

# 基于相对叶绿素含量的玉米自交系 氮敏感性鉴定与评价

李 猛<sup>1</sup>, 马 庆<sup>2</sup>, 王 慧<sup>3</sup>, 韦新兴<sup>4</sup>, 吴永升<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>宿州市农业科学院, 安徽宿州 234000; <sup>2</sup>安徽农业大学生命科学院, 合肥 230036;

<sup>3</sup>中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; <sup>4</sup>广西农业科学院玉米研究所, 南宁 530007)

**摘要:**采用前期建立的快速无损测定 SPAD 值分析相对叶绿素含量的模型, 于低氮与正常供氮大田试验处理下, 对我国玉米育种与生产上重要的 189 份玉米自交系开展了低氮与正常供氮条件下不同时期与不同部位叶片的相对叶绿素含量分析。方差分析结果表明, 低氮与正常供氮条件下, 叶绿素含量均存在极显著的基因型与环境差异, 基因型差异是氮敏感性差异的重要原因之一。散粉期和散粉后 10 d 玉米主要功能叶穗三叶(穗位上第 1 叶、穗位叶、穗位下第 1 叶)叶绿素含量之间具有极显著正相关; 大喇叭口期玉米全展叶叶绿素含量与各时期各部位叶绿素含量之间呈极显著中度相关。将正常供氮条件下的性状值与低氮胁迫下性状值的差值占正常供氮条件下性状值的百分比定义为氮敏感性。189 份玉米自交系氮平均氮敏感指数变幅为 23.86%~36.00%, 表现高度耐低氮的材料有合 344 和昌 7-2 等 40 份自交系, 高度敏感的材料有 CML206 和 CA375 等 40 份自交系。本研究提供了一种快速高效的种质资源氮敏感性鉴定与评价方法, 并为玉米耐低氮与氮高效的遗传育种提供了重要分析结果与基础数据。

**关键词:** 玉米; SPAD 值; 叶绿素含量; 氮敏感指数; 基因型

## Characterization and Evaluation of Sensitivity to Nitrogen Input Across Maize Inbreds Based on the Relative Chlorophyll Content

LI Meng<sup>1</sup>, MA Qing<sup>2</sup>, WANG Hui<sup>3</sup>, WEI Xin-xing<sup>4</sup>, WU Yong-sheng<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>Suzhou Academy of Agricultural Sciences, Suzhou Anhui 234000; <sup>2</sup>School of Life Sciences Anhui Agricultural University,

Hefei 230036; <sup>3</sup>Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; <sup>4</sup>Maize Research Institute,

Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007)

**Abstract:** In this research, a pre-built, rapid and non-destructive determination of the relative chlorophyll content based on SPAD data was used into the different parts of the leaf at the different growing stages across 189 maize inbred lines, which were widely used into maize breeding programs and corn production in China, under low nitrogen and normal nitrogen treatments. The variance analysis results showed that the chlorophyll contents were significantly difference of genotype and environment in both the low and normal nitrogen treatments. The genetic variance was one of the most important reasons of the difference in nitrogen sensitivity among inbred lines. The chlorophyll content of the three ear leaves, the most important functional leaves in pollination stage, had high significant positive correlation at the 0.01 level with that of ten days after pollination stage. However, the chlorophyll content of the full expanded leaves in pre-tassel stage only had moderate significant positive correlation at the 0.01 level with the chlorophyll contents of other leaves measured in different growing stages. We defined the nitrogen sensitive coefficient as the ratio of the difference between normal nitrogen trait value and low nitrogen trait value versus the normal nitrogen trait value. The sensitive nitrogen average index ranged from 23.86% to 36.00% among 189 inbred lines. Forty in-

收稿日期: 2015-04-07 修回日期: 2015-05-04 网络出版日期: 2015-10-14

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20151014.1410.010.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目(31361140364); 广西农科院基本科研业务专项(桂农科 2013YM07)

第一作者主要从事玉米遗传育种工作。E-mail: yumi0557@163.com

通信作者: 吴永升, 主要从事玉米育种研究。E-mail: wuys0771@126.com

bred lines such as He 344 and Chang 7-2 are highly low-nitrogen resistant materials. While, 40 inbred lines out of them such as CML206 and CA375 are highly sensitive materials. This study has provided a quick and an efficient nitrogen sensitivity way for identifying and evaluating maize germplasm, and provided some basic and important data for maize breeding for nitrogen use efficiency and low nitrogen tolerance.

