

不同基因型甜玉米自交系芽期耐冷性鉴定及评价

刁玉霖 朱敏 李凤海 吕香玲 王宏伟 杜万里 钟雪梅 史振声 朱康宁

(沈阳农业大学特种玉米研究所,沈阳 110866)

摘要:东北地区易发生低温冷害,筛选耐冷性强的玉米种质资源,选育优良耐冷品种是目前亟待解决的问题。以沈阳农业大学特种玉米研究所提供的30份甜玉米自交系为试验材料,利用人工气候箱模拟低温环境条件,对不同甜玉米自交系进行低温胁迫和标准发芽试验,分别测定苗长、根长、苗干重、苗鲜重、根干重、根鲜重等指标,并计算发芽率、活力指数、各耐冷性评价指标相对值及综合D值。采用聚类分析的方法将自交系分为3类:耐冷性强、中等、冷敏感,其中T12是耐冷性强自交系,T27是冷敏感自交系。采用低温处理方法筛选出一批耐冷性强的自交系,为甜玉米耐冷品种的选育、生理生化、分子生物学研究提供了优良多样的基因资源。

关键词:甜玉米;自交系;萌芽期;耐冷性

玉米是典型的C₄喜温植物^[1],在生长发育的各个时期对低温冷害均表现较为敏感。玉米生育前期遭遇低温冷害是造成玉米减产的重要原因^[2]。Janda等^[3]研究表明,当环境温度低于10℃时就容易诱发低温冷害。大量研究表明,低温冷害导致玉米出苗率降低、幼苗生长缓慢、生育期延迟,最终导致产量下降^[4-5]。中国东北地区是我国玉米主产区,低温冷害已经成为影响该地区玉米早期生长发育的主要非生物逆境因素^[6],播种期易出现“倒春寒”现象,使玉米在萌芽阶段遭受低温危害,致使玉米产量下降。与普通玉米相比,甜玉米对栽培及气候条件都更加敏感,在各个时期更易遭受低温冷害的影响。低温冷害导致甜玉米的成活率低,延长了出苗时间、抑制了幼苗生长发育、降低了幼苗活力,从而导致后期产量下降^[7-9]。选育耐冷玉米新品种是应对东北地区低温冷害的主要途径,而鉴定和筛选甜玉米耐冷种质是选育耐冷品种的重要前提。以往学者对玉米种质进行耐冷性鉴定主要是利用人工气候箱控制温光条件,测定相关形态指标进行耐冷性评价,选用10℃左右作为玉米耐冷性鉴定的临界温度。赵玉田等^[10]研究表明,玉米芽期耐冷性与苗期呈显著正相

关。因此,芽期筛选耐冷性强的甜玉米自交系对选育耐冷玉米品种具有重要意义。

近年来,国内外研究者利用普通玉米开展了耐冷性相关的遗传基础、分子机制及生理生化等方面的研究。然而,关于东北地区甜玉米耐冷性的研究则报道较少。本研究利用30份甜玉米自交系,通过在芽期进行低温胁迫处理,测定苗长、根长、苗干重、苗鲜重、根干重、根鲜重等指标,并计算发芽率、活力指数、各耐冷性评价指标相对值及综合D值,采用聚类分析法快速有效地评价甜玉米自交系的耐冷性。为建立甜玉米耐冷种质鉴定技术体系奠定基础,从而为甜玉米耐冷育种提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试甜玉米自交系为沈阳农业大学特种玉米研究所提供的30份甜玉米自交系(编号:T1~T30)。

1.2 试验方法 在30份自交系中选取饱满、成熟度高的种子,分别用0.5%的次氯酸钠消毒10min,然后用蒸馏水冲洗3次,吸干种子表面的水。将砂子高温消毒处理,恢复至室温备用。试验分为低温处理组(温度12℃、湿度75%、培养14d)和对照组(温度25℃、湿度75%、培养7d),种子播于加等量水混匀的砂床中,3次重复。将2组发芽盒分别放入恒温培养箱内发芽,调查2组种子发芽情况,测量苗长、根长、苗鲜重、根鲜重、苗干重、根干重。耐冷性评价指标计算:发芽率(%)=(发芽种子数/供

