

低温胁迫下不同玉米自交系对外源甜菜碱的生理响应

赵小强,方鹏,彭云玲,张金文

(甘肃省干旱生境作物学重点实验室/甘肃农业大学农学院,甘肃兰州730070)

摘要:为了探究外源甜菜碱(GB)提高玉米萌发期和苗期耐寒性的响应机制及比较外源GB对不同玉米时期低温伤害的缓解效果,采用不同浓度外源GB处理耐寒性不同的6份玉米自交系,研究10℃低温胁迫下外源GB对玉米种子萌发及幼苗生理特性的影响。结果表明,低温胁迫能明显抑制玉米种子萌发,其平均发芽势、发芽率、胚芽长、胚根长、胚芽鲜重和胚根鲜重分别降低了55.2%、45.4%、64.6%、61.3%、57.7%和71.0%;幼苗叶片明显受到伤害,其平均相对电导率、丙二醛含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、SOD活性、POD活性和CAT活性分别升高了282.7%、150.1%、140.6%、124.7%、374.4%、209.7%和211.3%。萌发期和苗期分别添加20 μmol·L⁻¹和10 μmol·L⁻¹外源GB对低温胁迫下玉米的缓解效果最佳,其能明显促进玉米种子萌发及减轻幼苗生理伤害,除相对电导率(42.4%)和丙二醛含量(30.5%)显著降低外,脯氨酸、可溶性糖含量及抗氧化酶活性均显著升高(12.6%~324.9%)。在此最佳低温缓解外源GB浓度下,以萌发和幼苗生理性状的低温缓解指数作为低温缓解评价指标,采用隶属函数法综合评价两时期不同自交系的低温缓解效果,发现萌发期外源GB对玉米的缓解效果(0.585)优于苗期(0.454)。

关键词:玉米自交系;低温胁迫;外源甜菜碱;萌发期;苗期;生理响应

中图分类号:S513;Q945.78 **文献标志码:**A

Physiological response of different maize inbred lines to exogenous GB under low-temperature stress

ZHAO Xiaoqiang, FANG Peng, PENG Yunling, ZHANG Jinwen

(Gansu Provincial Key Laboratory of Aridland Crop Science/College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: To explore the response mechanism of exogenous glycine betaine (GB) on improving the cold resistance in maize and to compare the cold mitigation effect of exogenous GB at germination and seedling stages, six different maize inbred lines were conducted under different concentrations of exogenous GB, and the effects of exogenous GB on seed germination and seedling physiological trait across 10℃ low temperature stress were analysed. It showed that maize seeds germinations were significantly inhibited and the seedlings were clearly hurt under low temperature stress, thus, the germination potential, germination rate, plumula length, radical length, shoot fresh weight and root fresh weight were decreased 55.2%, 45.4%, 64.6%, 61.3%, 57.7%, and 71.0%, respectively, and relative conductivity, malondiadehyde content, proline content, soluble sugar content, SOD activity, POD activity and CAT activity were increased 282.7%, 150.1%, 140.6%, 124.7%, 374.4%, 209.7%, and 211.3%, respectively. 20 μmol·L⁻¹ and 10 μmol·L⁻¹ GB had the largest cold mitigation effect at germination and seedling stages, respectively, which increased seed germination and decreased seedling physiological injury, excluding relative conductivity (42.4%) and malondiadehyde content (30.5%) were significant decreased, the content of proline, soluble suger and the activity of antioxidant enzyme were significantly increased(12.6%~324.9%). Under the

收稿日期:2019-07-16

修回日期:2019-11-02

基金项目:甘肃农业大学科技创新基金-公招博士科研启动基金(GAU-KYQD-2019-19);甘肃农业大学甘肃省干旱生境作物学重点实验室开放基金(GSCS-2019-8);甘肃省高等学校创新能力提升项目(2019A-052);兰州青绿仪器技术有限公司横向项目(WT20191025)

作者简介:赵小强(1990-),男,副教授,主要从事现代生物技术及其在作物遗传育种中的应用研究。E-mail: zhaoxq3324@163.com

通信作者:彭云玲(1978-),女,教授,主要从事玉米抗逆生理及分子生物学研究。E-mail: pengyunlingpyl@163.com

optimal exogenous GB concentration, the GB cold ease index (EI) of corresponding traits as evaluation indexes, then using the membership function method to comprehensively evaluate cold mitigation effect of different inbred lines at two stages, and the cold mitigation effect of exogenous GB at germination stage (0.585) that were better than seedling stage (0.454).

Keywords: maize inbred line; low-temperature stress; exogenous GB; germination stage; seedling stage; physiological response

低温冷害是导致我国粮食产量波动的重要限制因素之一,其具有大尺度性、综合性及地理区域差异性。玉米(*Zea mays* L.)是集粮食、饲料、工业用途为一体的多功能作物,在保障国计民生中发挥着重要作用。由于玉米起源于热带、亚热带,是一种喜温、短日照 C₄作物,生育期内对温度要求较高,遇低温冷害时易受到伤害^[1-2]。萌发期遇到 10℃ 以下低温时,玉米种子的发芽势、发芽率、种子活力明显降低;5℃ 以下低温时玉米种子不能发芽,且易感染病害而引发烂种^[3-5]。苗期遇到 10℃ 以下低温时玉米幼苗生长明显受到抑制,生理代谢紊乱;6~8℃ 低温时幼苗停止生长;更低温度时玉米幼苗细胞和组织产生不可逆的伤害,幼苗死亡^[6-7]。花期遇到 18℃ 以下低温时抑制玉米开花^[8]。灌浆期遇到 20℃ 以下低温时灌浆速度明显减缓;16℃ 以下低温时则明显影响玉米淀粉酶活性而抑制碳水化合物的运输与累积,进而导致减产^[9];收获到脱粒前玉米种子含水量一般高于 30%,这时极易发生 0℃ 以下低温致使种子活力丧失^[5]。其中萌发期和苗期玉米对低温冷害最为敏感,因而,深入研究低温冷害对玉米萌发及幼苗的伤害机理,探索玉米耐寒性响应机制,筛选、鉴定、创制耐寒种质资源及寻找提高玉米耐寒性的有效方法一直是学者关注的热点。

