

PEG胁迫下玉米自交系萌芽期抗旱性鉴定与评价

李晶晶, 贾腾蛟, 王丽艳, 李会勇*

(河南省农业科学院粮食作物研究所/河南省玉米生物学重点实验室, 郑州 450002)

摘要:玉米在萌芽期的抗旱性直接影响到田间的出苗率。本文利用PEG-6000的卷纸法建立玉米萌芽期模拟抗旱筛选系统,根据玉米自交系的芽长、芽重、主根长、根重、总鲜重、总根长及根表面积等性状的综合隶属函数,对248份玉米自交系萌芽期抗旱性进行量化评价。结果表明:新建立的卷纸法玉米萌芽期模拟抗旱筛选系统以20%浓度PEG-6000作为最适浓度。248份玉米自交系的萌芽期抗旱性存在广泛差异,最终筛选出31份抗型和45份中抗型玉米自交系,这些优异的抗旱自交系将为国内玉米自交系抗旱遗传改良提供重要的材料基础。

关键词:玉米;萌芽期;抗旱;隶属函数法

中图分类号:S513

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2021)04-0006-05

Identification and Evaluation of Drought Resistance of Maize Inbred Lines at Germination Stage under PEG Stress

LI Jingjing, JIA Tengjiao, WANG Liyan, LI Huiyong*

(Cereal Crop Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences/Henan Provincial Key Laboratory of Maize Biology, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The drought resistance of maize in the bud stage directly affects the field emergence rate. In this paper, a simulated drought-resistance screening system was established by using PEG-6000 paper roll method. The drought-resistance of 248 maize inbred lines during germination was quantitatively evaluated according to the comprehensive subjection functions of bud length, bud weight, primary root length, root weight, total fresh weight, total root length and root surface area of inbred lines. The results showed that the optimal concentration of 20% PEG-6000 was used in the newly established drought-resistant screening system. There were wide differences in drought resistance of 248 maize inbred lines at the germination stage, and 31 resistant inbred lines and 45 medium resistant inbred lines were finally screened out. These excellent drought-resistant inbred lines will provide an important material basis for drought-resistant genetic improvement of domestic maize inbred lines.

Key words: Maize; Germination stage; Drought resistance; Membership function analysis

玉米是我国重要的粮食、饲料及工业原料,在国民经济发展中占有重要地位。近年来,随着极端干旱频繁发生及水资源短缺,干旱仍然是影响我国玉米产量的重要因素之一^[1-2]。优异抗旱种质资源和基因资源的发掘是选育优良玉米抗旱新品种的基础,也是实现我国玉米生产可持续发展的重要前提^[3]。目前,国内外学者对玉米抗旱性

鉴定的报道较多,并逐渐形成了一系列的规范及标准,为推进玉米抗旱性评价及筛选优良的抗旱玉米自交系提供了坚实基础^[4-6]。在玉米苗期、开花期、灌浆期及田间全生育期的抗旱性鉴定过程中,将水分胁迫下玉米植株的生理反应与产量联系起来,以抗旱系数^[7-9]、主成分分析法^[10]、隶属函数法^[11-12]等作为判断玉米品种抗旱性的标准,建立了高效的玉米抗旱性筛选体系。但是玉米萌芽期的抗旱性鉴定技术体系还不十分成熟。

聚乙二醇溶液(PEG-6000)作为高渗溶液被广泛应用于模拟玉米萌芽期的干旱胁迫。研究表明,不同浓度的PEG-6000对发芽率、发芽指数、苗长、根长、活力指数及鲜重等6个形态指标都有抑制作用,并且随着PEG-6000浓度的升高其抑制

收稿日期:2020-03-15

基金项目:国家重大转基因专项(2016ZX08003-004);河南省农业科学院自主创新专项基金(2020ZC05)

作者简介:李晶晶(1983-),女,助理研究员,博士,主要研究方向为玉米抗旱基因资源鉴定及相关研究。

通讯作者:李会勇,男,博士,研究员, E-mail: lihuiyong1977@126.com

作用逐渐增强^[6];PEG-6000模拟干旱胁迫会影响不同玉米品种的发芽率,造成胚根和胚芽生长缓慢,降低种子的吸水速率以及贮藏物质的利用率^[12-13]。因此,种子的吸水率、萌发指数、胚根胚芽长、储存物质转化率等指标常用于玉米萌芽期抗旱鉴定和评价^[9,14-15],但这些方法都不能对玉米萌芽期的抗旱性进行定量分析。