基金项目:国家重点研发计划粮食丰产增效科技创新专项(2017YFD0300700);国家重点研发计划七大作物育种专项(2017YFD0101103-3);辽宁省中央引导地方科技发展专项(2017108005)

通信作者:朱敏

试种子数) × 100, 活力指数 = 发芽率(%) × 根长(cm), 指标相对值 = X_L/X_N , 式中 X_L 为低温组下各指标值, X_N 为对照组各指标值^[11]。综合评价 D 值 $D = \sum_{j=1}^n [\mu(X_j) \cdot (r_j / \sum |r_j|)]$ ($j=1, 2, 3 \dots n$), 式中, D 值为各自交系在低温下用综合生理指标体系评价所得的耐冷性度量值; $\mu(X_j)$ 为第 j 个指标的隶属函数值; r_j 为自交系第 j 个指标与耐冷指数间的相关系数^[12]。

1.3 数据分析 本试验的显著性、聚类分析和相关性分析均利用 SPSS 统计软件分析。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对甜玉米自交系发芽率及活力指数的影响 低温胁迫处理时不同玉米自交系发芽率和活力指数不同。30 份自交系低温胁迫后供试材料 T6、T9、T11、T25、T26、T28 发芽率较对照组下降; T3、T15、T24 和 T27 与对照组相同, 其余自交系发芽率均比对照组升高。与对照组相比发芽率未发生明显变化、发芽率提高的材料耐冷性较强。因此, 低温胁迫下, 从相对发芽率较高的自交系来看(图 1), 耐冷性强的自交系为 T2、T18、T19、T22 (相对发芽率 ≥ 2.00), 耐冷性弱的自交系为 T9、T11、T26 (相对发芽率 ≤ 0.90)。

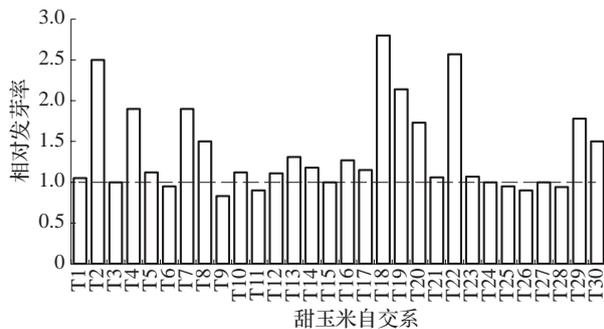


图 1 不同基因型甜玉米自交系相对发芽率

活力指数反映的是发芽率和根长的综合指标, 能反映出自交系发芽率和胚根的生长情况。从 30 份甜玉米自交系的相对活力指数看(图 2), 相对活力指数 ≥ 2.00 的占 30%, 相对活力指数 < 1.00 的占 20%, 相对活力指数高的种子对低温具有较强的抵抗能力。因此根据相对活力指数筛选的耐冷性强的自交系为 T16、T18、T19、T22 (相对活力指数 ≥ 2.60), 冷敏感的自交系为 T9、T11、T25、T26、T27 (相对活力指数 ≤ 0.90)。