**Key words:** maize; SPAD-value; chlorophyll content; nitrogen-sensitive index; genotype

氮肥是玉米生产上使用最多的大量营养元素肥料,氮利用效率低是世界农业研究的难题,提高玉米氮利用效率意义重大。玉米对氮素缺乏敏感,缺氮会使玉米叶片颜色变淡,从而影响光合作用的效率。叶绿素是植物进行光合作用的主要光合色素,其含量高低可以作为植物生理研究及评价植物氮素营养状况的重要依据<sup>[1-2]</sup>。植物叶片叶绿素含量的测定可以直接通过提取植物组织的叶绿素用分光光度法进行<sup>[3-5]</sup>。叶绿素含量也可以根据植物在不同生长状态下的光谱差异用叶绿素仪进行测定,叶绿素仪通过感应植物叶色值的差异来反映叶片叶绿素相对含量,其测定结果称为 SPAD 值,已被广泛应用于作物氮素营养状况的诊断与评价<sup>[6-9]</sup>。另外,根据玉米叶片 SPAD 值及相应叶绿素含量数据进行回归分析并建立线性回归方程,可以对玉米叶片叶绿素相对含量进行准确估计<sup>[10]</sup>。

本研究根据已经建立的玉米叶片 SPAD 值与叶绿素含量之间的回归关系对我国主要玉米自交系在低氮和正常氮条件下进行氮敏感性鉴定和评价。测定了 189 份玉米自交系多个时期的 SPAD 值并估算叶片叶绿素相对含量,进行玉米自交系氮敏感基因型差异分析,为我国玉米育种提供氮敏感基因型差异评价数据。

表 1 供试土壤的基本状况

Table 1 Basic properties of soil samples tested

年份 Year	全氮 (g/kg) Total-N	全磷 (g/kg) Total-P	有机质 (g/kg) Organic matter	有效磷 (mg/kg) Available-P	速效钾 (mg/kg) Available-K	缓效钾 (mg/kg) Slowly available-K	pH 值 pH value
2007	0.52	0.41	9.09	25.34	209.51	409.59	6.16
2008	0.55	0.49	9.20	24.17	215.61	419.35	5.91

**1.2.2 试验设计** 采用完全随机区组试验设计,试验设施氮与不施氮 2 个处理,每个处理 3 次重复。试验小区行长为 3.6 m,行距为 0.6 m,株距 0.2 m。

施氮处理于播种时分别施 60 kg/hm<sup>2</sup> 的 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 和 45 kg/hm<sup>2</sup> 的 K<sub>2</sub>O 作底肥,于 3 叶期施 69 kg/hm<sup>2</sup> 的纯氮,于大喇叭口期追施 172.5 kg/hm<sup>2</sup> 的纯氮;不施氮处理的磷钾肥施用量与施氮区相同,其他生育时

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料由 189 份玉米自交系组成,分别来源于我国不同的玉米产区,来自不同杂种优势亚群,具有丰富的遗传多样性<sup>[11]</sup>,是基于相对叶绿素含量氮敏感性评价与鉴定的良好材料。

### 1.2 试验方法

试验于 2007 年和 2008 年冬在海南崖城试验基地进行。为降低土壤氮素水平,种植前已经进行 3 年的氮素耗竭处理。处理方法为每季种植玉米等高秆作物,全生育期不施肥,成熟后全株拔除。

**1.2.1 供试土壤的养分含量分析** 土壤施肥前按照 5 点取样法取样分析养分含量,取各测定值的均值代表该地块的土壤养分。使用传统的凯氏蒸馏法进行全氮测定;全磷含量则用 HClO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 消煮-钼锑抗比色法来测定;用碳酸氢钠提取-钼锑抗比色法测定有效磷含量;有机质含量采用油浴加热重铬酸钾氧化-容量法进行测定;速效钾含量采用乙酸铵浸提-原子吸收分光光度计法测定;缓效钾含量用硝酸提取-原子吸收分光光度法进行测定;用电位法测 pH 值。表 1 为土壤的养分含量。

期不再施肥。

**1.2.3 SPAD 值测定** 分别于大喇叭口期、散粉期和散粉后第 10 天用 SPAD-502 叶绿素含量测定仪对供试玉米自交系叶片的 SPAD 值进行测定。大喇叭口期选择喇叭口处新抽出的全展叶进行测定;散粉期和散粉后 10 d 对每株穗三叶进行测定。每行测中间 5 株,取平均值。

**1.2.4 叶绿素相对含量换算** 根据本实验室建立的玉米叶片 SPAD 值及相应叶绿素含量之间的线性回归方程,计算玉米自交系叶片叶绿素相对含量。玉米叶片叶绿素含量  $y$  与 SPAD 值  $x$  之间的线性回归方程为  $y = 0.0776x + 0.1756 (r = 0.9193)^{[10]}$ 。

