

不同抗性糯玉米近等基因系水培 幼苗对烟嘧磺隆的反应

于艳杰, 史振声, 胡海军, 李 云, 王 健

(沈阳农业大学特种玉米研究所, 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 以抗和不抗烟嘧磺隆的沈糯 509R 和沈糯 509S 为试材, 通过向水培液添加烟嘧磺隆的方法, 研究抗系与不抗系的幼苗外观表现和生理指标变化。结果表明: 处理后两个近等基因系均比对照发生明显变化; 各项指标随处理浓度的增加而反应加剧; 抗系 $0.02 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 烟嘧磺隆培养液中甚至无明显反应, 而不抗系反应强烈直至死亡; 抗系与不抗系对烟嘧磺隆反应的快慢和变化趋势存在明显差异。试验证明, 采用 $0.02 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 烟嘧磺隆水培液对自交系进行烟嘧磺隆抗性鉴定, 无论以形态指标还是以生理指标都可得到准确的鉴定结果。

关键词: 糯玉米; 烟嘧磺隆; 叶绿素; SOD; POD

中图分类号: S451.2 **文献标志码:** A

Responses to nicosulfuron of hydroponic seedlings of near-isogenic lines of waxy corns with different resistances

YU Yan-jie, SHI Zhen-sheng, HU Hai-jun, LI Yun, WANG Jian

(Department of Agronomy, Specialty Corn Institute, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866, China)

Abstract: To evaluate the morphological and physiological index variations between seedlings exhibiting sensitive and resistant capabilities to nicosulfuron, near-isogenic lines of waxy corns, shennuo 509R and shennuo 509S, were employed for analyses using hydroponic method with the addition of nicosulfuron. The results indicated that these two near-isogenic lines both were significantly different from the control. All responding indexes became intensified with the increase of nicosulfuron concentrations. The resistant line did not have a clear reaction to $0.02 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ nicosulfuron, whereas the sensitive line showed a strong response, which became even dead. The sensitive and resistant lines were found to display significant variations in sensitivities and levels to nicosulfuron. In conclusion, the utilization of hydroponic method with $0.02 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ nicosulfuron provided an accurate evaluation of inbred lines in responses to nicosulfuron on the basis of their morphological and physiological indexes.

Keywords: waxy corn; nicosulfuron; chlorophyll content; SOD; POD

烟嘧磺隆除草剂已被广泛应用于玉米田苗后除草,但在一些玉米品种上常发生药害事件,轻者造成减产,重者甚至绝收。目前多数普通玉米品种对烟嘧磺隆除草剂表现较强的抗性,只有少数品种如登海系列等某些品种表现特别敏感^[1]。在甜玉米、糯玉米、爆裂玉米等特种玉米中,不抗烟嘧磺隆的品种广泛存在^[2]。因此,在除草剂使用说明中明确标明不宜在特种玉米上使用。随着我国玉米生产全程机械化的普及,对除草剂敏感品种的应用越来越受到限制,因此,抗除草剂育种越来越受重视。沈阳农业大学特种玉米研究所利用自行选育的一对抗与不抗

烟嘧磺隆除草剂的近等基因系,对糯玉米抗烟嘧磺隆除草剂进行了基因定位研究,证明该基因位于 5 染色体短臂上,在 IDP7704 和 umc2036 标记,两个标记遗传距离为 20.3 cM ^[3]。山东农大用 yn-6 自交系进行研究,将其基因定位在第 5 染色体短臂上,5s-96 和 5s-78 标记之间,物理距离约为 0.18 Mb ^[4]。这些研究为玉米抗烟嘧磺隆育种奠定了基础。对玉米抗除草剂的鉴定,最早采用的是在田间对幼苗进行处理,后来发展到通过组培进行鉴定。

本试验以成对的抗和不抗烟嘧磺隆近等基因系为试材,采用水培方式,通过在水培液中施加不同浓

收稿日期: 2014-05-06

基金项目: 辽宁省科技计划项目(2011201018);“十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAD16B12, 2012BAD04B00)