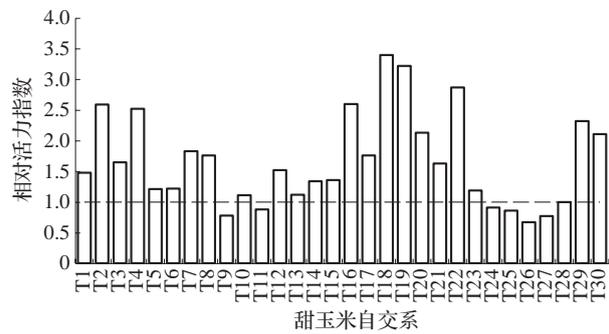


图 2 不同基因型甜玉米自交系相对活力指数

2.2 低温胁迫对甜玉米自交系形态指标的影响

2.2.1 苗长与根长 30 份自交系低温处理和对照组苗长和根长的变化均很大, 说明不同材料对低温耐受能力差异较大, 自交系之间的基因型丰富。低温胁迫下, 大部分自交系的苗长比对照组降低, 占总材料的 83%, 只有少部分自交系的苗长未发生明显变化或苗长增加, 说明该部分的自交系耐冷性较强。因此根据相对苗长筛选的耐冷性强的自交系为 T8、T12、T16、T19、T29 (相对苗长 ≥ 1.00), 冷敏感的自交系为 T9、T10、T11、T26 (相对苗长 ≤ 0.72) (图 3)。

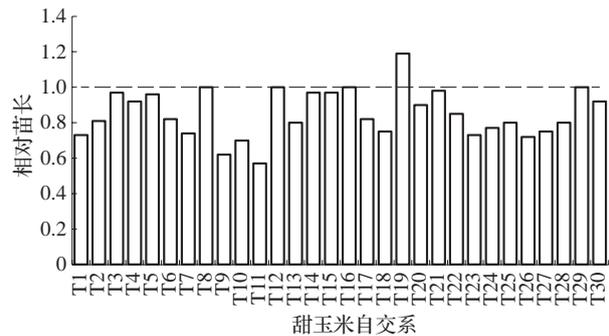


图 3 不同基因型甜玉米自交系相对苗长

由相对根长的测定结果可知(图 4), 低温胁迫下 T3、T16、T17、T19、T21 的相对根长均 ≥ 1.50 , T13、T26、T27 的相对根长均 ≤ 0.90 。因此根据相对根长筛选的耐冷性强的自交系为 T3、T16、T17、T19、T21, 冷敏感的自交系为 T13、T26、T27。

2.2.2 苗干重与根干重 苗干重和根干重反映的是植株干物质积累量。冷敏感的甜玉米自交系的苗干重和根干重较对照组呈下降趋势, 而抗性甜玉米自交系的苗干重和根干重较对照组呈上升趋势。从苗干重来(图 5), 低温胁迫下, 相较于对照组, 大部分自

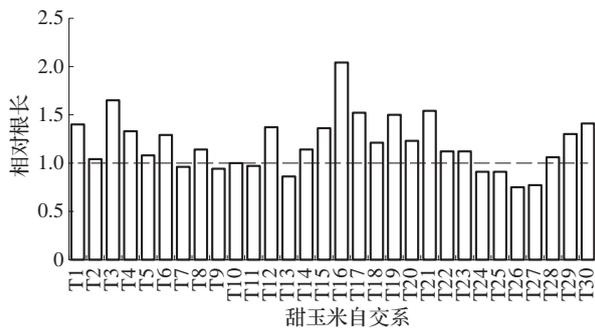


图4 不同基因型甜玉米自交系相对根长

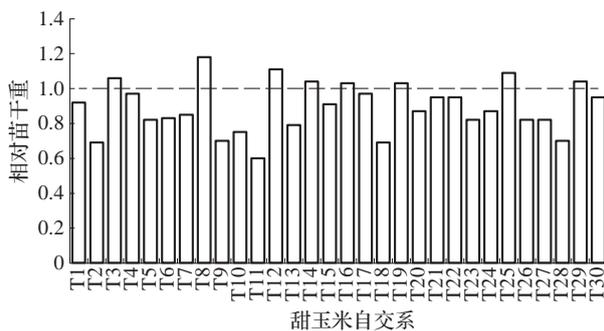


图5 不同基因型甜玉米自交系相对苗干重

交系的苗干重下降,占总材料的73.3%,还有26.7%的自交系的苗干重反而上升,说明这部分材料的耐冷性较强,低温胁迫后其干物质的积累有所提高。因此根据相对苗干重筛选出的耐冷性强自交系为T3、T8、T12、T25(相对苗干重 ≥ 1.05),冷敏感的自交系为T2、T9、T11、T18、T28(相对苗干重 ≤ 0.70)。