马彦华等^[3]在 2℃ 低温培养 6 d 后用存活率鉴定了 36 份玉米自交系的耐寒性强弱,筛选出 7 份强耐寒性自交系,并发现来自俄罗斯的自交系芽苗期耐寒性显著强于其他地区的材料。彭云玲等^[10]在 6、10、15℃ 和 25℃ 培养下用发芽率、胚芽长、胚根长、根数等综合评价了 44 份玉米自交系的耐寒性强弱,并筛选出 3 份强耐寒性自交系,为今后玉米耐寒种质筛选、鉴定与利用提供了可靠的技术支撑和材料。另外,学者一直在寻求增强植物耐寒性的简单、高效方法,而外源调节物质符合这一要求,主要包括渗透调节物质^[11-12]、植物生长调节剂^[6,13]、信号分子^[6,14-15]、营养元素^[16]等,因其具有抗逆性广、用量小、见效快、效益高等特点,同时又能促进植物的生长发育,是发展可持续农业的一项重要技术,因此该技术已被广泛应用到逆境胁迫下多种植物

的安全生产实践中。

甜菜碱(GB)是一类重要的渗透调节物质,广泛存在于动物、植物及微生物体内。研究表明当植物受到逆境(低温、高温、干旱、盐渍、重金属离子、水涝等)胁迫时,外源 GB 可参与植物细胞的渗透调节、稳定膜和蛋白等亚细胞结构及清除活性氧,进而能够有效地保护细胞抵御逆境胁迫造成的伤害^[17-21]。然而目前外源 GB 对玉米低温冷害的缓解效果及其在提高玉米耐寒性的响应机理等方面的研究罕见报道,为此,本研究以课题组前期筛选、鉴定的 3 份寒敏感和 3 份耐寒性玉米自交系为试材,在 10℃ 低温胁迫下于萌发期和苗期添加外源 GB 后,研究其对低温胁迫下不同基因型自交系种子萌发和幼苗的影响,揭示玉米耐寒性响应机理,并综合评价外源 GB 对不同基因型自交系的调节效果,以为外源 GB 在改善低温逆境下玉米生长发育及生产提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

试验于 2016 年 3—10 月在甘肃农业大学进行。供试材料为本课题组在 2014—2015 年间筛选、鉴定的 3 份寒敏感玉米自交系 H105W、K22、B68 和 3 份耐寒性自交系 ND246、Va35-2、Va102^[10]。

1.2 试验方法

1.2.1 种子预处理 选择饱满、均匀一致的玉米种子,先用 0.5% 的 NaClO 消毒 10 min 后用双蒸水冲洗 3 次,且用灭菌滤纸吸干附着水,再分别以 5 种不同相应浓度的 GB 溶液及双蒸水常温 25℃ 浸种 24 h,以备试验所需。5 种 GB 溶液浓度分别为:T1(10 μmol · L⁻¹),T2(20 μmol · L⁻¹),T3(30 μmol · L⁻¹),T4(40 μmol · L⁻¹),T5(50 μmol · L⁻¹)。

1.2.2 低温萌发试验 将 T1~T5 溶液浸种后的 3 份寒敏感自交系种子各 30 粒,分别置于消毒发芽盒中,双层灭菌滤纸作发芽床,并加入相应浓度的 GB 溶液,将其置于气候培养箱中于(10±1)℃ 和(25±1)℃ 先后暗培养各 7 d,以双蒸水浸种并用其培养的种子作为对照处理,其中(25±1)℃ 气候培养箱中

暗培养 14 d 的种子作为正向对照 CK(+), (10 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 和 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 气候培养箱中先后暗培养各 7 d 的种子作为负向对照 CK(-), 各处理 3 次重复。气候培养箱相对湿度 60%~80%, 培养期间每 2 d 补一次对应浓度溶液各 15 mL, 待种子暗培养第 10 d 时统计发芽势, 第 14 d 统计发芽率, 并测量其他萌发性状。参照赵小强等^[12]方法, 于萌发期筛选出外源 GB 的最佳低温缓解浓度。再按上述方法分别在 CK(+)、CK(-) 及最佳低温缓解浓度外源 GB 处理下培养 6 份自交系并测定各萌发性状。

