



曹士亮,于滔,李文跃,等.玉米自交系萌发期耐冷性鉴定研究[J].黑龙江农业科学,2022(10):1-6.

玉米自交系萌发期耐冷性鉴定研究

曹士亮¹,于滔¹,李文跃¹,杨耿斌¹,刘宝民¹,刘长华²,褚力嘉²,段亚娟²

(1.黑龙江省农业科学院 玉米研究所/玉米国家工程实验室(哈尔滨)/黑龙江省玉米种质资源创制与利用重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150086; 2.黑龙江大学 农业资源与环境学院,黑龙江 哈尔滨 150080)

摘要:萌发期冷害是限制我国东北地区玉米生产的重要因素之一,开展玉米种质材料的耐冷性鉴定是提高耐冷玉米品种选育效率和创新玉米耐冷种质资源的基础。本研究以 279 份玉米自交系为试验材料,利用人工气候箱开展萌发期耐冷性鉴定,采用主成分分析、隶属函数分析及聚类分析等方法进行萌发耐冷性评价。主成分分析结果表明,7 d 发芽率、7 d 芽鲜重、7 d 芽干重可作为玉米萌发期耐冷性鉴定的指标。进一步通过综合耐冷性 D 值及聚类分析,将 279 份玉米自交系的耐冷性程度划分为 5 个等级。其中耐冷性差的材料为 21 份,耐冷性一般的材料为 54 份,耐冷性中等的材料为 58 份,耐冷性较强的材料为 116 份,耐冷性强的材料为 30 份。耐冷性强的材料主要有 FS1、FS102、FS122 等,其中 FS122 的 D 值最高,为 0.91。

关键词:玉米;耐冷性;主成分分析;聚类分析

玉米(*Zea mays* L.)又名苞米、玉蜀黍等,为一年生禾本科植物。成熟的玉米籽粒中蛋白质、维生素、纤维素含量丰富,为现代人餐桌上的长寿食品,市场需求量巨大^[1-2]。玉米原产于亚热带地区,其对低温等非生物逆境较敏感。低温冷害作为一种非生物逆境,可使作物的正常生长受到阻碍,作物功能器官受到损害,最终使作物不能进行正常的生长而导致减产^[3]。因此,培育耐冷性强的玉米品种是发展冷凉地区玉米种植生产的重要问题。

对于玉米品种萌发期耐冷性评价常采用田间鉴定法和室内鉴定法^[4]。田间鉴定法是利用自然环境通过调整播期创造低温环境,筛选耐低温材料,该方法与生产实际接近,但此方法在土壤墒情、降水、温度变化等方面存在不可控性、重复性差和占地面积大等缺点^[5-6]。而室内鉴定法因具有重复性好、受环境波动性小、节约土地资源的优点,现已成为北美官方种子检测协会(Association of Official Seed Analysts, AOSA)所指定的大批量

玉米耐冷性材料检测规程^[7-8]。玉米在生长发育前期对低温胁迫的敏感度较高,因此,开展玉米的萌发期和幼苗期耐冷性研究相对较多。然而,对于玉米萌发期耐冷性评价,并未有统一标准^[9-10]。李亮等^[11]利用不同遗传背景下的 100 份玉米自交系进行低温试验,以相对发芽率为鉴定指标,最终筛选出 1 份耐冷性强的自交系。张晓聪等^[12]对 8 个自交系进行芽期耐冷性鉴定发现,相对发芽指数、相对幼苗干重、相对发芽率与相对活力指数呈极显著相关,认为以上指标可以作为芽期耐冷性鉴定指标。王辉^[13]以相对发芽率作为耐冷性鉴定指标,结果从 98 份玉米自交系中筛选出 13 份耐冷性较强的自交系。Hund 等^[14]研究发现,胚根长、胚芽长和根干鲜重可作为玉米耐冷性评价指标。当玉米在低温环境下,其内部进行复杂的生理生化反应,单一指标对玉米耐冷性评价常具有一定的片面性,因此不同指标的综合分析在植物复杂性状的评价上显现出一定优势。李俊明^[15]测定了 52 份玉米自交系的耐冷性指标,并根据主成分分析及耐冷性强弱,最终将其分为 3 类。杨树明等^[16]对耐冷标准品种和粳稻近等基因系孕穗期耐冷性生化性状进行了主成分分析和综合 D 值评价,发现与单一指标相比,综合生化指标更能客观、真实、全面地反映水稻抗低温特性实质。

