

## 基于花粉萌发与结铃表现选育耐高温高产杂交棉

蔡义东<sup>1</sup>, 袁小玲<sup>2a</sup>, 邓茏明<sup>2b</sup>, 贾菲<sup>2b</sup>, 刘志<sup>2b\*</sup>

(1.湖南省农作物良种引进示范中心, 湖南 长沙 410016; 2.湖南农业大学 a.金农种业有限公司; b.生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 2004 年以苏棉 12 号、中棉 12 号、苏棉 16 号和 J011 为母本, 分别与新优棉 68 和 K-79 配制了 8 个杂交组合。2005—2006 年对配制的棉花杂交组合在盛花期和结铃期的单株结铃数、成铃率及其花粉在室内培养时最高萌发率和花粉管最长生长长度进行了测定, 并进行了主成分分析, 根据第一和第二主分量 (PC1 和 PC2) 值, 可以将杂交组合划分为耐高温(+PC1, +PC2)、较耐高温(+PC1, - PC2)、较敏感(- PC1, +PC2)和敏感(- PC1, - PC2) 类型。从配制的 8 个杂交组合中筛选出来的耐高温组合 JL06 在区域试验中表现出结铃性好、适应性强和高产的特点, 并于 2009 年 3 月通过了湖南省作物品种审定委员会的审定。采用该方法, 能够将耐高温性状引入育种目标, 培育出耐高温和高产的棉花品种, 以适应当前的植棉环境和将来变暖的气候条件。

**关键词:** 棉花杂交种; 高温耐性; 花粉萌发; 结铃; 主成分分析

中图分类号: S332.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)02-0119-04

## Development of cotton hybrid with high-temperature tolerance and high yield by performance of pollen germination and boll setting

CAI Yi-dong<sup>1</sup>, YUAN Xiao-ling<sup>2a</sup>, DENG Jiang-ming<sup>2b</sup>, JIA Fei<sup>2b</sup>, LIU Zhi<sup>2b\*</sup>

(1.Hunan Center for Introduction and Demonstration of Improved Crop Variety, Changsha 410016, China; 2.a.Jinnong Seed Co. Ltd.; b.College of Bioscience and Biotechnology, HNAU, Changsha 410128, China)

**Abstract:** Eight combinations were obtained by crossing Sumian 12, Zhongmian12, Sumian 16 and J011, respectively, with mutual father parents Xinyoumian 68 and K-79, two cotton lines with high fiber quality and yield and multi-resistances, in 2004, a screening method, based on principal component analysis of average boll numbers and retention per plant during peak flowering and boll-setting periods in the field, maximum pollen germination and pollen tube length in an *in vitro* culture experiment for cotton hybrid combinations, was used in the present study in 2005 and 2006 and, as a result, the hybrids could be classified as tolerant(+PC1 and +PC2), moderately tolerant(+PC1 and - PC2), moderately susceptible(- PC1 and +PC2) and susceptible(- PC1 and - PC2) to high temperature stress according to the scores of the first two principal components vectors. The high-temperature tolerant hybrid JL06 screened from the 8 combinations performed with strong boll setting, wide adaptability and high yield during two-year more and multi-site experiments, and approved by Hunan Crop Variety Approval Committee in 2009. A new cultivar for high temperature tolerance can be developed by the method during cotton breeding program to stabilize yields for consistently high yields in the present cotton-producing environment and in the future warmer climate.

**Key words:** cotton hybrid; high-temperature tolerance; pollen germination; boll setting; principal component analysis

在中国棉花种植区域, 特别是长江流域, 高于 35 °C 的周期性高温天气在 7—8 月(棉花盛花期和结铃期)经常发生, 从而影响棉花授粉受精, 导致蕾铃脱落, 严重影响棉花的产量和品质。目前, 对棉花

的耐高温性状尚缺乏有效的鉴定和评价方法, 育种应用上更是鲜见报道<sup>[1]</sup>。笔者在前期研究中, 结合室内花粉培养和田间结铃性状调查, 提出了不需要高温逆境和温室条件的耐高温棉花品种资源筛选

收稿日期: 2009-10-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30900909); 湖南省教育厅优秀青年科研项目(08B033)

作者简介: 蔡义东(1974—), 男, 湖南永州人, 博士, 高级农艺师; \*通讯作者, tigerzhiliu@yahoo.com.cn

方法<sup>[2]</sup>。在此基础上,笔者根据棉花育种工作实际,并简化筛选过程,建立了一种耐高温棉花杂交品种选育方法,将耐高温性状引入育种目标,以增强品种在生产中的稳产性和适应性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 组合配制与材料种植

