

不同棉花种质资源耐热性鉴定

刘少卿¹,何守朴¹,米拉吉古丽²,周忠丽¹,孙君灵¹,杜雄明¹

(¹中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室,安阳 455000; ²新疆农业科学院吐鲁番长绒棉研究所,吐鲁番 838000)

摘要:随着全球气候变暖,高温胁迫已经成为影响棉花产量的主要因素之一。中国棉花种植区,在7月和8月棉花花铃高峰期经常出现周期性极端高温胁迫,导致蕾铃脱落,降低了产量,因此棉花耐热性种质的筛选迫在眉睫。本试验在新疆吐鲁番自然高温条件下,调查200份不同棉花种质资源的脱落率、花粉活力、叶片萎焉程度、花粉形态、不孕子率等田间性状。然后选择29份不同耐热性种质在河南安阳种植,调查30、35、40、45和50℃离体培养条件下的花粉萌发率。不同耐热性种质资源在自然高温条件下的鉴定指标和室内离体培养花粉萌发率存在着极显著的差异。而且不同鉴定指标间也存在着不同的相关性。结合田间调查结果和花粉离体培养萌发率,将29份种质划分为耐高温型、较耐高温型、高温较敏感型和高温敏感型种质,并初步确定了耐热性的鉴定指标。

关键词:棉花;耐热性;田间调查;花粉;离体培养

Identification for the Thermotolerance of Different Germplasm in Cotton

LIU Shao-qing¹, HE Shou-pu¹, MI La-ji-gu-li², ZHOU Zhong-li¹, SUN Jun-ling¹, DU Xiong-ming¹

(¹Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/State Key Laboratory of Cotton Biology, Anyang 455000;

²Tulufan Institute of Cotton Science, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Tulufan 838000)

Abstract: With global climate been warming, heat stress has became a main factor influencing cotton product around the world. In cotton growing areas of China, especially in Yangtze River valley, unexpected periodic extreme high temperature usually occurred in the period of full florescence and boll setting, and this resulted in higher bud and boll abscission rates and lower lint yields. Hence, screening of heat resistant cotton germplasm is extremely urgent. In this study, we planted 200 different thermotolerance cotton germplasms in Tulufan of Xinjiang province located in west of china. We investigated the bud and boll abscission rates, pollen vitality, leaf wilting, pollen morphology, infertile seed rates and so on. And then 29 germplasms with different heat tolerance were growed in Anyang of Henan. The pollen germination rate *in vitro* at 30℃, 35℃, 40℃, 45℃, and 50℃ were investigated respectively. There were significant differences in field index and pollen germination rate among different thermotolerance cotton germplasms. Meanwhile there were different correlation in the ten identify index. Based on the pollen germination rate *in vitro* and the field index of heat tolerance, 29 germplasms were fell into four types including heat tolerance line, moderately heat tolerance line, heat suseptible line, and moderately susceptible line. And the field identification indexes for the thermotolerance were confirmed.

Key words: *Gossypium* spp.; thermotolerance; field investigation; pollen; *in vitro*

随着全球暖化,热胁迫已经给许多国家和地区
的农业造成了影响^[1]。人类活动所排放的气体,增

加了温室气体的浓度,特别是二氧化碳、甲烷、氯氟
化碳和一氧化氮的浓度。这些温室气体将逐渐的提

高平均环境温度,根据关于气候变化的政府间座谈会议的报告,全球平均温度将每10年升高0.3℃,导致全球变暖^[2]。

棉花的生长发育周期长,因此棉花不同生长发育时期所处的外界温度不同。但是棉花种子萌发、幼苗生长、根发育、发芽、开花、皮棉产量和酶活性的最适温度为28±3℃^[3-8]。夏季(棉花盛花期和结铃期),当持续周期性高温发生时,会影响棉花花粉发育、授粉和受精,导致蕾铃脱落,影响棉花的产量和品质^[9-10]。而且棉花早期育种过程中,关注的主要还是产量,忽略了其他性状的重要性。所以经过多年的驯化和育种家的选育,已经明显地损坏了棉花的等位基因的变异性,很多与棉花耐高温相关的基因被忽视,使得棉花更易受到高温的影响。因此耐热性好的棉花种质资源的鉴定和选育已经迫在眉睫。

