

冯 艳,周 蓉,付 蓉,等. 玉米遗传多样性分析及耐盐种质筛选[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):59-61.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.017

玉米遗传多样性分析及耐盐种质筛选

冯 艳,周 蓉,付 蓉,董瑞涛,赵富胤,孟中果,刘亚泰,张 咪,汪保华,李 平
(南通大学生命科学学院农业部南方平原地区玉米科学观测站,江苏南通 226019)

摘要:对 24 份玉米材料的萌芽期、苗期进行耐盐性鉴定,考察被试材料的发芽率、苗情、出苗天数、株高、鲜(干)质量、含水量、种子活力等指标。结果表明,盐胁迫下苗情与种子活力无相关性,与其他指标均达显著水平。以苗情分级与各指标方差分析结果进行综合评定,鉴定出了 24 份材料的耐盐性。运用聚类分析法,将 24 份材料的耐盐表型性状进行聚类,结果表明聚类结果与综合评价的耐盐性相一致,其中高耐的占 25.0%,盐敏感的占 29.2%。运用 40 对 SSR 引物对 24 份材料进行遗传多样性分析,24 份材料的相似系数在 0.71~0.91 之间,共分成 3 大类,平均距离较近,表明这 24 份材料的遗传距离狭窄。结合遗传多样性结果与耐盐聚类结果,为优秀亲本的选择和优势组合的预测及耐盐资源的合理利用提供了基础资料。

关键词:玉米;耐盐;聚类分析;遗传多样性

中图分类号:S513.03 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)07-0059-03

土壤盐渍化是一个世界性的资源问题和生态问题,是严重影响植物生长发育的非生物胁迫因子之一^[1]。土壤盐渍化问题很严重,而且随着人口数量的不断增加,陆地淡水资源总量的不断减少,这些加重了土壤盐渍化。此外土壤盐渍化总是发生在干旱、半干旱地区^[2],导致治理盐渍化问题难上加难。中国盐渍土总面积约 1 亿 hm^2 ,其中现代盐渍化土壤约 0.37 亿 hm^2 ,潜在盐渍化土壤约 0.17 亿 hm^2 ^[3],在开发利用盐碱地的各项技术措施中,培育并栽种耐盐作物成为最经济最有效的改良途径^[4]。玉米耐盐性鉴定是玉米种质资源鉴定评价、耐盐品种选育以及耐盐机制研究的基础,通过耐盐性鉴定可以筛选出供玉米耐盐育种的种质资源或直接用于玉米生产的新品种。玉米对盐中度敏感,汤华等通过研究发现,玉米的株高、地上部和根系鲜质量都与盐浓度呈负相关,且达极显著水平,因而可以作为玉米苗期耐盐性鉴定的指标^[5];叶片枯萎率也是评价苗期耐盐力的常用指标之一^[6]。我国玉米的种质资源比较狭窄,为了丰富我国玉米耐盐品种的遗传多样性,本试验对从美国引进的玉米自交系进行耐盐性鉴定评价,为我国玉米耐盐鉴定、耐盐育种和耐盐机制等研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

收稿日期:2014-10-22

基金项目:农业部南方平原玉米科学观测实验站开放课题(编号:NT201405);江苏省南通市农村科技创新及产业化项目(编号:HL2013026);江苏省南通市科技平台建设工程(编号:CP12012002);南通大学研究生科技创新计划(编号:YKC13054);2013 年国家级大学生创新训练计划(编号:201310304022Z)。

作者简介:冯 艳(1989—),女,江苏南通人,硕士研究生,研究方向为植物学。E-mail:939978303@qq.com。

通信作者:李 平,教授,研究方向为玉米分子育种。E-mail:pingsli6@hotmail.com。

玉米先玉 335、郑单 958 以及引自美国的 21 份自交系和一份衍生 F_1 代(表 1)。

表 1 材料编码及名称

编码	材料名称	编码	材料名称
1	PHW03	13	LH208
2	WIL500	14	MBSJ
3	PHWG5	15	S8324
4	PHJ31	16	SX4321
5	L135	17	P737M20
6	LH119	18	LP1. NRHT
7	911	19	LH156
8	B47	20	LH65
9	PHG84	21	PHVJ4
10	HB8229	22	郑单 958
11	WIL903	23	先玉 335
12	FBLA	24	LH65 × PHW03

1.2 玉米苗期耐盐性鉴定指标

根据前期玉米苗期耐盐性鉴定的研究,以室内盆栽鉴定方式,以 NaCl 溶液浓度 250 mmol/L 时的出苗天数、发芽率、株高、干质量(鲜质量)变化率及苗情作为玉米苗期耐盐性鉴定的形态指标。随机选取各个材料饱满一致的玉米种子,经 0.1% 次氯酸消毒 10 min,清水洗净后置于质量相同的营养土中,浇灌 250 mL 的盐水,以等量清水为对照,密封栽培盒,于植物生长室中培养,昼夜温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ / $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照时间 12 h/d,相对湿度 60%~80%。每日上午 10:00 通气 10 min 并记录出苗情况,待幼苗长至盒盖,除去密封盖,并分别浇灌盐水及清水。每个材料 6 个重复。待生长至 3 叶 1 心时,继续处理 7 d,测定各项指标。