### 1.3 统计分析

**1.3.1 试验基本统计量分析** 采用 META-R3.0 (Multi Environment Trial Analysis for R) 进行基本统计量分析。

**1.3.2 氮敏感指数计算** 玉米各性状氮敏感指数是指正常施氮条件下与低氮条件下性状值的差占正常施氮条件下性状值的百分数<sup>[12]</sup>。根据玉米各性状调查值计算各自交系的氮敏感指数。公式为:

$$NSI = \frac{NN - LN}{NN} \times 100\%$$

公式中 NSI 为氮敏感指数, LN (low nitrogen) 和 NN (normal nitrogen) 分别为低氮和正常氮处理的性状值。

## 2 结果与分析

### 2.1 各时期叶绿素含量基本统计量

对田间试验采集的各时期玉米自交系叶绿素含

量数据进行分析,结果表明(表 2):在低氮条件下,各时期玉米自交系叶片叶绿素含量都不同程度的降低,但不同时期受低氮胁迫影响的程度不一,而且不同年份间受影响的程度也不同。低氮胁迫下,在 2007 年试验中,变幅最大的是散粉后 10 天穗上叶叶绿素含量达 8.26,变幅最小的为大喇叭口期叶片叶绿素含量为 1.79;在 2008 年试验中,变幅最大的是大喇叭口期叶片叶绿素含量变幅达 5.03,变幅最小的为散粉期穗位叶叶绿素含量为 2.54。在正常氮条件下,在 2007 年试验中,变幅最大的是散粉后 10 天穗上叶叶绿素含量达 2.59,变幅最小的为大喇叭口期叶片叶绿素含量为 1.77;在 2008 年试验中,变幅最大的是散粉期穗上叶叶绿素含量变幅达 2.96,变幅最小的为大喇叭口期叶片叶绿素含量为 1.78。同时,对各时期叶绿素含量在不同年份的遗传力进行计算,各时期叶绿素含量的广义遗传力都大于 0.5,遗传力最大的是 2007 年试验中正常氮条件下散粉期后 10 天穗下叶叶绿素含量,遗传力最小的是 2007 年试验中低氮条件下散粉期穗位叶叶绿素含量。这说明本试验条件控制较好,各性状遗传力较高。

表 2 189 份玉米自交系表型性状的参数统计分析

Table 2 Analysis of phenotypic data of 189 inbred lines in maize

性状 Trait	年份 Year	低氮 Low nitrogen				正常氮 Normal nitrogen			
		最小值	最大值	均值	遗传力	最小值	最大值	均值	遗传力
		Min.	Max.	Mean $\pm$ SD	Heritability	Min.	Max.	Mean $\pm$ SD	Heritability
大喇叭口期	2007	1.48	3.27	2.30 $\pm$ 0.32	0.6756	2.05	3.82	3.01 $\pm$ 0.31	0.8127
Chl PTS	2008	1.63	6.66	2.62 $\pm$ 0.36	0.5848	2.24	4.02	3.24 $\pm$ 0.29	0.6616
散粉期 1	2007	1.93	4.49	3.13 $\pm$ 0.42	0.6520	2.83	5.12	4.07 $\pm$ 0.37	0.8491
Chl1 PS	2008	1.28	4.15	2.76 $\pm$ 0.44	0.6389	1.75	4.71	3.49 $\pm$ 0.47	0.7851
散粉期 2	2007	1.82	8.62	3.14 $\pm$ 0.51	0.5830	2.85	5.34	4.14 $\pm$ 0.36	0.8591
Chl2 PS	2008	1.44	3.99	2.70 $\pm$ 0.40	0.6408	2.05	5.00	3.63 $\pm$ 0.42	0.7801
散粉期 3	2007	1.85	4.37	3.00 $\pm$ 0.42	0.6820	2.86	5.40	4.13 $\pm$ 0.38	0.8700
Chl3 PS	2008	0.18	4.05	2.56 $\pm$ 0.44	0.7142	2.26	4.74	3.53 $\pm$ 0.45	0.7109
散粉后 10 d1	2007	1.92	10.18	3.36 $\pm$ 0.52	0.6196	2.94	5.47	4.24 $\pm$ 0.38	0.8765
Chl1 TDAP	2008	0.89	4.54	2.95 $\pm$ 0.45	0.6516	2.27	4.74	3.72 $\pm$ 0.45	0.8074
散粉后 10 d2	2007	1.84	8.61	3.25 $\pm$ 0.50	0.6772	3.02	5.61	4.22 $\pm$ 0.38	0.8675
Chl2 TDAP	2008	1.25	4.22	2.79 $\pm$ 0.44	0.6534	2.27	4.88	3.69 $\pm$ 0.45	0.7718
散粉后 10 d3	2007	1.83	8.36	3.04 $\pm$ 0.50	0.6485	2.96	5.41	4.13 $\pm$ 0.39	0.8768
Chl3 TDAP	2008	1.00	4.08	2.56 $\pm$ 0.45	0.6927	2.28	4.78	3.64 $\pm$ 0.45	0.7613

Chl PTS 表示大喇叭口期全展叶叶绿素含量; Chl1 PS、Chl2 PS 和 Chl3 PS 分别表示散粉期穗上叶、穗位叶和穗下叶叶绿素含量; Chl1 TDAP、Chl2 TDAP 和 Chl3 TDAP 分别表示散粉后 10 天穗上叶、穗位叶和穗下叶叶绿素含量。下同

