

文章编号: 1005-0906(2010)01-0034-08

玉米自交系苗期氮敏感基因型差异分析

许振华, 谢传晓, 吴永升, 李明顺, 李新海,
张德贵, 白 丽, 郝转芳, 张世煌

(中国农业科学院作物科学研究所, 农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081)

摘 要: 利用 SPAD-502 型叶绿素仪进行大量、快速、无损测定玉米苗期叶绿素含量提供了线性相关方程, 建立了玉米苗期叶片 SPAD 值与叶绿素含量之间的一元线性回归方程为 $y=0.077\ 6x+0.175\ 6$ ($r=0.92$), 呈极显著线性正相关。在低氮与正常供氮条件下, 对 192 份玉米自交系分别进行了苗期(3 叶期、6 叶期、大喇叭口期)叶绿素含量测定。方差分析显著性检验结果表明, 低氮与正常供氮条件下, 苗期叶绿素含量均存在极显著的基因型与环境差异, 大喇叭口期对氮肥最敏感。192 份玉米自交系氮敏感指数变幅为 7.55% ~ 39.87%, 为玉米育种提供了苗期氮敏感基因型差异数据。

关键词: 玉米; SPAD 值; 叶绿素含量; 氮敏感指数; 基因型

中图分类号: S513.024

文献标识码: A

Differences Analysis of Nitrogen Sensitive Genotypes in Seedling Among Maize Inbred Lines

XU Zhen-hua, XIE Chuan-xiao, WU Yong-sheng, ZHANG Shi-huang, et al.

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences / National Key Facility for Crop Gene Resource and Genetic Improvement, Beijing 100081, China)

Abstract: A linear correlation model between chlorophyll content and SPAD value was set up. It might allow us to determine the chlorophyll content without hurt to plants among a large scale of samples. The genotypic difference data on nitrogen responsiveness among 192 elite inbred lines were also reported as the reference data on nitrogen use efficiency breeding in maize. The significant linear function of maize inbred lines between SPAD value and chlorophyll content in seedling stage was $y=0.077\ 6x+0.175\ 6$ ($r=0.92$). The chlorophyll content of 192 maize inbred lines in seedling stage (3 leaves, 6 leaves and large bell stage) were determined in low-nitrogen(LN) and normal-nitrogen(NN) conditions, respectively. The variance analysis indicated that the genotypic and environmental variances were both very significant and the large bell stage was the most sensitive stage under either LN or NN condition. Nitrogen-sensitive index was defined as the percentage of the substations of the chlorophyll content in NN and LN. The nitrogen-sensitive indices of 192 maize inbred lines were analyzed, varied from 7.55% to 39.87%.

Key words: Maize; SPAD-value; Chlorophyll content; Nitrogen-sensitive index; Genotype

氮肥利用效率低下是世界农业研究领域的难题, 全球禾谷类作物氮素利用效率约为 33%^[1]。植物缺乏氮素能引起叶片叶色的变化, 进而影响光合作

用效率。叶绿素是植物叶片的主要光合色素, 其含量是植物生理研究及评价植物体氮素营养状况的重要指标^[2,3]。传统的叶绿素测定方法一般为分光光度计法, 需要提取植物组织的叶绿素。张宪政等^[4]提出混合液提取法, 提取效果优于单一提取液。人们针对不同作物用不同的提取液组合进行了系统的研究^[5~10], 结果表明, 采用丙酮-无水乙醇体积比 2:1 的混合液提取效果较好, 结果也比较准确, 但工作量大, 损伤植株叶片, 而且测定结果也一定程度上受样品前处理过程的影响。研究表明, 利用植物在不同生

收稿日期: 2009-04-13

基金项目: 国家“863”计划(2006AA10Z191)、国家自然科学基金项目(30871535)

作者简介: 许振华, 男, 在读硕士, 研究方向为玉米氮利用遗传与生理学基础。

谢传晓为本文通讯作者。

长状态下的光谱差异来诊断植物生长状况,给田间非破坏性、快速、简便地诊断植物营养状况提供了可能。叶绿素仪可以根据植物叶色值的差异反映叶绿素相对含量,使用方便,测定速度快,其测定结果称为 SPAD 值。SPAD 值被广泛应用于作物氮素营养状况的诊断与评价^[11-15]。

