

高温对玉米花粉活力的影响

降志兵¹ 陶洪斌^{2*} 吴拓¹ 王璞² 宋庆芳²

(1. 西藏日喀则市农业科学研究所, 西藏 日喀则 857000;

2. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193)

摘要 采用离体玉米花粉高温处理的方法模拟自然条件下高温对花粉的危害, 首先在大田条件下种植郑单 958 作为材料, 在散粉期采粉并对其进行高温处理。共设置 3 个温度处理(32、35、38 °C), 5 个持续时间处理(5、10、20、30、60 min), 同时设定常温对照(CK)。研究测定了花粉经高温处理后氯化三苯基四氮唑(Triphenyl tetrazolium chloride, TTC)染色率、小花受精率和总结实率, 以反映高温对花粉活力的影响。结果表明: 温度、处理时间及互作对花粉活力均有极显著影响, 32 和 35 °C 情况下花粉活力持续时间较长, 38 °C 和处理 1 h 对花粉活力的伤害均较大。随着温度的升高, 小花受精率和总结实率总体上呈降低的趋势; 3 个温度水平下的小花受精率和总结实率均随着处理时间的延长而降低, 当温度达到 38 °C 或处理时间为 1 h 时, 小花受精率和结实率都很低, 反映出极端高温或持续高温对花粉活力伤害很大。

关键词 玉米; 花粉活力; 高温; 结实率

中图分类号 S 513

文章编号 1007-4333(2016)03-0025-05

文献标志码 A

Effects of high temperature on maize pollen viability

JIANG Zhi-bing¹, TAO Hong-bin^{2*}, WU Tuo¹, WANG Pu², SONG Qing-fang²

(1. Tibet Shigatse Institute of Agricultural Sciences, Shigatse 857000, China;

2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In this study, maize was planted under simulated nature environment condition and pollens were sampled after silking. Pollens were cultivated *in vitro* under 3 different high temperatures(32, 35 and 38 °C) and 5 different length of treatment duration (5, 10, 20, 30 and 60 min) under each temperature. The impact of high temperature on pollen viability was reflected by TTC staining rate, florets fertilization rate and setting rate. The TTC staining results indicated that temperature, length of treatment duration, and their interaction affected pollen viability significantly. Pollens maintained to be active for longer time under 32 °C and 35 °C, while under 38 °C or 1 h treatment duration under 38 °C damaged pollen viability seriously. With the increase of temperature, the florets fertilization rate and setting rate were reduced under all treatment durations. With the increase of treatment duration, the florets fertilization rate and the setting rate were reduced under all temperatures. The florets fertilization rate and the setting rate were very low under 38 °C or 1h treatment duration indicating extreme temperature or long-term high temperature could harm pollen viability seriously.

Keywords maize; pollen viability; high temperature; setting rate

作物生长季频繁发生的高温热害已成为全球重大自然灾害之一。持续高温天气的频繁发生, 对玉米产量造成了不同程度的影响。单位面积平均穗数、平均穗粒数和千粒重是构成玉米产量的三大因

素^[1]。随着玉米产量水平的提高, 穗粒数对产量的决定作用愈加显著^[2]。花粉活力是影响穗粒数的重要原因之一, 高温一方面使花粉发育不正常或者败育, 导致花粉数量减少、生活力减弱, 甚至完全丧失

收稿日期: 2015-07-18

基金项目: 国家现代产业技术体系建设专项(CARS-02-26)

第一作者: 降志兵, 研究实习员, 主要从事作物育种研究, E-mail: xiaohua8531@126.com

通讯作者: 陶洪斌, 副教授, 主要从事玉米高产高效栽培原理与技术研究, E-mail: hongbintao@cau.edu.cn

受精能力;另一方面使花粉粒分裂不正常,形成畸形。因此,高温导致花粉的数量和活力下降,影响受精结实,最终导致结实率降低和减产,严重时甚至颗粒无收^[3]。虽然玉米雄穗的耐热和散粉特性存在着基因型间差异,但高温是造成玉米花粉生活力减退的重要原因^[4]。王安乐等^[5]认为高温导致玉米结实率很低,孕穗和抽雄前期遇到高温,没有采取应急措施会造成相应程度的减产。

