

# 低温处理对玉米自交系 AS-599 花粉生活力的影响

任明刚<sup>1</sup> 李春红<sup>1</sup> 赵艳花<sup>1</sup> 张毅<sup>1</sup> 唐谷<sup>1</sup> 汪朝明<sup>1</sup> 刘开锋<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>贵州省安顺市农业科学院, 安顺 561000; <sup>2</sup>贵州省碧江区坝黄农业服务中心, 铜仁 554307)

**摘要:**以玉米自交系 AS-599 为试验材料,通过室外采集花粉,室内不同低温处理后田间人工授粉,果穗成熟后室内风干,考察单穗粒重、百粒重、穗粒数性状,测定结实率、发芽率、发芽势等指标。研究了玉米花粉在室内低温条件下生活力的持续时间变化规律。结果表明:自交系 AS-599 新鲜花粉在 3~5℃条件下储存 2d,仍具有较高生活力,人工授粉结实子粒的结实率最高可达 97.99%,穗粒数在 308.67~333.67 粒之间,百粒重在 35.56~35.79g 之间,穗粒重在 114.15~118.28g 之间;经测定,发芽率达 98% 以上,发芽势达 96%,符合国家玉米种子质量标准。将花粉在 3~5℃条件下储存 2d,是保持玉米自交系 AS-599 花粉生活力的有效途径。

**关键词:**玉米;自交系 AS-599;花粉;生活力;低温

为加快种质资源创新利用,各育种单位都在不断引进各类型玉米种质资源。我国自 20 世纪 80 年代后期从美国先锋公司引进 PN78599 玉米杂交种以来<sup>[1]</sup>,其高抗、持绿性好、综合农艺性状好等特点很快被国内研究者重视,以此为基础群体,直接或间接选育出了一批优良自交系,并很快成为一个相对独立的遗传种质类群被应用研究,利用 PN78599 选系和衍生系组配出通过国家和省级农作物品种审定委员会审定的玉米品种 100 多个,累计推广面积已超过 1333 万  $\text{hm}^2$ ,已成为我国玉米遗传的重要骨干自交系之一<sup>[2-3]</sup>。近年来,贵州省加大对温带种质 PN78599 及改良系的利用和研究<sup>[4-8]</sup>,以 PN78599 × Suwan、PN78599 × 改良 Reid 以及 PN78599 × 地方种质为主要杂优模式,先后选育出了惠玉 0806、山玉 7 号、金玉 818、黔兴 10 号、贵农玉 008、毕单 19 号、毕单 17 号、顺单 6 号等多个优良品种并大面积推广应用。根据贵州近几年的气候变化情况,每年 4 月中旬到 5 月中旬均出现不同程度的持续干旱后又连续降雨的气候现象,玉米制种过程中,时间隔离方法受该气候影响,造成花期不协调,父本开花比母本吐丝早,此时,可以通过采取父本花粉短期保存或促使母本吐丝提前等措施完成制种工作。本研究以利用 PN78599 改良育成的自交

系 AS-599 为试验材料,研究其花粉在室内低温处理后的生活力持续时间变化规律,为杂交种制种过程中花粉短期保存方法提供理论依据,解决大田制种中父本散粉比母本吐丝早或花期相遇不理想的实际问题。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料及地点** (1)试验材料:玉米自交系 AS-599,系贵州省安顺市农科院利用 PN78599 改良育成;试验冰箱为海尔 BCD-130EN 冰箱。(2)试验地点:试验材料种植于安顺市农科院科研试验旱地,海拔 1395m,年降雨量 1300mm,土壤类型为黄壤,前茬为绿肥,肥力中等。

**1.2 试验设计** 对田间采集的玉米花粉在室内设不同温度和时间 2 个因素储存处理,温度(A)设 1℃(A1)、3℃(A2)、5℃(A3)、7℃(A4) 4 个水平,时间(B)设 2d(B1)、4d(B2)、6d(B3)、8d(B4)、10d(B5) 5 个水平,共 20 个处理;设 3 个对照(CK),对照 1(CK1)为新鲜花粉人工授粉,对照 2(CK2)为空白,即只给雌穗套袋不授粉,对照 3(CK3)为玉米花粉在室内常温(25℃)保存 2d 后人工授粉。采用随机区组设计,3 次重复。

