

玉米拟轮枝镰孢穗腐病遗传分析研究

郭子锋 王山荭 刘甲成 刘爱平 李文学

(中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081)

摘要: 培育抗性品种是解决玉米穗腐病最有效的途径。以抗性不同的5个玉米自交系为试验材料,通过双列杂交遗传交配设计,对杂交组合 F_1 和亲本在3个地点同时接种拟轮枝镰孢(*Fusarium verticillioides*),采用Griffing固定模型和Hayman模型进行穗腐病和穗长、穗粗、穗行数、行粒数、百粒重以及产量等6个农艺性状的遗传分析,旨在研究正交和反交对杂种 F_1 穗腐病抗性的影响。结果表明,穗腐病和6个农艺性状在组合间差异均达到极显著水平($P<0.01$),穗腐病与6个农艺性状之间均未达到显著相关。7个性状的一般配合力效应和特殊配合力效应均达到极显著水平($P<0.01$),反交配合力均未达到显著水平,玉米穗腐病的正交与反交接种后表型差异非常小。穗腐病的遗传符合加性-显性模型,且为部分显性。利用亲本组配玉米杂交种时,抗性亲本作为父本或者母本并不影响杂交种的抗性。

关键词: 玉米;拟轮枝镰孢穗腐病;遗传分析

Genetic Analysis of *Fusarium verticillioides* Ear Rot in Maize

GUO Zifeng, WANG Shanhong, LIU Jiacheng, LIU Aiping, LI Wenxue

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

玉米穗腐病是世界范围内玉米主要的穗部病害,由于引起穗腐病的真菌种类多,其防治较为困难。在我国,引起玉米穗腐病的两种主要真菌是拟轮枝镰孢(*Fusarium verticillioides*)和禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*),其中拟轮枝镰孢的发生范围更广,主要分布在我国的东北、东华北和黄淮海等玉米主产区^[1-3]。拟轮枝镰孢可通过花丝、茎部和穗部伤口侵染,携带病原菌的种子也会导

致玉米的系统感染^[4]。研究表明,玉米拟轮枝镰孢穗腐病(FER, *Fusarium ear rot*)与禾谷镰孢穗腐病(GER, *Gibberella ear rot*)之间存在较强的相关性^[5-6],二者可能存在相同的抗病机制。玉米穗腐病不但引起产量下降,还影响玉米的发芽率和幼苗成活率。引起玉米穗腐病的各种致病菌能够产生多种真菌毒素,且玉米穗腐病一般在生长后期发病,药剂防治较为困难。随着玉米机械化收获的普及,成熟时发病的穗子无法人工去除,只能和健康的穗子混收,极大地影响了玉米的储藏品质和最终的商品价值。

基金项目: 国家重点研发计划课题(2022YFD1201004);中国农业科学院农业科技创新工程行动(CAAS-XTCX2016009)

Newyork : Wiley, 2015

[2] 刘玉军. 玉米耐密性探析. 现代农业科技, 2017(9): 76-79

[3] 刘京宝,朱卫红,黄璐,夏来坤. 玉米耐密育种技术研究进展. 江西农业学报, 2011, 23(7): 93-96

[4] 王笑娟,刘彩凤,谢虹,陈少方,马永良,郝学景,张旭. 国外玉米耐密性研究进展. 安徽农业科学, 2015(34): 50-51, 139

[5] 王富贵,于晓芳,高聚林,王志刚,孙继颖,苏治军,胡树平. 高种植密度条件下玉米杂交种耐密性鉴定指标及评价方法. 玉米科学, 2017(6): 119-126

[6] 杨孝忱,高旭东,薛兵东,王德新,周旭梅. 玉米的耐密性及耐密型品种的选育. 种子世界, 2010(1): 31-32

[7] 苏方宏. 玉米耐密性的数学表达及其应用. 玉米科学, 1998(1): 52-54, 68

[8] 赵久然,王荣焕. 再议玉米耐密型品种的选育鉴定及配套栽培技术. 玉米科学, 2008, 16(4): 5-7

[9] 杨锦越,宋碧,罗英舰,张军,刘婕,杨翠,卢慧. 基于主成分分析及聚类分析对不同春玉米品种耐密性评价. 中国种业, 2018(8): 51-55

(收稿日期: 2023-07-14)