新疆吐鲁番由于地势低洼,低于海平面150 m,气温高,在夏季棉花生长期通常在35℃以上,甚至有时高达40℃以上,是天然的抗高温鉴定场所。

表1 试验材料、特征及其来源

Table 1 The plant materials, characters, and their origins

种质名称 Materials	来源 Origin	特征 Characters
河南79 Henan 79	河南陆地棉	适宜于黄河流域种植
CS-85	澳大利亚陆地棉	陆地棉
LAPAR45	巴西陆地棉	干旱敏感、不耐盐
MCU-5	印度陆地棉	抗旱、不耐盐、枯萎病和黄萎病敏感
豫棉2067 Yumian 2067	河南陆地棉	耐黄萎病
非洲E40 Feizhou E40	苏丹陆地棉	
海7124 Hai 7124	江苏海岛棉	抗旱、不耐盐、高耐黄萎病、海岛棉
岱字棉55 Daizimian 55	美国陆地棉	抗旱、不耐盐
荆96273 Jing 96273	湖北陆地棉	干旱敏感、不耐盐、黄萎病敏感
LINEF	美国陆地棉	高抗旱、不耐盐
HG-BR-8	美国陆地棉	抗旱、不耐盐、枯萎病黄萎病敏感
ACALA1517-70	美国陆地棉	高抗旱、不耐盐、枯萎病敏感、
早熟长绒7 Zaoshuchangrong 7	美国陆地棉	高抗旱、耐盐
贝尔斯诺Beiersinuo	美国陆地棉	高抗旱、不耐盐、枯萎病敏感
石系亚1号 Shixiya 1	河北亚洲棉	耐旱、不耐盐、抗枯萎病和黄萎病
美中棉971 Meizhongmian 971	美国亚洲棉	耐旱、不耐盐
浙农大Y192 Zhenongda Y192	浙江陆地棉	抗旱、不耐盐
松滋大铃Songzidaling	浙江陆地棉	耐旱、不耐盐、枯萎病和黄萎病敏感
越南大桃Yuenandatao	湖南陆地棉	高抗旱、不耐盐、枯萎病黄萎病敏感
Arcot-1	美国陆地棉	抗旱、抗涝、不耐盐、耐黄萎病
河北清苑樊庄乡洋棉Hebei qingyuan fanzhuangxiang yangmian	河北陆地棉	抗旱、不耐盐
大铃启东Dalingqidong	江苏陆地棉	抗旱、不耐盐
中棉所36 Zhongmiansuo 36	河南陆地棉	不抗旱、不耐盐、枯萎病敏感
中泸值PL9321 Zhongluzhi PL9321	上海陆地棉	不抗旱、不耐盐
常抗棉Changkangmian	江苏陆地棉	不抗旱、不耐盐、高抗枯萎病
平果那沙大棉Pingguonashadamian	广西陆地棉	高抗旱、不耐盐、枯萎病黄萎病敏感、退化陆地棉
南丹巴地大花Nandanbadidahua	广西陆地棉	不抗旱、不耐盐、枯萎病黄萎病敏感、退化陆地棉
吉扎45 Jiza 45	埃及海岛棉	抗旱
FJA	美国陆地棉	高抗旱、不抗盐

为此,本试验在新疆自然高温条件下,调查200份不同来源的棉花种质资源的脱落率及花粉活力、叶片萎蔫程度、花粉形态、不孕子率等田间性状,以便于初步鉴定出抗、感高温的种质类型。并在安阳种植不同抗、感高温的代表品种,同时调查30、35、40、45和50℃离体培养条件下的花粉萌发率,进而对不同抗、感高温种质进行聚类分析,以筛选高温抗性种质,用于育种和基础研究。

1 材料与方法

1.1 供试材料

2007—2009年,新疆吐鲁番种植经过多年自交保存的不同棉花种质资源200份^[11],行长4 m,每株间距9 cm,双行区,重复3次。材料由中国农业科学院棉花研究所品种资源室棉花种质库提供。调查不同种质的脱落率、不孕子率、叶片萎蔫程度和花粉形态等,根据这些形态特征初步筛选出29份棉花种质资源(表1)。2008年,在安阳种植初步筛选的29份棉花种质资源,行长8.5 m,单行区,重复3次。

1.2 试验方法

1.2.1 蕾铃脱落率调查 2008—2009 年在每个种质中随机选取 10 株, 调查单株蕾铃数和脱落数, 计算脱落率, 重复 3 次。

1.2.2 花粉离体培养 将开花后的花粉均匀撒在固体培养基的表面, 每个培养皿大约 800~1000 个花粉粒, 花粉的培养基参照 V. G. Kakani 等^[4-5] 和刘玲等^[12] 的固体培养基。然后分别于 30、35、40、45 和 50 ℃ 离体暗室培养 24 h 后, 显微镜观察, 4 倍镜观测花粉萌发率, 每个温度重复 3 次, 每个培养皿观察 5 个视野, 每个视野的花粉粒在 100 粒以上, 取萌发率的平均值。花粉萌发以花粉管长度大于或者等于花粉粒的直径作为萌发标准。

1.2.3 不孕子率 与正常的棉花种子相比, 不孕子实际上是退化的胚珠, 颜色较浅呈褐色或黄褐色, 其表面纤维少而短。收花后, 各种质分别取 20 个挂牌的自交铃, 用以统计它们的不孕子率。

$$\text{不孕子率} = (\text{不孕子数}/(\text{不孕子数} + \text{种子数})) \times 100\%.$$

1.2.4 叶片萎焉程度 于新疆 9:00-10:00、16:00 分别取 5 片叶片(取相同部位), 称量得到叶片鲜重后, 再把叶片放入烘箱, 105 ℃ 下烘 4~5 h, 烘干后, 用电子天平称重, 得到叶片干重。分别计算早上叶片和中午叶片的含水量, 由这 2 种叶片含水量的差值就可以量化叶片萎焉程度。

1.2.5 花粉形态和花粉活力 花粉活力采用 R. H. Cross 等^[6] 的方法。花粉形态: 田间持续高温至少 7 d 后, 于 16:00 取不同植株上的花, 用光学显微镜观察花粉性状是否为饱满的球形, 统计畸形花粉率, 畸形花粉率大于 50% 的种质的花粉形态为畸形花粉, 标记为 1; 畸形花粉率低于 50% 的为正常花粉, 标记为 0。