收稿日期:2022-06-28

基金项目:黑龙江省农业科学院“农业科技创新跨越工程”专项(HNK2019CX22-13);黑龙江省农业科学院成果转化中试项目(2020ZSXM001);黑龙江省农业科学院杰出青年基金项目(2019JCN004)。

第一作者:曹士亮(1980—),男,博士,副研究员,从事玉米分子育种研究。E-mail:caoshiliang2003@126.com。

本研究以玉米自交系为试验材料,利用人工气候箱开展萌发期耐冷性鉴定,采用主成分分析、隶属函数分析及耐冷性综合指数分析进行萌发耐冷性评价,以期对玉米耐冷性研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为来自国内外的 279 份玉米自交系组成的自然群体,编号为:FS1~FS288(288 份材料缺少 FS11、FS152、FS168、FS214、FS226、FS242、FS264、FS271、FS276,剩余 279 份)。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 挑选大小、色泽、形状一致饱满的玉米种子,用次氯酸钠溶液(0.5%)浸泡 10 min 消毒处理,再用蒸馏水冲洗 3~5 次至种子表面无次氯酸钠溶液残留。采用冷浸法创造持续稳定的低温条件。具体方法是将消毒后处理好的种子放入容量为 4 L 的量杯里,加水直至完全覆盖种子,确保种子不会露出水面,放入低温 6℃ 冷藏箱培养 3 d。3 次重复,每个重复 20 粒种子。3 d 后转入装有蛭石的发芽盒中然后放入常温 25℃ 的气候箱培养。

1.2.2 测定项目及方法 耐冷指标调查:于培养 4 和 7 d 时取出调查生根率和发芽率,7 d 后测量根长、芽长、根鲜重、芽鲜重,称量鲜重后将玉米根、芽放入 80℃ 的烘箱烘至恒重,烘干后置于分析天平测定芽干重、根干重等。

综合评价:采用主成分分析方法所有相关指标降维形成少数的且不相关的综合指标,这些指标要尽可能地展现出主要信息而且指标间信息各自独立^[17]。

隶属函数值计算^[18]:

$$U(X_j) = (X_j - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \times 100, \\ j = 1, 2, \dots, n \quad (1)$$

其中, X_j 表示第 j 个指标值; X_{\min} 表示某品种第 j 个综合指标的最小值; X_{\max} 表示第 j 个综合指标的最大值, $U(X_j)$ 为第 j 个综合指标的隶属函数值。

权重计算^[19]:

$$W_j = P_j / \sum_{j=1}^n P_j, j = 1, 2, \dots, n \quad (2)$$

其中, W_j 表示第 j 个综合指标在所有综合指标中的重要程度即权重; P_j 为各基因型第 j 个综合指标的贡献率。

综合评价指数 D 值^[20]:

$$D = \sum_{j=1}^n [U(X_j) \times W_j], j = 1, 2, \dots, n \quad (3)$$

1.2.3 数据分析 数据统计使用 Excel 2013 软件,相关性分析和描述性统计采用 SPSS 22.0 软件。

2 结果与分析

2.1 各耐冷性指标的相关性分析

由图 1 可知,8 个耐冷性相关指标之间均呈极显著正相关。从相关系数的大小上来看,前 4 个与玉米发芽生根速度相关的指标相关系数均达到 0.9 以上,表现出较强的相关性。其中,4 d 生根率与 7 d 发芽率相关系数最大,达到了 0.98。而 4 d 生根率、7 d 发芽率与 4 个表示生长量的性状(7 d 根鲜重、7 d 芽鲜重、7 d 根干重、7 d 芽干重)的相关系数为 0.26~0.43。4 个表示生长量的性状(7 d 根鲜重、7 d 芽鲜重、7 d 根干重、7 d 芽干重)之间的相关系数为 0.32~0.67。