花粉活力,即花粉生活力,指其存活和萌发能力,根据研究目的可以选择不同的描述术语^[6]。在王艳哲等^[7]的《玉米花粉活力测定方法的比较研究》中采用碘-碘化钾法、氯化三苯基四氮唑(Triphenyl tetrazolium chloride, TTC)法及离体萌发法对花粉活力进行了室内测定,表明 TTC 法来测定花粉的活力最为简单、准确。而 Walden^[8]认为对玉米花粉活性进行鉴定最直接、最具有说服力的鉴定方法是观察玉米花粉在雌蕊柱头上能否生长花粉管并完成整个受精过程,即进行田间授粉统计小花受精率和总结实率。对于高温对玉米花粉活力影响的研究,不仅能够探索高温对玉米花粉活力的影响机制,也可为玉米耐热性育种和玉米高产栽培提供一些理论基础,以适应全球气候变暖给玉米生产所带来的挑战。以往的研究中玉米花粉活力的检测方法单一;对不同温度和持续时间下花粉活力的降低情况研究甚少。

本研究拟在离体花粉进行高温处理后,采取 TTC 法和田间授粉法,测定 TTC 染色率、小花受精率和总结实率,通过这 3 项指标综合反映高温对玉米花粉活力的影响,以期为玉米耐热性育种和高产栽培提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 试验地点及材料

本试验于中国农业大学上庄试验站进行(39°54'N, 116°25'E)。试验地地力中等,土壤为壤土。供试的玉米品种为郑单 958。

1.2 试验设计

本试验首先在大田条件下统一培养植株作为温度处理的材料,种植密度为 67 500 株/hm²,行距 60 cm,株距 25 cm,总面积为 48 m²。进入玉米穗吐丝期后,对长势基本一致的玉米套袋,按照温度处理需要划分小区并做好标记,散粉期剪花丝,并采粉对其进行高温处理。共设置 3 个温度处理:32、35 和 38 °C;每个温度下设置 5 个高温持续时间处理:5、

10、20、30 和 60 min,不作温度处理的设置为对照(CK);每处理重复 5 次。高温处理后首先测定花粉 TTC 染色率;同时进行人工活体授粉,3 d 后测小花受精率,10 d 后籽粒形成中期统计玉米穗粒数,计算总结实率。

试验中施用纯氮 180 kg/hm²(尿素,含纯 N 46%)作为基肥,并在大喇叭口期追施纯氮 120 kg/hm²;磷钾肥用量分别为 P₂O₅ 120 kg/hm²(过磷酸钙含 P₂O₅ 16%)、K₂O 150 kg/hm²(硫酸钾,含 K₂O 50%),均为基肥一次性施入。其他管理同大田生产。

1.3 测定项目及方法

调查项目:花粉 TTC 染色率,受精小花数、未受精小花数、退化小花数、总小花数、穗行数和行粒数。

性状调查及方法:太阳升起 2 h 以后(即上午 9:30)采集花粉。采集新鲜花粉充分混合后,平均分装每袋 0.4 g。经电热恒温箱加热处理后的花粉,一半(0.2 g)用于大田授粉,另一半(0.2 g)用于 TTC 染色,每个处理观察 2 张片子,每片取 5 个视野,即每个处理共观察 10 个视野,统计花粉的染色率(以染色率代表花粉活力)。授粉后 2 d,每处理摘取 5 穗,统计受精小花数、未受精小花数、退化小花数,3 部分合计为雌穗分化的总小花数。籽粒形成中期每处理取 5 穗室内考种,统计穗粒数。

