

玉米耐盐种质筛选及群体遗传结构分析

郝德荣¹,程玉静¹,徐辰武²,冒宇翔¹,彭长俊¹,薛 林¹

(¹江苏沿江地区农业科学研究所,南通 226541;²扬州大学作物遗传生理省级重点实验室,扬州 225009)

摘要:采用盆栽法评价了 157 份玉米自交系的苗期耐盐性,并利用 115 对 SSR 标记解析了耐盐自交系的群体遗传结构。结果表明,T5V、N1026、农大 1145 及 4S 等 10 份玉米自交系为高耐盐玉米种质;处理后 10 d 株高、地上鲜重、地下鲜重、地上干重、地下干重及存活率可作为玉米苗期耐盐鉴定的重要指标;利用 SSR 分子标记,结合系谱资料,将 157 份自交系划为 6 个类群,其中具有通系 5 血缘(类群 I)、泰国糯玉米种质血缘(类群 III)及旅大红骨、黄早四等血缘(类群 VI)的自交系耐盐性较强,是开展玉米耐盐育种的重要种质类群。本研究筛选到的耐盐种质将为玉米耐盐遗传机制研究、玉米种质遗传改良及耐盐分子育种提供优异的基因资源。

关键词:玉米;耐盐性;评价;SSR 标记;遗传结构

Screening of Maize Germplasms for Salt-tolerance and Evaluation of Population Genetic Structure

HAO De-rong¹,CHENG Yu-jing¹,XU Chen-wu²,MAO Yu-xiang¹,PENG Chang-jun¹,XUE Lin¹

(¹ Jiangsu Yanjiang Institute of Agricultural Sciences, Nantong 226541; ² Jiangsu Provincial Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology, Yangzhou University, Yangzhou 225009)

Abstract: The salt tolerances of 157 maize inbred lines were evaluated during the seedling stage by means of potted identification, and the population structure of the studied inbred lines was analyzed using 115 SSR markers. The results showed that ten maize inbred lines, including T5V, N1026, Nongda 1145, 4S and so on, were highly salt-tolerant maize germplasms and the plant height after treatment for 10 (10DPH), shoot fresh weight (SFW), root fresh weight (RFW), shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), and survival rate (SR) could be used as key indicators for identification of salt tolerance in the maize seedling stage. Evaluation of population structure indicated that 157 inbred lines could be classified into six groups, which were generally consistent with their known pedigrees. The inbred lines derived from Tongxi 5 (group I), the waxy germplasms from Thailand (group III) and those from LRC, Huangzaosi (group VI) and so on, were highly tolerant to salt, which were important germplasms in maize breeding for salt tolerance. These screened salt-tolerant maize germplasms would provide excellent genetic resources for the studies of genetic mechanisms in maize, maize improvement, and molecular breeding for salt tolerance in the future.

Key words: Maize; salt tolerance; evaluation; SSR marker; population structure

土壤盐害是影响植物生长和产量的主要环境胁迫因素之一,盐分对植物生长的影响主要包括土壤渗透势下降、特殊离子胁迫、营养离子缺陷及多因素

综合效应等,植物在盐胁迫下发生一系列生理生化反应,导致光合性能下降,同化物运输变缓,地上部及地下部生长发育受到抑制,最终导致作物减产甚

收稿日期:2013-05-02 修回日期:2013-06-09 网络出版日期:2013-10-22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20131022.1541.014.html>

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目[CX(12)3067];南通市科技平台建设项目(CP12012002);南通市应用研究计划(BK2012084)

第一作者研究方向为玉米种质资源创新与分子育种。E-mail: drhao2008@hotmail.com

通信作者:薛林,研究方向为玉米遗传与育种。E-mail: 417803648@qq.com

或死亡^[1-2]。世界上有 20% 耕地面积和 50% 灌溉土地被盐害所影响^[3-4], 严重限制了农业生产的可持续发展。我国盐渍土总面积约 3600 万 hm^2 , 其中耕地盐渍化面积达到 920.9 万 hm^2 , 占全国总耕地面积 6.62%, 主要分布在西北、华北、东北和沿海地区^[5]。随着全球气候进一步恶化、可耕地面积逐年减少, 以及全球人口持续增长, 粮食安全问题成为全球关注的热点, 高效开发与利用盐渍化土地成为人类的必然选择, 而挖掘作物种质资源中的遗传多样性、鉴定耐盐基因型、培育耐盐作物品种是高效开发利用盐碱地的有效途径之一^[6-9]。通过遗传改良提升作物自身的耐盐能力, 对于提升耕地农业生产能力、增加可耕地面积、保障粮食安全具有重要现实意义。