本研究对玉米叶片 SPAD 值与叶绿素含量之间的相关性进行分析,建立相关性模型。测定了 192 份玉米自交系在低氮与正常供氮条件下苗期叶绿素含量,并进行了苗期氮敏感基因型差异分析,为玉米育种提供苗期氮敏感基因型差异评价数据。同时,建立了玉米叶片叶绿素含量快速、准确、无损伤测定方法。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 192 份玉米自交系。

1.2 田间试验方法

2008 年,192 份玉米自交系种植于中国农科院北京顺义试验站。试验采用 α -lattice 设计,设施氮肥与不施氮肥 2 个处理,每个处理设 3 次重复,试验地行长 3.6 m,行距 60 cm,株距 20 cm。

施氮肥区播种时不施肥,3 叶期施尿素 69 kg/hm²,大喇叭口期追施尿素 207 kg/hm²;不施肥区全生育期均不施肥。

1.3 试验方法

1.3.1 叶绿素仪测定 SPAD 值

利用日本柯尼卡美能达公司生产的 SPAD-502 型叶绿素仪对玉米完全展开叶片活体测定 34 份自交系的 SPAD 值,用于研究 SPAD 值与叶绿素含量相关性。每一自交系选取一代表株的 1 片无坏死、无病斑、无损伤干净叶片,连续测定 3 个不同位点的 SPAD 值。同时,所有用于研究氮敏感基因型差异的 192 份自交系分时期每自交系测定 5 株同一有代表性部位的叶片作为该自交系的 SPAD 值。

1.3.2 分光光度计法测定叶绿素含量

1.3.2.1 取样方法

于 6~7 叶幼苗期,根据自交系叶片颜色的深浅,选取叶片绿色程度不同的 34 份自交系,研究 SPAD 值与叶绿素含量相关性。将测定完 SPAD 值的 34 份自交系相应部位叶片置于冰盒中取回,将叶片表面杂质冲洗干净,用吸水纸吸干。

1.3.2.2 鲜叶样品预处理

每片叶片测定 SPAD 值的部位剪成 1 mm 宽细

丝,用分析天平称取约 0.1 g;将称量好的叶片放入 20 mL 加盖试管,加入 10 mL 丙酮-无水乙醇 2:1 混合液,盖紧盖子,置于暗处,其间混匀 2 次。

1.3.2.3 分光光度计测定

待叶片完全变白后将提取液吸出,利用 Lambda35 型紫外分光光度计在 645、663 nm 波长下测定叶绿素提取液的吸光度。测定时,以丙酮-无水乙醇体积比 2:1 混合液作为参比溶液,设定好程序后,分别在 645、663 nm 波长下调零,并根据提示依次放入样品,仪器可自动在计算机上输出并存储各样品在两个波长下的吸光度。

1.3.2.4 分光光度计法测定叶绿素含量计算

利用 Arnon 法的修正公式计算叶绿素含量^[16],计算公式为:

$$C = \frac{(20.2A_{645} + 8.04A_{663})V}{1000W}$$

式中 C 表示叶绿素含量(mg/g); V 表示提取液体积(mL); W 代表叶片质量(g)。

1.3.3 分析方法

1.3.3.1 建立 SPAD 值与叶绿素含量相关方程

利用 Microsoft Excel 2003 将测得的叶片 SPAD 值及叶绿素含量对应数据做散点图并做出回归趋势线,进一步得出叶片 SPAD 值与叶绿素含量之间的相关模型,并对相关模型进行显著性检验。

1.3.3.2 不同氮素水平下苗期叶绿素含量基因型差异方差分析方法

低氮与正常供氮条件下,利用 SPAD-502 型叶绿素仪分别于 3 叶期、6 叶期和大喇叭口期测定 192 份自交系的 SPAD 值,结合得出的线性相关模型计算出各自交系在 3 个生育时期的平均叶绿素含量。利用 SAS 8.0 统计分析系统对叶绿素含量进行方差分析,得出各玉米自交系苗期叶绿素含量的基因型差异。为进一步研究这种差异在不同处理间的差异显著水平以及品种与处理之间的交互作用。在试验整体水平上,将品种与处理之间的交互作用考虑在内,对 3 个时期叶绿素含量进行方差分析。