Chl PTS stands for the chlorophyll content of the first full leaf in pre-tassel stage; Chl1 TDAP, Chl2 TDAP and Chl3 TDAP represent the chlorophyll content of ten days after pollination of the three leaves flanking the ear from the top to the bottom; Chl1 PS, Chl2 PS and Chl3 PS represent the chlorophyll content of the three leaves flanking the ear from the top to the bottom in pollination stage. The same as below

## 2.2 玉米自交系叶绿素相对含量的基因型差异与分析

从表 3 可看出,所调查的性状中,各时期玉米自交系叶片叶绿素含量基因型间的差异都达极显著水平;在所有被调查性状中处理间的差异也都达到极

显著水平。大喇叭口期叶绿素含量在区组间的差异显著,其他性状都未达到显著水平。各性状在年份间的差异都达到极显著水平,造成年份间差异较大的原因主要是 2007 年玉米种植季节气温偏低,而且经过 2007 年深耕后 2008 年试验长势较好。

表 3 各性状联合方差分析  $F$  值

Table 3 The  $F$  value analysis of variance for chlorophyll content investigated of 189 maize inbred lines

变异来源	大喇叭口期	散粉期穗上叶	散粉期穗位叶	散粉期穗下叶	散粉后 10 d	散粉后 10 d	散粉后 10 d
Source	Chl PTS	Chl1 PS	Chl2 PS	Chl3 PS	Chl1 TDAP	Chl2 TDAP	Chl3 TDAP
基因型 Genotype	6.49 **	8.60 **	7.47 **	7.74 **	9.8 **	9.88 **	8.59 **
区组 Repeat	16.64 *	24.62	23.09	34.87	25.18	27.12	29.48
处理 Treatment	3071.93 **	3875.63 **	4920.30 **	5849.81 **	3488.23 **	4749.70 **	6045.55 **
年份 Year	796.86 **	1257.85 **	1184.66 **	1439.87 **	1133.29 **	1335.92 **	1243.37 **
基因型 × 处理 Genotype × Treatment	1.42 **	1.50 **	1.46 **	1.27 **	1.52 **	1.51 **	1.59 **
基因型 × 年份 Genotype × Year	1.60 **	2.39 **	2.21 **	2.32 **	1.93 **	2.25 **	2.52 **

\* 和 \*\* 分别表示差异显著性水平分别为 0.05 和 0.01

\* and \*\* mean that the difference is significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

## 2.3 玉米自交系叶绿素相对含量的遗传相关

玉米自交系各时期叶片的叶绿素含量的遗传相关系数列于表 4,以对角线各性状本身的遗传相关为界,上半部分为正常氮条件下 2 年性状联合遗传相关系数,下半部分为低氮条件下 2 年性状联合遗传相关系数。从分析结果可看出,多个性状之间的遗传相关系数为 1,如低氮条件下散粉期穗上叶与散粉期穗位叶叶绿素含量、散粉期穗上叶与散粉后

10 d 穗上叶叶绿素含量、散粉期穗位叶与散粉后 10 天穗上叶叶绿素含量;正常氮条件下散粉期穗位叶与散粉后 10 d 穗上叶叶绿素含量、散粉期穗位叶与散粉后 10 d 穗位叶叶绿素含量。而且,大部分性状之间都达到了 0.8 以上的高度显著相关。不过,在低氮和正常氮条件下,大喇叭口期玉米叶片叶绿素含量与各时期各部分玉米叶片叶绿素含量之间的遗传相关都相对较低。

表 4 189 份玉米自交系各时期叶绿素含量的遗传相关

Table 4 Genetic correlation of the chlorophyll content in different growing period of 189 inbred lines in maize

性状 Traits	大喇叭口期	散粉期 1	散粉期 2	散粉期 3	散粉后 10 d1	散粉后 10 d2	散粉后 10 d3
大喇叭口期 Chl PTS	1.00	0.75	0.74	0.72	0.73	0.73	0.66
散粉期 1 Chl1 PS	0.76	1.00	0.98	0.90	0.98	0.94	0.84
散粉期 2 Chl2 PS	0.72	1.00	1.00	0.98	1.00	1.00	0.94
散粉期 3 Chl3 PS	0.72	0.82	0.88	1.00	0.92	0.98	0.97
散粉后 10 d1 Chl1 TDAP	0.70	1.00	1.00	0.82	1.00	0.96	0.91
散粉后 10 d2 Chl2 TDAP	0.65	0.97	0.97	0.91	0.98	1.00	0.97
散粉后 10 d3 Chl3 TDAP	0.61	0.78	0.83	0.95	0.78	0.91	1.00

表中的遗传相关系数都达到了极显著水平

All the coefficients of the genetic correlation are significant at the 0.01 probability level