玉米 (*Zea mays* L.) 是重要的粮食、饲料和工业原料作物, 在国民经济中占有重要地位。玉米对盐分中度敏感, 盐胁迫下玉米的生长发育受到明显的抑制, 是对盐分最敏感的禾本科作物^[10-11]。玉米耐盐性受多基因控制, 在长期的自然进化和人工驯化过程形成了丰富的遗传多样性, 现存种质资源中存在大量的耐盐遗传变异, 不同品种间存在显著的耐盐性遗传差异^[3, 12-13]。玉米自交系或育成品种是否具有耐盐性, 能否在盐渍土壤中利用, 首先要对其耐盐性进行科学的鉴定和评价^[14]。目前, 玉米耐盐性研究大多集中于耐盐机理方面, 对耐盐性鉴定方面的研究报道较少, 且尚未形成完善的耐盐评价体系。M. Ashrai 等^[15]从品种 Akber 中筛选到 18 个耐盐植株, 其后代在含盐沙培条件下表现出较强的耐盐性, 这表明通过遗传变异筛选和品种选育进行玉米耐盐性遗传改良是可行的。P. Santos 等^[16]从 24 份开放授粉品种和 30 份自交系分别鉴定出 3 份耐盐品种和 2 份耐盐自交系。付艳等^[17]、张春宵等^[18]、杨书华等^[19]从现有自交系和推广品种中分别筛选到 A069、郑单 958 等多份耐盐自交系和杂交种。

前人已对玉米耐盐性鉴定与种质筛选开展了相关研究, 但大多是针对少数自交系和推广品种, 缺乏大规模筛选鉴定, 对耐盐种质的遗传亲缘关系了解不够深入。近年来, 分子标记技术的飞速发展, 为玉米遗传多样性、群体遗传结构研究提供了新手段, 为杂种优势群的划分提供了重要参考依据^[20-22]。其中, SSR 标记被广泛用于玉米种质的遗传多样性分析和群体结构评价^[21-25], 并在玉米耐逆种质遗传多样性及群体遗传结构解析上有所应用^[23, 26-27]。

为了丰富我国玉米耐盐种质的遗传多样性, 选育综合性状优良的耐盐玉米品种, 本研究对长江中

下游地区玉米育种中广泛利用的 157 份玉米种质资源进行苗期耐盐性鉴定, 筛选耐盐性强的玉米种质, 为耐盐玉米育种及耐盐遗传机制的研究提供基因资源; 同时采用 SSR 标记结合系谱资料对供试材料的群体遗传结构进行评价, 解析各类群耐盐遗传变异, 发掘耐盐种质类群, 为进一步开展玉米耐盐遗传研究及耐盐玉米杂种优势利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

157 份供试玉米自交系由江苏沿江地区农业科学研究所提供 (表 1), 均为育种中广泛应用的重要种质资源, 包括 91 份普通玉米自交系和 66 份糯玉米自交系。

1.2 方法

1.2.1 耐盐性鉴定 试验于 2012 年 5-10 月在江苏沿江地区农业科学研究所试验基地塑料大棚内进行, 采用盆栽盐胁迫法进行苗期耐盐性鉴定。试验期间棚内平均气温 26.5℃ (白天)/17.0℃ (夜晚), 相对湿度 52.2% (白天)/81.8% (夜晚)。试验土壤为过筛的大田土、细沙按 2:1 的体积比配制, 将混匀后的干土装入花盆 (上口径 $\times$ 下口径 $\times$ 高 = 26 cm $\times$ 8 cm $\times$ 20 cm) 中, 保证每盆干土重量为 7 kg。选取饱满、整齐一致的供试材料种子均匀点播于盆中, 待长至 2 叶 1 心时进行间苗, 每盆保留 10 株生长一致的健壮幼苗。

待幼苗长至 3 叶 1 心时, 进行一次性盐胁迫 (NaCl) 处理, 以 NaCl (分析纯) 占土壤干重的 3‰ 作为盐胁迫处理浓度, 以清水处理为对照 (CK)。采用完全随机设计, 每份材料每处理 3 次重复, 每重复 1 盆。将配制好的盐溶液, 分别浇入对应的花盆中, 对照浇入等量的清水, 以保证每盆土壤含水量为最大田间持水量的 70% 左右。盆下放置盆托, 以防盐分外渗。盐胁迫试验开始后, 及时补充所蒸发的水分, 使土壤含水量保持相对恒定不变。测量盐胁迫处理后 3 d 株高 (3DPH) 和处理后 10 d 株高 (10DPH), 盐胁迫后 10 d 测定其余耐盐鉴定指标, 主要包括地上鲜重 (SFW)、地下鲜重 (RFW)、地上干重 (SDW)、地下干重 (RDW)、根冠比 (RSR)、存活率 (SR)、茎粗 (SD)、生长速率 (GR)。并计算各指标的耐盐指数^[8], 计算公式为: 耐盐指数 = 处理值/对照值。

1.2.2 耐盐性评价方法 利用模糊数学中的隶属函数方法^[28-29]进行各指标耐盐性综合评价。公式为: $X_{(ij)} = (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin})$ 。其中, $X_{(ij)}$ 表