2004年以常规棉品种苏棉12号、中棉12号、苏棉16号和J011(湘杂棉2号自交后代系谱法选育的品系)为母本,采用人工去雄杂交的方法,分别与常规棉优质、高产、多抗选系新优棉68和K-79配制8个杂交组合(表1)。

2005、2006年在湖南农业大学教学实验场将8个杂交组合F<sub>1</sub>按随机区组设计进行田间试验,小区面积10 m<sup>2</sup>,每个组合重复3次,种植密度为22 500株/hm<sup>2</sup>。经筛选出的耐高温和高产组合参加了2007年和2008年的湖南省棉花品种区域试验。2007年的区试地点分别在常德、安乡、华容和长沙;2008年的区试地点除上一年4个点外,还增加了澧县、南县、大通湖和君山,共8个不同生态试验点。小区面积为20 m<sup>2</sup>,重复3次,种植密度为21 000~22 500株/hm<sup>2</sup>。对照品种为湘杂棉8号,各试验点的田间管理基本一致,均按照当前杂交棉花品种的栽培管理方式进行。

### 1.2 测定指标和方法

#### 1.2.1 单株成铃率和结铃数等性状调查

2005、2006年在各杂交组合的每个小区中随机选10株挂牌标记,于7月下旬盛花期间和8月下旬结铃期间分2次调查单株结铃数和成铃率,并统计每个棉花杂交种F<sub>1</sub>的单株平均结铃数和成铃率。在2007、2008年的湖南省区域试验中考察了单株结铃数、小区籽棉和皮棉产量等指标。

#### 1.2.2 花粉培养及花粉萌发率和花粉管生长长度测定

参照刘志等<sup>[3]</sup>和Kakani等<sup>[4]</sup>的方法对棉花花粉进行体外培养,并测定花粉萌发率和花粉管生长长度。在棉花初花期于7:00—8:00分别摘取刚开放的新鲜花朵,带回室内稍稍自然风干。培养基按照100 mL中含2 g琼脂、30 g蔗糖、5.3 mg KNO<sub>3</sub>、51.7 mg

MnSO<sub>4</sub>、10.3 mg H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>和10.3 mg MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O配制,将其煮沸后倒入直径为6 cm的培养皿中,每培养皿约10 mL。培养基冷却凝固后,用手轻弹花药,使花粉均匀落在培养基的表面,每个培养皿约500~800粒花粉(1~2朵花)。盖上培养皿盖,并留缝隙以保证培养皿内相对湿度在50%左右。将培养皿分别放置在20、25、28、30、35、40℃的生长培养箱中黑暗条件下培养,每个温度处理各杂交组合重复3次。培养24 h后放置于4℃冰箱中使花粉管停止生长,然后用光学显微镜计数花粉的萌发率,用测微尺测定花粉管的生长长度。每个培养皿观察10个视野,计算每个视野中的萌发率,并统计平均萌发率。每个培养皿随机测定20个萌发的花粉管长度,计算平均花粉管长度。

### 1.3 统计分析

采用SAS软件进行数据处理和统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 各杂交组合的花粉萌发与结铃性状表现

棉花花粉在离体培养时的萌发率和花粉管生长长度随着温度的升高而增加,在28℃或30℃的培养条件下达到最大值,然后随温度升高而降低。从表1可以看出,花粉最高萌发率和最长花粉管长度在不同杂交组合之间存在显著差异,最高花粉萌发率从35.6%(JL08)到58.5%(JL06)变化,变幅为22.9%;JL01的最长花粉管长度最小(488 μm),而JL06的最长花粉管长度最大(660 μm),相差达172 μm。

盛花期和结铃期的单株平均结铃数和成铃率在不同杂交组合之间存在显著性差异(表1)。盛花期JL06的单株结铃数最多(14个),成铃率也最高(81.9%),JL03的单株结铃数最少(9个),而JL02的成铃率最低(55.5%)。到结铃期,单株结铃数增加较快,最少的结铃数为24.7个(JL05),最多的达34.5个(JL06)。棉花在结铃期间的幼铃脱落明显增加,单株成铃率都比盛花期低,此阶段单株最高成铃率为75.6%(JL06),最低的只有51.4%(JL03)。相关性分析显示,盛花期与结铃期的成铃率显著相关( $R^2=0.68$ ),结铃期的成铃率与最长花粉管生长长度

也呈显著相关( $R^2=0.57$ )，这表明在盛花期单株成铃率高的杂交组合到结铃期仍能高的成铃率，而花

粉管生长长度越长的组合材料在结铃期的成铃率也越高。

表1 供试材料的单株结铃数、成铃率、最高花粉萌发率和最长花粉管生长长度

Table 1 Boll numbers and retention per plant, maximum pollen germination rate and pollen tube length in different cotton hybrids