本研究以PEG-6000模拟干旱胁迫,建立卷纸法模拟玉米萌芽期抗旱性鉴定流程,基于萌芽期各项指标的抗旱系数,换算相应指标的隶属函数,对248份玉米自交系进行萌芽期的抗旱性鉴定。旨在建立一套玉米萌芽期抗旱性鉴定的技术体系,可对国内常用玉米自交系萌芽期的抗旱性进行定量分析,为后续的全基因组关联分析提供可靠的表型数据;同时,筛选抗旱性突出的材料,为抗旱玉米新品种的培育提供材料基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

248份常用玉米骨干自交系由本单位搜集和整理^[16],包括88份国内核心种质(自交系)、55份常用骨干玉米自交系、105份过保护期的美国自交系,具有丰富的遗传多样性。

1.2 玉米种子萌芽期的干旱胁迫

1.2.1 PEG浓度梯度筛选试验

玉米自交系PH4CV、PH6WC、郑58及昌7-2作为参考材料。各参考材料挑选籽粒饱满、均匀一致的种子120粒。设置质量浓度为10%、15%、20%、25%、30%的PEG-6000高渗水溶液模拟干旱胁迫,去离子水作为对照。

具体操作:用1.0%次氯酸钠将种子浸泡15 min(不时摇晃除菌),用超纯水冲洗3次,每次2 min。取3张发芽纸(长20 cm×宽15 cm)完全叠放,用含有2.5 mg/L克菌丹的超纯水完全湿润,将5粒消毒处理过的种子胚向下均匀散放在第二层发芽纸上,将第三张发芽纸覆盖种子,沿长的方向卷成纸卷,种子在各层纸之间,用皮筋扎捆。控制种子摆放间距,防止种子间根系相互接触。纸卷不宜卷扎过紧。每个材料取4卷放在同一个2 L玻璃烧杯中,共分成6组,分别倒入200 mL去离子水、10%、15%、20%、25%、30% PEG-6000水溶液,放置培养箱中,黑暗条件28 °C/24 h培养。第5天接受光照,同时更换一次新鲜的PEG-6000缓冲液和去离子水各100 mL,加入5 mL浓度为0.66 mg/L的克菌丹溶液。光照培养条件:光照

28 °C/16 h和黑暗22 °C/8 h,光照强度为1 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。待第7天培养结束后,从每个材料的不同处理中选取10株有代表性植株测定总鲜重。

1.2.2 待测自交系抗旱鉴定

根据4份参考自交系在不同浓度PEG-6000下的鲜重,确定最适PEG-6000胁迫浓度,在最适浓度下对另外244份自交系进行胁迫处理,待测自交系各取20粒用于干旱胁迫和去离子水对照。材料处理和培养条件同1.2.1梯度筛选试验。放置2 L玻璃烧杯的发芽纸卷最多16个。每天定时观察自交系发芽数。表型性状测定时,每个处理选取代表性植株4株进行指标测定,主要包括芽长、芽重、主根长、根重、总鲜重、总根长及根表面积等。总根长及根表面积值由WinRHIZO Pro 2007b根系分析软件获得。

1.3 抗旱性评价

抗旱性综合评定采用隶属函数法^[17]。计算每个自交系各表型值的抗旱系数: $DRC=T_s/T_c$, T_s 和 T_c 分别为胁迫和对照条件下各指标对应的性状值。将抗旱系数标准化,计算各自交系各性状的隶属函数值: $X_u=(X_i-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min})$, X_i 为u自交系第i个指标的抗旱系数, $X_{\min}$ 、 $X_{\max}$ 为第i个指标的抗旱系数的最小值和最大值;最后,计算自交系各性状隶属函数值的平均值,即综合隶属函数值,该值越大说明抗旱性越强。