1.3 基因组 DNA 提取及 SSR 分析

取苗期玉米叶片按李新海等的方法提取玉米基因组 DNA,选用 28 对 SSR 引物进行材料遗传多态性分析^[7]。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 出苗率 = (出苗数/播种粒数) × 100% ;

鲜(干)质量变化率=(对照质量-处理质量)/对照质量×100%;

含水量=(鲜质量-干质量)/鲜质量×100%;

发芽指数=Σ(规定时间内的发芽种子数/相对应的发芽天数);

活力指数=发芽指数×平均苗长。

1.4.2 苗情分级 按付艳等的方法^[8]将玉米苗期耐盐性分为 5 类。

1.5 数据分析

用 SPSS Duncan 检验法对数据进行方差分析;聚类分析用 NTY2.0 软件处理;SPSS 软件对数据进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 玉米苗期表型数据的统计分析

根据室内苗期鉴定指标,对苗情与各指标作相关性分析,由表 2 可看出,株高、鲜质量、干质量、含水量与苗情相关性达极显著,活力指数与苗情相关性不显著。以株高、鲜(干)质量、含水量、苗情为耐盐性参考指标,考查各材料的耐盐性,方差分析见表 3。由表 2、表 3 可知,24 份材料在盐处理下大多指标间具有统计学意义,24 份材料耐盐性存在明显差异。

表 2 250 mmol/L 盐胁迫下苗情与各指标相关性分析		
性状	苗情	
	相关性	显著性
株高	-0.767 **	0.001
鲜质量	-0.732 **	0.001
干质量	-0.797 **	0.001
含水量	-0.579 *	0.003
活力指数	0.014	0.950

注: *、** 分别表示在 0.05、0.01 水平上相关性显著。

2.2 材料耐盐性比较及综合评价

本试验采用多指标的综合评价法^[9],依据干质量、鲜质量、株高、含水量、苗情的多重比较结果进行赋值 a=1,b=2,c=3,以此类推,计算均值,均值低的耐盐性强。由表 4 可鉴定 24 份材料的耐盐性,其中高耐的占 25.0%,盐敏感的占 29.2%。

2.3 SSR 基因型聚类结果

24 份材料在相似系数 0.72 处被分为 3 大类(图 1),其中,15(S8324)与 16(SX4321)最为相近,相似系数高达 0.91,3(PHWG5)与 4(PHJ31)2 个材料独立构成一类,与其他材料亲缘关系较远,此 2 个材料间相距也较远,相似系数只有 0.745。其中,24(F₁)与其亲本 1(PHW03)及 20(LH65)被聚为一类,相似系数分别达 0.87 和 0.82。大多材料亲缘关系较近,平均在 0.77 处。

2.4 盐处理下 24 份材料耐盐表型性状聚类结果

以材料在盐处理下的成活率、出苗天数、株高、干质量、鲜质量、发芽指数、含水量这 7 个指标构建耐盐表型聚类树状图(图 2),24 份材料在相似系数 0.37 处被分为了 2 大类。其中,在第一类中,除 17 号材料外,其他都为耐盐品系,且 1 号材料与 22 号材料相似系数最高,达 0.94。在第二大类中,盐敏感材料 20 号与中耐盐材料 9 号相似系数最高,达 0.94;盐敏感材料 14 号与中耐材料 11 号被聚为一类,相似系数为 0.91。

表 3 250 mmol/L 盐胁迫下各指标方差分析及苗情分级

材料	干质量 (g)	鲜质量 (g)	株高 (cm)	含水量 (%)	苗情
1	0.101a	0.676b	27.01a	0.847ab	1
2	0.097ab	0.660b	19.99bcd	0.853ab	1
3	0.067defg	0.423c	20.98bc	0.841ab	1
4	0.065efg	0.416c	16.73def	0.822ab	1
5	0.090abcd	0.890a	17.10cdef	0.887ab	2
6	0.075bcedf	0.400c	19.71bcd	0.810ab	2
7	0.070cefgh	0.356cd	14.83fgh	0.787ab	2
8	0.063efgh	0.313cde	18.98bcde	0.796ab	3
9	0.052fghijk	0.250cdef	14.45fghi	0.775ab	3
10	0.059efghj	0.253cdef	9.75k	0.766ab	3
11	0.050ghijk	0.233cdef	15.01efgh	0.778ab	3
12	0.035jk	0.146def	15.32efg	0.751ab	3
13	0.046ghijk	0.243cdef	10.87hijk	0.799ab	3
14	0.037ijk	0.113ef	9.09k	0.535abc	4
15	0.047ghijk	0.143ef	21.77b	0.557abc	4
16	0.0316k	0.093f	10.52ijk	0.300c	4
17	0.029k	0.080f	14.57fghi	0.511bc	5
18	0.030k	0.073f	9.96jk	0.504bc	5
19	0.081abcde	0.886a	12.25ghijk	0.909a	4
20	0.035jk	0.126ef	12.42ghijk	0.677ab	5
21	0.030k	0.120ef	14.04fghij	0.709ab	4
22	0.092abc	0.673b	20.55bcd	0.861ab	1
23	0.061efghi	0.283cdef	20.18bcd	0.788ab	1
24	0.040hijk	0.316cde	20.04bcd	0.867ab	5