2.2 各耐冷指标描述性统计

由表 1 可知,对于 4 d 发芽率、4 d 生根率、7 d 发芽率、7 d 生根率这 4 个指标而言,无论是 4 d 还是 7 d,生根率的均值均大于发芽率的均值,发芽后 4 d,两者相差 6 百分点,发芽后 7 d,两者相差 5 百分点,这与玉米先生根后发芽的现象一致。并且生根率的变异系数要低于发芽率的变异系数。所有这些指标中,7 d 根干重变异系数最大,为 62%,说明根干重的变异幅度明显大于其他指标,变异系数处于第二位的是 7 d 根鲜重,为 59%。这在一定程度上反映出玉米根系对低温更加敏感。从偏度和峰度来看,7 d 芽鲜重的偏度和峰度较小,分别为 0.04 和 -0.21,从数值上看比较接近正态分布,经过 Shapiro-Wilk 正态性检验后,显著性 P 值为 0.19,符合正态分布,其他指标均不符合正态性分布。

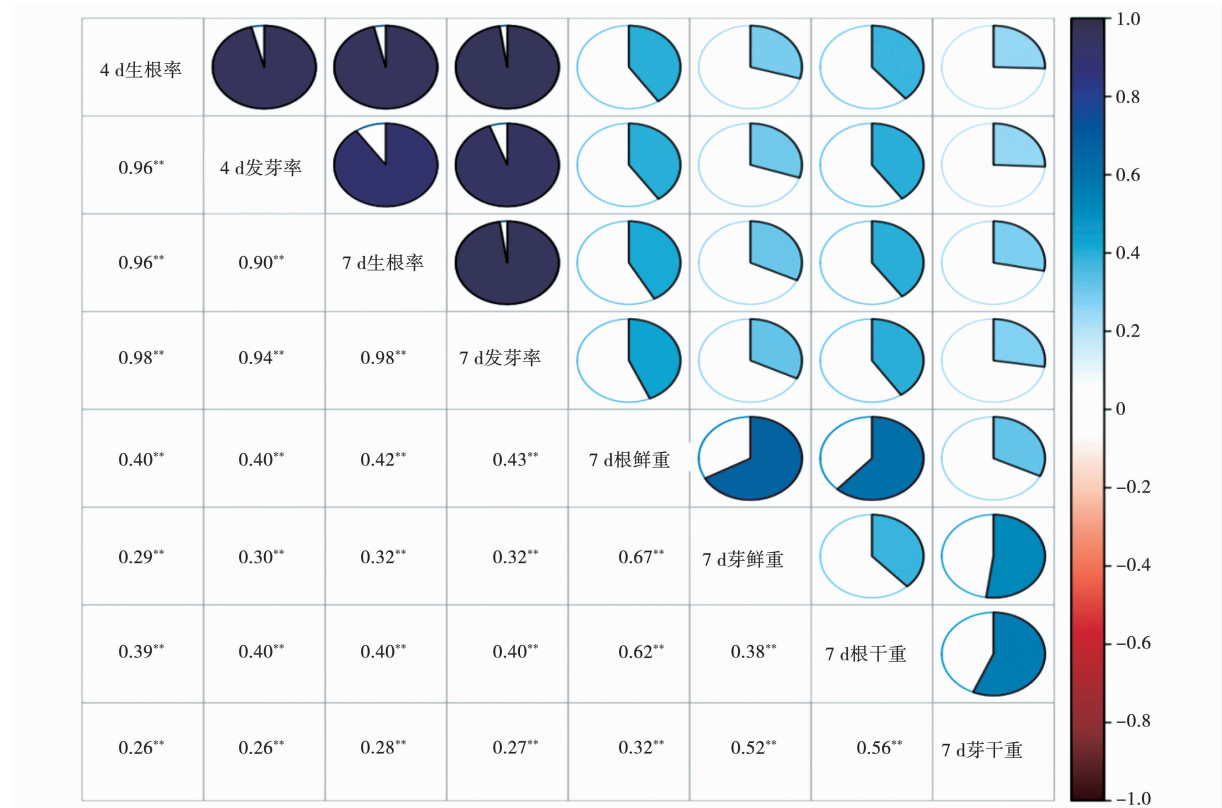


图 1 耐冷性相关指标的相关系数热图
注: ** 表示在 $P<0.01$ 水平差异显著。

表 1 耐冷指标描述性统计

性状	范围	最小值	最大值	平均数	标准差	偏度	峰度	变异系数	均数±标准差
4 d 生根率/%	0~100.00	0	100.00	63.00	0.32	-0.58	-1.04	50	0.63±0.32
4 d 发芽率/%	0~100.00	0	100.00	57.00	0.33	-0.37	-1.33	58	0.57±0.33
7 d 生根率/%	0~100.00	0	100.00	70.00	0.31	-0.86	-0.59	44	0.70±0.31
7 d 发芽率/%	0~100.00	0	100.00	65.00	0.31	-0.66	-0.94	48	0.65±0.31
7 d 根鲜重/g	0~0.45	0	0.45	0.15	0.09	0.70	0.27	59	0.15±0.09
7 d 芽鲜重/g	0~0.53	0	0.53	0.22	0.10	0.04	-0.21	46	0.22±0.10
7 d 根干重/g	0~0.05	0	0.05	0.02	0.01	0.91	1.01	62	0.02±0.01
7 d 芽干重/g	0~0.07	0	0.07	0.02	0.01	1.07	3.74	50	0.02±0.01