表 1 157 份供试玉米自交系

Table 1 157 maize inbred lines for evaluation of salt tolerance

编号	自交系	编号	自交系	编号	自交系	编号	自交系	编号	自交系
No.	Inbred lines	No.	Inbred lines	No.	Inbred lines	No.	Inbred lines	No.	Inbred lines
1	4377	33	丹黄 02	65	T1006	97	N23	129	N2001
2	437	34	Mo17	66	T2001	98	N24	130	366 黄糯
3	T75	35	自 330	67	T1008	99	N25	131	N1001
4	T877	36	DH65232	68	T1009	100	T1010	132	N1002
5	4S	37	8723	69	T1011	101	Hu-2	133	N1003
6	苏 951	38	浚 92-6	70	T1012	102	衡白 522	134	神农糯
7	昌 7-2	39	9801	71	T1013	103	ZFF	135	N1005
8	农大 1145	40	Y85	72	T1014	104	新红 361	136	N1006
9	齐 319	41	综 3	73	T1015	105	06X-6	137	N1007
10	T249	42	综 31	74	T1016	106	361 神农糯	138	N1008
11	CA375	43	248	75	T1017	107	RF	139	N1009
12	丹 598	44	P178	76	T1018	108	通系 5	140	N1010
13	HL04-40-5	45	中 128	77	T1019	109	R-3	141	N1011
14	沈 137	46	P138	78	T1020	110	T2-1	142	N1012
15	4AYC	47	Q1261	79	T1021	111	NFHH	143	N1013
16	苏 195	48	K12	80	冀 35 选	112	NFT5T5	144	N1014
17	武 314	49	ZZG1	81	冀 53	113	NF	145	N1015
18	U8112	50	黄早四	82	R1	114	L8	146	R-8
19	F2	51	鲁原 92	83	R2	115	2214	147	海南白糯
20	新 19M	52	掖 107	84	R3	116	Hu-1	148	N2002
21	H991	53	DH4866	85	R4	117	Ybw1	149	T5V
22	YJ7	54	JH3372	86	R5	118	HDWF	150	N1020
23	N18	55	JH78-2	87	R6	119	HLZ	151	N1021
24	N3	56	郑 39	88	R7	120	黄 1	152	N1024
25	N21	57	J-2	89	R9	121	HMZW	153	N1025
26	郑 58	58	66	90	R10	122	W23	154	N1026
27	K22	59	568G	91	R11	123	W24	155	N1027
28	T803	60	T1000	92	N1	124	W25	156	N1028
29	C8605	61	T1002	93	N9	125	T1001	157	N1029
30	掖 478	62	T1003	94	N10	126	T4-1		
31	黄 C	63	T1004	95	N11	127	T361		
32	7922	64	T1005	96	N16	128	T354		

示 i 种类 j 指标的隶属值, X_{ij} 表示 i 种类 j 指标的测定值, X_{jmax} 、 X_{jmin} 分别为 j 指标的最大值和最小值。在不同鉴定指标耐盐指数隶属函数值计算的基础上, 将各品种不同指标的隶属函数值累加平均求总隶属函数值, 总隶属函数越大表示耐盐性越强。

1.2.3 SSR 基因型分析 于 3 叶期, 采用 SDS 方法^[30]提取供试材料的基因组总 DNA。用紫外分光光度计检测 DNA 浓度和纯度, 并把 DNA 浓度调至 10 ng/μL, -20 ℃ 保存备用。

从 Maize GDB (<http://www.maizegdb.org/>) 数据库中选取均匀分布在玉米 10 个染色体连锁群上的 115 对 SSR 标记对试材进行基因分型, 引物由上海生工生物工程有限公司 (Sangon Company) 合成。

采用 10 μL 反应体系进行 PCR 扩增, 其中包括 10 × PCR buffer (含 1.5 mmol/L MgCl₂), 25 μmol/L dNTP, 0.5 U Taq DNA 聚合酶, 1.5 mmol/L 正反向引物, 20 ng DNA 模板。PCR 反应程序采用 touchdown 程序^[31], 参照薛林等^[27]的方法。PCR 扩

增产物经 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PBR322 作为分子量标记), 0.1% 硝酸银溶液染色显带。

1.2.4 数据分析 采用 SPSS 18.0 软件进行各指标耐盐指数的方差分析 (ANOVA)、Person 相关分析; 采用 Ward 法, 利用总隶属函数值 (Sum) 进行耐盐性聚类分析, 确定耐盐种质类群。同时, 对各项指标盐害系数的隶属函数值分别进行聚类分析, 并与总隶属函数值聚类分析结果进行相关分析, 以确定适宜耐盐鉴定指标。

根据 SSR 标记位点等位基因频率, 利用 Power-marker 3.25 估算 Nei's 遗传距离, 并基于遗传距离构建非加权组平均 (UPGMA, unweighted pair-group method with arithmetic means) 系统聚类图, 评价群体遗传结构。

2 结果与分析

2.1 不同自交系耐盐指标的表型变异分析 157 份玉米自交系所有指标的耐盐指数均表

现出显著差异。各指标耐盐指数在群体内各自交系间呈现极显著差异,其中,生长速率变异幅度最大,其次为根冠比,变异幅度最小的为处理后 10 d 株高。方差分析表明(表 2),除了处理后 10 d 株高、地下鲜重和地上干重在不同重复间表现显著差异外,其余指标在各重复间差异不显著。

表 2 各指标耐盐指数的描述统计与方差分析

性状 Traits	均值 Mean	标准差 SD	最小值 Min.	最大值 Max.	变异幅度 Range	F 值 F value	
						自交系间	重复间
						Inbredlines	Blocks
处理后 3 d 株高 3DPH	0.84	0.08	0.59	1.03	0.44	6.66 **	0.06
处理后 10 d 株高 10DPH	0.75	0.08	0.55	0.96	0.42	8.29 **	10.15 **
地上鲜重 SFW	0.39	0.14	0.10	0.81	0.71	16.14 **	2.24
地下鲜重 RFW	0.51	0.21	0.04	1.13	1.09	15.71 **	5.01 *
地上干重 SDW	0.45	0.13	0.18	0.87	0.70	11.93 **	5.18 *
地下干重 RDW	0.55	0.12	0.25	0.84	0.59	6.40 **	1.47
根冠比 RSR	0.91	0.29	0.45	2.40	1.95	2.71 **	0.31
存活率 SR	0.73	0.22	0.09	1.00	0.91	10.46 **	0.54
茎粗 SD	0.78	0.13	0.44	1.26	0.82	6.63 **	2.79
生长速率 GR	0.56	0.36	-1.73	1.53	3.26	19.5 **	2.08