作者简介: 于艳杰(1987—),女,硕士,主要从事玉米遗传育种研究。E-mail: yuyanjie888@163.com。

通信作者: 史振声。E-mail: shi.zhensheng@163.com。

度的除草剂,对其进行表型及生理指标分析,旨在提供一种简单易行的鉴定抗烟嘧磺隆除草剂玉米的方法。

1 材料与方法

1.1 供试材料

成对的近等基因系:抗烟嘧磺隆的沈糯 509R 和不抗烟嘧磺隆的沈糯 509S,由沈阳农业大学特种玉米研究所选育并提供。

1.2 培养方法

选择大小均匀的种子,用 0.1% 升汞浸种消毒 10 min,之后用清水冲洗,分别放入垫有两层湿滤纸的玻璃培养皿内,盖好后置于培养箱,在 6.5℃ ~ 10℃,30 000 Lx 光照,85% 湿度条件下进行发芽培养。发芽后选择发芽均匀一致的放入水培盒中,将水培盒置于人工气候培养箱进行幼苗培养。白天 15℃,光照强度为 30 000 Lx;夜间 10℃,无光照。

1.3 幼苗培养

待幼苗长到三叶一心时,将沈糯 509R 与沈糯 509S 分别分成四组,将其分别放入含有 0.02、0.06 mL·L⁻¹和 0.20 mL·L⁻¹烟嘧磺隆除草剂的水培营养液中,以不加除草剂的为对照。

1.4 指标测定

叶绿素含量测定采用丙酮法,在第 3 叶取样;SOD、POD 活性分别采用 NBT 光化能还原法和愈创木苯酚法,取全株叶片,3 株;丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法,取全株叶片,3 株。用 DPS 软件对数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 不同浓度烟嘧磺隆对幼苗外观的影响

结果表明,在水培液中添加烟嘧磺隆后,沈糯 509S 在处理后的第 2 天植株开始变黄,叶鞘出现紫色;第 3 天,第 2 叶已枯黄,第 3 叶从叶尖枯黄至一半,第 4 叶出现紫斑且叶脉变紫;第 4 天,叶片紫斑增多,萎蔫;第 5 天,高浓度的出现死亡。沈糯 509R 经处理后也表现为变黄和萎蔫,但叶茎没有出现紫色。随着浓度增大,药害现象加重,处理后第 4 天,高浓度也出现萎蔫。

2.2 不同浓度烟嘧磺隆对幼苗株高的影响

从图 1 可以看出,在幼苗培养液中加入烟嘧磺隆,对两个品系的株高都有不同程度的影响。总的趋势是:浓度越高伤害越重,处理时间越长越重;抗系受害轻微,不抗系受害严重,甚至停止生长。

沈糯 509R 在不同浓度下均能生长,只是浓度越高,生长越缓慢。在各浓度处理下第 1 天,株高都有所增长,而第 2 天、第 3 天、第 4 天只有 0.02、0.06 mL·L⁻¹浓度处理的株高有增长,0.20 mL·L⁻¹却没有增长。处理后 4 天表现更加明显,0.02、0.06、0.20 mL·L⁻¹比 CK 分别降低 8.02%、16.29% 和 19.63%;沈糯 509S,在各浓度处理后的 4 天中,株高均能增长,但低于 CK,也低于相同浓度中沈糯 509R。0.02 mL·L⁻¹分别比 CK 降低 1.75%、2.67%、3.75% 和 4.58%,0.06 mL·L⁻¹分别比 CK 降低 2.92%、5.29%、7.15% 和 9.84%,0.20 mL·L⁻¹分别比 CK 降低 2.92%、7.50%、10.43% 和 12.3%。

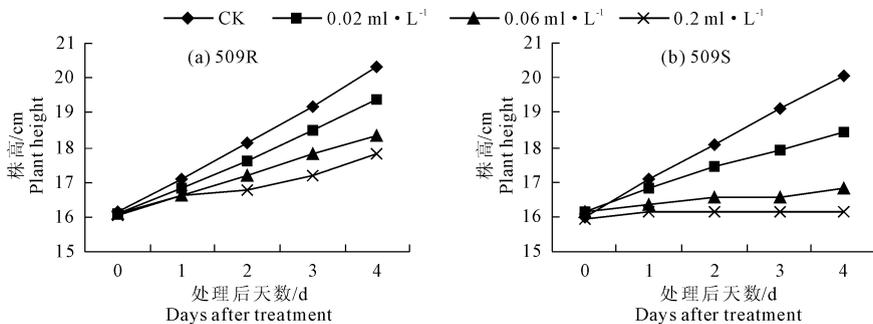


图 1 烟嘧磺隆处理对不同抗性近等基因系株高的影响

Fig. 1 Influences of different concentrations of nicosulfuron on plant height of waxy corn inbred lines