1.2.3 幼苗生长试验 先将灭菌蛭石与双蒸水按 5 g : 1 mL 比例均匀混合, 再将 T1~T5 溶液及双蒸水浸种后的 3 份寒敏感自交系种子各 30 粒, 分别播于装有灭菌蛭石的营养钵中。将其置于昼/夜温度为 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ / (20 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 气候培养箱中培养, 待双蒸水浸种的种子长至三叶一心时, 用双蒸水快速洗掉幼苗根部蛭石, 并用滤纸吸干附着水, 再将幼苗分别置于 300 mL 相应浓度的 GB 溶液中, 并置于昼/夜温度为 (10 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ / (6 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 气候培养箱中继续培养 7 d 作为试验处理。以双蒸水浸种并用其培养的幼苗作为对照处理, 其中以昼/夜温度为 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ / (20 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 气候培养箱中继续培养 7 d 的幼苗作为正向对照 CK(+), 昼/夜温度为 (10 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ / (6 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 气候培养箱中继续培养 7 d 的幼苗作为负向对照 CK(-)。幼苗培养期间每天光照 12 h, 光照强度 $600 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 相对湿度 60%~80%。3 次重复, 每一处理下测定幼苗第 3 片叶的各生理性状。参照赵小强等^[12]方法, 苗期筛选出外源 GB 的最佳低温缓解浓度, 再按上述方法分别在 CK(+)、CK(-) 及最佳低温缓解浓度外源 GB 处理下培养 6 份自交系并测定幼苗叶片各生理性状。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 玉米生长与生理性状测定 玉米发芽势及发芽率按以下公式计算:

$$\text{发芽势}^{[22]} = 10 \text{ d 内正常发芽种子总数} / \text{供试种子总数} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{发芽率}^{[22]} = 14 \text{ d 内正常发芽种子总数} / \text{供试种子总数} \times 100\% \quad (2)$$

各处理取长势一致的种子 10 粒, 测定胚芽长、胚根长、胚芽鲜重、胚根鲜重; 苗期各处理取长势一致的幼苗 3 株, 测定第 3 片叶的相对电导率 (RC)^[12]、丙二醛 (MDA) 含量^[12]、脯氨酸 (Pro) 含量^[21]、可溶性糖 (SS) 含量^[22]、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性^[21-22]、过氧化物酶 (POD) 活性^[21-22]、过氧化氢酶 (CAT) 活性^[21-22]。

1.3.2 单个性状的外源调节物质低温缓解指数 借鉴赵小强等^[12]方法计算各性状的外源 GB 低温缓解指数 (ease index, EI) 为:

$$EI_{iT_n} = \frac{X_{T_n} - X_{\text{CK}(-)}}{|X_{\text{CK}(+)} - X_{\text{CK}(-)}|} \quad (3)$$

或

$$EI_{iT_n} = \frac{X_{\text{CK}(-)} - X_{T_n}}{|X_{\text{CK}(+)} - X_{\text{CK}(-)}|} \quad (4)$$

式中, EI_{iT_n} 为第 i 个性状第 T_n 种浓度下的外源调节物质低温缓解指数; X_{T_n} 为第 T_n 种浓度下相应性状测定值; $X_{\text{CK}(+)}$ 为 CK(+) 处理下的测定值; $X_{\text{CK}(-)}$ 为 CK(-) 处理下的测定值。若测定性状与耐寒性正相关, 则用(3)式, 反之用(4)式。EI 为正值表示相应浓度的外源 GB 对低温胁迫起正向缓解作用, 负值表示相应浓度外源 GB 对低温胁迫起负向缓解作用。

1.3.3 外源调节物质低温缓解能力综合评价 以各测定性状的 EI 作为低温缓解评价指标, 采用隶属函数法综合评价外源 GB 的低温缓解效果^[12] 为:

$$U_{iT_n} = \frac{EI_{iT_n} - EI_{\min}}{EI_{\max} - EI_{\min}} \quad (5)$$

或

$$U_{iT_n} = 1 - \frac{EI_{iT_n} - EI_{\min}}{EI_{\max} - EI_{\min}} \quad (6)$$

式中, U_{iT_n} 为第 i 个性状第 T_n 种浓度下的外源 GB 低温缓解隶属值, EI_{\max} 为第 i 个性状第 n 种浓度下的最大 EI, EI_{\min} 为第 i 个性状第 n 种浓度下的最小 EI。若 EI 与外源 GB 的缓解效果正相关, 则用(5)式, 反之用(6)式, 累加各隶属值并求均值, 均值越大, 外源 GB 的低温缓解效果越好。

1.4 数据统计分析

试验数据均采用 Microsoft Excel 2016 进行处理和绘图, 采用 IBM SPSS 19.0 进行 Duncan 多重比较方差分析。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下外源 GB 的最佳低温缓解浓度筛选

以 3 份寒敏感自交系为试材, 萌发期和苗期分别测定各处理下的 6 个萌发性状及 7 个幼苗生理性状, 然后计算出各性状的 EI 并将其作为外源 GB 低温缓解综合评价指标, 再采用隶属函数法综合评价不同外源 GB 的低温缓解效果。由表 1 可知, 萌发期和苗期低温胁迫下, 随外源 GB 浓度的增大其低温缓解效果呈先增后减的趋势, 其中萌发期外源 GB 的最佳低温缓解浓度为 T2 ($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 苗期外源 GB 的最佳低温缓解浓度为 T1 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