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

表 4 250 mmol/L 盐胁迫下供试材料耐盐性综合评价结果

材料	干质量 (g)	鲜质量 (g)	株高 (cm)	含水量 (%)	苗情	平均值	耐盐评价
1	1	1	1	1	1	1.0	高耐
2	1	1	2	1	1	1.2	高耐
3	4	4	2	1	1	2.4	高耐
4	5	5	4	1	1	3.2	耐
5	1	1	3	1	2	1.6	高耐
6	2	2	2	1	2	1.8	高耐
7	3	3	6	1	2	3.0	耐
8	5	5	2	1	3	3.2	耐
9	6	6	6	1	3	4.4	中耐
10	5	5	11	1	3	5.0	中耐
11	7	7	5	1	3	4.6	中耐
12	10	10	5	1	3	5.8	敏
13	7	7	8	1	3	5.2	中耐
14	9	9	11	1	4	6.8	敏
15	7	7	2	1	4	4.2	中耐
16	11	11	9	3	4	7.6	高敏
17	11	11	6	2	5	7.0	敏
18	11	11	10	2	5	7.8	高敏
19	1	1	7	1	4	2.8	耐
20	10	10	7	1	5	6.6	敏
21	11	11	6	1	4	6.6	敏
22	1	1	2	1	1	1.2	高耐
23	5	5	2	1	1	2.8	耐
24	8	8	2	1	5	4.8	中耐

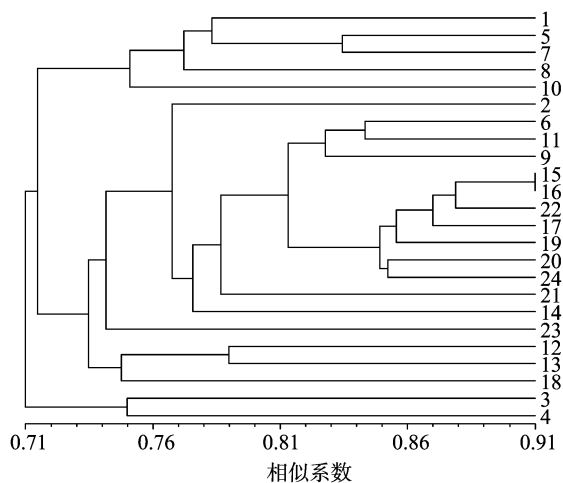


图1 24份材料SSR基因型聚类树状图

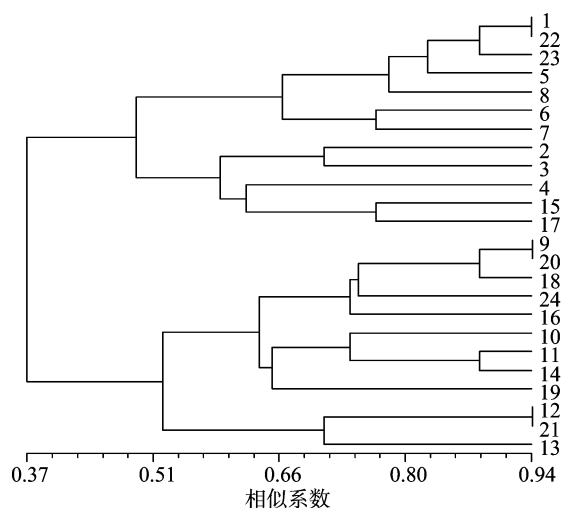


图2 24份材料耐盐表型聚类树状图

3 讨论

根据种子萌发与苗期耐盐试验可知,种子活力指数与苗情相关性不显著,不能作为苗期耐盐鉴定指标。然而,同一植物品种在不同生育期耐盐性存在差异,本试验结果与董志刚等发现芽苗期和幼苗期番茄耐盐性有所不同^[10]相一致。试验中诸多材料表现苗期耐盐性强,在萌芽期却受极显著抑制,因此,将芽期耐盐性与苗期耐盐性聚合到同一个材料中是耐盐性玉米新种质资源创造的目标之一^[9]。植物相对耐盐性在萌发期、幼苗期和成株期可能会不同,因此玉米耐盐性的研究,还需要对玉米整个生长过程各个时期进行全面考察。