数据计算:

$$\text{小花受精率}/\% = \text{受精小花数}/\text{总小花数} \times 100$$

$$\text{总结实率}/\% = \text{穗粒数}/\text{总小花数} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 TTC 染色测定及持续时间对花粉活力的影响

花粉活力由 TTC 染色率表示,对 TTC 染色数据方差分析(表 1),温度、处理时间及互作对花粉活力均有极显著影响,差异大小顺序:温度 > 处理时间 > 互作,表明温度对花粉活力影响最显著。

随着处理时间延长,各温度下花粉活力均下降(图 1(a))。32 和 35 °C 花粉活力与处理时间呈线性关系($r = -0.993^{**}$ 和 $r = -0.994^{**}$),表明随着处理时间增加,花粉活力降低(图 1(b)),35 °C 花粉活力下降幅度比 32 °C 大;38 °C 时花粉活力和处理时间呈曲线关系,相关系数为 $r = -0.974^{**}$,表明 38 °C 条件花粉活力对时间比较敏感,花粉活力下降幅度最大。当处理时间为 1 h 时,各温度下的花粉活力均低于 30%。可见,不同的温度对玉米花粉的影响

表 1 TTC 染色数据方差分析

Table 1 ANOVA of TTC staining results

变异来源 Variation sources	SS	df	MS	F	F _{0.01}
处理时间 Treatment duration	5.80	4	1.450	164.54**	3.46
温度 Temperature	6.97	2	3.490	395.13**	4.77
温度×处理时间 Temperature×Treatment duration	1.09	8	0.140	15.46**	2.65
误差 Deviations	1.19	135	0.009		
总变异 Total variations	15.06	149			

注：** 表示在 1% 水平显著差异。

Note: ** represents significant difference at 1% level.

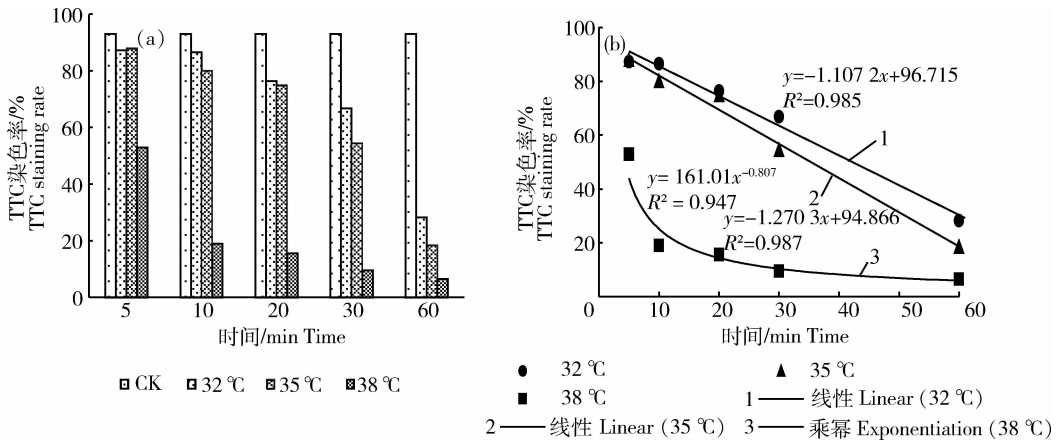


图 1 温度和处理时间对花粉活力的影响

Fig. 1 Effects of high temperature and treatment duration on pollen viability

效果不同,32 和 35 °C 情况下花粉活力持续时间较长,38 °C 花粉活力持续时间大幅度缩短,38 °C 和处理 1 h 对花粉活力的伤害都较大。

2.2 活体人工授粉测定温度及处理时间对花粉活力的影响

随着温度的升高,在各个高温处理时间的小花

受精率和总结实率均呈降低的趋势(表 2)。其中,处理时间为 5 min 时,CK 和 3 个温度间差异不显著;处理时间为 10 min 时,CK、32 和 35 °C 的小花受精率及总结实率差异不显著,38 °C 的小花受精率和总结实率与 CK 和 32 °C 相比差异极显著;处理时间为 20 min 时规律与前者相似,CK、32 和 35 °C 之间