2.3 主成分分析

2.3.1 特征值与贡献率分析 由表 2 可知,从各成分的累积百分率来看,前 3 个成分的贡献累积百分率为 86.549 6%,几乎反映了全部指标的信息,所以只对 3 个特征值所对应的特征向量做主成分分析,贡献率分别为 57.086 2%、20.583 6%和 8.879 9%,可以进一步进行特征向量及表达式分析。

表 2 主成分分析特征值

主成分	特征值	百分率/%	累计百分率/%
1	4.5669	57.0862	57.0862
2	1.6470	20.5836	77.6698
3	0.7104	8.8799	86.5496

2.3.2 规格化特征向量及表达式 根据进一步的规格化特征向量结果(表 3)可知,在第一主成

分中,7 d 发芽率的权重系数最大,为 0.430 3,因此将第一主成分归纳为 7 d 发芽率主成分。在第二主成分中 7 d 芽鲜重的权重系数最大,为 0.453 9,因此把第二主成分归纳为 7 d 芽鲜重主成分。在第

三主成分中,7 d 芽干重的权系数最大,为 0.680 7,把这个主成分归纳为芽干重主成分。综合来看,7 d 发芽率、7 d 芽鲜重、7 d 芽干重可作为玉米萌发期耐冷性鉴定的指标。

表 3 规格化特征向量

主成分	4 d 生根率	4 d 发芽率	7 d 生根率	7 d 发芽率	7 d 根鲜重	7 d 芽鲜重	7 d 根干重	7 d 芽干重
CI1	0.4249	0.419	0.3882	0.4303	0.3067	0.2686	0.2937	0.2359
CI2	−0.2971	−0.2791	−0.2493	−0.2723	0.3841	0.4539	0.3844	0.4430
CI3	0.0091	0.0103	0.0639	−0.0024	−0.5619	−0.3757	0.2748	0.6807

2.4 萌发期耐冷性综合评价

由表 4 可知,不同参试材料所有综合指标的隶属函数值各不相同,对于综合指标 CI1 而言,在低温胁迫下,材料 FS122 的隶属函数 $U(X_1)$ 值最大,为 1.00,同时,该材料在第二个综合指标下的隶属函数 $U(X_2)$ 值也最大,为 0.82,表明材料 FS122 具有相对较好的耐冷性。