## 2.4 玉米自交系氮敏感指数及耐低氮性评价

根据试验收集到的玉米自交系叶片 SPAD 值,用玉米叶片 SPAD 值( $x$ )与叶绿素含量( $y$ )之间的线性回归方程计算叶绿素相对含量,用 METAR 计

算 2 年试验叶片叶绿素含量的 BLUP 值,然后用各个时期玉米自交系叶绿素含量的 BLUP 值计算各个时期玉米自交系的氮敏感指数,最后取平均值得到各玉米自交系的氮敏感指数(表 5)。

表 5 玉米自交系的耐低氮系数及氮敏感指数和相应类型

Table 5 Nitrogen susceptible index for tolerance to low nitrogen and the corresponding type of inbred line in maize

名称	氮敏感指数	类型	名称	氮敏感指数	类型	名称	氮敏感指数	类型
Name	(%) NSI	Type	Name	(%) NSI	Type	Name	(%) NSI	Type
合 344	15.432	HNT	C28	21.622	HNT	Jan-67	23.225	MNT
昌 7-2	15.938	HNT	H152	21.718	MNT	706 辐	23.257	MNT
Jan-89	18.380	HNT	掖 52106	21.785	MNT	K22	23.278	MNT
W24	18.654	HNT	M14	21.867	MNT	丹 3130	23.301	MNT
E28	18.870	HNT	31778	21.909	MNT	丹 598	23.310	MNT
P138	18.919	HNT	H3	22.063	MNT	临系 11	23.384	MNT
J002	19.035	HNT	早 21	22.086	MNT	唐四平头	23.472	MNT
自 330	19.331	HNT	吉 853	22.116	MNT	ES40	23.497	MNT
J001	19.660	HNT	196	22.207	MNT	中黄 68	23.517	MNT
吉 465	19.761	HNT	444	22.209	MNT	吉 477	23.572	MNT
吉 842	19.804	HNT	四 273	22.350	MNT	四 287	23.704	MNT
材 11-8	19.972	HNT	T8	22.359	MNT	龙抗 11	23.789	MNT
四 533	20.086	HNT	金黄 59	22.420	MNT	旱 23	23.837	MNT
CA156	20.123	HNT	四 387	22.449	MNT	齐 209	23.849	MNT
中黄 64	20.133	HNT	7884	22.461	MNT	3189	23.895	MNS
CA339	20.139	HNT	Feb-95	22.521	MNT	沈 136	23.941	MNS
获唐黄	20.147	HNT	川 321	22.546	MNT	Feb-48	24.011	MNS
郑 30	20.243	HNT	冀 53	22.547	MNT	Mo17	24.013	MNS
黄 C	20.303	HNT	4379	22.564	MNT	四至四	24.063	MNS
齐 319	20.308	HNT	SH15	22.713	MNT	Feb-79	24.089	MNS
齐 205	20.311	HNT	金黄 55	22.723	MNT	掖 478	24.113	MNS
QB80	20.434	HNT	PI10	22.766	MNT	8001	24.148	MNS
黄野四	20.440	HNT	齐 318	22.783	MNT	莫群 17	24.176	MNS
丹黄 02	20.515	HNT	郑 29	22.810	MNT	掖 107	24.182	MNS
77	20.627	HNT	新自 218	22.817	MNT	品 1P6Co	24.224	MNS
种苗 28	20.647	HNT	65232 宽	22.837	MNT	81565	24.302	MNS
OH43	20.815	HNT	CN962	22.849	MNT	四 144	24.331	MNS
中 106	20.906	HNT	B73	22.859	MNT	K14	24.334	MNS
武 314	20.942	HNT	R18	22.908	MNT	y75	24.336	MNS
综 31	21.015	HNT	吉 495	22.938	MNT	1029	24.339	MNS
吉 1037	21.063	HNT	CAL70	22.980	MNT	888-9	24.351	MNS
B104	21.079	HNT	吉 412	23.014	MNT	502	24.372	MNS
沈 137	21.177	HNT	早 8-3	23.016	MNT	8002	24.508	MNS
LX9801	21.268	HNT	9046	23.065	MNT	中 451	24.545	MNS
丹 340	21.299	HNT	5022(B)	23.074	MNT	早 49	24.585	MNS
X178	21.323	HNT	中自 01	23.097	MNT	501	24.588	MNS
K12	21.528	HNT	吉 818	23.151	MNT	M0113	24.596	MNS
郑 58	21.542	HNT	丹 599	23.197	MNT	TZI8	24.645	MNS
CML292	21.611	HNT	D 黄 212	23.217	MNT	东 156	24.661	MNS

表 5(续)