1.2.6 数据处理 采用 Excel 2007 和 SAS v8。

2 结果与分析

2.1 不同棉花种质资源耐热性的田间表现变异

不同棉花种质的脱落率和花粉活力存在极显著的差异($P < 0.01$)。吉扎 45、常抗棉、南丹巴地大花、平果那沙大棉、FJA、Arcot-1、中棉所 36 等种质有较低的脱落率和较高的花粉活力; 而 MCU-5、LINEF、河南 79、贝尔斯诺、早熟长绒 7 和岱字棉 55 有较高的脱落率和较低的花粉活力, 是一批耐热性差的种质。而且 MCU-5、非洲 E40、岱字棉 55、HG-BR-8、ACALA1517-70、早熟长绒 7 和贝尔斯诺的花

粉为畸形花粉(表 2)。非洲 E40 和贝尔斯诺与其他材料不一致, 其脱落率高达 66.23% 和 54.44%, 花粉活力也高, 但是花粉多为畸形, 不能正常萌发授粉, 导致铃脱落情况比其他种质严重。说明在用花粉活力鉴定棉花耐热性时, 还需要参考花粉的形态。

2.2 不同种质在不同温度下花粉离体培养的差异

不同棉花种质的花粉在离体培养时对温度的敏感性不同(表 3)。在 30 ℃ 处理时, 不同种质的花粉萌发率存在极显著的差异($P < 0.01$)。最高花粉萌发率为平果那沙大棉和南丹巴地大花, 其花粉萌发率分别为 81.83% 和 81.35%。花粉萌发率最低的是 LAPAR45, 萌发率只有 44.89%。在 40 ℃ 离体培养时, 花粉的萌发率也有极显著的差异($P < 0.01$), 其中, FJA 的花粉萌发率最高, 达到 67.11%, 甚至高于河南 79、CS-85、MCU-5 等很多种质在 30 ℃ 和 35 ℃ 离体培养下的萌发率。在 45 ℃ 培养后, FJA、吉扎 45、南丹巴地大花、平果那沙大棉、中泸值 PL9321 和常抗棉的花粉仍然能萌发。而且在离体 50 ℃ 培养 24 h 后, FJA、吉扎 45、南丹巴地大花的花粉仍然能萌发, 分别达到 5.85%、8.28% 和 1.21%。综合不同高温下花粉萌发情况可以看出, FJA、吉扎 45、南丹巴地大花、平果那沙大棉等种质属于耐热性较强的棉花种质。

由图 1 可知, 40 ℃ 高温胁迫对棉花花粉有很大的影响。在 40 ℃ 高温离体培养条件下, 南丹巴地大花(图 1A)、非洲 E40(图 1B) 和越南大桃(图 1C)都出现畸形花粉。虽然越南大桃的萌发率要低于非洲 E40(表 3), 但是非洲 E40 的花粉管长度比越南大桃的花粉管长度短。而且综合表 2 和表 3 看出, 虽然非洲 E40 的花粉活力很高, 但花粉管生长受阻, 无法伸长至子房内, 不能正常受精, 导致棉铃脱落。

2.3 田间耐热性鉴定性状的相关分析

将棉铃脱落率、不孕子率、叶片萎焉程度、田间自然高温条件下的花粉形态、自然高温条件下花粉活力, 以及不同温度下离体培养的花粉萌发率等 10 个鉴定指标进行相关分析(表 4)。结果表明脱落率与不孕子率呈极显著正相关, 脱落率与花粉形态呈显著正相关, 脱落率与 30、35、40、45 和 50 ℃ 离体培养下的花粉萌发率呈极显著负相关。从表 4 还可以看出, 花粉形态与不孕子率呈显著正相关。不同温度下离体培养的花粉萌发率之间也存在着极显著的正相关性。

表 2 不同棉花种质资源田间耐高温性状综合评价

Table 2 Comprehensive evaluation of the characters with high temperature-resistance in different cotton cultivars in the fields