计算不同材料综合耐冷性评价指数 D 值,并采用欧氏距离及类平均法对 279 份材料的耐冷性进行聚类分析,最终将 279 份玉米自交系的耐冷

性强弱程度划分为 5 个等级。其中,耐冷性差的材料为 21 份,其 D 值变化范围为 0~0.2,主要有 FS274、FS29、FS82 等;耐冷性一般的材料为 54 份,其 D 值变化范围为 0.2~0.4,主要有 FS94、FS86、FS8 等;耐冷性中等的材料为 58 份,其 D 值变化范围为 0.4~0.6,主要有 FS97、FS79、FS71 等;耐冷性较强的材料为 116 份,其 D 值变化范围为 0.6~0.8,主要有 FS75、FS46、FS55 等;耐冷性强的材料为 30 份,主要有 FS1、FS102、FS122 等,其中 FS122 的 D 值最高,为 0.91(表 4)。

表 4 自交系主成分分析得分、隶属函数及综合耐冷性

耐冷性	数量	主要材料	CI1	CI2	CI3	$U(X_1)$	$U(X_2)$	$U(X_3)$	D 值
差	21	FS274	−5.27	−1.03	−0.16	0	0	0	0
		FS29	−4.83	−1.09	−0.13	0.03	0.01	0.01	0.03
		FS82	−4.47	−0.10	−0.04	0.03	0.19	0.11	0.08
一般	54	FS8	−3.16	−0.78	0.09	0.27	0.20	0.13	0.24
		FS86	−2.25	1.00	−0.11	0.23	0.52	0.28	0.31
		FS94	−1.62	−0.46	−0.10	0.47	0.31	0.17	0.40
中等	58	FS97	−0.84	−1.63	−0.06	0.60	0.15	0.10	0.44
		FS79	−0.58	−1.51	0.56	0.70	0.23	0.22	0.54
		FS71	−0.03	−0.90	1.00	0.73	0.29	0.22	0.57
较强	116	FS55	1.37	0.88	0.26	0.73	0.63	0.39	0.67
		FS75	1.03	−2.27	0.54	0.97	0.10	0.14	0.67
		FS46	2.51	0.18	0.25	0.93	0.39	0.29	0.74
强	30	FS1	1.17	0.01	1.27	0.93	0.61	0.51	0.81
		FS102	2.35	1.47	2.47	0.93	0.57	0.89	0.84
		FS122	6.00	−1.72	1.12	1.00	0.82	0.51	0.91
-		权重	-	-	-	0.66	0.24	0.10	-

3 讨论

玉米种子在萌发时期,温度如果过低,会影响种子发芽率,延长生长期限^[21]。衣阿华州立大学玉米耐冷性测试的方法是低温 10℃处理 7 d,再常温 25℃发芽 7 d(4~7 d 可选),根据出苗率进行耐冷性评价^[22],实际上这个温度对于黑龙江省的春播玉米生产来说很难区分材料的耐冷性差异。郝楠等^[23]研究发现,玉米种子萌发指标呈单峰曲线变化,在 33℃时达到发芽峰值。谢兴洲等^[24]以两个玉米品种作为材料,研究温度对玉米种子萌发特性的影响,发现在温度为 15℃以上时,玉米的发芽率大幅提升,当超过 30℃时玉米发芽率最大。赵永锋等^[25]利用 8 个材料,设置 3 个温度梯度进行发芽试验,结果发现,随着温度的升高,种子的发芽率、发芽势均变大。李兴光等^[26]研究表明,当玉米的生长环境温度为 20~25℃且水分适宜时,玉米种子能很好地萌发。玉米种子在温度低于 5℃的条件下不会发芽,参考前人研究结果,本研究耐冷试验采用 6℃冷浸 3 d,25℃培养 7 d 进行玉米萌发试验较合理。此外,低温冷浸即达到了玉米低温胁迫处理的目的,对水分来说也达到了胁迫的状态,这也符合生产上玉米萌发期经常发生低温高湿叠加造成冷害胁迫的实际。玉米具有广泛的遗传多样性,其耐冷性受基因型和环境共同控制,同时不同性状之间具有互相关联又相互制约的特性,因此,选择单一的指标对玉米耐冷性进行鉴定与评价并不精准^[10]。为使结果更加客观准确合理,本研究采用多个指标对玉米耐冷性进行综合评价,且分析过程中采用了相关性分析、主成分分析、隶属函数分析以及聚类分析等来进行多方面的玉米耐冷性鉴定与评价分析。从最终的综合耐冷性指数来看,综合耐冷性指数最低的 FS274,三个隶属函数值 $U(X_1)$ 、 $U(X_2)$ 和 $U(X_3)$ 均为 0。而对于综合耐冷性指数最大的材料 FS122 来说,三个隶属函数值 $U(X_1)$ 、 $U(X_2)$ 和 $U(X_3)$ 分别为 1.00、0.82 和 0.51,说明综合性耐冷性指数指标能够反映各单项指标变化趋势。采用综合耐冷性指数对材料进行评价,能够整合玉米耐冷指标发现主要相关信息,特别是能够准确地找到耐冷性极端表型的材料用于进一步构建耐冷性表型分离群体,以此来深度挖掘玉米耐冷遗传信息。