名称	氮敏感指数	类型	名称	氮敏感指数	类型	名称	氮敏感指数	类型
Name	(%) NSI	Type	Name	(%) NSI	Type	Name	(%) NSI	Type
郑 28	24.674	MNS	鲁原 133	25.643	MNS	CA091	26.814	HNS
中黄 204	24.707	MNS	吉 846	25.725	MNS	B84	26.892	HNS
川 273	24.779	MNS	吉 4112	25.776	MNS	PI42	26.925	HNS
东 91	24.851	MNS	多黄 29	25.780	MNS	Y7	26.983	HNS
海 9-21	24.854	MNS	K10	25.798	MNS	黄早四	26.985	HNS
U8112	24.940	MNS	BJ005	25.800	MNS	7922	27.080	HNS
川 1073-7	24.947	MNS	698-3	25.863	MNS	辽 2345	27.191	HNS
HZ85	24.961	MNS	374	25.870	MNS	8902	27.217	HNS
8415	24.979	MNS	长 3	26.026	HNS	L102	27.377	HNS
旅九宽	24.979	MNS	鲁原 92	26.083	HNS	CA335	27.505	HNS
H21	24.989	MNS	关 17	26.137	HNS	郑 22	27.518	HNS
豫 12	25.045	MNS	200B	26.151	HNS	辽 5114	27.642	HNS
CA112	25.064	MNS	803	26.164	HNS	鲁 2548	27.960	HNS
515	25.156	MNS	N528-1	26.169	HNS	WF9	28.093	HNS
辽 68	25.360	MNS	沈 5003	26.216	HNS	DP62-7	28.095	HNS
Jan-37	25.420	MNS	中 17	26.259	HNS	辽 138	28.260	HNS
沈 118	25.434	MNS	C8605-2	26.332	HNS	吉 81162	28.264	HNS
H10	25.436	MNS	金黄 96B	26.359	HNS	835	28.405	HNS
H201	25.524	MNS	CML51	26.574	HNS	辽 3053	28.406	HNS
四 F1	25.552	MNS	独 321	26.598	HNS	CN165	28.619	HNS
PH43	25.573	MNS	5213	26.673	HNS	中综 4C1	28.872	HNS
新自 153-2	25.611	MNS	辽白 371	26.685	HNS	塔 5	30.896	HNS
吉 63	25.617	MNS	汶黄	26.709	HNS	CA375	31.430	HNS
S37	25.623	MNS	N28	26.776	HNS	CML206	32.600	HNS

HNT 为高度耐低氮型, HNS 为高度敏感型, MNS 为中度敏感型, MNT 为中度耐低氮型

HNT: highly nitrogen tolerant, HNS: highly nitrogen susceptible, MNS: medium nitrogen susceptible, MNT: medium nitrogen tolerant, NSI, nitrogen susceptible index

为便于比较低氮胁迫条件下玉米自交系对氮肥的敏感性,采用逐级分类法,即以氮敏感指数的样本平均值为基准,将试验材料分为耐低氮和氮敏感 2 类;再分别以 2 类的平均值为基准,将试验材料分为高度耐低氮(HNT)、中度耐低氮(MNT)、中度敏感(MNS)和高度敏感(HNS)4 种类型。高度耐低氮的材料氮敏感指数小于 21.667%,中度耐低氮的材料氮敏感指数介于 21.667% ~ 23.875% 之间,中度敏感的材料氮敏感指数介于 23.875% ~ 25.934% 之间,高度敏感的材料氮敏感指数大于 25.934%。

从表 5 可看出,在 2007 年和 2008 年试验中,玉米自交系平均氮敏感指数为 23.857%,最高为

CML206,氮敏感指数为 32.600%;最低是合 344,氮敏感指数为 15.432%。表现高度耐低氮的材料有合 344 和昌 7-2 等 40 份,中度耐低氮的材料有 H152 和掖 52106 等 52 份,中度敏感的材料有 698-3 和 374 等 57 份,高度敏感的材料有 CML206 和 CA375 等 40 份。

### 3 讨论

#### 3.1 玉米自交系叶片叶绿素相对含量鉴定

本研究利用 SPAD 值与玉米叶片叶绿素含量存在的显著线性回归关系,可间接反映玉米叶绿素含量状况,玉米自交系叶片叶绿素相对含量从一定程度上反映玉米的低氮耐受能力。多项研究显示,玉

米叶绿素含量受多基因位点控制,为复杂数量性状遗传<sup>[13-16]</sup>。王爱玉等<sup>[17]</sup>定位了与玉米大喇叭口期玉米叶绿素含量有关的多个 QTL 位点,共可解释表型遗传变异的 36.8%。影响玉米氮素利用效率的因素是多方面的,土壤中氮含量、根系吸收能力以及玉米植株内氮素同化能力等都影响玉米氮素利用效率。土壤中氮素缺乏往往表现为叶绿素含量显著下降、叶色褪绿和叶片早衰等症状。通常情况下,玉米叶片叶绿素含量可反映氮同化能力,同化能力越强,光合物质积累就越多,叶绿素含量会相应提高;相反,如果玉米氮的同化能力弱,光合物质积累就少,叶绿素含量会相应降低。叶绿素测定仪在玉米散粉前和散粉后较长的一段时期都可以准确地测定并反映叶片 N 的含量,这个方法能很好地监测玉米营养状况。但不同玉米自交系对氮素的敏感程度有明显差异。因此,比较低氮条件与正常施氮条件下同一基因型的叶绿素含量差异,是反映该基因型是否对氮素反应敏感的重要依据。