**1.3 试验方法** (1)供试植株准备与选择。为保证供试植株数量和其花丝处于最具活力状态,供试种子分 3 期播种,每期相隔 5d 播种,每期播种 10 行,行长 5m、宽 0.8m,第 1 期播种时间为 2016 年 4 月 27 日。出苗后 10d 间苗,每行留 20 株,株距为

**基金项目:**贵州省科技支撑计划项目(黔科合成果[2017]4102);贵州省玉米现代农业产业技术体系建设项目(GZCYTX2017-07002);安顺市科技创新平台建设项目(安市科平[2016]5 号)

25cm。吐丝期选择生长一致、吐丝整齐的植株,每个播期选择75株将雌穗套袋。

(2)花粉收集与低温处理。自雄穗散粉开始,选择气温大于20℃的多云或晴天天气采集花粉。采粉当天上午9:00,先抖去雄穗上的花粉,再于9:30开始用羊皮纸袋采集新鲜花粉,用1.5mL离心管量取1.5mL新鲜花粉给1个雌穗授粉(CK1,重复3株),其余花粉混合均匀后分装成21袋,每袋花粉量15mL;然后分别置于按试验设计调好温度的4个冰箱中的泡沫盒内(不加盖)进行冷藏处理。

(3)授粉。将经过低温处理后的花粉置于泡沫盒中(加盖)带至大田,用1.5mL离心管量取1.5mL花粉给1个套袋且吐丝的雌穗授粉(每个处理重复3次,要求重复间雌穗吐丝情况一致或相近),然后套袋。

(4)调查记载内容。玉米成熟后按处理及时收获,带回室内,自然风干后考查每穗穗粒数、百粒重、穗粒重。以新鲜花粉授粉果穗的结实数为对照,计算各处理的结实率。结实率=处理结实数/对照结实数×100%。

(5)发芽势和发芽率测定。育秧盘(规格为30cm×50cm)装满细土,将随机抽取的玉米种子整齐摆放于细土中层,每个育秧盘播种50粒,每个处理播3个育秧盘(3次重复),每天洒水1次(适量),并记载发芽数,测定发芽势和发芽率。发芽势=(3d内发芽种子数/试验种子数)×100%,发芽率=(7d内发芽种子数/试验种子数)×100%。

## 2 结果与分析

**2.1 对照结实统计** 试验结果显示,玉米自交系AS-599的新鲜花粉人工授粉(CK1)的穗粒数为

340.67粒,百粒重为35.84g,单穗粒重为118.53g,发芽势为96%,发芽率为98%,说明试验所选植株雌花和新鲜花粉生活力强,果穗结实饱满,种子发芽率高。空白对照(CK2)不结实,表明试验不存在其他外源花粉干扰,花粉低温处理后再人工授粉所结实子粒均为试验处理结实。室内常温(25℃)保存(CK3)不结实,表明花粉常温保存2d,花粉已经失去生活力。

**2.2 玉米自交系花粉低温处理后子粒产量** 由表1可以看出,玉米自交系AS-599的花粉经不同低温处理(A)后再人工授粉,其穗粒数、百粒重、穗粒重和结实率差异较大。在低温处理2~10d的相同处理时间(B)条件下,穗粒数、百粒重、穗粒重、结实率均先随处理温度提高而增加,并以A2(3℃)处理为最高,然后随处理温度提高而减少,呈抛物线变化,从高至低为A2>A3>A1>A4。在1~7℃的相同处理温度(A)条件下,穗粒数、百粒重、穗粒重均随处理时间延长而逐渐减少,从高至低为B1>B2>B3>B4>B5,以B1(2d)处理的穗粒数最多,百粒重和穗粒重也最高。在3℃条件下保存2d(A2B1)处理的穗粒数、百粒重、穗粒重分别为333.67粒、35.79g、118.28g,分别较对照减少2.1%、0.1%、0.2%,是20个处理中结实情况表现最佳的处理;其次是在5℃条件下保存2d(A3B1)处理,其百粒重、穗粒重均与对照差异不显著,但穗粒数较对照极显著减少;第三是在3℃条件下保存4d(A2B2)处理,其穗粒数为259.67粒,为对照的76%;百粒重、穗粒重分别为31.28g、82.88g,是对照的87.3%和69.9%。其余处理的穗粒数、穗粒重、百粒重均较对照明显减少,其中A4、B4、B5条件下的处理基本不能正常结实。