4 结论

本研究结果表明,玉米的各个耐冷指标互相关联。采用主成分分析将 8 个指标整合为 3 个主成分,分别为 7 d 发芽率、7 d 芽鲜重以及 7 d 芽干重。通过综合耐冷性 D 值聚类分析将 279 份玉米自交系共分为 5 个等级,其中耐冷性差的材料为 21 份,主要有 FS274、FS29、FS82 等;耐冷性一般的材料为 54 份,主要有 FS94、FS86、FS8 等;耐冷性中等的材料为 58 份,主要有 FS97、FS79、FS71 等;耐冷性较强的材料为 116 份,主要有 FS75、FS46、FS55 等;冷性强的材料为 30 份,主要有 FS1、FS102、FS122 等。

参考文献:

- [1] GONG F P, YANG L, TAIF J, et al. "Omics" of maize stress response for sustainable food production: Opportunities and challenges[J]. *Omics A Journal of Integrative Biology*, 2014, 18(12):714-732.
- [2] 杨子刚,毛文坤,郭庆海.世界主要粮食作物市场供求分析[J]. *调研世界*, 2011(5):19-21.
- [3] 徐淑华,吴有华.分析低温冷害对农作物影响及预防措施[J]. *安徽农学通报*, 2008(20):120-121.
- [4] 赵玉田,梁博文,张晓玲,等.我国寒冷地区玉米品种(系)抗冷性筛选原理与技术体系的应用研究[J]. *中国农学通报*, 1993(2):23-27.
- [5] JOMPUK C. Mapping of quantitative trait loci associated with chilling tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings grown under field conditions[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(414):1153-1163.
- [6] 张郑伟.玉米耐冷性鉴定及调控效应研究[D]. 哈尔滨:黑龙江大学,2016.
- [7] 徐文强,杨祁峰,牛俊义,等.温度与土壤水分对玉米种子萌发及幼苗生长特性的影响[J]. *玉米科学*, 2013, 21(1):69-74.
- [8] DELOUCHE J C. Standardization of seed vigor tests[J]. *Seeds: Trade, Production and Technology*, 1976, 1(2):75-85.
- [9] 郑婷婷.吉林省玉米骨干自交系耐冷性的鉴定与筛选[D]. 长春:吉林农业大学,2016.
- [10] 马延华.玉米发芽至苗期耐冷性资源鉴定及遗传分析[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2013.
- [11] 李亮,高明波,袁海洋,等.耐冷玉米自交系的筛选[J]. *黑龙江农业科学*, 2016(7):4-8.
- [12] 张晓聪,周羽,张林,等.玉米自交系芽期耐冷性鉴定[J]. *作物杂志*, 2016(2):21-26.
- [13] 王辉.极早熟玉米抗冷种质资源的筛选[J]. *农业科技通讯*, 2016(5):52-54.
- [14] HUND A, FRACHEBOUD Y, SOLDATI A, et al. Cold tolerance of maize seedlings as determined by root morphology and photosynthetic traits[J]. *European Journal of Agronomy*, 2008, 28(3):178-185.
- [15] 李俊明.玉米耐冷性的数值分类研究[J]. *生物数学学报*, 1990(1):58-61.