1.3.3.3 不同氮素水平下苗期叶绿素含量广义遗传力计算

为说明叶绿素含量在不同生育时期的差异,根据方差分析结果计算出不同氮素处理下叶绿素含量在 3 叶期、6 叶期及大喇叭口期的广义遗传力^[17,18]。

1.3.3.4 玉米苗期氮敏感指数计算方法

把苗期氮敏感指数为:(正常供氮条件下叶绿素含量-低氮环境下叶绿素含量)/正常供氮条件下叶

绿素含量×100%。根据得出的大喇叭口期叶绿素含量计算出各自交系氮敏感指数。

2 结果与分析

2.1 34 份自交系 SPAD 值与叶绿素含量测定

表 1 所示为 34 份自交系 SPAD 值、叶绿素含量平均值以及各自交系测定数据的标准差。结果表明, SPAD 值在 34 份自交系间变幅为 25.1~60.3, 其中 CML292 的 SPAD 值最大, 为 60.3; 最小的为掖 478, SPAD 值为 25.1; 叶绿素含量在各材料之间变幅为

2.182 1~4.973 2 mg/g, 最大的是 N528-1(1284), 其次为 CML292, 最小的为掖 478。SPAD 值与叶绿素含量最小值所对应自交系一致, 都为掖 478; 最大值所对应自交系存在细微差异, 可能是由于试验误差或环境影响所致。但从总体上看, SPAD 值与叶绿素含量变化趋势一致, 表明玉米 SPAD 值与叶绿素含量之间具有较好相关性。同时, 计算出 SPAD 值与叶绿素含量的标准差, 可以看出, 实验数据标准差较小, 尤其是叶绿素含量标准差均在 0.5 以下, 表明试验过程误差较小, 试验方法有较好代表性。

表 1 34 份自交系的 叶片 SPAD 值与叶绿素含量测定结果
Table 1 SPAD value and the chlorophyll content in leaves among 34 inbred lines

材 料 Material	SPAD 值±标准差 SPAD value ± SD	叶绿素含量±标准差(mg/g) Chl ±SD	材 料 Material	SPAD 值±标准差 SPAD value ± SD	叶绿素含量±标准差(mg/g) Chl ±SD
N528-1(1284)	51.8 ± 2.05	4.973 2 ± 0.05	中 17	37.3 ± 4.73	2.998 7 ± 0.41
辽白 371	47.0 ± 5.18	3.999 7 ± 0.20	L102	49.8 ± 2.52	4.045 3 ± 0.05
黄野四	58.6 ± 3.65	4.558 8 ± 0.12	H3	47.6 ± 2.14	3.762 6 ± 0.38
沈 137	30.7 ± 4.07	2.307 3 ± 0.26	CA091	38.7 ± 2.85	2.992 5 ± 0.46
四 273	46.9 ± 2.18	3.904 2 ± 0.07	种苗 28	41.1 ± 3.82	3.335 3 ± 0.18
8902	51.8 ± 7.81	4.645 4 ± 0.18	自 330	29.8 ± 1.16	2.247 3 ± 0.12
CA375	45.9 ± 7.25	3.281 6 ± 0.05	齐 318	46.9 ± 5.52	3.262 7 ± 0.33
P138	41.4 ± 4.28	3.319 4 ± 0.19	掖 515	44.3 ± 2.48	4.025 5 ± 0.39
3189	52.3 ± 4.88	3.889 1 ± 0.36	吉 4112	51.8 ± 3.91	4.437 4 ± 0.23
四 144	51.4 ± 3.00	4.422 3 ± 0.10	吉 818	42.3 ± 5.70	3.677 4 ± 0.12
HC	45.4 ± 6.43	2.985 0 ± 0.32	豫 12	48.4 ± 2.62	4.119 0 ± 0.12
CML292	60.3 ± 6.01	4.830 0 ± 0.18	J001	37.9 ± 6.64	3.384 3 ± 0.32
丹 340	44.9 ± 3.90	3.653 1 ± 0.29	辽 3053	57.1 ± 2.80	4.468 7 ± 0.17
CA335	55.9 ± 1.66	4.289 5 ± 0.05	444	25.4 ± 1.55	2.367 4 ± 0.11
掖 52106	39.8 ± 1.39	3.367 6 ± 0.22	掖 478	25.1 ± 5.00	2.182 1 ± 0.39
y75	38.3 ± 5.06	3.251 8 ± 0.40	四 387	52.4 ± 6.05	4.060 1 ± 0.23
31778	36.5 ± 5.28	3.392 3 ± 0.50	材 11-8	31.7 ± 3.86	2.403 6 ± 0.34