2.2 外源 GB 处理下玉米自交系萌发和幼苗生理相关性状的差异分析

表 2 和表 3 可知,在 CK(+)、CK(-)及最佳低温缓解浓度外源 GB 处理下培养了 3 份寒敏感自交系和 3 份耐寒性自交系,萌发及幼苗相关性状方差分析显示,6 个萌发性状和 7 个幼苗生理性状在自交系间、在外源 GB 浓度间、在其互作间差异均显著 ($P<0.01$);且低温胁迫下外源 GB 浓度对这 13 个性状的影响最大,自交系对这 13 个性状的影响次之,其互作间对这 13 个性状的影响最小,且 F 值依次减小。说明萌发期和苗期低温胁迫下,不同玉米基因型间、外源 GB 浓度间及其互作间均能显著影响玉米种子萌发和幼苗生理特性,但外源 GB 对玉米种子萌发和幼苗生理特性的影响远远大于自交系本身及其互作间的影响,因此,较耐寒性玉米而言,生产实践中施加外源 GB 能更有效地改善低温胁迫对玉米种子的萌发和幼苗的生理伤害。

2.3 外源 GB 处理对玉米自交系种子萌发相关性状的影响

不同基因型自交系种子萌发对低温胁迫的敏感程度不同($P<0.05$)。CK(-)处理下,6 份自交系的 6 个萌发性状都显著降低,但与耐寒性自交系相比,寒敏感自交系 6 个萌发性状的变化更加明显(图 1),说明低温胁迫能显著抑制玉米种子萌发,但低温胁迫对耐寒性玉米种子萌发的抑制效应显著低于寒敏感玉米。低温胁迫下添加最佳浓度 T2($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)外源 GB 将有效地促进玉米种子萌发($P<0.05$)。且 3 份寒敏感自交系的 6 个萌发性状分别是 CK(-)处理的 6.3、1.9、2.7、1.3、1.1 和 2.8 倍,而 3 份耐寒性自交系的 6 个萌发性状分别是 CK(-)处理的 1.1、1.4、2.4、1.3、2.0 和 2.2 倍(图 1)。说明低温胁迫下,添加最佳浓度外源 GB 后玉米 6 个萌发性状的改善效果不同,整体而言,寒敏感玉米的 6 个萌发性状比耐寒性玉米的改善效果更强。

表 1 低温胁迫下外源 GB 的低温缓解效果综合评价

Table 1 Mitigation effect comprehensive evaluation of exogenous GB under low temperature stress

浓度 Concentration	隶属值(萌发期) Membership value (Germination)			总得分 Total score	隶属值(苗期) Membership value (Seedling)			总得分 Total score
	H105W	K22	B68		H105W	K22	B68	
T1	0.530	0.559	0.558	0.549ab	0.531	0.499	0.468	0.500a
T2	0.558	0.622	0.762	0.647a	0.622	0.407	0.345	0.458a
T3	0.345	0.456	0.567	0.456b	0.645	0.432	0.330	0.469a
T4	0.167	0.238	0.289	0.231c	0.373	0.266	0.226	0.289b
T5	0.031	0.010	0.025	0.022d	0.460	0.330	0.202	0.331b

注:同列不同小写字母分别表示 $P<0.05$ 水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference at $P<0.05$ level. The same as below.

表 2 外源 GB 处理下玉米自交系种子萌发性状的方差分析 (F 值)

Table 2 Variance analysis of germination traits for maize inbred lines under exogenous GB treatments (F value)

变异来源 Variance source	发芽势 GP	发芽率 GR	胚芽长 PL	胚根长 RL	胚芽鲜重 SFW	胚根鲜重 RFW
自交系 Inbred line (IL)	90.36 **	132.25 **	413.92 **	185.86 **	4359.83 **	416.30 **
处理 Treatment (T)	690.36 **	971.32 **	1519.10 **	1563.27 **	6260.37 **	3281.23 **
自交系×处理 IL×T	36.52 **	29.66 **	21.70 **	25.50 **	411.15 **	67.18 **