- [16] 杨树明,曾亚文,王荔,等. 丽江新团黑谷近等基因系孕穗期耐冷性生化性状的主成分分析及综合评价[J]. 华北农学报, 2014, 29(S1): 262-272.
- [17] 褚力嘉,曹士亮,靳羽晗,等. 玉米萌发期耐冷性鉴定研究[J]. 种子, 2020, 39(1): 36-41.
- [18] 陈小凤,黄如葵,梁家作,等. 基于主成分分析和模糊评价法的苦瓜耐冷性综合鉴定与评价[J]. 南方农业学报, 2016, 47(5): 677-681.
- [19] 郑金凤,米少艳,婧姣姣,等. 小麦代换系耐低磷生理性状的主成分分析及综合评价[J]. 中国农业科学, 2013, 46(10): 1984-1993.
- [20] 李琳,于崧,蒋永超,等. 芸豆苗期耐盐碱性鉴定及品种筛选研究[J]. 植物生理学报, 2016, 52(1): 62-72.
- [21] MOCK J J, MCNEILL M J. Cold tolerance of maize inbred lines adapted to various latitudes in North America[J]. Crop Science, 1979, 19(2): 239-242.
- [22] Saturated Cold Test [EB/OL]. [2022-06-30]. <https://seedlab.iastate.edu/portfolio-items/sand-cold-test/>.
- [23] 郝楠,王延波,李月明. 温度对玉米种子萌发特性的影响[J]. 玉米科学, 2013, 21(4): 59-63.
- [24] 谢兴洲,孙瑛. 温度对玉米种子萌发特性的影响试验研究[J]. 种子科技, 2018, 36(5): 101.
- [25] 赵永锋,韩静静,贾晓艳,等. 低温胁迫对不同玉米种子萌发的影响[J]. 种子, 2019, 38(5): 86-89.
- [26] 李兴光,李晓宇. 小麦. 玉米萌发和苗期生长对干旱与低温的响应[J]. 土壤与作物, 2019, 8(3): 266-272.

Identification of Cold Tolerance in Maize Inbred Lines During Germination Stage

CAO Shi-liang¹, YU Tao¹, LI Wen-yue¹, YANG Geng-bin¹, LIU Bao-min¹, LIU Chang-hua²,
CHU Li-jia², DUAN Ya-juan²

(1. Maize Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences/National Engineering Laboratory for Maize(Harbin)/Key Laboratory of Creation and Utilization of Maize Germplasm Resources of Heilongjiang Province, Harbin 150086, China; 2. College of Agricultural Resources and Environment, Heilongjiang University, Harbin 150080, China)

Abstract: Chilling injury is one of the main reasons that restrict maize production in Northeast of China. It is the foundation of breeding and germplasm improvement of cold-tolerance maize to evaluate the cold-tolerance of maize during germination stage. In this study, 279 maize inbred lines were used as experimental materials, and an artificial climate chamber was used to identify cold tolerance during germination, and principal component analysis, membership function analysis and cluster analysis were used to evaluate cold tolerance during germination. The results showed that the principal component analysis showed that the 7-day germination rate, 7-day bud fresh weight and 7-day bud dry weight could be used as indicators for the identification of cold tolerance of maize during germination. Further, through comprehensive cold tolerance *D* value and cluster analysis, the cold tolerance of 279 maize inbred lines were divided into 5 grades. Among them, there were 21 materials with poor cold resistance, 54 materials with general cold resistance, 58 materials with medium cold resistance, 116 materials with strong cold resistance and 30 materials with very strong cold resistance. The materials with very strong cold resistance mainly include FS1, FS102 and FS122, and FS122 had the highest *D* value of 0.91.

Keywords: maize; cold tolerance; principal component analysis; cluster analysis

著作权使用声明

本刊已许可中国知网、维普网、万方数据等知识服务平台以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。本刊支付的稿酬已包含著作权使用费,所有署名作者向本刊提交文章发表之行为视为同意上述声明。

黑龙江农业科学编辑部