表 2 不同温度对玉米受精结实能力的影响

Table 2 Effects of temperature on the fertilization capacity of maize

温度/°C Temperature	小花受精率 Florets fertilization rate					总结实率 Setting rate				
	5 min	10 min	20 min	30 min	60 min	5 min	10 min	20 min	30 min	60 min
CK	83 aA	83 aA	83 aA	83 aA	83 aA	87 aA	87 aA	87 aA	87 aA	87 aA
32	83 aA	76 aA	69 abA	58 bB	41 bB	86 aA	80 aA	67 bA	62 bB	38 bB
35	77 aA	69 aA	62 bA	49 bB	20 cBC	78 aA	70 abAB	65 bA	53 bB	22 bBC
38	72 aA	45 bB	32 cB	6 cC	1 dC	72 aA	54 bB	40 cB	6 cC	2 cC

注:不同小写字母代表在 5% 水平显著差异,不同大写字母代表在 1% 水平显著差异。下表同。

Note: Different lower case letters show significant at 5% level and uppercase letters show significant at 1% level. The same in the following table.

无极显著差异,而均与 38 °C 差异极显著;处理时间为 30 min 时,CK 的小花受精率和总结实率明显高于其他 3 个处理,32 和 35 °C 之间无显著性差异,而与 38 °C 极显著差异;处理时间为 60 min 时,各处理间的小花受精率和总结实率差异显著,此时 3 个温度水平的小花受精率和总结实率都很低,说明对花粉活力影响很大。

3 个温度水平的小花受精率和总结实率均随着处理时间的延长而降低(表 3),且不同处理时间之间显著性差异不同。当温度为 32 °C 时,处理时间

对各项指标的影响比较缓慢,处理时间为 60 min 时的小花受精率和总结实率均低于 50%,且与其他 4 个时间处理存在极显著差异;当温度为 35 °C 时,各项指标下降随时间的延长而变得相对迅速,当处理至 30 min 时达到极显著水平,作为转折点,30 min 后各项指标均大幅度下降;当温度为 38 °C,处理时间至 10 min 时即已达极显著水平,随后,各项指标迅速下降,当到 30 min 时小花受精率和总结实率基本为 0,表明高温已严重影响了花粉活力。

表 3 处理时间对玉米受精及结实能力的影响

Table 3 Effects of treatment duration on the fertilization capacity of maize %

时间/min Time	小花受精率 Florets fertilization rate			总结实率 Setting rate		
	32 °C	35 °C	38 °C	32 °C	35 °C	38 °C
CK	83 aA	83 aA	83 aA	87 aA	87 aA	87 aA
5	83 aA	77 abA	72 aA	86 aA	78 abAB	72 aAB
10	76 abA	69 abAB	45 bB	80 abA	70 abAB	54 bB
20	69 abA	62 bAB	32 bB	67 bA	65 bAB	40 bB
30	58 bAB	49 bB	6 cC	62 bA	53 bB	6 cC
60	41 bB	20 cC	1 cC	38 cB	22 cC	2 cC

3 结论与讨论

本试验在玉米散粉盛期收集玉米花粉进行不同温度及高温持续时间处理后,采用 TTC 染色法鉴别花粉活力。同时,在大田生产中花粉是过量供应的^[9],本试验又以人工辅助授粉为手段来研究温度处理对花粉活力的影响,得出以下结论:

1)TTC 染色结果表明,高温、高温持续时间及交互均对花粉活力有极显著影响,其中,32 和 35 °C 情况下花粉活力持续时间较长,38 °C 和持续处理 1 h 对花粉活力的伤害均较大。