低温胁迫下根干重的测定结果表明(图6),相比于对照组,63.3%的甜玉米自交系的根干重增加,36.7%的自交系根干重下降,其中T1、T22相对根干重 ≥ 1.90 ,T8、T27相对根干重 ≤ 0.70 。说明低温胁迫下增加玉米的干物质积累量能够在一定程度上在玉米芽期有效地抵抗抗冷害。

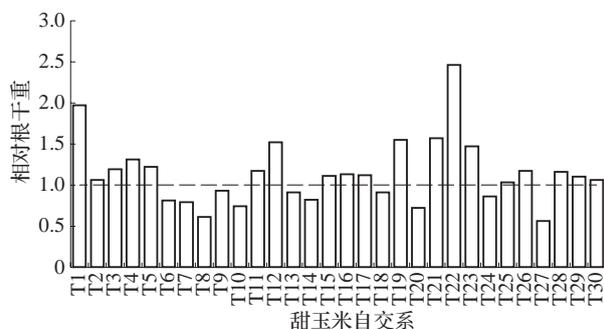


图6 不同基因型甜玉米自交系相对根干重

2.2.3 苗鲜重与根鲜重 相较于对照组,低温胁迫下冷敏感甜玉米自交系的苗鲜重和根鲜重呈下降趋势,而抗性甜玉米自交系的苗鲜重和根鲜重呈上升趋势。从相对苗鲜重来看,T1、T3、T8、T12、T19的相对苗鲜重均 ≥ 1.15 ,T9、T10、T11、T18的相对苗鲜重均 ≤ 0.70 。相对苗鲜重较大的自交系属于耐冷型,较小的则属于冷敏感型(图7)。

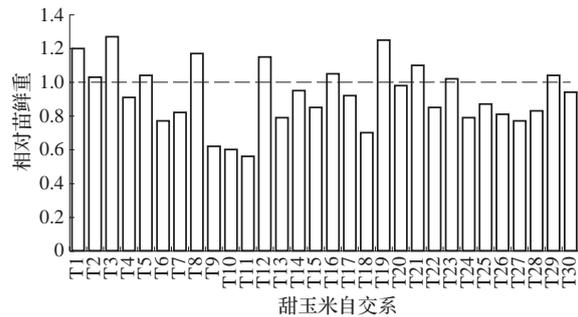


图7 不同基因型甜玉米自交系相对苗鲜重

低温胁迫下根鲜重的测定结果表明,相比于对照组T1、T3、T12、T21相对根鲜重 ≥ 2.40 ,T8、T10、T27、T30相对根鲜重 ≤ 0.70 (图8),表明相对根鲜重大的自交系对低温的耐受性较强,低温对其在芽期胚根的生长影响并不是很大,而相对根鲜重较小的自交系则属于冷敏感型,低温影响了该类型自交系的植株生长。

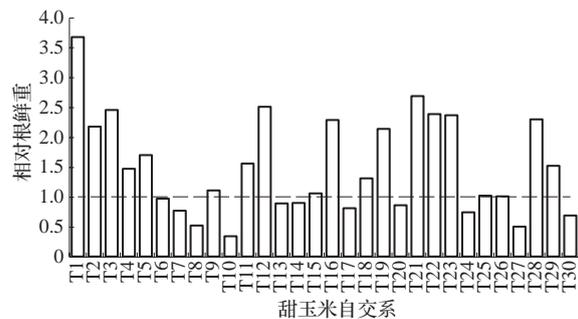


图8 不同基因型甜玉米自交系相对根鲜重

2.3 不同基因型甜玉米自交系综合D值 通过计算得出各个甜玉米自交系的综合D值,并进行排序,根据综合D值的大小来综合评价各甜玉米自交系耐冷性的强弱,综合D值越大表明其耐冷性越强,反之越弱。从图9中可以看出T19、T22、T2、T1、T29、T3、T12综合D值较大,为耐冷性强的自交系,T24、T26、T27、T10、T9、T11综合D值较小,表明其对低温胁迫敏感,耐冷性弱。