目前生产上并没有对穗腐病完全抗性的品种。玉米育种以常规育种为主,而杂交亲本的选配和杂种后代的选择是育种成功的关键,培育抗性玉米杂交种是解决穗腐病的根本途径。玉米杂交种的选育一般分为自交系的培育和杂交组合的筛选,因此自交系的抗性与其组配的杂交种的抗性之间的相关程度是决定间接选择效率的关键。有研究表明,自交系穗腐病抗性对其所配的杂交种抗性没有影响,原因是高抗与高感自交系所配的顶交种抗性差异不显著^[7];因此,认为对自交系的选择效果不如在杂交种中直接选择^[5]。还有研究表明,自交系穗腐病抗性是其所组配的杂交种抗性的重要指示,自交系与所组配的杂交种之间具有较高的相关性^[8-10]。一般情况下,高抗材料之间产生的杂交组合绝大多数表现高抗,敏感材料之间产生的杂交组合没有观察到高抗的^[8],中亲本优势一般为负值,即 F_1 的抗性高于两亲本的平均值^[8,11],但也有研究表明杂交种抗性水平与自交系本身无显著差异^[12]。

双列杂交是指一组供试亲本之间进行的两两杂交,在玉米育种工作中被广泛采用。双列杂交的分析方法主要有 Griffing 法^[13]和 Hayman-Jinks 法^[14]。Griffing 法能获得亲本的配合力等遗传参数, Hayman-Jinks 法则更侧重基因效应分析。本研究的目的是比较不同抗性自交系之间组配的杂交种之间的差异,了解自交系 FER 抗性与其所组配的杂交种抗性之间的关系,并检验正反交是否对杂交 F_1 的穗腐病抗性有影响。本研究采用双列杂交分析,可以检验一般配合力(GCA, General combining ability)和特殊配合力(SCA, Special combining ability)对 FER 抗性的相对重要性。

1 材料与方法

1.1 试验材料 本研究选用的5个亲本材料分别是 Mo17、早 21、铁 7922、CML421 和 CML426。其中 CML421 和 CML426 来自于国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)。根据之前鉴定的结果,Mo17、早 21 为高感 FER 的自交系,铁 7922 为中抗的自交系,而 CML421 和 CML426 为高抗自交^[15]。

1.2 双列杂交设计 研究采用完全双列杂交设计,2020 年冬在海南 5 个亲本进行成对杂交,组配 20 个组合,成熟时按照组合混合收获 F_1 。2021 年 5 月 5 日和 5 月 9 日分别在吉林公主岭和北京顺义进行

春播,6 月 12 日在河南新乡进行夏播。双粒播种,3 叶期定苗,株距 25cm,行距 60cm,行长 3m,每行留苗 13 株。每个试验地点设置 2 个重复,苗期剔除假杂种植株。

1.3 菌种培养与接种方法 接种的病原菌为拟轮枝镰孢(*Fusarium verticillioides*),由云南省农业科学院 Dan Jeffers 和中国农业科学院农产品加工研究所郭维实验室提供。参考 Guo 等^[16]的方法进行菌种培养:将拟轮枝镰孢的菌株接种在 PDA (Potato dxtrose agar)培养基上,恒温箱中 25°C 暗培养 1 周,直至菌丝铺满整个培养基;然后将菌丝连同培养基倒入灭菌的玉米雄穗中进行再培养。接种时,将孢子悬浮液浓度调节为 50 万 /mL。本研究采用针刺果穗注射法进行接种。接种方法如下:

先制作一个长约 10cm,直径约 3~4mm 的针,从穗子的侧面斜刺入穗子中,刺入的深度以刚好破坏一个籽粒为最佳,然后用针头注入 1.5mL 的孢子悬浮液。接种时间选在 5:00-8:00 或 15:00-18:00 之间,避开高温和强日照,以提高接种成功率。为避免材料之间的交叉感染和空气中病原物孢子污染,接种后的穗子都套上授粉袋,每行至少接种 10 株。