表1 玉米自交系AS-599花粉低温处理后子粒性状表现

| 处理  | 穗粒数(粒)  |         |         |         | 百粒重(g) |         |        |        | 穗粒重(g)  |         |         |        | 结实率(%) |        |        |       |
|-----|---------|---------|---------|---------|--------|---------|--------|--------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|-------|
|     | A1      | A2      | A3      | A4      | A1     | A2      | A3     | A4     | A1      | A2      | A3      | A4     | A1     | A2     | A3     | A4    |
| B1  | 246.33B | 333.67A | 308.67B | 22.00B  | 35.33A | 35.79A  | 35.56A | 15.18B | 84.27B  | 118.28A | 114.15A | 9.76B  | 72.57B | 97.99A | 90.61B | 6.45B |
| B2  | 196.00C | 259.67B | 194.00C | 1.00C   | 28.62B | 31.28B  | 28.72B | 0C     | 56.23C  | 82.88B  | 45.90B  | 0C     | 57.56C | 70.39B | 48.16C | 0.29C |
| B3  | 8.00D   | 57.00C  | 54.67D  | 0.00C   | 12.55C | 15.95C  | 14.81C | 0C     | 2.84D   | 11.21C  | 10.84C  | 0C     | 2.34D  | 16.75C | 16.05D | 0C    |
| B4  | 6.00D   | 29.00CD | 22.00E  | 0.00C   | 12.03C | 15.12CD | 14.65C | 0C     | 1.98D   | 9.85C   | 8.93C   | 0C     | 1.77D  | 8.51D  | 6.34E  | 0C    |
| B5  | 4.00D   | 13.00D  | 11.00E  | 0.00C   | 11.24C | 14.93D  | 14.42C | 0C     | 1.34D   | 2.81D   | 2.78D   | 0C     | 1.18D  | 3.81D  | 3.24E  | 0C    |
| CK1 | 340.67A | 340.67A | 340.67A | 340.67A | 35.84A | 35.84A  | 35.84A | 35.84A | 118.53A | 118.53A | 118.53A | 118.5A | 100A   | 100A   | 100A   | 100A  |

同列不同大写字母表示在 $P<0.01$ 水平差异极显著,下同

综上所述,自交系 AS-599 的花粉在 3~5℃ 下存放 2d,或在 3℃ 下存放 2~4d,花粉仍具有较高生活力,能够正常结实,百粒重可达对照的 70% 以上,穗粒重能达到对照的 70% 以上。

**2.3 低温处理对玉米自交系结实率的影响** 根据表 1 得出,玉米自交系 AS-599 的花粉经低温处理后,结实率均低于对照,不同处理间结实率差异较大。试验结果显示,穗粒数最多的处理是 A2B1,穗粒数为 333.67 粒,结实率达 97.99%,较对照差异不显著;其次为 A3B1,穗粒数为 308.67 粒,结实率达 90.61%,较对照差异极显著。在相同低温环境下,随储存时长增加,结实率极显著降低;在相同储存时长条件下,随储存温度降低,结实率以 3℃ (A2) 为顶点呈先增后减的抛物线变化,处理间差异显著。说明在 1~7℃ 低温环境下储存玉米花粉,其生活力持续时间受储存时间影响较大,储存时间越长,玉米花粉生活力越低,花粉在 3~5℃ 条件下储存时间以不超过 2d 为最佳。