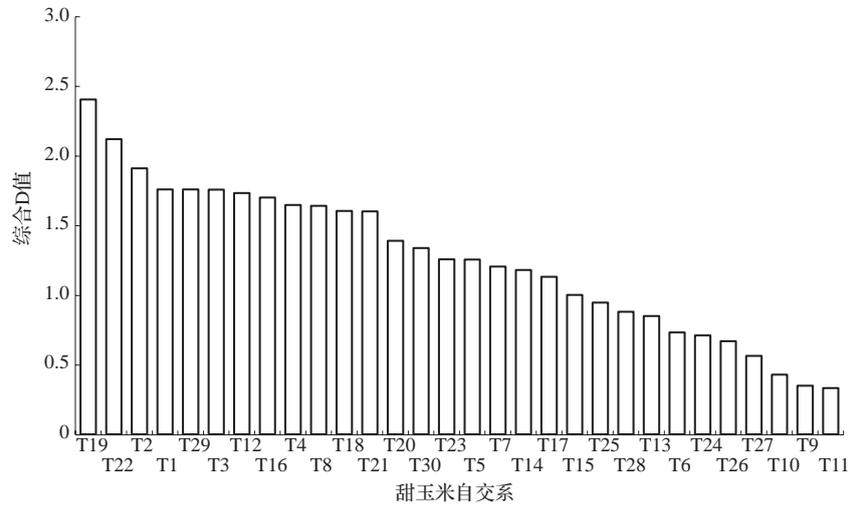


图9 不同基因型甜玉米自交系综合D值

2.4 不同基因型甜玉米自交系耐冷性聚类分析

对30份甜玉米自交系各项指标进行聚类分析(图10),在欧式距离为7.51处将供试甜玉米自交系分为3大类群。第I类群: T29、T1、T3、T12、T16、T21、T18、T8、T4、T2,该类群在低温胁迫下发芽

率受影响较小,植株生长较为正常,该类群属于强耐冷型。第II类群: T20、T19、T30、T17、T22、T5、T23、T14、T7,此类自交系中在低温胁迫条件下有多个测定指标高于其他自交系,但其余指标表现不佳,该类群属于中等耐冷型。第III类群: T11、T9、T10、T13、T28、T25、T15、T24、T6、T26、T27,该类群受低温影响明显,个别指标高于对照组,但其余指标较对照组较低,植株生长受到抑制,该类群属于冷敏感型。