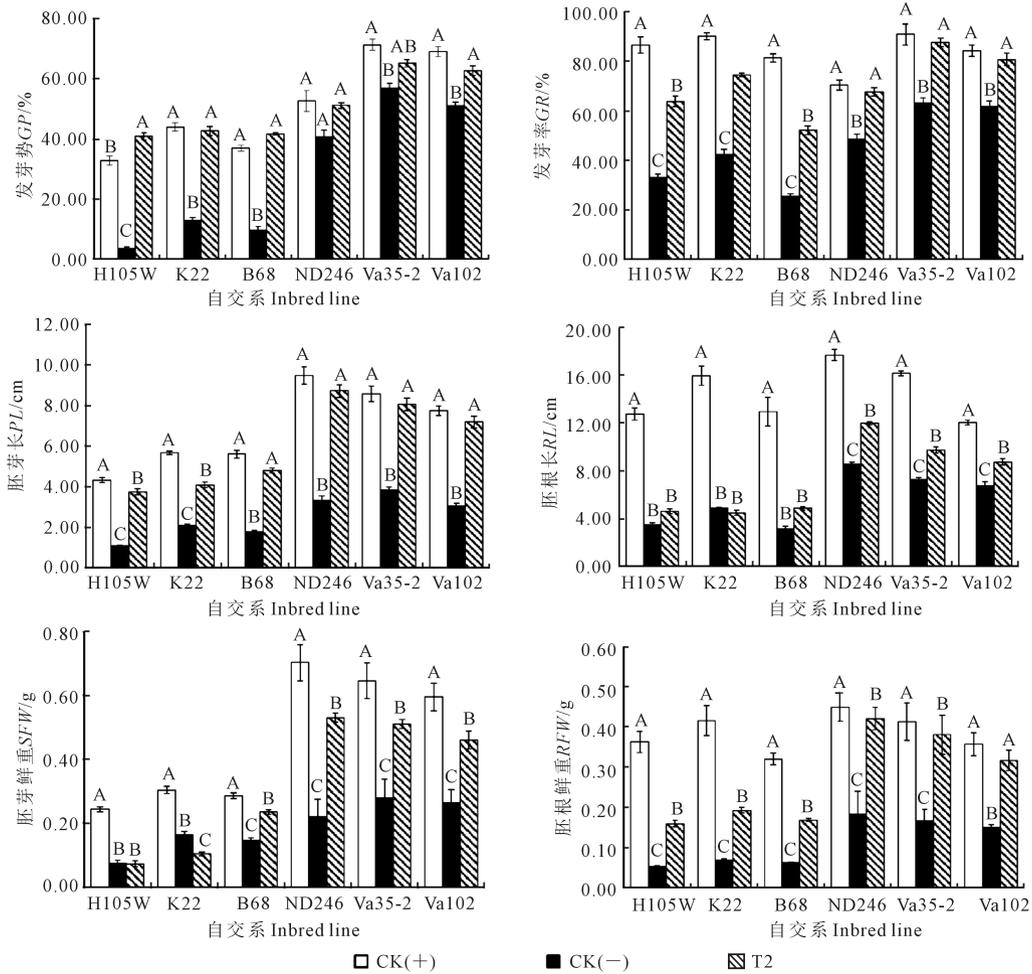
注: ** 表示 $P<0.01$ 水平差异显著。下同。

Note: ** indicated significant difference at $P<0.01$ level. The same as below. GP : Germination potential; GR : Germination rate; PL : Plumule length; RL : Radicle length; SFW : Shoot fresh weight; RFW : Root fresh weight.

表 3 外源 GB 处理下玉米自交系幼苗性状的方差分析 (F 值)

Table 3 Variance analysis of maize seedling traits for inbred lines under exogenous GB treatments (F value)

变异来源 Variance source	相对电导率 RC	丙二醛含量 MDA content	脯氨酸含量 Pro content	可溶性糖含量 SS content	SOD 活性 SOD activity	POD 活性 POD activity	CAT 活性 CAT activity
自交系 IL	533.48 **	535.44 **	56.69 **	56.12 **	110.94 **	20.50 **	206.04 **
处理 T	1560.75 **	4776.52 **	1590.80 **	1935.46 **	4057.01 **	2505.07 **	1854.11 **
自交系×处理 IL×T	211.92 **	157.08 **	15.88 **	12.79 **	29.59 **	3.72 **	38.19 **



注:不同大写字母表示同一自交系不同处理下 $P < 0.01$ 水平差异显著。下同。

Note: Different capital letters in the same inbred line indicated significant difference at $P < 0.01$ level. The same below.

图1 低温胁迫下添加最佳浓度外源 GB 后对玉米自交系种子萌发的影响

Fig.1 Effects of the optimal exogenous GB on maize seed germination for inbred lines under low temperature stress

2.4 不同处理对玉米自交系幼苗生理相关性状的影响

不同基因型自交系幼苗遭受低温伤害时,其体内一系列生理代谢发生紊乱,幼苗明显受到伤害($P < 0.05$)。CK(-)处理下6份自交系的7个幼苗生理性状都显著升高,但与耐寒性自交系相比,寒敏感自交系7个幼苗生理性状的变化更加明显(图2)。说明低温胁迫时玉米幼苗明显受到伤害,但耐寒性玉米幼苗受伤害程度明显小于寒敏感玉米。低温胁迫下添加最佳浓度 T1 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 外源 GB 将有效地改善玉米幼苗受到的生理伤害,但不同自交系间差异显著($P < 0.05$)。且3份寒敏感自交系的7个生理性状分别是 CK(-) 处理的 0.4、0.6、1.2、1.3、1.0、1.3 和 1.5 倍,而3份耐寒性自交系的7个生理性状分别是 CK(-) 处理的 0.8、0.8、1.2、1.2、1.2、1.3 和 1.6 倍(图2)。说明低温胁迫下,添加最佳浓度外源 GB 后玉米7个幼苗生理特性的改善效果不

同,整体而言,寒敏感玉米的7个生理性状比耐寒性玉米的改善效果更强。

2.5 低温胁迫下添加最佳浓度外源 GB 后玉米自交系相关性状的低温缓解指数分析

由表4可知,萌发期低温胁迫下,添加最佳浓度 T2 ($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 外源 GB 对不同自交系6个萌发性状的缓解方向和大小存在差异,其 EI 不尽相同($P < 0.05$)。且低温胁迫下,添加 T2 外源 GB 后6份自交系各萌发性状 EI 的变异系数介于 15.75% ~ 132.25% 之间。

由表5可知,苗期低温胁迫处理下,添加最佳浓度 T1 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 外源 GB 对不同自交系7个幼苗生理性状的缓解方向和大小存在差异,其 EI 不尽相同($P < 0.05$)。且低温胁迫下,添加 T1 外源 GB 后6份自交系各幼苗生理性状 EI 的变异系数介于 14.51% ~ 95.40% 之间。