**2.4 低温处理玉米自交系花粉后其子粒发芽势和发芽率变化** 通过对不同处理产生结实的种子进行发芽试验,结果见表 2。玉米自交系 AS-599 的花粉在 1~5℃ 下保存 2d,其种子发芽率均能达到 97% 以上,发芽势能达到 95% 以上;在 3~5℃ 下保存 2~4d,其结实种子发芽率均达 86%,最高达 98%,发芽势达 84%。说明其种子质量达到国家对玉米种子质量的强制标准。

表 2 不同低温处理结实子粒发芽势和发芽率

| 处理  | 发芽势(%) |        |        |        | 发芽率(%) |        |        |        |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|     | A1     | A2     | A3     | A4     | A1     | A2     | A3     | A4     |
| B1  | 95.00A | 96.00A | 96.00A | 17.00B | 97.00A | 98.00A | 98.00A | 28.00B |
| B2  | 61.00B | 88.00B | 84.00B | 0C     | 66.67B | 96.00A | 86.00B | 0C     |
| B3  | 12.00C | 27.00C | 25.00C | 0C     | 16.00C | 36.00B | 35.00C | 0C     |
| B4  | 0D     | 6.00D  | 2.00D  | 0C     | 5.00D  | 24.00C | 18.00D | 0C     |
| B5  | 0D     | 0D     | 0D     | 0C     | 0E     | 4.00D  | 0.00E  | 0C     |
| CK1 | 96.00A | 96.00A | 96.00A | 96.00A | 98.00A | 98.00A | 98.00A | 98.00A |

### 3 结论与讨论

花粉低温保存是在目标父本散粉时间比目标母本雌花吐丝时间早的情况下采取的临时储存方式。从具有温带血缘的 PN78599 群体中选育的玉米遗传材料 AS-599,作为目标父本,在播种至出苗期遇到持续干旱后又持续降雨天气情况,难免出现与目标母本花期不协调现象。本试验研究表明,即使在 1~7℃ 的低温条件下,玉米自交系 AS-599 的花粉也不能够长期保存,温度也并非越低越好。保存温度对结实率的影响从小到大表现为 3℃ > 5℃ > 1℃ > 7℃;在相同低温环境下,保存时间越长,花粉生活力越低,其结实率越低,种子质量越差。在本研究中,AS-599 花粉在 3℃ 条件下保存 2d,经人工授粉后,仍能产生有效结实,与新鲜花粉产生结实的穗粒数差异不显著,且种子发芽率在 95% 以上,符合国家对玉米种子质量的强制标准要求。在制种或遗传改良过程中,若遇到花期不协调,目标父本花粉较目标母本雌花吐丝早的情况,可以将新鲜花粉在 3℃ 条件下保存 2d 后再人工授粉,对结实不会产生较大影响,但单位容积有效保存量还有待进一步深入研究。

### 参考文献

- [1] 王秀凤,景希强,王孝杰,等. PN78599 种质在我国玉米育种和生产中的应用[J]. 玉米科学,2012(4): 50-52
- [2] 孙发明,岳尧海,焦仁海,等. 78599 选系及其衍生系种质对我国玉米育种的影响[J]. 种子科技,2008(2): 34-37
- [3] 卢连勇,王帅兵. 我国玉米育种与生产中 PN78599 种质的改良与杂种优势模式利用[J]. 农业科技通讯,2013(4): 147-150
- [4] 郭向阳,陈泽辉,祝云芳,等. 贵州省玉米种质和杂种优势模式的演化[J]. 种子,2015,34(5): 75-79
- [5] 高翔,陈泽辉,祝云芳. 浅析美国改良 Reid 和 78599 玉米种质在西南山区育种利用的策略[J]. 种子,2004,23(9): 70-72
- [6] 王安贵,陈泽辉,祝云芳,等. 玉米 Suwan 选系杂种优势利用模式研究[J]. 贵州农业科学,2008,36(3): 7-9
- [7] 付梅,柏光晓,韩萌. 贵州地方玉米种质与 5 大类群种质的配合力分析[J]. 贵州农业科学,2014,42(2): 23-26
- [8] 陈泽辉. 贵州玉米育种[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2011: 168-203

(修回日期: 2018-05-14)