种质名称 Materials	脱落率(%) Abscission rate	不孕子率(%) Infertility seed rate	花粉活力(%) Pollen vitality	花粉形态 Pollen morphology	叶片萎蔫程度 Situation of leaf wilting
吉扎 45	0nL	4.94 ± 0.88jkIJ	91.43 ± 0.17aA	0	5.31 ± 0.71ijIJ
FJA	0nL	5.04 ± 0.50jkIJ	91.87 ± 2.14 aA	0	1.68 ± 0.25jkJ
Arcot-1	0.53 ± 0.52nL	5.25 ± 1.16jkHIJ	85.65 ± 13.08abcdABC	0	2.18 ± 0.16jkIJ
常抗棉	1.78 ± 1.35nKL	8.30 ± 0.83hiFGHI	89.46 ± 10.59abAB	0	51.99 ± 2.90aA
南丹巴地大花	2.60 ± 1.09mnKL	1.86 ± 0.75klJ	86.76 ± 12.07abcABC	0	2.60 ± 0.32jkIJ
平果那沙大棉	3.19 ± 1.65mnKL	2.59 ± 0.32lJ	74.73 ± 4.26defgBCDEFG	0	27.28 ± 2.86efEF
中棉所 36	3.50 ± 0.84mnKL	11.23 ± 1.02efgEF	66.38 ± 0.45efghEFGHI	0	23.01 ± 2.41gG
石系亚 1 号	3.91 ± 0.55mnK	10.25 ± 2.47efghEFG	46.39 ± 5.78lmJK	0	6.25 ± 1.11iI
越南大桃	6.19 ± 0.68lmKL	6.70 ± 1.78ijGHI	83.31 ± 9.92abcdABCD	0	26.32 ± 1.76IEFG
美中棉 971	9.33 ± 0.91klJ	12.96 ± 2.08deCDE	57.42 ± 3.11ijklHIJ	0	2.56 ± 0.39jkIJ
松滋大铃	10.14 ± 1.56kIJ	10.09 ± 1.25fghEFG	69.52 ± 2.80efghDEFHI	0	45.57 ± 2.95bcBC
河北清苑樊庄乡洋棉	10.57 ± 1.28kIJ	2.82 ± 0.33klJ	75.56 ± 1.23cdefgBCDEF	0	12.11 ± 2.73hH
海 7124 Hai 7124	10.71 ± 1.31kIJ	9.18 ± 0.45fghiFG	75.93 ± 5.75cdefgABCDEF	0	11.21 ± 1.18hH
ACALAI517-70	14.92 ± 0.51jI	22.58 ± 2.61aA	54.27 ± 4.25jklIJ	1	23.12 ± 3.05gFG
大铃启东	26.53 ± 3.09iH	16.14 ± 3.24cBC	86.61 ± 1.08abcABC	0	1.52 ± 0.08kJ
LAPAR45	28.62 ± 1.50hiGH	8.77 ± 1.24ghiFGH	59.2 ± 12.62hijkGHIJ	0	1.61 ± 0.15kJ
豫棉 2067	31.06 ± 1.74ghFGH	15.60 ± 1.05cdC	79.38 ± 3.40bcdeABCDEF	0	1.15 ± 0.13kJ
中泸值 PL9321	31.19 ± 1.65ghFGH	11.14 ± 1.33efgEF	47.88 ± 2.66klmJK	0	2.51 ± 0.15jkIJ
荆 96273	32.73 ± 2.33fgEFG	8.54 ± 0.56hijFGHI	56.36 ± 1.73ijklIJ	0	2.58 ± 0.35jkIJ
HG-BR-8	34.69 ± 1.11fgEF	19.29 ± 1.99bAB	65.07 ± 10.21ghijFGHI	1	42.65 ± 2.62cC
CS-85	35.44 ± 3.06fef	10.94 ± 1.45efghEF	75.92 ± 0.5cdefgABCDEF	0	2.21 ± 0.18jkIJ
浙农大 Y192	36.64 ± 0.66fDE	15.14 ± 3.44cdCD	81.33 ± 15.84abcdABCDE	0	47.60 ± 5.03bb
MCU-5	41.67 ± 3.22eCD	22.80 ± 2.24aA	72.61 ± 5.00efgCDEFGH	1	30.16 ± 0.14deDE
LINEF	42.08 ± 2.28eC	11.82 ± 2.93efDEF	54.1 ± 0.40jklIJ	0	1.30 ± 0.09kJ
河南 79	46.18 ± 3.15dC	12.98 ± 2.40deCDE	77.69 ± 6.12cdefABCDEF	0	1.39 ± 0.18kJ
贝尔斯诺	54.44 ± 2.67cB	19.49 ± 1.25bAB	74.64 ± 1.75defgBCDEFG	1	25.13 ± 4.06fgFG
早熟长绒 7	60.34 ± 3.99aA	19.53 ± 2.45bAB	46.1 ± 8.30lmJK	0	2.20 ± 0.17jkIJ
岱字棉 55	61.56 ± 8.93aA	16.52 ± 0.73cBC	46.25 ± 6.92lmJK	1	32.16 ± 1.13dD
非洲 E40	66.23 ± 4.27aA	10.47 ± 0.99efghEF	81.57 ± 0.71abcdABCDE	1	1.87 ± 0.31jkJ

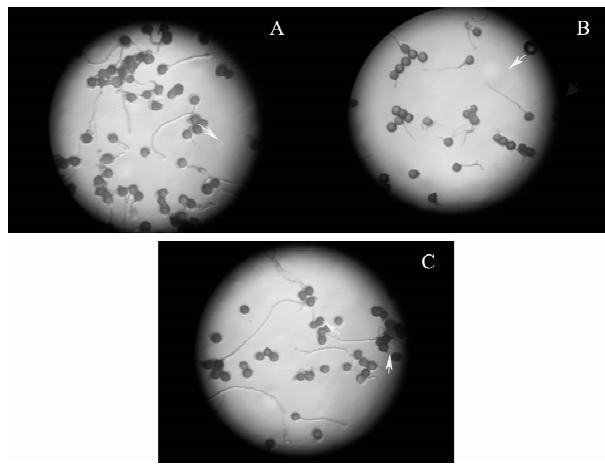
英文小写字母表示 0.05 水平差异显著性, 大写字母表示 0.01 水平差异显著性, 下同

The small letter stands for significant difference at 0.05 level, the capital letter means significant difference at 0.01 level. The same as below

表3 不同棉花种质资源在不同温度下离体培养花粉萌发率

Table 3 The Pollen germination percentage of different cotton germplasm resources cultured in different temperature *in vitro*
(%)