2.3 不同浓度烟嘧磺隆对叶绿素含量的影响

图 2 表明,各浓度处理均使沈糯 509R 和沈糯 509S 的叶绿素含量大幅度下降:沈糯 509R,在处理后的 1 天,叶绿素含量均显著低于对照,降低幅度为 16.74% ~ 31.63% ($P < 0.01$)。第 2 天,比对照降低 22.39% ~ 49.75% ($P < 0.01$)。第 3 天降至最低,分

别比对照低 63.51%、79.73% 和 81.53% ($P < 0.01$);第 4 天与第 3 天相差不大。沈糯 509S,处理后的第 1 天,各处理的叶绿素含量变化不大;第 2、3 天,所有处理的叶绿素含量都比对照大幅度减少,减少幅度为 40% ~ 90% 左右 ($P < 0.01$)。第 4 天,所有处理的叶绿素含量均比对照低 90% 以上,幼苗均出现萎蔫、叶片下垂,叶片和叶鞘变紫,接近死亡。

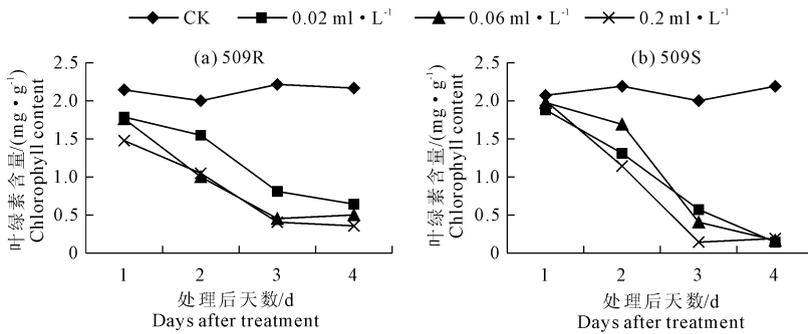


图2 烟嘧磺隆处理对不同抗性近等基因系叶绿素含量的影响

Fig.2 Influences of different concentrations of nicosulfuron on chlorophyll content of waxy corn inbred lines

2.4 不同浓度烟嘧磺隆对玉米幼苗保护性酶活性的影响

2.4.1 对 SOD 酶活性的影响 超氧化物歧化酶 (SOD) 可以催化超氧自由基的歧化反应, 通过对它的清除而对生物机体起到保护作用。近几年的研究表明, 它与高等植物的抗逆性和植株的衰老有密切关系^[5]。图 3 表明, 不同浓度烟嘧磺隆处理对幼苗 SOD 酶活性均有明显影响。除了最低处理与对照无

显著差别以外, 总的趋势是: 不同浓度的烟嘧磺隆均使 SOD 酶活性大幅度下降; 下降的幅度随着浓度的提高而增加; 抗性不同的品系随浓度变化其变化趋势不同。抗系在处理后的第 1 天有小幅度增加, 第 2 天急剧下降, 之后下降变缓。而不抗系在处理后的第 1、第 2 天有小幅度下降, 此后急剧下降。其中 0.20 mL·L⁻¹ 处理在处理后的第 4 天下降幅度最大, 沈糯 509R 和沈糯 509S 分别比对照下降 78.13% 和 83.21%。