* $P < 0.05$ 水平下显著, ** $P < 0.01$ 水平下显著,下同。* significant at $P < 0.05$, ** significant at $P < 0.01$, the same as below 3DPH: Plant height after treatment for 3 days, 10DPH: Plant height after treatment for 10 days, SFW: Shoot fresh weight, RFW: Root fresh weight; SDW: Shoot dry weight, RDW: Root dry weight, RSR: Root-shoot ratio, SR: Survival rate, SD: Stem diameter, GR: Growth rate

2.2 不同自交系各指标耐盐指数隶属函数的相关性分析

盐胁迫下各指标耐盐指数隶属函数的相关性分析结果表明(表 3),耐盐指数的总隶属函数值除与根冠比呈负相关外,与其余指标均呈显著或极显著

正相关。其中,与地下干重相关最高,与地上干重的相关次之,与生长速率相关最低。除处理后 3 d 株高与根冠比和茎粗,生长速率与地上鲜重、地上干重、地下干重、存活率及茎粗,根冠比与茎粗相关不显著外,其余指标间均存在显著或极显著相关。

表 3 不同自交系各指标耐盐指数隶属函数的相关性

	3DPH	10DPH	SFW	RFW	SDW	RDW	RSR	SR	SD	GR
3DPH										
10DPH	0.607 **									
SFW	0.295 *	0.475 *								
RFW	0.239 *	0.497 **	0.733 **							
SDW	0.401 *	0.565 **	0.831 **	0.720 **						
RDW	0.327 *	0.516 **	0.808 **	0.763 **	0.846 **					
RSR	-0.213	-0.387 *	-0.313 *	-0.246 *	-0.494 *	-0.305 *				
SR	0.308 *	0.313 *	0.576 **	0.543 **	0.616 **	0.584 **	-0.271 *			
SD	0.146	0.242 *	0.303 *	0.372 *	0.288 *	0.332 *	-0.120	0.366 *		
GR	-0.231 *	0.454 *	0.193	0.237 *	0.129	0.142	-0.206 *	0.027	0.138	
Sum	0.510 **	0.708 **	0.854 **	0.832 **	0.866 **	0.872 **	-0.295 *	0.705 **	0.492 *	0.237 *

2.3 玉米自交系耐盐性聚类分析

基于 Ward 法对总隶属函数(Sum)进行的耐盐性聚类分析(图 1),将 157 份玉米自交系聚为 5 个类群,第 I 类为高感盐类(HS)材料,共 31 个自交系,总隶属函数均值为 0.320,大多数材料为普通玉米自交系;第 II 类为高耐盐类(HR),共 10 个自交系,总隶属函数均值为 0.677,包括 3 个普通玉米和 7 个糯玉米自交系;第 III 类为耐盐类(R),总隶属函

数均值为 0.598,共 36 个自交系,包括 17 个普通玉米和 19 个糯玉米自交系;第 IV 类为感盐类(S),总隶属函数均值为 0.434,包括 34 个自交系,其中大部分材料为普通玉米;第 V 类为中耐盐类(MR),总隶属函数均值为 0.520,共 46 个自交系,包括 21 个普通玉米和 25 个糯玉米自交系。