种质名称 Materials	花粉萌发率 Pollengermination rate				
	30℃	35℃	40℃	45℃	50℃
河南 79	48.72 ± 7.05jklHIJ	42.35 ± 4.08lJK	23.18 ± 2.19lN	0eD	0eC
CS-85	48.31 ± 3.43jiklHIJ	36.94 ± 3.37mK	29.79 ± 3.02ijkIJKLNM	0eD	0eC
LAPAR 45	44.89 ± 3.98lJ	47.61 ± 2.09jklIJ	35.19 ± 5.01ghiGHIJKL	0eD	0eC
MCU-5	57.65 ± 4.12fgi	50.19 ± 2.66ijkGHI	28.73 ± 2.46jklJKLMN	0eD	0eC
豫棉 2067	52.56 ± 1.59ijklGHIJ	49.83 ± 3.59jkGHI	33.14 ± 0.97hijGHIJKL	0eD	0eC
非洲 E40	56.08 ± 1.16ghijkFGHIJ	46.81 ± 2.10klIJ	36.96 ± 4.08ghGHI	0eD	0eC
海 7124	55.88 ± 2.93ghijkFGHIJ	50.00 ± 3.94ijkGHI	33.34 ± 0.97hijGHIJKL	0eD	0eC
岱字棉 55	53.68 ± 0.30hijklGHIJ	57.86 ± 2.73efBCDEF	28.05 ± 1.54jklJKLMN	0eD	0eC
荆 96273	58.06 ± 4.88fgi	46.23 ± 3.05klIJ	36.67 ± 4.41ghGHIJ	0eD	0eC
LINEF	59.44 ± 0.96fgiEFGH	48.72 ± 4.00jkHIJ	33.40 ± 3.17hijGHIJKL	0eD	0eC
HG-BR-8	56.79 ± 6.05ghijFGHI	48.72 ± 2.22jkHIJ	37.81 ± 1.58ghFGH	0eD	0eC
ACALA1517-70	47.41 ± 2.05klIJ	56.69 ± 0.77fgCDEFG	40.25 ± 1.75fgEFG	0eD	0eC
早熟长绒 7	58.56 ± 4.13fgi	48.12 ± 4.35jklIJ	35.98 ± 4.16ghGHIJK	0eD	0eC
贝尔斯诺	51.28 ± 14.65ijklGHIJ	63.11 ± 3.09cdeBC	27.62 ± 1.83jklLMN	3.2 ± 0.70dCD	0eC
石系亚 1 号	51.56 ± 7.8ijklGHIJ	62.17 ± 8.12cdeBCD	31.81 ± 3.41hijGHIJKLM	0eD	0eC
美中棉 971	65.93 ± 3.72defCDEF	47.91 ± 1.82jklIJ	33.54 ± 5.69hijGHIJKL	0eD	0eC
浙农大 Y192	56.20 ± 3.75ghijkFGHIJ	59.62 ± 1.70cdefBCD	32.14 ± 2.58hijGHIJKLM	0eD	0eC
松滋大铃	62.32 ± 2.08efghDEFG	52.39 ± 2.09ghijEFGHI	35.15 ± 7.23ghiGHIJKL	0eD	0eC
越南大桃	72.68 ± 12.07bcdABCD	50.96 ± 0.85hijkFGHI	24.38 ± 1.93klMN	5.3 ± 1.04cdC	0eC
Arcot-1	75.62 ± 3.23abcABC	52.35 ± 2.54ghijEFGHI	35.95 ± 3.52ghGHIJK	4 ± 0.51cdC	0eC
河北清苑樊庄乡洋棉	62.71 ± 2.90efgDEFG	55.72 ± 4.20fghDEFGH	52.02 ± 2.32cdBCD	0eD	0eC
大铃启东	62.54 ± 7.00efgDEFG	63.43 ± 3.34cdBC	47.94 ± 4.70cdeCDE	0eD	0eC
中棉所 36	68.91 ± 10.44cdeBCDE	55.25 ± 6.07fghiDEFGH	58.35 ± 7.21bB	0eD	0eC
中泸值 PL9321	66.30 ± 1.56defCDEF	64.07 ± 2.41cB	45.19 ± 2.77efDEF	10 ± 0.79bB	0eC
常抗棉	73.61 ± 1.88abcdABCD	58.19 ± 1.88defBCDE	53.81 ± 5.18bcBC	6.2 ± 0.84cC	0eC
平果那沙大棉	81.83 ± 3.18aA	62.26 ± 0.22cdeBCD	46.67 ± 1.80deCDE	11.20 ± 1.25bB	0eC
南丹巴地大花	81.35 ± 2.98abA	74.88 ± 2.10abA	59.64 ± 3.03bAB	10.92 ± 4.57bB	1.21 ± 0.18cC
吉扎 45	80.29 ± 1.49abAB	71.82 ± 1.58bA	58.65 ± 3.32bB	17.40 ± 3.49aA	8.28 ± 0.25aA
FJA	73.81 ± 2.06abcdABCD	78.70 ± 0.47a	60.11 ± 2.25aA	15.79 ± 0.87aA	5.85 ± 1.61bB



A:南丹巴地大花;B:非洲E40;C:越南大桃。箭头标示的是花粉管
A:Nandanbadidahua,B:Feizhou E40,
C:Yuenan datao. Arrows indicate pollen tube