恰当地鉴定玉米自交系的氮敏感性对于氮高效育种尤其重要,只有鉴定出氮高效的玉米自交系并以其为亲本选育二环系才能高效地选育出氮高效的玉米材料供育种使用。近年来,叶绿素仪被广泛应用于诊断作物叶片氮素营养状况。该仪器使用简便,对植株无损伤,具有较好的应用效果。利用此简便方法,只须借助 SPAD 测量仪便可完成测定叶绿素含量的过程,省去田间取样及从玉米叶片提取叶绿素并用分光光度计进行含量测定的繁琐过程,获得 SPAD 值后套用已经建立的回归方程即可得到玉米自交系叶片叶绿素相对含量<sup>[10]</sup>。该方法可应用于多种作物中,不过在不同作物中叶绿素含量与 SPAD 值之间的线性模型不一致,实际测定时,应根据需要建立适用于不同作物的线性模型。测定 SPAD 值时,为避免不同叶片间叶绿素含量差异而影响测定结果,应选取叶绿素含量稳定且进入功能盛期的全展叶进行测量,同时应避免叶脉。

本研究以叶绿素含量为指标分析 189 份自交系在不同生长期叶片叶绿素含量在低氮和正常氮条件下的基因型差异。试验结果表明,在低氮和正常氮条件下,基因型之间存在广泛的遗传差异。在低氮和正常氮条件下,散粉期和散粉后 10 d 玉米穗三叶叶绿素含量之间的遗传相关都高度显著,多个性状之间的遗传相关系数甚至达到 1;不过,大喇叭口期玉米全展叶叶绿素含量与各时期各部位叶绿

素含量之间的遗传相关稍低,大部分小于 0.75(虽然极显著相关)。为了简化评价程序并达到较好的评价效果,今后的试验中,我们可以只测定散粉期穗位叶和大喇叭口期全展叶 SPAD 值并转化为叶绿素含量。

### 3.2 我国常用玉米自交系氮敏感性评价

我国玉米遗传资源丰富,对玉米自交系进行氮利用效率的评价,不仅为玉米氮高效利用遗传研究提供信息,而且为玉米耐低氮育种提供理论和分子依据。玉米的耐低氮性受多基因控制,由多途径调控,对玉米氮敏感性进行全面评价,需要结合多指标综合鉴定并对不同生育时期玉米自交系的耐低氮性进行综合评价<sup>[18]</sup>。许海涛等<sup>[19]</sup>对多个玉米品质性状进行典型相关分析,建立了多性状选择评价的综合指数。陈俊意等<sup>[20]</sup>利用多个评价指标对 33 份玉米自交系进行磷利用效率的鉴定。H. R. Lafitte 等<sup>[21]</sup>研究指出,低氮条件下,利用产量、植株高度、穗位叶面积、散粉至吐丝期间间隔时间(ASI)及叶片衰老指数等次级性状对玉米育种材料进行选择,可有效提高玉米氮利用效率。

本研究以大喇叭口期叶绿素相对含量、散粉期穗三叶叶绿素相对含量和散粉后第 10 天穗三叶叶绿素的相对含量为对象,分析玉米自交系各时期叶片叶绿素含量在低氮和正常氮条件下的遗传变异并计算氮敏感指数,以 7 个性状 BLUP 值氮敏感指数均值采用逐级分级法对我国 189 份玉米自交系进行耐低氮性评价。从氮敏感指数分级结果可看出,我国主要玉米自交系在耐低氮性方面有广泛的遗传差异,当前栽培面积最大的玉米品种郑单 958 的 2 个亲本昌 7-2 和郑 58 都属于高度耐低氮类型,昌 7-2 的氮敏感指数排在参试材料的第 2 位;我国著名品种农大 108 的 2 个亲本黄 C 和 X178 也都属于高度耐低氮类型。另外,在被鉴定为氮高度敏感性的 40 份自交系中也不乏我国著名的自交系黄早四等。2 年的试验结果分析表明,玉米自交系各时期叶片叶绿素含量的变异幅度在低氮和正常氮条件下不同,变异幅度最大的性状在不同年份的试验中也不同。这说明玉米耐低氮性是复杂数量性状,受多基因控制,受环境影响大,进行玉米自交系耐低氮种质的评价和筛选时,应确保试验条件一致,各项田间管理要均一,以减少系统误差的影响,提高筛选准确性。进行耐低氮试验时,除了田间初筛、盆栽复筛以外,还应考虑进行多年、多点评价,筛选出在多种环境条件下重复性好的耐低氮玉米材料。