根据综合隶属函数值,玉米萌芽期抗旱性等级分4级^[18]:1级,强抗型($R \geq 0.70$);2级,抗旱型($0.5 \leq R < 0.70$);3级,中抗型($0.4 \leq R < 0.5$);4级,弱抗型($0 < R < 0.4$)。

1.4 数据分析

采用EXCEL 2016和SPSS 20.0进行数据整理和分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度PEG-6000对玉米萌芽期抗旱性的影响

图1结果表明:当PEG-6000浓度分别为10%和15%时,PH4CV、PH6WC、郑58及昌7-2等4个玉米自交系的生长均受到轻微抑制作用;当PEG-6000浓度达到25%时,上述4个自交系生长均受到明显抑制,除郑58以外其余3个自交系的鲜重均显著下降,特别是当PEG-6000浓度达到30%时,上述4个材料的鲜重分别下降了42.5%、43.4%、38.1%和53.4%,受干旱胁迫严重。

上述浓度梯度筛选试验结果表明:针对玉米

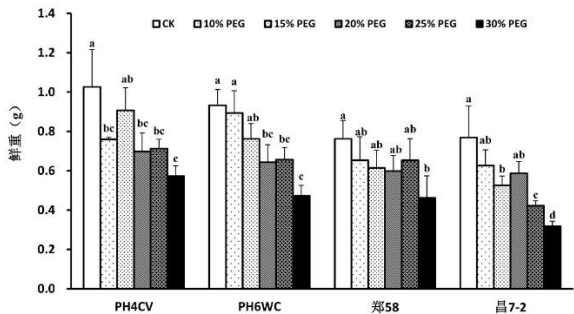


图1 不同强度的模拟干旱胁迫对4份玉米自交系鲜重的影响

萌芽期抗旱性,本卷纸法采用20%浓度PEG-6000进行处理,可有效模拟干旱胁迫对自交系生长的影响,可对4个参考自交系进行抗旱性定量评价。

2.2 20% 浓度 PEG-6000 对 248 份 自 交 系 萌 芽 期 抗 旱 性 的 影 响

在20%浓度PEG-6000的胁迫下,248份自交系幼苗生长均在不同程度上受到抑制。从芽长和芽重的抗旱系数来看,231份自交系在不同程度上受到PEG胁迫,降幅在1.30%~76.26%,其中13份自交系的胚芽生长表型值均比对照下降52.5%以上。8份自交系的胚芽生长表现略优于对照,分别平均增长12.27%和10.75%。

从主根长、总根长以及根表面积的抗旱系数来看,232份在不同程度上受到PEG胁迫影响,降幅在0.38%~80.86%,其中有2份自交系的上述3个性状的表型值降幅在54.22%以上。5份自交系在上述3个性状表现上优于对照,其平均增长10.26%、35.98%和14.20%。

从根重和总鲜重的抗旱系数来看,198份在不同程度上受到PEG胁迫,降幅在0.85%~76.69%,其中有16份自交系的上述表型值降幅在50.37%以上。12份自交系的根重和总鲜重表现优于对照,分别平均增长32.69%和11.75%。

2.3 玉米自交系萌芽期抗旱性的综合评价

由上述性状抗旱系数可知,单一指标难以精确衡量不同基因型玉米自交系的抗旱性,故而采

用隶属函数法对248份玉米自交系进行综合评价。统计发现(表1):248份自交系的芽长、芽重和总鲜重等性状的隶属函数平均值均在0.41以上,主根长、根重、总根长均在0.31以上,而根表面积仅有0.198。248份玉米自交系抗旱性的综合隶属函数的平均值为0.353,范围为0.025~0.669,在自交系间存在显著差异。

表1 玉米自交系幼苗生长相关性状的隶属函数值统计

性状	平均值	峰度	偏度	范围
芽重	0.410±0.173	0.498	0.379	0.000~1.000
根重	0.311±0.155	1.834	0.923	0.000~1.000
总鲜重	0.426±0.186	0.312	0.328	0.000~1.000
芽长	0.419±0.159	0.698	0.248	0.000~1.000
主根长	0.383±0.132	3.515	0.978	0.000~1.000
总根长	0.323±0.144	3.418	1.272	0.000~1.000
根表面积	0.198±0.107	13.164	2.301	0.000~1.000
综合隶属函数	0.353±0.116	0.007	0.156	0.025~0.669