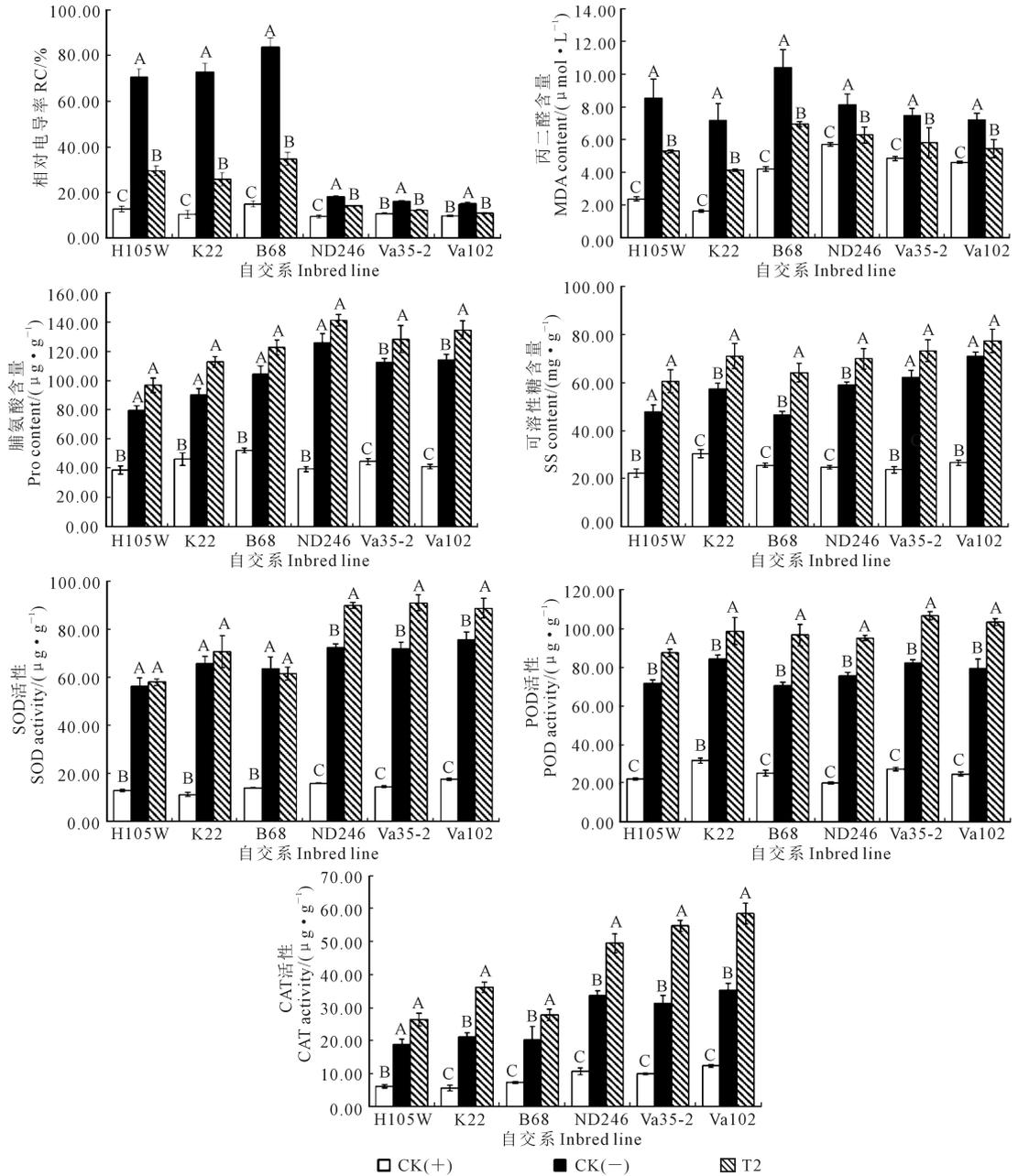


图 2 低温胁迫下添加最佳浓度外源 GB 后对玉米自交系幼苗生理性状的影响

Fig.2 Effects of the optimal exogenous GB on maize seedling physiological traits for inbred lines under low temperature stress

表 4 低温胁迫下添加最佳外源 GB 后不同玉米自交系种子萌发性状的低温缓解指数 (EI)

Table 4 Optimal exogenous GB ease index (EI) of germination traits in different maize inbred lines under low temperature stress

自交系 Inbred line	发芽势 GP	发芽率 GR	胚芽长 PL	胚根长 RL	胚芽鲜重 SFW	胚根鲜重 RFW
H105W	1.276a	0.574cd	0.825a	0.119bc	-0.012b	0.346b
K22	0.957b	0.675bc	0.558b	-0.038c	-0.425c	0.355b
B68	1.174a	0.477d	0.790a	0.177b	0.633a	0.411b
ND246	0.882b	0.876a	0.877a	0.374a	0.644a	0.893a
Va35-2	0.575c	0.879a	0.891a	0.279ab	0.629a	0.868a
Va102	0.652c	0.844ab	0.882a	0.377a	0.597a	0.801a
平均值 Mean	0.919	0.721	0.804	0.215	0.344	0.612
变异系数 CV/%	30.18	23.82	15.75	75.20	132.25	43.66

2.6 低温胁迫下添加最佳浓度外源 GB 后玉米自交系低温缓解效果综合评价

低温胁迫下,以萌发、幼苗相关性状 *EI* 作为外源 GB 低温缓解评价指标,采用隶属函数法综合评价 6 份自交系的外源 GB 低温缓解效果。由表 6 可知,低温胁迫下,萌发期 T2 ($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 浓度外源 GB 的平均低温综合缓解隶属值为 0.585,变异系数为 44.22%,其在自交系间差异显著 ($P < 0.05$),且耐寒性自交系 ND246 的外源 GB 低温缓解效果最佳,其隶属值为 0.866;寒敏感自交系 K22 的外源 GB 低温缓解效果最小,其隶属值为 0.175。苗期低温胁迫下,T1 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 浓度外源 GB 的平均低温综合缓解效果其隶属值为 0.454,变异系数为 14.71%,其在自交系间差异显著 ($P < 0.05$),且耐寒性自交系 Va35-2 的外源 GB 低温缓解效果最佳,其隶属值为 0.523,耐寒性自交系 ND246 的外源 GB 低温缓解效果最小,其隶属值为 0.383。