在玉米完熟时,先判断接种是否成功,对接种成功的穗子,采用 9 级分类法进行分级并计算穗子的病情严重度,FER 病情严重度分级标准为 1=0% 果穗发病面积比例,2=1%,3=2%~5%,4=6%~10%,5=11%~20%,6=21%~40%,7=41%~60%,8=61%~80%,9=81%~100%,每行材料的病情严重度用接种穗子感病的平均值进行计算^[15-16]。

1.4 数据分析软件及模型软件 表型数据分析在 Excel 2019 中进行,相关分析使用 IciMapping4.2 软件。利用 R 包“DiallelAnalysisR”中的完全双列杂交 Griffing 模型和 Hayman 模型分析各个性状的 GCA、SCA 等遗传参数。

2 结果与分析

2.1 性状的遗传力与相关分析 对正反交 20 个组合的 FER 病情严重度和 6 个农艺性状穗长、穗粗、穗行数、行粒数、百粒重、产量进行方差分析(表 1),结果表明,这 7 个性状在组合间差异均达到极显著水平($P<0.01$),说明这 7 个性状的配合力效应对 F_1 有显著的影响,可以进一步分析 GCA、SCA 和反交配合力(REC)的效应。遗传力分析结果表明

(表1),穗行数的遗传力最高(0.813),产量的遗传力最低(0.672),FER的遗传力为0.772。相关分析表明,FER病情严重度与其他6个农艺性状之间均未达到显著相关,其中与FER病情严重度相关性较高的2个农艺性状分别是穗行数和百粒重,相关系数分别为0.347和-0.359。其他6个农艺性状之间的相关性分析表明,除了穗行数与穗长、百粒重没有达到显著相关外,其他农艺性状之间均达到显著相关,其中产量与行粒数的相关系数最高(0.910^{**})。

2.2 一般配合力与特殊配合力方差分析 表2的F检验结果表明,除产量外的其他6个性状GCA效应均达到极显著水平,所有7个性状的SCA效应均达到极显著水平,但REC均未达到显著水平。玉米FER的正交与反交接种后表型差异非常小(图1)。对7个性状的GCA、SCA和REC进行方差估计,都是SCA明显高于GCA和REC,以FER为例,其GCA、SCA和REC的方差估计值分别为19.33、67.37和7.04。

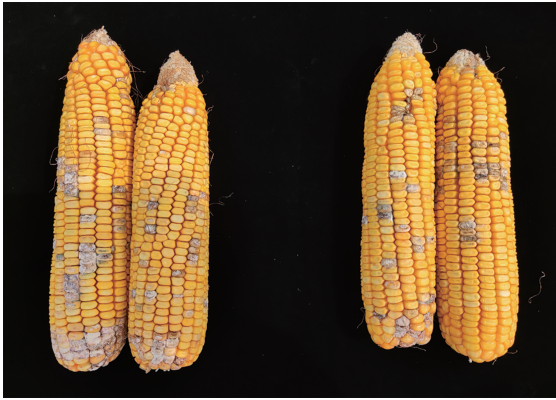
表1 双列杂交组合7个性状的方差分析、遗传力和表型相关分析

性状	均方	F值	遗传力	穗长	穗粗	穗行数	行粒数	百粒重	产量	FER
穗长	25.900	4.622 ^{**}	0.784	1.000 ^{**}	0.571 ^{**}	0.261ns	0.746 ^{**}	0.781 ^{**}	0.807 ^{**}	-0.174ns
穗粗	0.638	3.092 ^{**}	0.677		1.000 ^{**}	0.820 ^{**}	0.820 ^{**}	0.429 [*]	0.879 ^{**}	0.040ns
穗行数	8.471	5.355 ^{**}	0.813			1.000 ^{**}	0.641 ^{**}	0.015ns	0.653 ^{**}	0.347ns
行粒数	149.402	3.353 ^{**}	0.702				1.000 ^{**}	0.412 [*]	0.910 ^{**}	0.096ns
百粒重	83.222	3.846 ^{**}	0.740					1.000 ^{**}	0.585 ^{**}	-0.359ns
产量	73.210	3.051 ^{**}	0.672						1.000 ^{**}	0.039ns
FER	245.534	4.376 ^{**}	0.772							1.000 ^{**}