组合	组合名称	盛花期(7月下旬)		结铃期(8月下旬)		最高花粉萌发率/%	最长花粉管长度/ $\mu\text{m}$
		结铃数/个	成铃率/%	结铃数/个	成铃率/%		
苏棉12号×新优棉68	JL01	(10.6±1.4)bc	(71.8±1.5)b	(31.2±1.1)ab	(65.1±2.9)b	(41.7±3.5)cd	(488.7±34.8)e
中棉12号×新优棉68	JL02	(11.0±1.9)bc	(55.5±1.5)e	(25.0±3.0)c	(53.9±3.6)cd	(48.9±3.2)b	(518.5±13.7)e
苏棉16号×新优棉68	JL03	(9.0±1.3)c	(63.2±1.3)d	(27.2±3.3)bc	(51.4±2.9)d	(39.6±2.0)de	(508.1±12.1)de
J011×新优棉68	JL04	(10.0±1.8)bc	(62.3±0.7)d	(30.0±2.0)b	(66.8±3.7)b	(43.0±2.6)cd	(615.2±12.2)b
苏棉12号×K-79	JL05	(9.8±1.4)bc	(61.5±2.3)d	(24.7±2.5)c	(53.7±4.5)cd	(46.5±2.7)bc	(539.3±9.8)d
中棉12号×K-79	JL06	(14.0±1.8)a	(81.9±2.8)a	(34.5±2.6)a	(75.6±2.2)a	(58.5±3.7)a	(660.6±13.1)a
苏棉16号×K-79	JL07	(12.0±1.8)ab	(67.5±1.2)c	(28.6±1.5)bc	(62.3±5.9)b	(45.2±2.6)bc	(576.5±18.5)c
J011×K-79	JL08	(11.4±1.1)abc	(64.5±1.9)cd	(29.5±1.8)b	(60.4±5.6)bc	(35.6±3.9)e	(545.4±11.0)d

表中数据为 2005、2006 年 2 年试验结果的平均值。

### 2.2 主成分分析和高温耐性类型的划分

笔者对各杂交组合在盛花期(7 月下旬)和结铃期(8 月下旬)的单株结铃数、成铃率以及它们的花粉在室内培养时最高萌发率和花粉管最长生长长度进行了主成分分析。结果(表 2)表明，第一和第二主分量(PC1 和 PC2)占了总变异的 86.6%，能够反映不同杂交组合上述 6 个性状的绝大部分信息。PC1 反映的信息量大(贡献率为 71.9%)，对结铃和花粉萌发表现均具有较高的载荷，而 PC2 的贡献率小(为 14.7%)，对结铃数和成铃率表现为负载荷。可见，在各杂交组合中，PC1 值越高，则在盛花期和结铃期的结铃数和成铃率、最高花粉萌发率和最长花粉管长度值就越大，而 PC2 值愈高，则在盛花期的成铃率、结铃期的结铃数和成铃率愈低。笔者根据各杂交组合的 PC1 和 PC2 的值将 JL06 和 JL07、JL01 和 JL04、JL02 和 JL05、JL03 和 JL08 分别划分为耐高温、较耐高温、较敏感和敏感型棉花类型(图 1)。

表2 主成分分析的特征向量值及所占变异的百分比

Table 2 Eigenvectors PC1, PC2, and PC3 of principal component analysis for six given parameters and the variation accounted for by each eigenvector

参数	主成分特征向量值		
	PC1	PC2	PC3
盛花期结铃数	0.42	0.20	0.29
盛花期成铃率	0.43	-0.30	0.42
结铃期结铃数	0.42	-0.48	-0.03
结铃期成铃率	0.45	-0.21	-0.21
最高花粉萌发率	0.32	0.71	0.33
最长花粉管长度	0.39	0.29	-0.77
变异的百分比	71.90	14.70	7.10

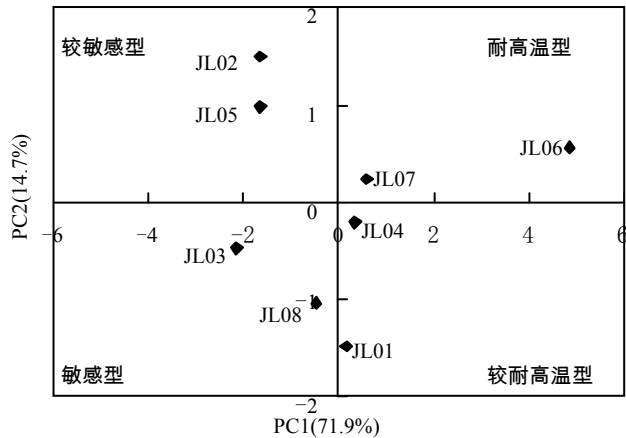


图1 以主成分 PC1 和 PC2 的值划分棉花杂交组合的高温耐性类型

Fig. 1 Classification of high-temperature tolerance based on the scores of first two principal components (PC1 and PC2)