## 参考文献

- [1] 刘贞琦,刘振业,马达鹏,等. 水稻叶绿素含量及其与光合速率关系的研究[J]. 作物学报,1984,10(1):57-61
- [2] 汤继华,谢惠玲,黄绍敏,等. 缺氮条件下玉米自交系叶绿素含量与光合效率的变化[J]. 华北农学报,2005,20(5):10-12
- [3] 王爱玉,张春庆,吴承来,等. 玉米叶绿素含量快速测定方法研究[J]. 玉米科学,2008,16(2):97-100
- [4] 李得孝,侯万伟,员海燕,等. 玉米叶片叶绿素快速浸提方法研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(11):65-67
- [5] 明华,胡春胜,张玉铭,等. 浸提法测定玉米叶绿素含量的改进[J]. 玉米科学,2007,15(4):93-95,99
- [6] 李志宏,刘宏斌,张福锁,等. 应用叶绿素仪诊断冬小麦氮营养状况的研究[J]. 植物营养与肥料学报,2003,9(4):401-405
- [7] 朱新开,盛海君,顾晶,等. 应用 SPAD 值预测小麦叶片叶绿素和氮含量的初步研究[J]. 麦类作物学报,2005,25(2):46-50
- [8] 李刚华,丁艳锋,薛利红,等. 利用叶绿素计(SPAD-502)诊断水稻氮素营养和推荐追肥的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报,2005,11(3):412-416
- [9] 李志宏,张云贵,刘宏斌,等. 叶绿素仪在夏玉米氮营养诊断中的应用[J]. 植物营养与肥料学报,2005,11(6):764-768
- [10] 许振华,谢传晓,吴永升,等. 玉米自交系苗期氮敏感基因型差异分析[J]. 玉米科学,2010,18(1):34-41
- [11] Xie C X, Warburton M L, Li M S, et al. An analysis of population structure and linkage disequilibrium using multilocus data in 187 maize inbred lines[J]. Mol Breeding,2008,21:407-418
- [12] Wu Y S, Liu W G, Li X H, et al. Low-nitrogen stress tolerance and nitrogen agronomic efficiency among maize inbreds: comparison of multiple indices and evaluation of genetic variation[J]. Euphytica,2011,180(2):281-290
- [13] Chung J, Babka H L, Graef G L, et al. The seed protein, oil, and yield QTL on soybean linkage group I [J]. Crop Sci,2003,43:1053-1067
- [14] 唐亮,徐正进. 水稻苗期干物重和叶绿素含量的遗传分析[J]. 安徽农业科学,2007,35(6):1633-1635
- [15] 曹卫冬,贾继增,金继运. 不同供氮水平下小麦苗期叶绿素含量的 QTL 及互作研究[J]. 植物营养与肥料学报,2004,10(5):473-478
- [16] Xue D W, Chen M C, Zhou M X, et al. QTL analysis of flagleaf in barley( L.) for morphological traits and chlorophyll content [J]. J Zhejiang Univ SCIENCE B,2008,9(12):938-943
- [17] 王爱玉,张春庆. 玉米叶绿素含量的 QTL 定位[J]. 遗传,2008,30(8):1083-1091
- [18] 米国华,陈范骏,春亮,等. 玉米氮高效品种的生物学特征[J]. 植物营养与肥料学报,2007(1):155-159
- [19] 许海涛,许波,王友华,等. 典型相关分析在玉米遗传育种中的应用研究[J]. 河南科技学院学报,2008,36(3):6-8
- [20] 陈俊意,徐军,况守峰. 不同玉米基因型磷效率的因子分析[J]. 种子,2008,27(8):64-67
- [21] Lafitte H R, Edmeades G O. Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize. II. Grain yield, biomass production, and N accumulation[J]. Field Crop Res,1994,39:15-25

## 欢迎订阅 2016 年《西北农林科技大学学报(自然科学版)》

《西北农林科技大学学报(自然科学版)》是由国家“985 工程”和“211 工程”重点建设高校西北农林科技大学主办的综合性农业科学学术期刊。本刊现为中国自然科学核心期刊、全国综合性农业科学核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊和中国科技核心期刊,论文被国内外多家权威性数据库和文摘期刊固定转载和收录。

本刊主要刊登农林科学、植物保护、资源环境科学、园艺科学、动物科学与医学、食品科学、生命科学、农田水利与建筑工程、机械与电子工程等方面的原创性学术研究成果。读者对象为国内外农林科技工作者、高等院校教师、研究生和农林管理干部。

月刊,每期定价 20 元,全年 240 元。邮发代号为 52-82,全国各地邮局均可订阅,亦可直接向本刊编辑部订阅。国外总发行为中国国际图书贸易集团有限公司,国外发行代号为 M8146。

地址:陕西杨凌西北农林科技大学北校区 40 号信箱

邮编:712100

电话:(029)87092511

E-mail: xnxbz@nwsuaf.edu.cn

网址: http://www.xnxbz.net