^{*}表示 $P < 0.05$, ^{**}表示 $P < 0.01$, ns表示未达到显著相关,下同

表2 双列杂交7个性状的组合间及配合力方差分析

性状	变异来源	自由度	总方差	均方	F值	方差估计
穗长	GCA	4	35.37	8.84	4.73 ^{**}	0.70
	SCA	10	155.65	15.57	8.33 ^{**}	13.70
	REC	10	16.16	1.62	0.87	-0.13
穗粗	GCA	4	1.09	0.27	3.95 ^{**}	0.02
	SCA	10	3.83	0.38	5.57 ^{**}	0.31
	REC	10	0.18	0.02	0.27	-0.03
穗行数	GCA	4	32.21	8.05	15.27 ^{**}	0.75
	SCA	10	32.26	3.23	6.12 ^{**}	2.70
	REC	10	3.30	0.33	0.63	-0.10
行粒数	GCA	4	234.96	58.74	3.95 ^{**}	4.39
	SCA	10	846.73	84.67	5.70 ^{**}	69.82
	REC	10	113.52	11.35	0.76	-1.75
百粒重	GCA	4	267.12	66.78	9.26 ^{**}	5.96
	SCA	10	368.30	36.83	5.11 ^{**}	29.62
	REC	10	30.36	3.04	0.42	-2.09
产量	GCA	4	62.83	15.71	1.96	0.77
	SCA	10	502.69	50.27	6.29 ^{**}	42.27
	REC	10	20.15	2.01	0.25	-2.99
FER	GCA	4	848.59	212.15	11.26 ^{**}	19.33
	SCA	10	862.05	86.21	4.58 ^{**}	67.37
	REC	10	329.17	32.92	1.75	7.04



左图为 CML411 (♀) × 旱 211 (♂),
右图为旱 21 (♀) × CML411 (♂)

图 1 CML411 和旱 21 正反交穗部表现

进一步分析 5 个自交系的一般配合力效应 (表 3), 对于 FER, Mo17 和 CML426 的 GCA 效应为负值, 旱 21、铁 7922 和 CML411 的 GCA 效应为正值, 但除了 CML426 外, 其他几个自交系 FER 的 GCA 均未达到显著水平。CML426 的穗长、穗粗、穗行数、行粒数和产量的 GCA 均为负值。CML411 和 CML426 的产量配合力为负值, 但未达到显著水平。

2.3 不同亲本性状的阵列方差 (V_r) 和遗传协方差 (W_r) 分析及遗传参数估算 根据 Hayman 的估算方法, 分别计算了这 7 个性状的遗传协方差 W_r 对阵列方差 V_r 的回归方程, 并计算 W_r+V_r 与亲本观察值 (Y_r) 之间的相关系数 (表 4)。t 测验表明, 回归系数假设 1 的检测, 均未达到显著水平, 表明这 7 个性状符合加性-显性模型, 其中 6 个农艺性状 W_r 对 V_r 的回归线在 W_r 轴上的截距小于 0, 而 FER 的截距大于 0, 可以推断, FER 的遗传为部分显性。穗长、穗粗、穗行数、行粒数、百粒重和产量性状 W_r+V_r 与 Y_r 之间呈负相关, FER 病情严重程度 W_r+V_r 与 Y_r 之间呈正相关, 但相关系数未达到显著水平, 说明 FER 抗性由显性基因调控。

3 讨论

通过分析玉米 7 个性状的 GCA 效应和 SCA 效应, 发现除了产量性状的 GCA 效应外, 都达到极显著水平 ($P<0.01$), 说明亲本自交系和不同组合之间具有显著差异, 但方差估计值均是 SCA 大于 GCA, 其中 FER 的 SCA 和 GCA 方差估计值分别为 67.37 和 19.33, 这与前人的研究结果有所不同, Hung 等^[8] 研