2.2 SPAD 值与叶绿素含量相关模型分析

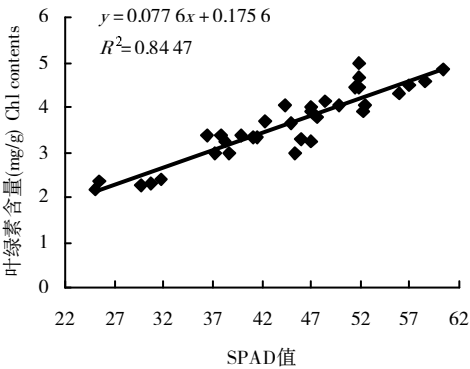


图 1 叶片 SPAD 值与叶绿素含量散点图及回归模型

Fig.1 Scatter diagram and regression model between SPAD value and chlorophyll content on maize

表 2 叶片 SPAD 值与叶绿素含量一元线性回归显著性检验

Table 2 Significant test for simple linear regression between SPAD value and chlorophyll content in maize leaves

变异来源 Source of variation	自由度 DF	平方和 Sum of squares	均 方 Mean square	F 值 F-value
回 归	1	16.430	16.430	174.72**
剩 余	32	3.009	0.094	
总 计	33	19.440		

由图 1 可以看出,散点图的线性符合度较好,可初步说明叶片 SPAD 值与叶绿素含量具线性相关性。做出叶片 SPAD 值 x 与叶绿素含量 y 之间的线性相关模型为 $y=0.077 6x+0.175 6(r=0.92)$ 。对该线性

相关模型进行显著性检验(表 2),结果表明线性相关性达到极显著水平。叶片 SPAD 值与叶绿素含量存在极显著的线性正相关,因此可以用 SPAD 值与相关模型来对叶片叶绿素含量进行快速准确测定。

2.3 192 份自交系苗期 SPAD 值测定、叶绿素含量基因型差异与遗传力分析

表 3 方差分析显著性检验结果表明,低氮与正常供氮条件下,192 份自交系在 3 叶期、6 叶期及大喇叭口期叶绿素含量均存在极显著的基因型差异,说明不同自交系在不同供氮条件下对氮素的反应的敏感程度有极显著差异。

表 3 192 份自交系苗期不同氮素处理叶绿素含量方差分析表

Table 3 Variance analysis of chlorophyll content on192 maize inbred lines in seedling stage under LN and NN treatment

处 理 Treatment		3 叶期 3 leaf stage			6 叶期 6 leaf stage			大喇叭口期 Big bell mouth stage		
		MS	<i>F</i>	<i>P</i>	MS	<i>F</i>	<i>P</i>	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
低氮处理	品 种	0.12	3.12**	<0.000 1	0.20	2.72**	<0.000 1	0.18	3.1**	<0.000 1
	区 组	0.87	22.34**	<0.000 1	0.60	8.06**	0.00	1.11	18.97**	<0.000 1
	误 差	0.04			0.07			0.06		
正常供氮	品 种	0.12	3.92**	<0.000 1	0.20	3.81**	<0.000 1	0.21	5.36**	<0.000 1
	区 组	0.31	10.00**	<0.000 1	0.50	9.31**	0.00	0.21	5.4**	0.00
	误 差	0.03			0.05			0.04		

由表 4 可以看出,正常供氮处理下,3 个时期叶绿素含量的广义遗传力比低氮处理下的广义遗传力均有明显提高。3 个不同生育时期相比,大喇叭口期叶绿素含量广义遗传力要高于 3 叶期和 6 叶期。各生育时期的叶绿素含量也显示大喇叭口期叶绿素含