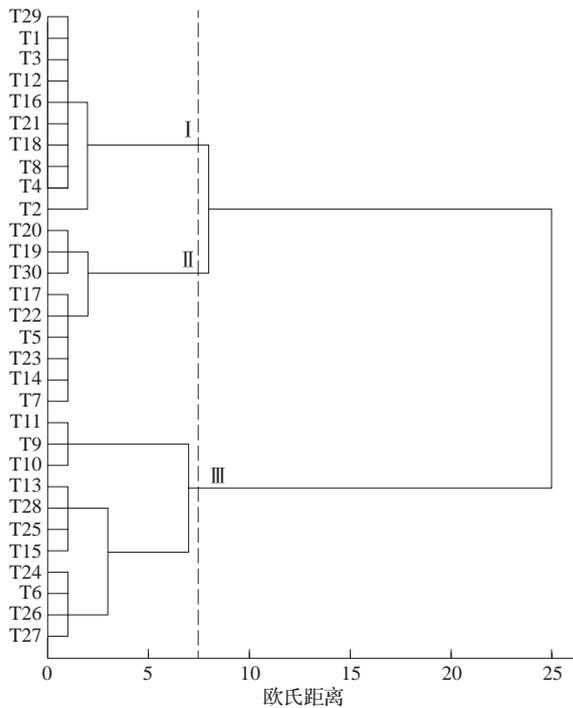


图10 30份甜玉米自交系聚类图

对聚类分析后的3类耐冷性甜玉米自交系各个指标相对值取平均值,从表1中可以看出,除相对根长、相对根鲜重外其他指标在强耐冷型与中等耐冷型间无显著性差异,但与冷敏感类型存在显著差异;相对根长、相对根鲜重在强耐冷型、中等耐冷型以及冷敏感类型间均存在显著差异,表明这2个指标对冷胁迫较敏感。

低温胁迫下甜玉米自交系各指标相关性分析表明(表2),综合D值与其余各项指标都达到了极显著相关;相对发芽率与相对活力指数极显著相关;相对根鲜重与相对根干重、相对根长极显著相关;相对苗干重与相对苗长、相对根长极显著相关;相对苗长与相对根长、相对活力指数极显著相关;相对根长与相对活力指数极显著相关。除了相对根干重、相对发芽率,相对苗鲜重与其余各项指标均达到显著或极显著相关。

表1 3类甜玉米自交系各指标平均相对值的相关分析

类别	相对发芽率	相对活力指数	相对苗长	相对根长	相对苗干重	相对根干重	相对苗鲜重	相对根鲜重
I	1.60a	2.15a	0.92a	1.40a	0.96a	1.24a	1.06a	2.06a
II	1.60a	1.96a	0.90a	1.23b	0.92ab	1.25a	0.97a	1.40b
III	0.99b	0.97b	0.76b	0.98c	0.81b	0.95b	0.75b	1.04c

同列数据后不同小写字母表示在0.05水平上差异性显著

表2 不同基因型甜玉米自交系各指标相对值和综合D值间的相关性分析

项目	相对发芽率	相对苗鲜重	相对根鲜重	相对苗干重	相对根干重	相对苗长	相对根长	相对活力指数	综合D值
相对发芽率	1								
相对苗鲜重	0.120	1							
相对根鲜重	0.078	0.566**	1						
相对苗干重	-0.002	0.701**	0.098	1					
相对根干重	0.200	0.359	0.787**	0.166	1				
相对苗长	0.234	0.754**	0.202	0.744**	0.158	1			
相对根长	0.089	0.599**	0.469**	0.504**	0.306	0.622**	1		
相对活力指数	0.882**	0.366*	0.261	0.237	0.303	0.502**	0.531**	1	
综合D值	0.652**	0.793**	0.580**	0.547**	0.542**	0.707**	0.597**	0.818**	1

*表示在0.05水平上显著相关,**表示0.01水平上极显著相关

3 结论与讨论

玉米芽苗期冷害程度主要取决于温度和低温时间的长短。玉米耐冷性的研究主要集中在耐冷生理指标的鉴定上。大量研究表明,多指标的综合筛选是鉴定玉米耐冷性的有效途径。张红颖等^[11]通过发芽率、胚根长度、活力指数、相对活力指数、相对发芽率等5个指标对多个玉米自交系进行了耐冷性的鉴定,筛选出9个耐冷性强的甜玉米自交系和一些对冷敏感的甜玉米自交系,为甜玉米耐冷性的研究提供了特异种质资源。杨光等^[13]则用相对发芽率作为资源耐冷性鉴定指标,筛选出3个抗冷自交系。郑响晔等^[14]认为相对发芽率、相对幼苗总干重、相对地上部苗干重、相对根干重之间显著相关,均可以较好地反映品种耐冷性。这些研究均验证了多指标耐冷性鉴定的可靠性。