表 3 5 个亲本 7 个性状的一般配合力效应

性状	一般配合力效应				
	Mo17	旱 21	铁 7922	CML411	CML426
穗长	1.30	-0.32	-1.26	0.36	-0.08
穗粗	-0.16	0.22	0.18	-0.03	-0.21
穗行数	-0.79	1.16 ^a	1.03	-0.13	-1.27
行粒数	3.61	1.45	0.14	-1.02	-4.18
百粒重	0.26	-1.46	-2.88	1.78	2.31
产量	30.59	44.57	3.56	-4.82	-73.90
FER	-0.69	4.46	2.43	0.77	-6.98 ^b

表 4 7 个性状遗传协方差 (W_r) 与阵列方差 (V_r) 的相关回归分析

性状	W_r 与 V_r 的回归方程	P 值 (回归系数显著性检测)		W_r+V_r 与 Y_r 的相关系数
		回归系数假设 0	回归系数假设 1	
穗长	$y=-1.9495+0.3315x$	0.1780	0.1310	-0.9176 ^a
穗粗	$y=-0.1155+0.6746x$	0.1130	0.6891	-0.9251 ^a
穗行数	$y=-0.5573+0.7953x$	0.0038	0.1800	-0.9074 ^a
行粒数	$y=-21.1046+0.5651x$	0.1070	0.3920	-0.9564 ^a
百粒重	$y=-4.3476+0.6870x$	0.0046	0.0670	-0.9266 ^a
产量	$y=-10.500+0.3917x$	0.2680	0.3790	-0.6621
FER	$y=28.0740+0.3630x$	0.5410	0.9760	0.5883

究发现 GCA 能够较好地用于预测杂交种表现。与产量等农艺性状相比,FER 的 GCA/SCA 比值依然较高,且本研究使用的群体较小,因此,利用自交系 FER 的 GCA 来预测杂交后代的表现依然具有一定的意义。通常情况下,GCA 是由基因的加性效应决定的,SCA 是由基因的非加性效应决定的,即受基因间的显性、超显性和上位性效应所控制。关于玉米 FER,有研究认为抗病优势的产生是由于抗性的显性效应和一般杂种优势的间接效应^[17],也有认为玉米 FER 是加性效应与显性效应共同作用的结果^[18-19],现在一般认为,玉米 FER 遗传以加性效应为主,非加性效应较小,如果想获得高抗的杂交种,双亲都应具有抗性位基因^[8-9,12]。根据 Hayman 的估算方法,也认为玉米 FER 的遗传符合加性-显性模型,且为部分显性。

本研究发现,6 个农艺性状和 FER 病情严重度的 REC 均未达到显著水平,玉米 FER 的正交与反交接种后表型差异非常小(图 1),这表明正交和反交并不影响杂交种的抗性,因此在进行杂交种的组配时,抗性材料作为父本或者母本并没有影响,这与张新等^[11]的研究略有不同,其研究认为病情指数高的一方作母本则其 F₁ 的病指也高,即同一杂交组合中,母本的抗感性对杂种 F₁ 的影响较大,原因可能是研究材料的不同以及亲本本身的抗性差异。5 个自交系的 GCA 效应,只有 CML426 的 GCA 效应达到显著水平且为负值,表明该材料是重要的抗源,我们之前的研究也表明,热带种质的抗性强于温带种质。进一步挖掘热带玉米材料的抗性是未来解决我国穗腐病的重要途径^[20]。