为确定适宜苗期耐盐鉴定指标,本研究对供试材料各指标的耐盐指数隶属函数分别进行聚类

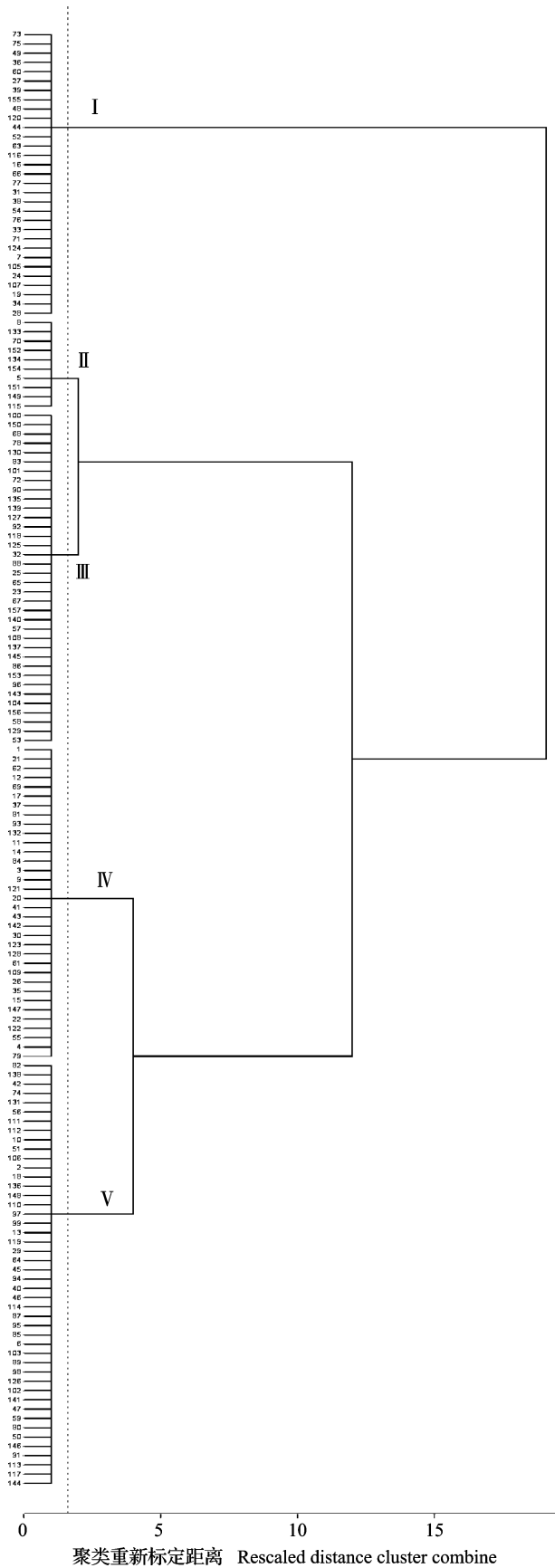


图 1 玉米耐盐性聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis of salt tolerance in maize

分析,并将聚类结果与总隶属函数聚类结果进行相关分析(表 4)。除根冠比及生长速率的耐盐指数隶属函数聚类结果与总隶属函数聚类结果差异较大外,其余 8 个指标的耐盐指数隶属函数聚类结果与总隶属函数聚类结果基本一致。其中,处理后 10 d 株高、地上鲜重、地下鲜重、地上干重、地下干重、存活率的耐盐指数隶属函数与总隶属函数的聚类结果达极显著相关,可作为苗期玉米耐盐鉴定的首选指标,而根冠比及生长速率不宜作为苗期耐盐鉴定指标。

2.4 群体遗传结构分析及各类群耐盐性评价

利用 Powermarker 3.25 软件,根据 SSR 标记的基因频率对供试材料进行遗传聚类,结合系谱资料,将 157 份玉米自交系划分为 6 个类群(图 2)。第 I 类群有 19 份自交系,包括 18 个糯玉米自交系和 1 个普通玉米自交系,其中糯玉米自交系主要为江苏沿江地区农科所选育的通系 5 及其衍生种质群。第 II 类群有 13 个自交系,包括 9 个具有塘四平头(SPT)血缘的普通玉米和 4 个糯玉米自交系。第 III 类群有 32 个自交系,包括 29 个糯玉米和 3 个普通玉米自交系,其中糯玉米自交系大多具有衡白 522 及泰国热带种质血缘。第 IV 类群包括 20 个普通自交系,大多具有 78599(PB)血缘。第 V 类群有 29 个自交系,包括 3 个糯玉米和 26 个普通玉米自交系,主要为 Reid 血缘材料。第 VI 类群共有 44 个自交系,包括 12 个糯玉米自交系和 32 个普通玉米自交系,主要为旅大红骨(LRC)、黄早四及少量热带种质(如 suwan、泰国糯玉米等)所衍生的混合种质类群。

根据供试材料对盐胁迫的耐性反应,对 6 个类群玉米自交系耐盐性进行了评价(表 5)。第 I、III 和 VI 类群的各指标耐盐指数总隶属函数值较高,类群内中耐盐以上反应类型的自交系比例分别为 84.2%、75.0% 和 65.9%,其余 3 个类群耐盐性较差。其中,第 I、III 类群的耐盐自交系大多为通系 5 血缘和泰国热带种质血缘的糯玉米自交系,第 VI 类群的耐盐自交系大多为旅大红骨、黄早四衍生种质及 suwan、泰国糯玉米等热带种质衍生系。在耐盐玉米育种中,可以选用来自第 I、III 及 VI 类群的糯玉米耐盐自交系作为耐盐糯玉米育种基因资源,而第 VI 类群的普通玉米耐盐自交系则可为普通玉米耐盐遗传改良提供种质基础,从而改良群体内自交系的耐盐能力。同时,可利用不同类群间的杂种优势,配制杂优组合,为内陆盐碱地及沿海滩涂农业高效利用提供优良耐盐玉米杂交种。

表 4 各指标耐盐指数隶属函数聚类分析结果的相关性

Table 4 Correlation of the results from the cluster analysis of different subsection values of salt-tolerance index

	处理后 3 d 株高 3DPH	处理后 10 d 株高 10DPH	地上鲜重 SFW	地下鲜重 RFW	地上干重 SDW	地下干重 RDW	根冠比 RSR	存活率 SR	茎粗 SD	生长速率 GR
总隶属函数 Sum	0.506 *	0.708 **	0.807 **	0.783 **	0.844 **	0.828 **	-0.325	0.641 **	0.446 *	0.226