图1 不同种质花粉40℃离体培养萌发表现

Fig. 1 Different materials pollen germination under 40 °C in vitro

表4 不同棉花种质资源各性状间的相关分析

Table 4 Correlation analysis of various characters in different cotton germplasm resources

性状 Characters	脱落率 Abscission rate	不孕子率 Infertility seed rate	叶片萎焉程度 Situation of leaf wilting	花粉形态 Pollen morphology	花粉活力 Pollen vitality	花粉萌发率 Pollen germination rate				
						30 °C	35 °C	40 °C	45 °C	50 °C
脱落率	1.00	0.53 **	-0.19	0.40 *	-0.07	-0.64 **	-0.43 **	-0.56 **	-0.48 *	-0.38 *
不孕子率		1.00	-0.03	0.72 **	-0.03	-0.33	-0.08	-0.24	-0.21	-0.23
叶片萎焉程度			1.00	0.19	0.21	0.16	0.13	0.21	0.00	0.01
花粉形态				1.00	-0.12	-0.36	-0.02	-0.28	-0.22	-0.15
花粉活力					1.00	0.07	-0.11	-0.03	-0.03	0.14
花粉萌发率(30 °C)						1.00	0.58 **	0.66 **	0.77 **	0.55 **
花粉萌发率(35 °C)							1.00	0.70 **	0.78 **	0.69 **
花粉萌发率(40 °C)								1.00	0.68 **	0.65 **
花粉萌发率(45 °C)									1.00	0.78 **
花粉萌发率(50 °C)										1.00

**、*分别表示相关性分别达到极显著(0.01)或显著水平(0.05)

**、* indicate the significance relative at $P=0.01, P=0.05$ level, respectively

和50 °C的温度又过高^[9,17],可能导致部分耐热性好的花粉不能萌发,因此将这3个指标排除。最后用蕾铃脱落率、不孕子率、花粉形态、35 °C离体培养花粉萌发率和40 °C离体培养花粉萌发率这5个指标对29份种质进行主成分分析。结果表明(表5),第1主成分和第2主成分(PC1和PC2)占总变异的82.67%,能够反映不同棉花种质上述5个性状的绝大部分信息。

根据主成分分析可以把29份棉花种质资源分为4类(图2):(I)耐高温型,其中包括河北清苑樊庄乡洋棉、中棉所36、常抗棉、吉扎45、南丹巴地大花、平果那沙大棉和FJA;(II)较耐高温型,包括ACALA1517-70、中泸值PL9321、松滋大铃、越南大

在不同植物中,脱落率与花粉萌发率之间的相关性已经证明能用做耐热性鉴定指标^[8-10]。E. Liu等^[10]和余政军等^[13]研究发现棉花结铃期和吐絮期的坐果率和脱落率与花粉离体培养最高花粉萌发率和最大花粉管长度呈极显著正相关,并通过主成分分析鉴定出不同棉花种质资源的耐热性。

2.4 不同棉花种质资源耐热性鉴定

根据相关分析(表4)的结果,与蕾铃脱落率有显著正相关或者负相关的鉴定指标有不孕子率、花粉形态和不同温度离体培养的花粉萌发率。不孕子率和花粉形态是在新疆田间自然高温条件下调查的,因此能直观的反映不同棉花种质资源在高温条件下的不同反应。虽然30 °C离体培养的花粉萌发率在不同棉花种质资源间的差异极显著(表3),但是棉花理想生长温度是20~30 °C^[14-16],同时45 °C

表5 主成分分析以及特征向量值和变异

Table 5 Eigenvectors PC1, PC2, and PC3 of principle components analysis for given parameters and the variation accounted for by each eigenvector

参数 Parameter	主成分特征向量 Principal component feature vector		
	PC1	PC2	PC3
脱落率 Abscission rate	0.51	-0.01	0.81
不孕子率 Infertility seed rate	0.46	0.45	0.45
花粉萌发率 Pollen germination rate(35 °C)	-0.36	0.60	0.26
花粉萌发率 Pollen germination rate(40 °C)	-0.45	0.44	0.23
花粉形态 Pollen morphology	0.43	0.49	-0.47
变异百分比 Variation percentage	55.51	27.16	7.47

桃、美中棉 971、Arcot-1、大铃启东、石系亚 1 号和海 7124; (III) 高温较敏感型, 包括 HG-BR-8、MCU-5、浙农大 Y192、CS-85、荆 96273、LA-