本研究表明,低温胁迫条件下,部分甜玉米自交系从某单一指标来看表现出较强的耐冷性,但综合指标鉴定结果表明,该自交系的耐冷性表现一般。试验对30个甜玉米自交系在芽期进行了聚类分析,将自交系对低温的表现划分为耐冷性强、中等、冷敏感3大类,结果表明:T29、T1、T3、T12、T16、T21、T18、T8、T4、T2是耐冷性强自交系;T20、T19、T30、T17、T22、T5、T23、T14、T7是耐冷型中等自交系;T11、T9、T10、T13、T28、T25、T15、T24、T6、T26、T27是冷敏感型自交系;同时,根据综合D值结果表明T19、T22、T2、T1、T29、T3、T12为耐冷性强的自交系,T24、T26、T27、T10、T9、T11为冷敏感自交系;综合2个评价体系及对照组发芽率(对照组发芽率 $\geq 80\%$),本研究得出T12为耐冷性强自交系,T27是冷敏感自交系,为后续研究甜玉米耐冷生理生化、遗传机理提供了试材,进而为甜玉米耐冷品种的选育与改良提供了理论依据。

参考文献

- [1] 周峰,华春,王仁雷,陈全战. C₄作物耐冷性研究进展. 江苏农业科学,2015,43(1): 10-11
- [2] Zaidi P H, Yadav M, Maniselvan P, Khan R, Shadakshari T V, Singh R P, Pal D. Morpho-physiological traits associated with cold stress tolerance in tropical maize (*Zea Mays* L.). *Maydica*, 2010, 55(3): 201-208
- [3] Janda T, Kósa E I, Szalai G, Paldi E. Investigation of antioxidant activity in maize during low temperature stress. *Biotechnology Progress*, 2005, 49(1): 53-54
- [4] Haldimann P. Low growth temperature-induced changes to pigment composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in chilling sensitivity. *Plant Cell Environ*, 2010, 21(2): 200-208
- [5] Leipner J, Stamp P. Chilling Stress in Maize Seedlings. *Handbook of Maize: Its Biology*: Springer New York, 2009: 291-310
- [6] 马树庆,王琪,王春乙,霍洽国. 东北地区玉米低温冷害气候和经济损失风险分区. *地理研究*, 2008, 27(5): 1169-1177
- [7] 马凤鸣,王瑞,石振. 低温胁迫对玉米幼苗某些生理指标的影响. *作物杂志*, 2007, 5(6): 11-97
- [8] 李春艳,毛笈华,于永涛,李高科,祁喜涛,胡建广. 甜玉米自交系萌芽期耐寒性的鉴定及筛选. *广东农业科学* 2016, 43(8): 22-26
- [9] 李明,李媛媛,许小星,何俊,陈沛君,蒋锋,刘鹏飞. 甜玉米自交系耐寒性的鉴定与筛选. *安徽农学通报*, 2016, 22(18): 40-41
- [10] 赵玉田,梁博文,张晓玲,刘方. 我国寒冷地区玉米品种(系)抗冷性筛选原理与技术体系的应用研究. *中国农学通报*, 1993, 9(2): 23-27
- [11] 张红颖,向春阳,曹高毅,李振超,杜锦. 玉米杂交种芽苗期耐寒性的鉴定. *天津农学院学报*, 2015, 22(1): 15-18
- [12] Wu D, Yan D H, Yang G Y, Wang X G, Xiao W H, Zhang H T. Assessment on agricultural drought vulnerability in the Yellow River basin based on a fuzzy clustering iterative model. *Natural Hazards*, 2013, 67(2): 919-936
- [13] 杨光,刘宏魁,李世鹏,吴颖,苏胜忠,单晓辉,袁亚萍. 玉米抗冷种质资源的筛选与鉴定. *玉米科学*, 2012, 20(1): 57-66
- [14] 郑响晔,胡晋,张胜,高灿红,宋文坚. 玉米自交系发芽期和苗期耐寒性的鉴定. *浙江大学学报:农业与生命科学版*, 2006, 32(1): 41-45

(收稿日期: 2018-08-28)