根据综合隶属函数值进行抗旱等级分级,248份玉米自交系2~4级抗旱型自交系分别是31份、45份、172份,其中4级弱抗型自交系中综合隶属函数值小于0.2的22份。

2.4 玉米萌芽期抗旱自交系筛选

31份2级抗旱型自交系中,20份美国自交系包含5份Holden公司自交系(LH),7份先锋公司自交系(PH),以及迪卡517父本、NS701、BCC03、6F629、F118、4676A、6M502A、B73等。这些美国自交系中,5份综合隶属函数0.60以上,依次是F118、PHWG5、LH202、PHBA6、BCC03。国内骨干自交系等核心种质有4份,包括488、92-8、粤20-3、洛Lz06-1等。其余7份为改良自交系。

45份3级中抗型自交系中,17份美国自交系包含5份LH自交系、7份PH自交系以及IRF233、S8324、WIL900、WIL903、MBUB等自交系。国内骨干自交系等核心种质包括吉880、九03、齐318、遗67、De811、Lo1067、许178等(表2)。

表2 玉米萌芽期抗旱自交系

序号	名称	综合隶属函数	抗性等级	序号	名称	综合隶属函数	抗性等级	序号	名称	综合隶属函数	抗性等级
001	F118	0.669	2	006	BCC03	0.600	2	011	PHPR5	0.571	2
002	PHWG5	0.645	2	007	A1052	0.593	2	012	先玉335改	0.555	2
003	LH202	0.631	2	008	6M502A	0.579	2	013	郑58改	0.552	2
004	PHBA6	0.620	2	009	PHP55	0.578	2	014	LH61	0.551	2
005	DK517父本	0.616	2	010	郑136母本	0.575	2	015	A325	0.550	2

续表 2

序号	名称	综合隶属函数	抗性等级	序号	名称	综合隶属函数	抗性等级	序号	名称	综合隶属函数	抗性等级
016	92-8	0.550	2	037	齐 318	0.476	3	058	WIL900	0.435	3
017	LH193	0.550	2	038	良玉 88 母本	0.474	3	059	A392	0.428	3
018	A3852	0.535	2	039	A407	0.471	3	060	LH128	0.427	3
019	粤 20-3	0.533	2	040	Lo1067	0.471	3	061	4441	0.427	3
020	NS701	0.527	2	041	PHP85	0.464	3	062	LH213	0.424	3
021	PHV07	0.524	2	042	遗 67	0.463	3	063	488	0.418	3
022	B73	0.521	2	043	LH212Ht	0.460	3	064	6103	0.416	3
023	PHR30	0.518	2	044	许 178	0.459	3	065	PH4CV 改	0.416	3
024	911	0.517	2	045	A433	0.454	3	066	Lh156	0.414	3
025	488	0.512	2	046	LH206	0.448	3	067	昌 7-2 改 1	0.413	3
026	LH51	0.511	2	047	洛 611	0.448	3	068	PHJ89	0.413	3
027	LH149	0.510	2	048	WIL903	0.446	3	069	九 03	0.410	3
028	4676A	0.510	2	049	A428	0.445	3	070	昌 7-2 改 2	0.410	3
029	PHR62	0.509	2	050	kws2654 父本	0.442	3	071	先玉 696 父本	0.410	3
030	6F629	0.508	2	051	A387	0.440	3	072	PHW51	0.409	3
031	洛 l206-1	0.502	2	052	MBUB	0.440	3	073	A3172	0.405	3
032	PHR25	0.495	3	053	洛 596	0.439	3	074	A382	0.403	3
033	De811	0.491	3	054	武科二号母本	0.439	3	075	S8324	0.402	3
034	S8324	0.489	3	055	ZS01250	0.439	3	076	吉 880	0.400	3
035	A448	0.487	3	056	PHP76	0.438	3				
036	PHR25	0.481	3	057	PHW79	0.437	3				

172 份 4 级弱抗型自交系中,有 67 份美国自交系,其中主要包含 20 份 LH 自交系、22 份 PH 自交系以及 8 份 IRF 自交系。国内骨干自交系中,PB 群的齐 319、掖 478、P138、178,Reid 类群的黄 C 和 K12,旅大红骨类群的旅 28 和 E28 等自交系在萌芽期抗旱性也归为弱抗旱型。