量要明显高于其他两个时期。说明大喇叭口期是玉米苗期叶绿素含量最为稳定的时期,也是遗传力最大的时期。由于大喇叭口期正值玉米快速生长时期,对氮素需求量增大,可能是造成正常供氮与低氮处理之间叶绿素含量显著差异的原因。

表 4 192 份自交系苗期不同氮素处理叶绿素含量广义遗传力

Table 4 Broad-sense heritability of chlorophyll content withdifferent nitrogen treatment on 192 maize inbred lines in seedling stage

处 理 Treatment	3 叶期 3 leaf stage	6 叶期 6 leaf stage	大喇叭口期 Big bell mouth stage
低氮处理	0.413 8	0.364 2	0.411 2
正常供氮	0.493 0	0.483 3	0.592 3

表 5 192 份自交系苗期不同氮素处理间叶绿素含量差异及交互作用分析

Table 5 Interaction analysis and difference of chlorophyll content on 192 inbred lines in seedling stage between LN and NN treatment

处 理 Treatment	3 叶期 3 leaf stage		6 叶期 6 leaf stage		大喇叭口期 Big bell mouth stage	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
区 组	13.66**	<0.000 1	0.20	0.819 8	15.15**	<0.000 1
处 理	91.93**	<0.000 1	652.44**	<0.000 1	2 913.68**	<0.000 1
品 种	5.87**	<0.000 1	4.98**	<0.000 1	6.59**	<0.000 1
品种×处理	0.76	0.988 8	1.11	0.181 5	1.21*	0.044 7

以上结果表明,在低氮与正常供氮条件下,苗期叶绿素含量在不同处理内部均具有极显著的基因型差异,其中以大喇叭口期叶绿素含量最为稳定,遗传

力最高。对不同处理间叶绿素含量基因型差异作方差分析,同时考察品种与处理的交互效应。显著性检验结果表明,不同处理间,3 叶期、6 叶期及大喇叭口

期叶绿素含量仍有极显著差异,但品种与处理间的交互作用在3叶期和6叶期差异并不显著,只在大喇叭口期存在显著差异(表5)。说明大喇叭口期不同品种叶绿素含量的差异在一定程度上受到品种与不同氮素处理的交互作用影响,也表明大喇叭口期对氮素反应比较敏感。

2.4 自交系苗期氮敏感指数分析

根据氮敏感指数定义计算得出,192份自交系氮敏感指数变幅为7.55%~39.87%(表6),丹340最小为7.55%,S37最大为39.87%。由于本试验采用了不同氮素处理,在大喇叭口期对正常供氮处理追施氮肥,从而使正常供氮处理自交系与低氮处理自交系相比叶绿素含量有显著提高。以上的分析也表明,

大喇叭口期植株对氮素反应较为敏感。大喇叭口期玉米生长迅速,植株生物量建成加快,对氮的需求大,当出现供氮不足时,容易表现出叶绿素含量下降,叶片失绿等缺氮症状。因此,比较这一时期的氮相关的生理指标,较容易发现基因型差异,能为材料评价等提供较为可靠的分析数据。因此,可将氮敏感指数作为衡量玉米基因型氮素反应的相关指标。从试验材料整体来看,氮敏感指数位于16%~31%的材料占据试验总体的71.35%,说明大多数材料对氮素敏感程度处于中等水平。氮钝感自交系,即氮敏感指数小于16%的材料只占试验总体的12%,这部分材料可以作为氮利用效率玉米育种中氮反应钝感的亲本或相关性状改良的供体亲本。