PAR45、豫棉 2067、LINEF 和河南 79; (IV) 高温敏感型, 包括岱字棉 55、贝尔斯诺、早熟长绒 7 和非洲 E40。

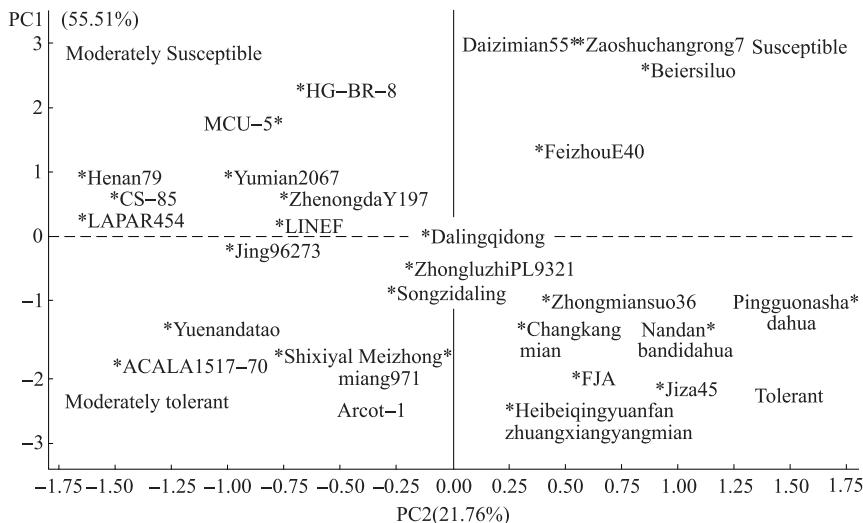


图 2 29 份种质资源耐热性分类

Fig. 2 Classification of thermotolerance of different germplasm resource

3 讨论

夏季高温持续时间长, 必然会影响棉花的生长发育、植株形态和棉花的经济性状等, 因而这些性状在高温条件下的变化就成为田间耐热性鉴定指标。但是在黄河流域自然条件下没有足够的高温, 很难展示品种间耐热性的差异。而长江流域, 尤其是长江中下游地区, 虽然有一定的高温, 但是棉花生长季节多雨潮湿, 因此在耐高温筛选时不能避免高湿产生的影响。因此本试验利用新疆吐鲁番这个得天独厚的自然高温条件, 去筛选耐高温的棉花种质。

高温会急剧降低花粉的活力, 导致花粉在发育过程中干燥死亡^[6] 和花粉粒畸形^[17-18], 不能正常萌发授粉。刘志等^[19] 观察了田间自然高温条件下的棉花花粉发育情况, 发现空的或者畸形的不正常花粉粒。本试验表明, 40 ℃ 高温胁迫对棉花花粉有很大的影响, 即使抗高温材料南丹巴地大花的花粉也都出现不同程度的畸形。本试验中, FJA、吉扎 45、南丹巴地大花花粉经过 45 ℃ 和 50 ℃ 高温处理 24 h 后, 仍有少量花粉萌发。这与 J. R. Barrow^[14] 对花粉离体培养获得结果不一致, 但是与王苗苗等^[20] 的试验结果一致。可能原因是 J. R. Barrow 的试验种质少, 只有棉花育种材料 DHNE, 没有分析其他棉花种质资源花粉离体培养的萌发率。同时本试验发现田间高温条件下的花粉活力与花粉高温离体培养的花

粉萌发率以及脱落率没有相关性, 这是因为在核期退化期的花粉已有淀粉积累, 遇 I₂-KI 呈蓝色反应。因此, 含有淀粉而被杀死的花粉遇 I₂-KI 也呈蓝色, 导致花粉活力检测结果与实际情况有差异, 因此在离体培养的花粉萌发率和脱落率与花粉活力不一致, 不能将 I₂-KI 检测的花粉活力用作耐热性鉴定指标。

棉花成株期耐热性鉴定比较直观, 容易被育种家所认同, 也能为深入研究棉花耐热性生理生化机制、分子水平的应激调控机理等提供研究基础。刘进生等^[21] 根据番茄品种高温期的坐果率、产量和质量等经济性状, 筛选出耐热番茄品种。蔡义东等^[22] 根据离体培养最高花粉萌发率和最长花粉管长度与脱落率的相关性, 鉴定出不同杂交组合的耐热性。本试验在中国最热的区域新疆吐鲁番进行, 田间调查了脱落率、不孕子率、叶片萎蔫程度、花粉形态、花粉活力和不同温度离体培养的花粉萌发率等指标, 而且不同指标在不同棉花种质资源中的表现也各不相同, 都存在极显著的差异, 但是不是所有的指标都能作为耐热性鉴定指标。马德华等^[23-24] 发现黄瓜成株期受热害, 除叶片出现褪绿斑点症状外, 最重要的是造成生殖障碍。棉花也可能存在同样的耐热机制, 导致叶片萎蔫程度与脱落率没有相关性, 因此叶片萎蔫程度不能作为棉花成株期田间直接耐热性鉴定的指标。通过相关分析, 并结合前人的研

究^[15-16,25],对10个指标进行筛选,最后得到蕾铃脱落率、不孕子率、花粉形态、35℃离体培养花粉萌发率和40℃离体培养花粉萌发率等5个田间直接鉴定指标,并将29份不同棉花种质资源归类为耐高温型、较耐高温型、高温较敏感型和高温敏感型4个类型。