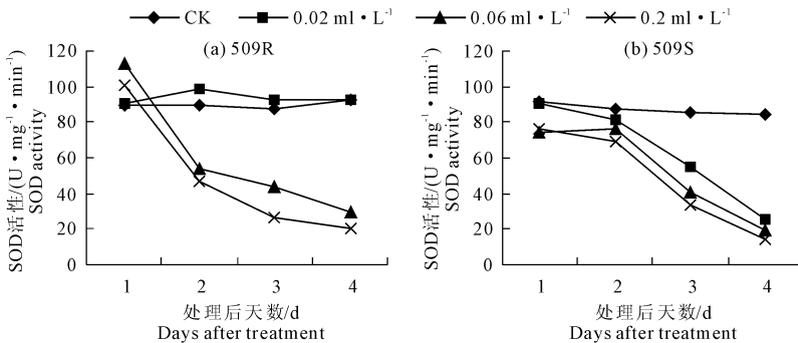


图3 烟嘧磺隆处理对不同抗性近等基因系 SOD 活性的影响

Fig.3 Influences of different concentrations of nicosulfuron on SOD activities of waxy corn inbred lines

2.4.2 对 POD 酶活性的影响 POD 是一种抗衰老、抗氧化酶, 能够清除植物体内产生的活性氧自由基, 防止膜脂质过氧化对细胞膜的破坏作用^[6]。图 4 表明, 处理后, 沈糯 509R 和沈糯 509S 的 POD 酶活性均发生明显变化: 两个品系在处理后的第 1 天 POD 活性都有提高, 但 509R 提高幅度较大。不同浓度间比较, 浓度越高活性越大; 沈糯 509R 在两个高浓度处理下, 处理后第 2 天大幅度上升, 此后直线下降。低浓度处理的则是在第 3 天大幅度上升 ($P < 0.05$); 沈糯 509S 在高浓度下, POD 活性升高的时间推迟到第 3 天, 而低浓度处理的推迟到第 4 天。可见, 相比之下抗系沈糯 509R 的反应比较快, 而 509S 比较迟。其中 0.20 mL·L⁻¹ 处理的 509R 在处理后的第 2 天和沈糯 509S 在处理后的第 3 天升至最高, 分别比对照提高 52.71% 和 68.80%。

2.5 对玉米幼苗丙二醛含量的影响

在逆境胁迫下或植物器官衰老时, 植物体内膜脂发生过氧化作用, 因此形成代谢产物丙二醛, 丙二醛含量可反映植物的受伤害程度^[7]。由图 5 可见, 抗与不抗系在不同浓度烟嘧磺隆处理下, 丙二醛含量均明显提高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。总的趋势是: 丙二醛含量随着处理浓度增加而提高, 但抗与不抗系的增加幅度有所不同, 沈糯 509S 的增加幅度相对较小; 两个品系在丙二醛含量变化趋势上明显不同, 抗系在处理后的第 1 天增加幅度较大, 但之后增加缓慢。而不抗系在处理后的第 1 天增加幅度较小, 却在第 2、第 3 天剧增。其中 0.20 mL·L⁻¹ 处理在处理后的第 4 天升至最高, 沈糯 509R 和沈糯 509S 分别比对照提高 104.95% 和 89.04%。

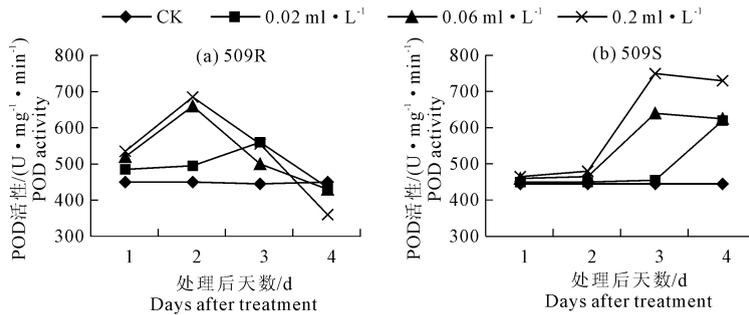


图 4 烟嘧磺隆处理对不同抗性近等基因系 POD 活性的影响

Fig. 4 Influences of different concentrations of nicosulfuron on POD activities of waxy corn inbred lines

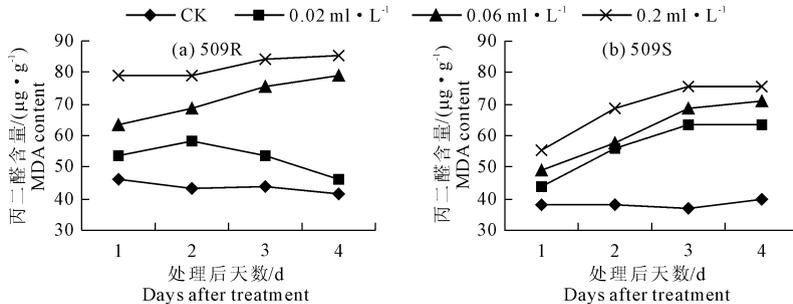


图 5 烟嘧磺隆处理对不同抗性近等基因系丙二醛含量的影响

Fig. 5 Influences of different concentrations of nicosulfuron on MDA content of waxy corn inbred lines