3 讨 论

干旱条件下,玉米在形态、生理、分子遗传学方面都具有较为显著的改变,这为鉴定玉米的抗旱性提供了充足的参考指标^[18-21]。但由于玉米自交系基因型不同,所处生育期不同,以及选用指标及评价体系差异,最终鉴定结果存在一定差异,因此,为提高抗旱性评价的准确性和科学性,必须针对生育时期建立最为有效的鉴定指标和评价体系。

玉米萌发期的发芽率和出苗率直接关系到以后的生长发育和产量形成^[22],在玉米萌芽期进行抗旱评价可提高后期鉴定抗旱自交系的效率^[23]。因此,本研究建立了一套卷纸法模拟玉米萌芽期抗旱性鉴定的方法。利用发芽纸将种子包卷后立于装有 PEG 水溶液的烧杯中,可使待测材料的胚

根完全接触高浓度胁迫水溶液,保持受渗透胁迫状态,还可以避免培养皿或发芽盒等密闭环境易出现胚乳脓烂或霉菌的情况,同时胚芽和胚根不会发生扭曲畸形,更易于直观观察和测量胚芽和胚根长度等指标。基于对 PH4CV、PH6WC、郑 58 及昌 7-2 的浓度梯度筛选,PEG 浓度低于 15% 或高于 30% 时,自交系生长受干旱胁迫抑制或与对照相比不显著或伤害严重,而在 20% ~ 25% 时自交系对干旱胁迫较为敏感,同时参考已有研究^[12-13,24],确定 20% PEG-6000 作为最适测定浓度。结合隶属函数计算对玉米自交系进行评价和划分抗旱等级,从而建立一套完整高效的定量评价体系。

耐旱玉米种质资源遗传背景狭窄成为限制改良玉米抗旱性的重要因素^[2-3],充分利用各种种质资源,对玉米自交系进行改良和创新,有利于选育出抗旱性好的玉米杂交种。本研究中 248 份玉米自交系在萌芽期各幼苗生长发育指标存在较大差异,通过综合隶属函数定量分析,将自交系抗旱性进行等级划分。最终筛选出 31 份抗旱型、45 份中抗型的玉米自交系,分别有 20 份和 17 份为美国引进资源,主要来源于 Holden 公司和先锋公司

的自交系。梁晓玲等^[25]对210份美引玉米自交系在我国耐旱适应性评价的研究中,以产量性状、有效穗数、行粒数、雌雄花间隔天数、株高、穗位高等与耐旱相关的农艺性状为指标,采用选择指数的综合评价方法,将选择指数大于2.5的自交系定为极强耐旱型,在1.00~2.49的为强耐旱型,在-0.50~0.99的为中等耐旱型等,本研究筛选出的抗旱型自交系LH149、PHBA6、PHWG5以及中抗型自交系WIL903等选择指数均在3.90以上,而自交系LH213和BCC03的选择指数分别为2.42和0.9,研究结果表明上述美国自交系在萌芽期以外的其他时期也能表现极强或强抗旱性,植株综合表现较好,并有获得较高产量的潜力。虽然本研究鉴定的国内骨干自交系萌芽期抗旱性中抗或弱抗型居多,少数为抗或强抗型的,但玉米骨干自交系仍是新品种培育过程中不可或缺的种质类型,是实现品种升级换代的关键^[26-27]。文中筛选得到的优异抗旱种质资源为未来玉米种质抗旱性的遗传改良提供了可靠的基础。

参考文献:

- [1] 路贵和,任冬莲,王小强,等.我国玉米杂交种耐旱性评价与分析[J].玉米科学,2010,18(3):20-24.
- [2] 胡瑞法,Meng Erika C H,张世煌,等.采用参与式方法评估中国玉米研究的优先序[J].中国农业科学,2004,37(6):781-787.
- [3] 闫伟平,边少锋,张丽华,等.半干旱区抗旱丰产玉米品种的评价及筛选[J].东北农业科学,2017,42(3):1-5.
- [4] 黎裕,王天宇,刘成,等.玉米抗旱品种的筛选指标研究[J].植物遗传资源学报,2004,5(3):210-215.
- [5] 隆文杰,雷涌涛,周国雁,等.玉米种质资源抗旱性鉴定研究进展[J].江西农业学报,2016,28(3):29-34,42.
- [6] 朴明鑫,李成,金峰学,等.玉米耐旱鉴定研究进展[J].玉米科学,2013,21(4):89-93.
- [7] Crosbie T M, Mock J J. Changes in physiological traits associated with grain yield improvement in three maize breeding programs[J]. Crop Science, 1981, 21(2): 255-259.
- [8] 兰巨生,胡福顺,张景瑞.作物抗旱指数的概念和统计方法[J].华北农学报,1990,5(2):20-25.
- [9] 成锴,苏晓慧,栗建枝,等.PEG-6000胁迫下玉米品种萌发期抗旱性鉴定与评价[J].玉米科学,2017,25(5):85-90.
- [10] 徐艳霞,李旭业,杨伟光,等.基于主成分分析和聚类分析的玉米自交系幼苗期抗旱指标的研究[J].作物杂志,2014(3):54-57.
- [11] 张丽华,赵洪祥,谭国波,等.不同玉米杂交种抗旱性比较研究[J].玉米科学,2012,20(3):29-33.
- [12] 杨小英,许莹莹,赵美爱,等.模拟干旱条件下玉米品种萌发期抗旱性评价[J].玉米科学,2019,27(6):25-30.
- [13] 赫福霞,李柱刚,闫秀峰,等.渗透胁迫条件下玉米萌芽期抗旱性研究[J].作物杂志,2014(5):144-147.
- [14] 裴玉贺,轩慧冬,宋希云.不同玉米品种萌芽期抗旱筛选[J].山东农业科学,2017,49(2):30-35.
- [15] 王阳,杨永志,张玲,等.玉米黄改系材料萌芽期耐旱性鉴定与评价[J].玉米科学,2016,24(3):1-6.
- [16] 贾腾蛟,李平芳,王利锋,等.428份玉米自交系籽粒脱水速率的比较分析[J].植物遗传资源学报,2019,20(2):406-411.
- [17] 龙文靖,万年鑫,辜涛,等.玉米苗期耐低铁能力的综合评价及其预测[J].植物遗传资源学报,2015,16(4):734-742.
- [18] 鲁晓民,曹丽茹,张新,等.PEG胁迫下玉米自交系苗期抗旱性鉴定及评价[J].河南农业科学,2017,46(5):39-44.
- [19] Hao Z F, Liu X L, Li X H, et al. Identification of quantitative trait loci for drought tolerance at seedling stage by screening a large number of introgression lines in maize[J]. Plant Breeding, 2009, 128(4):337-341.
- [20] 武斌,李新海,肖木辑,等.53份玉米自交系的耐旱性分析[J].中国农业科学,2007,40(4):665-676.
- [21] 李新海,高根来,梁晓玲,等.我国主要玉米自交系开花期耐旱性差异及改良[J].作物学报,2002,28(5):595-600.
- [22] 魏秀俭,杨婉身,潘光堂,等.22个玉米自交系的耐旱性综合分析[J].干旱地区农业研究,2005,23(1):134-137.
- [23] 李亮,郝转芳,翁建峰,等.玉米自交系萌发期与苗期的耐旱性评价[J].玉米科学,2011,19(4):5-9.
- [24] 郭效龙,宋希云,裴玉贺,等.玉米自交系萌发期和苗期抗旱性指标的筛选[J].植物生理学报,2018,54(11):1719-1726.
- [25] 梁晓玲,王楠,王业建,等.引进美国玉米自交系在我国的耐旱适应性分析[J].玉米科学,2018,26(5):1-6,13.
- [26] 李永祥,王天宇,黎裕.主要农作物骨干亲本形成与研究利用[J].植物遗传资源学报,2019,20(5):1093-1102.
- [27] 焦仁海,刘兴二,徐艳荣,等.外来玉米种质在吉林省的应用与创新[J].东北农业科学,2016,41(1):1-3,19.

(责任编辑:刘洪霞)