在本试验中,不同来源的棉花种质资源有不同的耐热性。就不同棉花栽培种而言,海岛棉的耐热性都很好,供试的种质吉扎45、新海18、海7124和7125的脱落率和不孕子率都很低。其中吉扎45基本没有脱落,而且不孕子率也仅为4.94%,花粉离体培养的萌发率也高于其他种质,而亚洲棉属于较耐高温种质。陆地棉既有耐高温类型,也有高温敏感类型。供试种质中,河北清苑樊庄乡洋棉、平果那沙大棉和南丹巴地大花3个种质都是退化陆地棉,而且都属于耐高温种质,说明退化陆地棉的耐热性高于其他来源的陆地棉。退化陆地棉并不是因为生活力的衰退,而是因为对环境条件的适应或者长期自花授粉所引起的^[26],而且南丹巴地大花和平果那沙大棉是由广西偏远地区收集而来的种质资源,没有经过育种家的驯化,同时受高温环境的影响,形成了耐高温特性。就29份种质的抗逆性而言,中棉所36和南丹巴地大花都属于耐高温种质资源,但是它的抗旱性、耐盐性都很差,而且对枯萎病和黄萎病都很敏感。从美国引进的常规陆地棉有8个,虽然这8个种质分属于4种耐热性类型中,但是除了早熟长绒7属于抗旱和耐盐种质外,其他7个种质都同时有抗旱或者高抗旱和不耐盐的特性。

参考文献

- [1] 施正屏,林玉娟.全球暖化与低碳农业发展战略之路选择[J].台湾农业研究,2010(5):6-11
- [2] Jones P D, New M, Parker D E, et al. Surface air temperature and its changes over the past 150 years[J]. Rev Geophys, 1999, 37: 173-199
- [3] Burke J J, Wanjura D F. Plant responses to temperature extremes [M]// Stewart J M, Oosterhuis D M, Heitholt J J, et al. Physiology of Cotton, 2009:123-128
- [4] Kakani V G, Prasad P V V, Craufurd P Q, et al. Response of in vitro pollen germination and pollen tube growth of groundnut (*Ara- chis hypogaea* L.) genotypes to temperature[J]. Plant Cell Environ, 2002, 25: 1651-1661
- [5] Kakani V G, Reddy K R, Koti S, et al. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature [J]. Annals of Botany, 2005, 96: 59-67
- [6] Cross R H, McKay S A B, McHughen A G, et al. Heat-stress effects on reproduction and seed set in *Linum usitatissimum* L. (flax)[J]. Plant Cell Environ, 2003, 26(11): 1013-1020
- [7] Prasad P V V, Craufurd P Q, Summerfeld R J. Sensitivity of peanut to timing of heat stress during reproductive development[J]. Crop Sci, 1999, 39: 1352-1357
- [8] Aloni B, Peet M, Pharr M, et al. The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen in relation to its germination [J]. Physiol Plantarum, 2001, 112(4): 505-512
- [9] Reddy V R, Reddy K R, Hodges H F. Temperature effects on growth and development of cotton during the fruiting period[J]. Agron J, 1991, 83(1): 211-217
- [10] Liu Z, Yuan Y L, Liu S Q, et al. Screening for high-temperature tolerant cotton cultivars by testing *in vitro* pollen germination, pollen tube growth and boll retention[J]. J Int Plant Biol, 2006, 48(6): 706-714
- [11] 杜雄明,孙君灵,周忠丽,等.棉花种质资源收集、保存、评价与利用现状及未来[J].植物遗传资源学报,2012,13(2): 163-168
- [12] 刘玲,王玖瑞,刘孟军,等.枣不同品种花粉量和花粉萌发率的研究[J].植物遗传资源学报,2006,7(3):338-341
- [13] 余政军,刘志,余筱南,等.棉花花粉体外萌发活力与结铃性关系初探[J].湖南农业科学,2009(12):27-29
- [14] Barrow J R. Comparisons among pollen viability measurement methods in cotton[J]. Crop Sci, 1983, 23(4): 734-736
- [15] Reddy K R, Hodges H F, McKinon J M. Crop modeling and applications: A cotton example[J]. Adv Agron, 1997, 59: 225-290
- [16] Burke J J, Mahan J R, Hatfield J L. Crop-specific thermal kinetic windows in relation to wheat and cotton biomass production[J]. Agron J, 1998, 80: 553-556
- [17] 叶正文,杜纪红,苏明申,等.高温对桃花粉发育及小孢子产生的影响[J].园艺学报,2010,37(3):355-362
- [18] 王宏芝,杨成民,魏建华,等.低温预处理和高温饥饿胁迫对冬小麦小孢子胚胎发生和植株再生的影响[J].农业生物技术学报,2004,12(4):390-395
- [19] 刘志,刘少卿,余筱南,等.特棉S-1雄性不育发生的细胞学基础及可育花粉对温度的反应[J].湖南农业大学:自然科学版,2007,33(4):403-406
- [20] 王苗苗,唐灿明.高温胁迫后的棉花花粉活力测定方法[J].江苏农业科学,2010,26(2):236-239
- [21] 刘进生,汪隆植,李式军.番茄耐热优良品种筛选初报[J].中国蔬菜,1994(6):33-35
- [22] 蔡义东,袁小玲,邓芸明,等.基于花粉萌发与结铃性表现选育耐高温高产杂交棉[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2010,36(2):119-122
- [23] 马德华,庞金安,李淑菊.黄瓜对不同温度逆境的抗性研究[J].中国农业科学,1999,32(5):38-40
- [24] 马德华.不同品种黄瓜幼苗对温度逆境耐性的研究[D].北京:中国农业大学,2000:60-68
- [25] Reddy V R, Baker D N, Hodges H F. Temperature effect on cotton canopy growth, photosynthesis, and respiration [J]. Agron J, 1991, 83: 699-704
- [26] 朱绍琳,黄骏麒.陆地棉变异与“退化”研究[J].作物学报,1964,3(1):51-68