新海等^[20]以我国 70 份主要玉米自交系为研究对象,用 64 对 SSR 引物检测出 248 个等位基因变异,平均 3.88 个,多态性信息含量平均为 0.523;郑淑云等^[21]利用 20 对 SSR 引物在 64 份玉米自交系中共检测出 96 个等位基因的变异,每对引物检测出等位基因数 2~9 个,平均 4.36 个,平均多态信息含量为 0.61。相比以往研究,本研究所选用 SSR 位点检测到的多态性信息量较为丰富,表明本试验所选用的种质材料遗传多样性较高,可为抗病遗传和抗病品种选育等研究提供有价值的参考。

致谢:本研究的玉米种质材料由中国农业科学院作物科学研究所玉米种质资源课题组的石云素研究员提供,在此深表谢意。

(下转第 242 页)