2)随着温度的升高,小花受精率和总结实率均呈降低的趋势;3 个温度水平的小花受精率和总结实率均随着处理时间的延长而降低,当温度达到 38 °C 或处理时间为 1 h 时,小花受精率和总结实率都很低,说明极端高温或持续高温对花粉活力伤害很大。

玉米产量由穗数、穗粒数及千粒重 3 部分构成^[1],而籽粒数量的多少又是限制玉米产量的重要因素^[10]。花粉活力的高低直接影响着玉米穗粒数,

最终影响到产量。本试验中,小花受精率的降低表明高温处理后,有效花粉数目减少,授粉受精不良,使有效粒数减少,败育粒数增加,结实率降低,从而影响了穗粒数。

已有研究表明,高温会抑制花粉发育^[11]。胡炜^[12]也认为超过 32~35 °C 高温时,花粉很快丧失活力。但本研究发现,随着胁迫程度的增加花粉活力逐渐下降,玉米的小花受精率及总结实率也表现出相同的趋势。32 和 35 °C 温度水平,花粉活力随处理时间的延长变化比较缓慢,田间考察的 3 项指标与 TTC 染色测定的花粉活力表现基本一致,而 38 °C 时花粉活力随时间的变化比较迅速,这就说明随着胁迫程度的增加,花粉活力降低迅速,持续时间都不足 1 h。处理时间较短时,温度之间的差异表现不同,32 和 35 °C 之间差异不显著,而 38 °C 则显著降低了花粉的育性。随着处理时间的延长,温度之间的差异也越来越显著。短时间极端高温和长时间持续高温下玉米花粉活力显著下降,从而造成结实率显著降低、产量显著下降。在大田生产和抗逆性育种工作中需对此引起重视,采取相应措施应