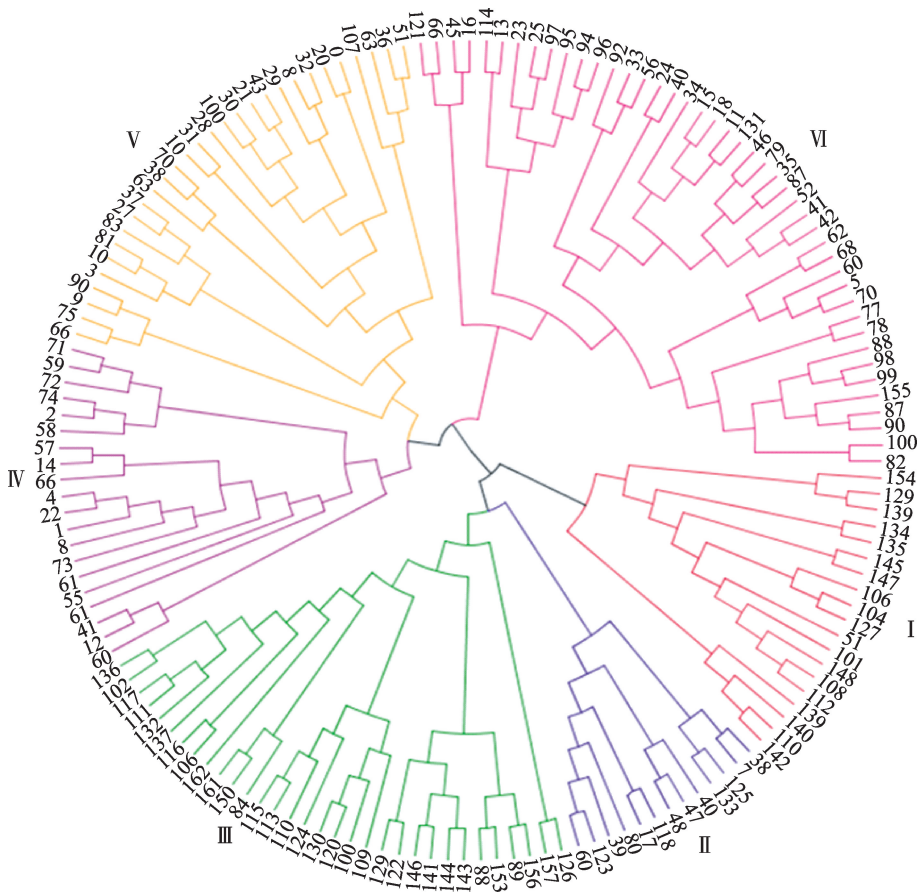


图 2 157 份玉米自交系群体遗传结构及 UPGMA 聚类图

Fig. 2 Genetic structure and UPGMA dendrogram of 157 maize inbred lines

表 5 6 个类群玉米自交系对盐胁迫的耐性反应

Table 5 Summary of tolerance to salt stress of inbred lines from six groups

类群 Groups	自交系数数量 No. of inbred lines	最小值 Min.	最大值 Max.	总隶属函数 均值 ± 标准差 Mean ± SD of Sum	多重比较 LSD	盐胁迫耐性反应 Tolerance to salt stress
I	19	0.416	0.700	0.551 ± 0.083	a	HR(3), R(8), MR(5), S(3)
II	13	0.300	0.666	0.466 ± 0.119	b	HR(1), R(2), MR(3), S(2), HS(5)
III	32	0.237	0.736	0.530 ± 0.115	ab	HR(3), R(9), MR(12), S(4), HS(4)
IV	20	0.299	0.670	0.475 ± 0.103	b	HR(1), R(4), MR(4), S(7), HS(4)
V	29	0.253	0.615	0.424 ± 0.105	c	R(4), MR(4), S(10), HS(11)
VI	44	0.216	0.679	0.492 ± 0.104	ab	HR(2), R(9), MR(18), S(8), HS(7)

HR:高耐盐; R:耐盐; MR:中耐盐; S:感盐; HS:高感盐; 括号内数字表示不同盐反应类型所包括的自交系数数量
HR: Highly salt-resistant, R: Salt-resistant, MR: Moderate salt-resistant, S: Salt-sensitive, HS: Highly salt-sensitive. Figures in brackets indicate the numbers of the maize inbred lines with different response to salt stress

3 讨论

3.1 玉米耐盐性鉴定与种质筛选

鉴定和筛选耐盐种质是开展作物耐盐育种的基础^[32]。目前,耐盐性评价通常采用田间自然鉴定、人工盐池、温室盆栽和水培等耐盐鉴定方法。田间自然鉴定和人工盐池虽然能够同时鉴定大量种质,但在这两种环境下耐盐鉴定面临着土壤特性的空间差异以及季节性雨水等问题^[29,33]。而温室盆栽和水培鉴定可避免环境影响,用于芽苗期耐盐性鉴定,且操作简便易行,是目前作物种质耐盐鉴定的主要方法。张春宵等^[18]对 14 个玉米杂交种进行苗期盆栽耐盐性和大田鉴定分析,结果表明苗期盆栽耐盐综合评价分级与大田鉴定结果基本一致,为玉米种质资源的大规模盆栽耐盐鉴定提供了依据。玉米全生育期中,3 叶 1 心期是对盐分最敏感的时期,在该阶段进行耐盐性鉴定具有高度的代表性^[17]。本研究利用盆栽鉴定方法,于 3 叶 1 心期对供试玉米自交系进行一次性盐胁迫处理,不同自交系间耐盐性呈现极显著差异(表 2)。通过对 157 份玉米自交系的 10 个指标耐盐指数总隶属函数聚类分析(图 1),筛选到 10 个高耐盐玉米自交系(包括 T5V、N1026、农大 1145、4S 等糯玉米及普通玉米育种骨干自交系)和 31 个高感盐玉米自交系(主要为黄 C、丹黄 02、浚 92-6、掖 107、Mo17、昌 7-2、苏 195 等普通玉米自交系),与前人的研究结果基本一致^[17,34]。自交系的耐盐性强,则组配的玉米杂交种耐盐性也较强^[35]。本研究利用盆栽方法筛选的耐盐种质可为我国玉米耐盐种质的遗传改良及杂交种的选育提供参考,同时也为玉米耐盐基因的挖掘及耐盐分子育种提供优异基因资源。由于本研究仅是苗期盆栽耐盐性鉴定,对于筛选出的耐盐自交系仍需进一步进行自然条件下的田间耐盐鉴定,尤其是盐土条件下对中后期农艺性状和产量性状的影响,从而为玉米耐盐育种提供准确优良的耐盐玉米种质。