3 讨论与结论

从播种到幼苗形态建成是玉米最容易遭受低温冷害的关键时期,萌发期遭受低温冷害时玉米种子活力下降,发芽势、发芽率降低,导致出苗差甚至引起烂种等现象,而苗期遭受低温冷害时,玉米幼苗生理代谢紊乱,长势变弱甚至出现死苗现象^[3-7]。本试验研究表明,萌发期遭受 10°C 低温冷害时明显抑制玉米种子萌发,因而其发芽势、发芽率、胚芽

长、胚根长、胚芽鲜重、胚根鲜重均显著降低,而苗期遭受 10°C 低温冷害时玉米幼苗受到一定伤害,导致叶片的膜脂过氧化程度、细胞渗透调节能力及活性氧清除能力均显著增强,因而其相对电导率、丙二醛含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、SOD、POD、CAT 活性均显著升高,且与 3 份寒敏感自交系相比,低温胁迫下 3 份耐寒性自交系萌发较好,幼苗伤害较轻,抗寒性较强。因此,倒春寒和寒潮易发生的玉米种植区应积极推广耐寒性较强的玉米品种。

植物遭受逆境胁迫时,外源 GB 可作为渗透调节物质参与植物细胞的渗透调节,亦可作为渗透保护物质进而提高植物的抗逆性^[17-22]。基于上述考虑,本试验在 10°C 低温胁迫下,利用 3 份寒敏感自交系玉米种子在萌发期和苗期分别筛选出最佳外源 GB 低温缓解浓度为 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,并在萌发期和苗期分别探索了最佳浓度外源 GB 对不同基因型玉米种子萌发及幼苗生理伤害的缓解机理与效果。结果表明,低温胁迫下添加最佳浓度外源 GB 后会显著增强玉米种子活力,其发芽势、发芽率、胚芽长、胚根长、胚芽鲜重和胚根鲜重显著升高,而其在不同自交系间的升高程度不同。整体而言,添加最佳浓度外源 GB 后对寒敏感自交系 6 个萌发性状的缓解效果明显大于耐寒性自交系。低温胁迫下添加最佳浓度外源 GB 后对玉米幼苗的伤害具有显著的缓解效果,其相对电导率和丙二醛含量显著降低,而脯氨酸含量、可溶性糖含量、

表 5 低温胁迫下添加最佳外源 GB 后不同玉米自交系幼苗性状的低温缓解指数 (*EI*)

Table 5 Optimal exogenous GB ease index (*EI*) of seedling traits in different maize inbred lines under low temperature stress

自交系 Inbred line	相对电导率 RC	丙二醛含量 MDA content	脯氨酸含量 Pro content	可溶性糖含量 SS content	SOD 活性 SOD activity	POD 活性 POD activity	CAT 活性 CAT activity
H105W	0.711a	0.527b	0.423ab	0.503b	0.040c	0.323b	0.590b
K22	0.753a	0.551b	0.505a	0.515b	0.090c	0.274b	0.965a
B68	0.712a	0.555b	0.353b	0.839a	-0.040c	0.583a	0.567b
ND246	0.464b	0.757a	0.177d	0.325c	0.309a	0.355b	0.690b
Va35-2	0.710a	0.631a	0.233c	0.287c	0.334a	0.445a	1.107a
Va102	0.765a	0.680a	0.284c	0.144d	0.225b	0.440a	1.013a
平均值 Mean	0.686	0.617	0.329	0.436	0.160	0.403	0.822
变异系数 CV/%	16.22	14.51	37.14	55.58	95.40	27.36	28.50

表 6 低温胁迫下添加最佳外源 GB 后不同自交系的低温缓解效果综合评价

Table 6 Mitigation effect comprehensive evaluation of optimal exogenous GB under low temperature stress

生育时期 Growth stage	隶属值 Membership value						平均值 Mean
	H105W	K22	B68	ND246	Va35-2	Va102	
萌发期 Germination	0.442c	0.175d	0.507c	0.866a	0.752b	0.766b	0.585
苗期 Seedling	0.409ab	0.508a	0.513a	0.383b	0.523a	0.390b	0.454

注:同行不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same line indicated significant difference at $P < 0.05$ level.