参考文献

- [1] 孙华,张海剑,郭宁,石洁,陈丹,马红霞. 黄淮海夏玉米生产区穗腐病原菌的分离鉴定. 植物保护学报,2017,44(5): 796-802
- [2] 黄诗涵. 辽宁省玉米穗腐病镰孢菌病原学及化学防控技术研究. 沈阳:沈阳农业大学,2021
- [3] Logrieco A, Battilani P, Leggieri M C, Jiang Y, Haesaert G, Lanubile A, Mahuku G, Mesterházy A, Ortega-Beltran A, Pasti M, Smeu I, Torres A, Xu J, Munkvold G. Perspectives on global mycotoxin issues and management from the mycokey maize working group. Plant Disease, 2021, 105: 525-537
- [4] Blacutt A A, Gold S E, Voss K A, Gao M, Glenn A E. *Fusarium verticillioides*: advancements in understanding the toxicity, virulence, and niche adaptations of a model mycotoxigenic pathogen of maize. Phytopathology, 2018, 108: 312-326
- [5] Löffler M, Kessel B, Ouzunova M, Miedaner T. Covariation between line and testcross performance for reduced mycotoxin concentrations in European maize after silk channel inoculation of two *Fusarium* species. Theoretical Applied Genetics, 2011, 122: 925-934
- [6] Giomi G M, Kreff E D, Iglesias J, Fauguel G M, Fernandez M, Oviedo M S, Presello D A. Quantitative trait loci for *Fusarium* and *Gibberella* ear rot resistance in Argentinian maize germplasm. Euphytica, 2016, 211: 287-294
- [7] Eller M S, Robertson-Hoyt L A, Payne G A, Holland J B. Grain yield and *Fusarium* ear rot of maize hybrids developed from lines with varying levels of resistance. Maydica, 2008, 53: 231-237
- [8] Hung H, Holland J B. Diallel analysis of resistance to *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination in maize. Crop Science, 2012, 52: 2173-2181
- [9] Ouko A, Okath S, Netshifhehe N E I, Viljoen A, Rose L J. Tolerance to *Fusarium verticillioides* infection and fumonisin accumulation in maize F₁ hybrids and subsequent F₂ populations. Agronomy Journal, 2020, 112: 2432-2444
- [10] Butoto E, Marino T P, Holland J B. Effects of artificial inoculation on trait correlations with resistance to *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination in maize. Crop Science, 2021, 61: 2522-2533
- [11] 张新,汪红,王永普,王振华,王义波. 玉米穗粒腐病抗性遗传关系的研究. 作物杂志, 2000(3): 10-11
- [12] Netshifhehe N E I, Flett B C, Viljoen A, Rose L J. Inheritance and genotype by environment analyses of resistance to *Fusarium verticillioides* and fumonisin contamination in maize F₁ hybrids. Euphytica, 2018, 214: 235
- [13] Griffing B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. Australian Journal of Biological Sciences, 1956, 9(4): 463
- [14] Hayman B I. The theory and analysis of diallel crosses III. Genetics, 1954, 45(6): 155-172
- [15] Guo Z, Zou C, Liu X, Wang S, Li W X, Jeffers D, Fan X, Xu M, Xu Y. Complex genetic system involved in *Fusarium* ear rot resistance in maize as revealed by GWAS, bulked sample analysis, and genomic prediction. Plant Disease, 2020, 204: 1725-1735
- [16] Guo Z, Wang S, Li W X, Liu J, Guo W, Xu M, Xu Y. QTL mapping and genomic selection for *Fusarium* ear rot resistance using two F_{2:3} populations in maize. Euphytica, 2022, 218: 131
- [17] Clements M J, Maragos C M, Pataky J K, White D G. Sources of resistance to fumonisin accumulation in grain and *Fusarium* ear and kernel rot of corn. Phytopathology, 2004, 94: 251-260
- [18] Scott G E, King S B. Site of action of factors for resistance to *Fusarium moniliforme* in maize. Plant Disease, 1984, 68: 805-806
- [19] Nankam C, Pataky J K. Resistance to kernel infection by *Fusarium moniliforme* in the sweet corn inbred IL125b. Plant Disease, 1996, 80: 593-598
- [20] Coan M M D, Senhorinho H J C, Pinto R J B, Scapim C A, Tessmann D J, Williams W P, Warburton M L. Genome-wide association study of resistance to ear rot by *Fusarium verticillioides* in a tropical field maize and popcorn core collection. Crop Science, 2018, 58: 564-578

(收稿日期: 2023-07-13)