3.2 耐盐鉴定指标的确定

作物苗期耐盐机理较为复杂,盐胁迫下干物质积累、根系发育、光合作用及渗透调节等均发生变化,仅凭单一指标的耐盐性变异难以准确地反映种质耐盐性的强弱^[6,36]。为了全面准确地评价作物耐盐性,需要选择合适的指标及适宜的方法进行综合评价。模糊数学中的隶属函数法为作物耐盐性综合

评价提供了理想方法,并被广泛应用于番茄^[28]、高粱^[29]、棉花^[6]、玉米^[37]等多种作物的耐盐种质筛选研究。本研究利用总隶属函数对 157 份玉米自交系进行了耐盐性综合评价,并与各指标的耐盐指数隶属函数聚类结果进行了相关分析,为有效筛选玉米耐盐性鉴定指标提供了依据。从单个指标与总隶属函数聚类结果相关分析来看(表 4),处理后 10 d 株高、地上鲜重、地下鲜重、地上干重、地下干重等干物质积累相关的指标与玉米耐盐性综合评价结果显著相关,可作为玉米苗期耐盐鉴定的首选指标,这与前人的研究结果一致^[34-35]。王春英等^[35]研究发现玉米受到盐胁迫后,植株干物质积累速度变慢,干物重下降,根变粗变短,侧根和根毛减少,节根数增多,根冠比增大。汤华等^[34]对玉米自交系进行盆栽耐盐性鉴定,结果表明玉米株高、地上部和根系鲜重都与盐浓度高度负相关,达极显著水平,可以作为玉米耐盐性早期筛选的指标。但是,盐分对苗期玉米的胁迫涉及不同的生理代谢途径,因此除了对形态性状的直接鉴定外,在进一步的研究中还将结合田间鉴定,对盐胁迫相关的生理生化指标进行综合分析,并利用耐盐分子标记加以辅助鉴定,以减少外界环境条件的影响,从而提高耐盐鉴定的准确性和筛选效率。

3.3 耐盐种质群体的遗传结构

解析玉米自交系的群体遗传结构、分析类群间遗传亲缘关系是玉米自交系改良和杂种优势模式选择的基础^[38]。分子标记技术的发展为自交系遗传多样性及遗传亲缘关系研究提供新的解析手段。C. Xie 等^[39]利用 SSR 标记将我国主要玉米自交系划分为 BSSS(包括 Reid)、PA、PB、Lancaster、LRC、SPT。李新海等^[25]利用 SSR 标记研究了 70 份我国主要玉米自交系的遗传变异,遗传聚类与系谱分析和育种家经验基本相符,与 C. Xie 等^[39]的研究报道一致。武斌等^[26]对 53 份玉米自交系苗期耐旱性进行了鉴定,并利用 SSR 标记解析了供试自交系的遗传结构,根据耐旱性反应,发现 BSSS、PB 和塘四平头类群耐旱性较好,为重要的耐旱种质类群。本研究利用 115 个 SSR 标记将 157 份玉米自交系划分为 6 个类群(图 2),盐胁迫下第 I、Ⅲ和Ⅵ类群自交系的各指标耐盐指数隶属函数及总隶属函数值均较高,含有较多中耐以上的耐盐玉米种质,是开展玉米耐盐育种的重要种质类群。其中,第 I、Ⅲ类群为糯玉米种质类群,筛选的耐盐种质主要具有通系 5 及

泰国种质血缘,而通系 5 及泰国种质均源自南部沿海地方品种,在人工驯化和育种选择过程中,可能由于选择牵连效应^[40],使得育成自交系既具有良好的耐盐性,又具备优良的农艺性状,这为我国南方糯玉米耐盐种质创新与改良提供了丰富的遗传资源。