表 6 192 份自交系苗期氮敏感指数

Table 6 Nitrogen-sensitive index of 192 maize inbred lines in seedling stage

%

名称 Name	N 敏感指数 Nitrogen-sensitive index	名称 Name	N 敏感指数 Nitrogen-sensitive index	名称 Name	N 敏感指数 Nitrogen-sensitive index
丹 340*	7.55	关 17	21.07	吉 818*	26.64
新自 153-2	11.29	B104	21.12	鲁 2548	26.83
K12	11.36	丹 599	21.13	东 91	26.85
7595-2	12.11	J001*	21.16	丹 598	27.12
CA156	12.11	沈 5003	21.23	77	27.17
OH43	13.09	888-9	21.32	y75*	27.29
郑 29	13.27	齐 209	21.81	698-3	27.35
齐 205	13.34	89-1	21.89	LX9801	27.36
丹 3130	13.60	HZ85	21.96	M14	27.37
CA339	13.62	川 321	22.00	D 黄 212	27.38
吉 842	13.67	7167-1	22.13	吉 846	27.47
B84	13.80	东 156	22.13	材 11-8*	27.52
郑 28	13.88	Y7	22.14	吉 465	27.54
L102*	14.11	海 9-21	22.24	吉 412	27.57
合 344	14.17	CN962	22.31	辽 68	27.76
31778*	14.47	吉 495	22.32	PI143	27.92
PI10	14.50	1029	22.53	7379-2	27.95
U8112	14.70	吉 81162	22.61	中 106	27.99
C8605-2	14.76	5213	22.69	早 8-3(1263)	28.16
3189*	14.89	沈 137*	22.70	S7913	28.18
吉 477	15.67	中 17*	22.73	塔 5	28.20
P138*	15.71	200B	22.78	8001	28.30
黄野四 *	15.90	CML396	22.92	T8	28.37
K14	16.09	辽 5114	22.94	5022(B)	28.46
获唐黄	16.15	吉 1037	23.11	CN165(保持系)	28.72
临系 11	16.24	新自 218	23.20	7884	28.87
自 330*	16.30	B73	23.24	旱 21	28.99
ES40	16.53	中自 01	23.44	QB80	29.13
种苗 28*	16.65	DP62-7	23.65	吉 63	29.25
龙抗 11	16.73	旱 23	23.81	掖 515*	29.41
齐 319	16.80	川 1073-7	23.85	汶黄	29.43

续表 6Continued 6

%

名称 Name	N 敏感指数 Nitrogen-sensitive index	名称 Name	N 敏感指数 Nitrogen-sensitive index	名称 Name	N 敏感指数 Nitrogen-sensitive index
803	17.06	塘四平头	23.86	H10	29.45
中综 4C1	17.32	R18	24.13	综 31	29.45
N28	17.32	早 49	24.17	中黄 204	29.70
E28	17.41	辽巨 311	24.30	9046	29.76
CML292*	18.03	金黄 55	24.49	196	29.95
四 387*	18.28	H152	24.69	辽 138	30.02
丹黄 02	18.39	CA112	24.69	四 273*	30.11
HC*	18.45	H21	24.80	掖 107	30.36
444*	18.50	SH15	24.92	黄早四	30.45
吉 853	18.68	J002	25.02	四 144*	30.84
郑 30	18.85	辽 3053*	25.10	WF9	30.86
昌 7-2	19.00	郑 58	25.12	65232 宽	31.12
辽 2345	19.00	中黄 68	25.15	81565	31.12
川 273	19.24	豫 12*	25.21	PI42	31.30
莫群 17	19.29	48-2	25.22	CA335*	31.67
835	19.39	CA091*	25.35	CML206	31.70
H201	19.62	郑 22	25.38	铁 7922	31.81
C28	19.64	4379	25.45	辽白 371*	31.85
沈 136	19.78	四至四	25.48	金黄 96B	31.98
374	19.79	502	25.48	M3005	32.00
501	19.99	CAL70	25.49	7537-1	32.25
品 1P6Co	20.11	中 451	25.64	TZI8(Cream)	32.40
K22	20.21	W24	25.75	CA375*	32.65
H3*	20.26	旅九宽	25.88	N528-1(1284)*	32.82
M0113	20.34	多黄 29	25.90	鲁原 133	32.96
金黄 59	20.35	四 F1	25.90	冀 53	33.47
掖 478*	20.42	706 辐	25.93	8002	33.66
X178	20.55	吉 4112*	25.97	吉 8415	33.93
掖 52106*	20.55	Mo17	26.04	长 3	33.93
武 314	20.70	K10	26.06	沈 118	34.07
独 321	20.77	鲁原 92	26.16	CML51	34.19
8902*	20.81	四 287	26.30	BJ005	38.23
齐 318*	20.92	中黄 64	26.59	S37	39.87

注: 标 * 号的材料为分析 SPAD 值与叶绿素含量相关性所用玉米自交系。
Note: the materials marked * were maize inbred lines used for analyzing the correlation of SPAD values and chlorophyll content.