3 结论与讨论

综合上述研究结果,两个不同抗性的近等基因系在烟嘧磺隆水培液处理下,植株表现均有不同程度的伤害,其中抗系沈糯 509R 在较低浓度下发生伤害后可恢复生长,但浓度过高则导致死亡。而不抗系沈糯 509S 无论处理液浓度高低均产生不可逆的伤害,叶鞘变紫、萎蔫、植株停止生长,最终死亡。

对相关酶的测定结果表明,两个近等基因系水培苗对烟嘧磺隆均反应明显。总的趋势是随着浓度的增加而反应加剧,抗系反应较轻而不抗系反应强烈,抗系与不抗系对烟嘧磺隆反应的快慢和变化趋势存在明显差异。

两个品系在不同浓度烟嘧磺隆下,幼苗 SOD 酶活性均大幅度下降,且随着浓度的提高而加大。不同抗性的品系间差异明显,抗系在处理第 2 天急剧下降,之后逐渐恢复,而不抗系在处理第 1、2 天有小幅下降,此后急剧下降;POD 有相似变化,但抗系沈糯 509R 只在高浓度下处理后第 2 天产生升高反应,之后迅速下降到正常,而不抗系沈糯 509S 的反应时间较晚,但第 3 天之后 SOD 急剧上升,直至死亡;丙二醛的含量同样因烟嘧磺隆的伤害而增加,但因品系抗性不同而不同。沈糯 509R 的丙二醛含量随烟嘧磺隆浓度增加而相应升高,而沈糯 509S 在不同浓度下均发生大幅度升高。该结果与沈阳农业大学李致闻、史振声等在田间处理的研究结果相

一致^[8]。

本试验证明,采用烟嘧磺隆水培液对自交系进行抗性鉴定,无论以外观指标还是以生理指标都可得到准确的鉴定结果。水培沈糯 509 到三叶期时,将其放入含有 $0.02 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 的烟嘧磺隆培养液中,第 4 天检测其 SOD、POD 活性或者其丙二醛的含量,可区分其抗感性。在糯玉米育种中,若作为通用方法,需对最佳处理浓度、处理时间以及哪些生理指标作为最佳选择,还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 雷晓天,张剑伟,郭志刚,等.不同玉米品种对烟嘧磺隆敏感性及其施药方法[J].农药,2008,47(7):540-541.
- [2] 董晓雯,王金信,毕建杰,等.不同玉米品种对烟嘧磺隆的敏感性差异[J].植物保护学报,2007,34(2):182-186.
- [3] 史振声,胡海军,李致闻,等.用近等位基因系进行糯玉米抗烟嘧磺隆的基因定位[C]//2012年全国玉米遗传育种学术研讨会暨新品种展示观摩会论文集及摘要集,中国作物协会,2012:342-346.
- [4] 洪翠萍,韩帅,张彦军,等.玉米烟嘧磺隆敏感基因的遗传分析及基因定位[J].华北农学报,2012,(4):149-152.
- [5] 吴进才,刘井兰,沈迎春,等.农药对不同水稻品种 SOD 活性的影响[J].中国农业科学,2002,35(4):451-456.
- [6] 李得孝,崔黎艳,陈耀锋.渗透胁迫对玉米幼苗叶片叶绿素含量及 POD 活性的影响[J].干旱地区农业研究,2007,25(1):140-142,148.
- [7] 冯绪猛,罗时石,胡建伟,等.农药对水稻叶片丙二醛及叶绿素含量的影响[J].核农学报,2003,17(6):481-484.
- [8] 史振声,李致闻,吕香玲,等.甜糯玉米对烟嘧磺隆除草剂抗性的遗传分析与基因发掘[J].玉米科学,2012,20(4):131-134,138.