SOD 活性、POD 活性和 CAT 活性显著升高,而其在不同自交系间的缓解能力不同。整体而言,添加最佳浓度外源 GB 后对寒敏感自交系 7 个幼苗生理性状的缓解效果明显大于耐寒性自交系。另外,本试验还表明,低温胁迫下玉米的 6 个萌发性状及幼苗 7 个生理性状在自交系间、在外源 GB 浓度间、在其互作间差异均显著,且 6 个萌发性状和 7 个幼苗生理性状在外源 GB 浓度间的差异(F 值)远远大于自交系间及其互作间的差异。说明生产实践中,较选育及推广耐寒性玉米品种相比,通过施加相应浓度的外源 GB 能更有效地改善低温胁迫下玉米种子萌发及幼苗生理代谢,进而提高玉米的耐低温能力。

为了比较低温胁迫下最佳浓度外源 GB 对玉米种子萌发和幼苗的低温缓解效果,以 6 个萌发性状和 7 个幼苗生理性状的外源 GB 低温缓解指数 EI 为低温缓解评价指标^[12],采用隶属函数法综合评价了最佳浓度外源 GB 对不同玉米的低温缓解效果。结果表明,低温胁迫下萌发期最佳浓度外源 GB 对玉米的低温缓解效果(0.585)优于苗期(0.454),这可能与玉米种子在吸胀萌发时对受损伤的细胞膜结构进行修复,对种子形成及萌发过程中产生的活性氧等各种有害物质的清除、生长活性物质的分解及玉米幼苗本身的逆境抵抗能力有关。Hoque 等^[18,23] 研究也表明,盐胁迫下添加外源 GB 后烟草主要通过提高 SOD、CAT 等活性进而减轻盐胁迫对烟草的不利影响。因此,当玉米萌发期和苗期遭遇低温冷害时,可选择相应浓度的外源 GB 来提高玉米的耐寒性,进而减轻低温冷害对玉米造成的损害。

参 考 文 献:

[1] 崔洪秋,任翠梅,谢贤,等.低温早播对玉米苗期生理指标和产量的影响[J].玉米科学, 2015,23(6):65-70.

[2] Hu S D, Lübberstedt T, Zhao G W, et al. QTL mapping of low-temperature germination ability in the maize IBM Syn4 RIL population[J]. PLoS One, 2016,11(3):e0152795.

[3] 马彦华,王庆祥,陈绍江,等.玉米耐寒性鉴定研究进展[J].作物杂志, 2012,(4):1-8.

[4] Devries M, Goggi A S, Kenneth J M. Determining seed performance of frost-damaged maize seed lots [J]. Crop Science, 2007, 47(5): 2089-2097.

[5] 郑琪,王汉宁,常宏,等.低温冻害对玉米种子发芽特性及其内部超微结构的影响[J].甘肃农业大学学报, 2010,45(5):35-39.

[6] 马金虎,荆国芳,杨小环,等.外源 EBR 和 NO 信号对低温胁迫下玉米种胚抗氧化系统和低温响应基因表达的影响[J].应用生态学报, 2015,26(5):1411-1418.

[7] Back K H, Skinner D Z. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenics wheat lines [J]. Plant Science, 2003,165(6): 1211-1227.

[8] Nguyen H T, Leipner J, Stamp P, et al. Low temperature stress in maize (*Zea mays* L.) induces genes involved in photosynthesis and signal transduction as studied by suppression subtractive hybridization [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009,47(2):116-120.

[9] 周松涛.玉米气象灾害及其防御措施[J].农业气象, 2015,(24):114.

[10] 彭云玲,王亚昕,赵小强,等.不同玉米自交系耐寒性评价及差异分析[J].干旱地区农业研究, 2016,34(3):267-280.

[11] 孙阳,王焱,孟瑶,等.外源 5-氨基乙酰丙酸对低温胁迫下玉米幼苗生长及光合特性的影响[J].作物杂志, 2016,(5):87-93.

[12] 赵小强,彭云玲,方鹏,等.不同外源调节物质对低温胁迫下玉米的缓解效应分析[J].干旱地区农业研究, 2018,36(3):184-193,229.

[13] 闫慧萍,彭云玲,赵小强,等.外源 24-表油菜素内酯对逆境胁迫下玉米种子萌发和幼苗生长的影响[J].核农学报, 2016,30(5): 988-996.

[14] 王芳,赵有军,王汉宁.外源 NO 对干旱胁迫下玉米幼苗膜脂过氧化的调节效应[J].干旱地区农业研究, 2015,33(5):75-79.

[15] 陈银萍,王晓梅,杨宗娟,等.NO 对低温胁迫下玉米种子萌发及幼苗生理特性的影响[J].农业环境科学学报, 2012,31(2):270-277.

[16] 于龙凤,安福全.CaCl₂ 浸种对盐胁迫玉米幼苗的生理效应[J].现代农业科技, 2012,(5):11-13.

[17] Teh C Y, Shaharruddin N A, Ho C L, et al. Exogenous proline significantly affects the plant growth and nitrogen assimilation enzymes activities in rice (*Oryza sativa*) under salt stress [J]. Acta Physiologicae Plantarum, 2016,38:151.

[18] Hoque M A, Okuma E, Banu M N A, et al. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities [J]. Journal of Plant Physiology, 2007,164(5):553-561.

[19] Hossain M A, Fujita M. Evidence for a role of exogenous glycine betaine and proline in antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems in mung bean seedlings under salt stress [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2010,16:19-29.

[20] 罗丹,张喜春,田硕.低温胁迫对番茄幼苗脯氨酸积累及其代谢关键酶活性的影响[J].中国农学通报, 2013,29(16):90-95.

[21] Hasanuzzaman M, Alam M M, Rahman A, et al. Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties [J]. Biomed Research International, 2014;757219.

[22] 赵小强,彭云玲,李健英,等. 16 份玉米自交系的耐盐性评价[J].干旱地区农业研究, 2014,32(5):40-45,51.

[23] Hoque M A, Banu M N A, Okuma E, et al. Exogenous proline and glycine betaine increase NaCl-induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycine betaine in tobacco bright yellow-2 suspension-cultured cells [J]. Journal of Plant Physiology, 2007,164(11):1457-1468.