3 结论与讨论

选取 34 份玉米自交系,分别测定叶绿素含量与 SPAD 值,分析 SPAD 值与叶绿素含量相关性。结果表明,玉米叶片 SPAD 值与叶绿素含量呈极显著线性正相关,最佳相关模型为 $y=0.077\ 6x+0.175\ 6(R^2=0.844\ 7)$ 。说明 SPAD 值可作为判定叶绿素含量高低的指标。可利用 SPAD 值并结合相关模型快速准确测定玉米叶片叶绿素含量,且不对植物组织造成损伤。

分别选取了 3 叶期、6 叶期和大喇叭口期测定 192 份自交系的 SPAD 值,转换成叶绿素含量后,分析了各自交系 3 个时期叶绿素含量在不同氮素处理内、不同氮素处理间的基因型差异、基因型与环境交互作用以及不同氮素处理内 3 个时期叶绿素含量的广义遗传力。经方差分析显著性检验,低氮与正常供氮条件下,玉米苗期叶绿素含量均存在极显著的基因型差异;低氮条件下,3 个时期叶绿素含量广义遗传力分别为 41.38%、36.42%、41.12%;正常供氮条件下,3 个时期叶绿素含量广义遗传力分别为49.30%、

48.33%、59.23%。大喇叭口期叶绿素含量对土壤氮素水平最为敏感。

192份玉米自交系氮敏感指数结果显示,大多数玉米自交系对氮素反应敏感程度处于中等水平,S37、BJ005、CML51、沈118、长3、吉8415等自交系氮素反应较为敏感;丹340、新自153-2、K12、7595-2、CA156等自交系氮素反应较为钝感。

利用叶绿素仪测得的SPAD值与作物叶片叶绿素含量存在显著相关性,可用于间接反映作物叶绿素含量状况。研究表明,叶绿素含量的遗传方式主要为数量性状遗传^[19~21]。王爱玉等于大喇叭口期针对总叶绿素含量检测到6个QTL位点,共解释表型变异的36.86%^[22]。本文表明大喇叭口期的广义遗传力最大。玉米氮素利用效率由很多方面因素决定,如土壤中氮素水平、根部吸收能力以及体内氮素同化能力等。氮素缺乏会导致植物体内叶绿素含量显著下降^[23]。玉米叶片叶绿素含量通常是玉米氮素水平的反应,但不同的基因型对氮的敏感程度不一,存在基因型差异。因此,比较低氮与高氮条件下同一基因型叶绿素含量的差异是该基因型对氮反应敏感与否的重要依据。

定义氮敏感指数时选用大喇叭口期是因为该时期玉米生长发育较为迅速,植株生物量呈现快速增长,叶面积达到最大,同时雌穗也开始进入小花分化期,整个植株对氮素需求量很高。如果此时土壤中氮素缺乏,植株会产生很明显的缺氮素反应。氮敏感指数的基础是植株对氮素反应具有差异,并通过体内叶绿素含量的变化表现出来。氮敏感指数指出了玉米植株氮素营养状况与叶绿素含量的关系,同时也表明,不同基因型玉米氮敏感程度的差异。因此,氮敏感指数的提出具有一定的科学依据。

氮敏感指数不但衡量玉米自交系氮素反应敏感程度,还可作为不同自交系氮素营养状况以及氮素同化能力的生理指标。在不同的氮素处理下,有些自交系体内叶绿素含量无显著变化,表现为氮敏感指数较低,说明这些自交系氮素同化能力较强,氮素营养状况良好。同时还可指导生产中氮肥的施用,避免造成浪费。

本研究得出的192份玉米自交系氮敏感指数变幅为7.55%~39.87%,说明不同自交系对氮素反应具有显著的基因型差异。把氮敏感指数低于16%的自交系定为氮钝感自交系,这部分材料占试验总体的12%。如丹340、新自153-2、K12、7595-2、CA156等自交系可用来筛选耐低氮的近等基因系,在氮利