对^[5,13-16]。

近年来,非生物胁迫对玉米产量的影响越来越大^[17-18],目前的研究也扩展到玉米生长发育的中后期,这也是影响玉米产量的关键时期,尤其是抽穗开花期生殖器官受到各种胁迫,减产幅度最大。本试验主要集中在探讨高温胁迫后,通过 TTC 染色及测定小花受精率、总结实率反映高温对花粉活力的影响,但影响花粉活力的内部机制还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 岑秀能. 影响玉米子粒数量的因素分析研究[J]. 耕作与栽培, 1994(5):54-56
Cen X N. Research on factors of the effect number of maize grain [J]. *Tillage and Cultivation*, 1994 (5): 54-56 (in Chinese)
- [2] 张闰阁,曹修才,侯延荣. 玉米秃顶缺粒原因及预防措施[J]. 玉米科学, 1996,4(4):47-49
Zhang G G, Cao X C, Hou Y R. The causes and prevention measures of maize bald and lack of grain[J]. *Journal of Maize Sciences*, 1996,4(4):47-49 (in Chinese)
- [3] Schoper J B, Lambert R J, Xia M Z, Xiong F Q. Corn pollen viability and fertility under the drought and high temperature [J]. *Crop Science*, 1986,26(5):1029-1033
- [4] 杨国虎. 玉米花粉花丝耐热性研究进展[J]. 种子, 2005,24(2):47-51
Yang G H. Progress of heat resistance of maize pollen and filament research[J]. *Seed*, 2005,24(2):47-51 (in Chinese)
- [5] 王安乐,陈朝辉,赵德法. 玉米自交系材料耐高温特性鉴定筛选初报[J]. 山西农业科学, 2003,31(4):15-17
Wang A L, Chen C H, Zhao D F. Research on filter heat resistance inbred maize[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2003,31(4):15-17 (in Chinese)
- [6] 王钦丽,卢龙斗,吴小琴,陈祖铿,林金星. 花粉的保存及其生活力测定[J]. 植物学通报, 2002,19(3):365-373
Wang Q L, Lu L D, Wu X Q, Chen Z J, Lin J X. Pollen preservation and viability testing [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2002,19(3):365-373 (in Chinese)
- [7] 王艳哲,崔彦宏,张丽华,李金才. 玉米花粉活力测定方法的比较研究[J]. 玉米科学, 2010,18(3):173-176
Wang Y Z, Cui Y H, Zhang L H, Li J C. Comparative study on methods for testing pollen viability of maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2010,18(3):173-176 (in Chinese)
- [8] Walden D B. In Vitro Pollen Germination[M]. In: Freeling M, Walbot V. *The Maize Handbook*. New York: Springer-Verlag, 1994:723-724
- [9] 张士龙,王冰,李伟彦,刘洋,范大鹏,张树光. 玉米花粉量、散落分布及有效授粉范围研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2006(1):30-34
Zhang S L, Wang B, Li W Y, Liu Y, Fan D P, Zhang S G. Research on the amount of pollen, scattered distribution and effective pollination range[J]. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural*, 2006(1):30-34 (in Chinese)
- [10] 伊文思. 作物生理学[M]. 北京:农业出版社, 1979:55-56
Evans. *Crop Physiology* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1979:55-56 (in Chinese)
- [11] 逯明辉,巩振辉,陈儒钢,黄炜,李大伟. 农作物花粉高温胁迫研究进展[J]. 应用生态学报, 2009(6):1511-1516
Lu M H, Gong Z H, Chen R G, Huang W, Li D W. Progress of high temperature stress on crop pollen research[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009 (6): 1511-1516 (in Chinese)
- [12] 胡炜. 玉米制种田父本花粉量及活力的研究[J]. 种子科技, 2003(1):33-34
Hu W. Research on male parent pollen and vigour of maize seed production[J]. *Seed Science & Technology*, 2003(1):33-34 (in Chinese)
- [13] 石思信,张志娥,肖建平. 玉米花粉超低温长期保存后对其后代农艺性状的影响[J]. 北京农业科学, 1994,12(5):14-15
Shi S X, Zhang Z E, Xiao J P. The effects of maize pollen cryogenic preservation on posterity agronomic traits [J]. *Beijing Agricultural Sciences*, 1994, 12 (5): 14-15 (in Chinese)
- [14] 张福锁. 环境胁迫与植物育种[M]. 北京:农业出版社, 1993:102-105
Zhang F S. *Environmental Stress and Plant Breeding* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1993:102-105 (in Chinese)
- [15] 陈朝辉,王安乐,董喜才. 热胁迫下对玉米自交系育性的鉴定[J]. 华北农学报, 2006,21(2):50-52
Chen C H, Wang A L, Dong X C. Identification of the fertility for inbred maize in the stress of high temperature[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006,21(2):50-52 (in Chinese)
- [16] 陈朝辉,王安乐,王娟娟,薛建兵,董喜才,魏国英. 高温对玉米生产的危害及防御措施[J]. 作物杂志, 2008(4):90-92
Chen C H, Wang A L, Wang J J, Xue J B, Dong X C, Wei G Y. Influence of high temperature on maize production and defensive measures[J]. *Crops*, 2008(4):90-92 (in Chinese)
- [17] 宋凤斌,戴俊英,张烈,黄国坤,顾宜晴. 水分胁迫对玉米花粉活力和花丝受精能力的影响[J]. 作物学报, 1998(3):368-374
Song F B, Dai J Y, Zhang L, Huang G K, Gu Y Q. Influence of water stress on maize pollen viability and filaments fertility [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1998(3):368-374 (in Chinese)
- [18] 宋凤斌,戴俊英. 干旱胁迫对玉米花粉和花丝表面超微结构及两者活力的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2004,26(1):1-5
Song F B, Dai J Y. Effects of drought stress on surface ultrastructure and viability of maize pollen and filament[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2004,26(1):1-5 (in Chinese)