参考文献

- [1] Talei D, Valdiani A, Yusop M K, et al. Estimation of salt tolerance in *Andrographis paniculata* accessions using multiple regression model[J]. Euphytica, 2013, 189: 147-160
- [2] 张新春, 庄炳昌, 李自超. 植物耐盐性研究进展[J]. 玉米科学, 2002, 10(1): 50-56
- [3] Khan A A, Rao S A, McNeilly T. Assessment of salinity tolerance based upon seedling root growth response functions in maize (*Zea mays* L.) [J]. Euphytica, 2003, 131: 81-89
- [4] Geilfus C M, Zörb C, Mühling K H. Salt stress differentially affects growth-mediating β -expansins in resistant and sensitive maize (*Zea mays* L.) [J]. Plant Physiol Bioch, 2010, 48: 993-998
- [5] 王佳丽, 黄贤金, 钟太洋, 等. 盐碱地可持续利用研究综述[J]. 地理学报, 2011, 66(5): 673-684
- [6] 张国伟, 路海玲, 张雷, 等. 棉花萌发期和苗期耐盐性评价及耐盐指标筛选[J]. 应用生态学报, 2011, 22(8): 2045-2053
- [7] 时津霞, 乔永利, 杨庆文, 等. 以色列野生二粒小麦 (*Triticum dicoccoides*) 耐盐性鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(4): 369-373
- [8] 姜奇彦, 胡正, 张辉, 等. 大豆种质资源耐盐性鉴定与研究[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(5): 726-732
- [9] 王萌萌, 姜奇彦, 胡正, 等. 小麦品种资源耐盐性鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(2): 189-194
- [10] 王丽燕, 赵可夫. 玉米幼苗对盐胁迫的生理响应[J]. 作物学报, 2005, 31(2): 264-268
- [11] Maas E, Hoffman G. Crop salt tolerance current assessment[J]. J Irrig Drain Div, 1977, 103: 115-134
- [12] Schubert S, Neubert A, Schierholt A, et al. Development of salt-resistant maize hybrids; the combination of physiological strategies using conventional breeding methods[J]. Plant Sci, 2009, 177: 196-202
- [13] Fortmeier R, Schubert S. Salt tolerance of maize (*Zea mays* L.): the role of sodium exclusion[J]. Plant Cell Environ, 1995, 18: 1041-1047
- [14] 翁跃进. 作物耐盐品种及其栽培技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003
- [15] Ashrai M, McNelly T. Improvement of salt tolerance in maize by selection and breeding[J]. Plant Breeding, 1990, 104: 101-107
- [16] Santos P, Descalsota J, Ladia V. Screening for salinity tolerance to yellow corn varieties and inbreds[J]. Philipp J Crop Sci, 2010, 35: 125
- [17] 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
- [18] 张春宵, 刘晓鑫, 周波, 等. 吉林省 26 份主推玉米杂交种的苗期耐盐碱性分析[J]. 作物杂志, 2010(1): 66-69
- [19] 杨书华, 张春宵, 朴明鑫, 等. 69 份玉米自交系的苗期耐盐碱性分析[J]. 种子, 2011, 30(3): 1-6
- [20] Liu K, Goodman M, Muse S, et al. Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites [J]. Genetics, 2003, 165: 2117-2128
- [21] 杨文鹏, 关琦, 杨留启, 等. 贵州 70 份玉米自交系的 SSR 标记遗传多样性及其杂种优势群分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 241-248
- [22] 袁力行, 张世煌, 傅骏骅, 等. 玉米遗传多样性与杂种优势群研究[J]. 中国农业科学, 2000, 33(S1): 9-14
- [23] 陈永坤, 李新海, 肖木辑. 64 份玉米自交系抗粗缩病的遗传变异分析[J]. 作物学报, 2006, 32(12): 1848-1854
- [24] Yang X, Yan J, Shah T, et al. Genetic analysis and characterization of a new maize association mapping panel for quantitative trait loci dissection[J]. Theor Appl Genet, 2010, 121: 417-431
- [25] 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
- [26] 武斌, 李新海, 肖木辑, 等. 53 份玉米自交系的苗期耐旱性分析[J]. 中国农业科学, 2007, 40(4): 665-676
- [27] 薛林, 张丹, 徐亮, 等. 玉米抗粗缩病自交系种质的发掘和遗传多样性及其在育种中的应用[J]. 作物学报, 2011, 37(12): 2123-2129
- [28] 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
- [29] 王秀玲, 程序, 李桂英. 甜高粱耐盐材料的筛选及芽苗期耐盐性相关分析[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(6): 1239-1244
- [30] Dellaporta S L, Wood J, Hicks J B. A plant DNA miniprep: version II[J]. Plant Mol Biol Rep, 1983, 1: 19-21
- [31] Don R, Cox P, Wainwright B, et al. Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification[J]. Nucleic Acids Res, 1991, 19: 4008
- [32] 籍贵苏, 杜瑞恒, 刘国庆, 等. 高粱耐盐性评价方法研究及耐盐碱资源的筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(1): 25-30
- [33] Krishnamurthy L, Serraj R, Hash C T, et al. Screening sorghum genotypes for salinity tolerant biomass production[J]. Euphytica, 2007, 156: 15-24
- [34] 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
- [35] 王春英, 张秀清. 玉米杂交种及自交系抗盐性的鉴定[J]. 玉米科学, 1996, 4(2): 23-26
- [36] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annu Rev Plant Biol, 2008, 59: 651-681
- [37] 陈波, 张燕, 蔡光泽, 等. 玉米地方品种耐盐性鉴定及评价指标筛选[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(21): 4722-4727
- [38] 吴承来, 张倩倩, 董炳雪, 等. 我国部分玉米自交系遗传关系和遗传结构解析[J]. 作物学报, 2010, 36(11): 1820-1831
- [39] Xie C, Warburton M, Li M, 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
- [40] 张学勇, 童依平, 游光霞, 等. 选择牵连效应分析: 发掘重要基因的新思路[J]. 中国农业科学, 2006, 39(8): 1526-1535