单一指标难以全面准确地反映植物耐盐性的强弱^[11-15]。本研究中测定的 8 个指标,苗情与株高、干质量、鲜质量、含水量这些指标均成显著相关性。方差分析表明,这些指标虽都能从不同角度反映种质材料的耐盐性,但各指标对材料耐盐性的评价结果并不一致,所以在评价玉米耐盐性时选用综合评价极其重要。这与前人提出的植物资源耐盐性鉴定,不能使用单一指标,而应对多个指标进行综合评价才能准确反映植物耐盐性的观点^[11-15]是一致的。

本研究中用 SSR 标记和聚类分析,从分子水平上对 24 份玉米耐盐相关材料进行遗传差异分析,结果表明多数材料

的遗传相似性较高,说明这批材料遗传基础狭窄,主要原因是这批自交系均来自美国选育的优秀自交系,遗传背景有很大相似性。在玉米育种中应选择遗传相似系数较小的作为杂交组合。从图 1 来看,一些耐盐性高的材料在类群中分布比较集中,如二类中的 5、7、10、8 等 4 份材料中,5、7、8 在耐盐表型形状中也同属一类,三类中 3、4 独立成为一类,在耐盐表型分析中也被聚为一类,耐盐级别也相同,表明可以从分子角度反映材料的耐盐特性和遗传关系。但是,材料 15 与 16 遗传相似系数最高,而 15 属于中耐,16 属于高敏材料,而在表型聚类中,材料 15 与材料 16 相似度不高,部分这样现象可能因为这些基因和耐盐性及耐盐表型关系不大。SSR 标记的聚类结果与 24 份材料耐盐性综合评价及耐盐表型聚类结果基本一致,表明玉米耐盐性具有遗传效应。基因从表达到表现性状是一个复杂过程,将表型耐盐性状与分子标记结合起来,对于优秀亲本的预测有帮助。本试验中各材料在萌芽期与苗期耐盐性的差异,为我们选配高耐盐品种提供了理论参考。

参考文献:

- [1] Yokoi S, Quintero F J, Cubero B, et al. Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na⁺/H⁺ antiporters in the salt stress response[J]. The Plant Journal, 2002, 30(5): 529-539.
- [2] 吕盼忠, 李保国. 土壤学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 356-357.
- [3] Botía P, Navarro J M, Cerdá A, et al. Yield and fruit quality of two melon cultivars irrigated with saline water at different stages of development[J]. European Journal of Agronomy, 2005, 23(3): 243-253.
- [4] 李彦, 张英鹏, 孙明, 等. 盐胁迫对植物的影响及植物耐盐机理研究进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(1): 258-265.
- [5] 汤华, 柳晓磊, 罗秋芸. 玉米耐盐早期筛选体系的初步研究[J]. 海南大学学报: 自然科学版, 2007, 25(2): 169-172, 176.
- [6] 冯方剑. 棉花不同时期抗旱机制的研究及抗旱相关性状遗传分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2011.
- [7] 李新海, 袁力行, 李晓辉, 等. 利用 SSR 标记划分 70 份我国玉米自交系的杂种优势群[J]. 中国农业科学, 2003, 36(6): 622-627.
- [8] 付艳, 高树仁, 王振华. 玉米种质苗期耐盐性的评价[J]. 玉米科学, 2009, 17(1): 36-39, 50.
- [9] 冯艳, 江鹏, 王亚峰, 等. 玉米种质资源亲缘关系的分子标记鉴定及其耐盐性评价[J]. 中国农学通报, 2013, 29(33): 79-84.
- [10] 董志刚, 程智慧. 番茄品种资源芽苗期和幼苗期的耐盐性及耐盐指标评价[J]. 生态学报, 2009, 29(3): 1348-1355.
- [11] 方先文, 汤陵华, 王艳平. 耐盐水稻种质资源的筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(3): 295-298.
- [12] 贾亚雄, 李向林, 袁庆华, 等. 披碱草属野生种质资源苗期耐盐性评价及相关生理机制研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 2999-3007.
- [13] 申玉香, 乔海龙, 陈和, 等. 几个大麦品种(系)的耐盐性评价[J]. 核农学报, 2009, 23(5): 752-757.
- [14] 李源, 刘贵波, 高洪文, 等. 紫花苜蓿种质耐盐性综合评价及盐胁迫下的生理反应[J]. 草业学报, 2010, 19(4): 79-86.
- [15] 姜珊, 张文辉, 刘新成. 3 种园林树木种子萌发期耐盐性研究[J]. 西北植物学报, 2009, 29(4): 733-741.