用效率玉米育种中,这部分自交系可用作氮素反应相关性状改良的供体亲本,通过与具有优良农艺性状的轮回亲本回交对相关性状进行改良,产生高氮素利用效率的自交系;也可用作氮素反应钝感亲本,组配杂交组合,有可能产生高氮素利用效率、高产量潜力的玉米新品种。因此,玉米自交系的氮素敏感指数在玉米氮利用效率育种相关性状自交系的选择上提供了直观的依据,减少了育种的盲目性及工作量。

本研究利用叶绿素含量为指标分析了不同自交系氮敏感基因型差异,因此,对大量自交系叶绿素含量的快速、准确测定是研究的基础。近年来,SPAD-502型叶绿素仪已广泛用于作物叶片氮素营养状况的诊断,因使用简便、不损伤植株,应用效果较好。利用该方法只需借助便携的叶绿素仪在田间便可完成测定过程,同时省去了取样以及从植物组织内提取叶绿素并用分光光度计测定其含量的繁琐步骤,且该方法在多种作物中都可使用。只是在不同作物中SPAD值与叶绿素含量之间的相关模型存在一定差异,在实际测定时,应根据不同作物得出适用于该作物的相关模型。在测定SPAD值时,为避免不同叶片之间叶绿素含量差异对测定结果造成影响,应选取已完全展开、叶绿素含量稳定且进入功能盛期的叶片进行测量,同时应注意避开叶脉。

由于叶色是许多因素综合影响的结果,在不同作物甚至同一作物不同品种间测得的SPAD值可能存在差异。艾天成等研究了5种不同作物SPAD值与叶绿素含量之间的相关性,确定了不同作物SPAD值与叶绿素含量之间的相关模型,经检验均达到了极显著相关水平^[24]。因此,本试验得出的相关模型可能并不具有普遍性。所选材料或群体不同,得出的相关模型可能会有差异,甚至可能并不完全是线性相关^[25]。

参考文献:

- [1] William R R, Gordon V J. Improving nitrogen use efficiency for cereal production[J]. *Agron. J.*, 1999, 91: 357-363.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 张宪政.植物叶绿素含量测定——丙酮乙醇混合液法[J]. *辽宁农业科学*, 1986(3): 26-28.
- [5] 艾天成,周治安,李方敏,等.小麦等作物叶绿素速测方法研究[J]. *甘肃农业科技*, 2001(4): 16-18.
- [6] 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.
- [7] 冯双华.水稻叶绿素含量的简易测定[J]. *福建农业科技*, 1997(4):

- 7-8.
- [8] 刘绶霞,董振生,刘创社,等.油菜叶绿素提取方法的研究[J].中国农学通报,2004,20(4):62-63.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 李刚华,丁艳锋,薛利红,等.利用叶绿素计(SPAD-502)诊断水稻氮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.
- [14] 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.
- [15] 徐福荣,汤翠凤,余藤琼,等.利用叶绿素仪 SPAD 值筛选耐低氮水稻种质[J].分子植物育种,2005,3(5):695-700.
- [16] 苏正淑,张宪政.几种测定植物叶绿素含量的方法比较[J].植物生理学通讯,1989(5):77-78.
- [17] Henninger M R, Sterrett S B, Haynes Broad-Sense K G. Heritability and Stability of Internal Heat Necrosis and Specific Gravity in Tetraploid Potatoes[J]. Crop Sci., 2000, 40: 977-984.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] XUE D W, CHEN M C, ZHOU M X, et al. QTL analysis of flag leaf in barley(*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits and chlorophyll content[J]. Journal of Zhejiang University SCIENCE B, 2008, 9(12): 938-943.
- [22] 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.
- [23] Ding L, Wang K J, Jang G M, et al. Effects of Nitrogen Deficiency on Photosynthetic Traits of Maize Hybrids Released in Different Years[J]. Annals of Botany, 2005, 96: 925-930.
- [24] 艾天成,李方敏,周治安,等.作物叶片叶绿素含量与 SPAD 值相关性研究[J].湖北农学院学报,2000,20(1):6-8.
- [25] Uddling J, Gelang-Alfredsson J, Piikki K, et al. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings[J]. Photosynth Res., 2007, 91: 37-46.