### 2.3 区域试验的单株结铃情况和产量表现

在 2005 年和 2006 年的花铃期间均出现了连续 7 d 以上高于 35 °C 的极端高温天气，此阶段杂交组合 JL02、JL03、JL05 和 JL08 都出现了部分花药空瘪不开裂和散粉量变少的现象，随后幼铃大量脱落，对高温逆境表现比较敏感，而筛选出来的耐高温杂交组合 JL06 不但结铃性好，而且适应性和高产特性表现优良，申请参加了湖南省棉花品种区域试验。2007 年 7 月底至 8 月上旬(棉花花铃期间)出现了高于 35 °C 的极端高温天气，此阶段大多数棉花出现了明显的花粉败育和蕾铃脱落现象，而 JL06 开花期间一直散粉正常，表现出了极强的结铃性和适应性。JL06 单株平均结铃数极显著的高于对照品种(湘杂棉 8 号)，在 4 个试验点的表现均比对照增产，皮棉和籽棉产量分别增加 5.24%和 9.80%。在

2008年的区域试验中, JL06的单株结铃数也显著高于对照, 在8个试验点的产量都表现增产, 平均籽棉和皮棉产量均极显著地高于对照(表3)。

表3 JL06区域试验的单株结铃数和产量表现

Table 3 Performance of boll numbers per plant and yield of cotton hybrid JL06 in multi-experimental sites for two years

年份	品种	单株结铃数 /个	单铃籽棉重 /g	籽棉产量 /(kg·hm <sup>-2</sup> )	皮棉产量 /(kg·hm <sup>-2</sup> )
2007	JL06	(44.5±4.5)**	6.24±0.42	4 434.2*	1 873.1**
	CK	36.6±3.6	6.43±0.27	4 213.5	1 705.8
2008	JL06	(43.7±6.6)*	6.30±0.52	4 138.8**	1 743.0**
	CK	39.3±2.7	6.41±0.29	3 846.3	1 557.0

### 3 小结与讨论

建立可靠的筛选与鉴定方法是开展作物耐高温育种的前提和基础。近年来, 以花粉在离体培养时的萌发率和花粉管生长长度为评价指标, 开展了耐高温棉花、大豆和油菜等的筛选和鉴定研究<sup>[4-6]</sup>。笔者曾结合离体花粉培养试验和田间结铃性状的表现, 建立了新的耐高温棉花品种资源的筛选方法。运用该方法能较准确地区分不同棉花品种资源对高温逆境的耐性和敏感性<sup>[2]</sup>。在此基础上, 笔者结合育种工作实际, 简化了筛选过程, 省去了花粉培养中萌发率和花粉管生长长度对温度反应的数学建模, 以及最高、最适和最低温度计算的复杂数据处理步骤, 而直接以最高花粉萌发率、最长花粉管生长长度、盛花期和结铃期的单株结铃数与成铃率共6个性状表现对8个杂交组合的耐高温特性进行评价和筛选, 鉴定结果与其田间表现基本相符。筛选出的杂交组合 JL06 在参加区域试验时, 不管是在花铃期间发生极端高温天气的年份(2007年), 还是正常的环境条件(2008年), 均表现出了较强的结铃性、适应性和高产特性。

在以往的报道中, 研究者们曾将棉株结铃的高度<sup>[7]</sup>、单铃重和单株结铃率<sup>[8]</sup>、叶片的气孔导度<sup>[9]</sup>和细胞膜热稳定性<sup>[10]</sup>等作为棉花耐高温性状的筛选指标。这些鉴定方法需要高温胁迫环境, 在实际的育种工作中, 田间自然高温常常难以预期发生, 而在人工温室中的选育结果往往与实际不符, 还增加了育种成本。生理指标反映的是营养器官对高温逆境的耐性, 而不能直接代表棉花结铃性状和产量的高低。这些生理指标可能在棉花不同生育时期和不同的部位会发生变化, 因而在实际应用中不好掌

握。在本研究中, 笔者根据棉花花粉萌发和结铃性状的表现, 将室内离体花粉培养和田间棉花结铃性状相结合, 建立了一种耐高温棉花杂交种的选育方法, 并申请了国家发明专利(待批)。在耐高温棉花杂交种的选育时, 运用该方法可直接从大量配制的杂交组合中进行筛选和鉴定, 从而增加了亲本配组的自由度, 还可以与其他性状同时进行选择。另外, 筛选和鉴定过程中不需要温室设施提供高温胁迫, 节约了育种成本, 而且操作方法简单, 容易掌握。

### 参考文献:

- [1] Singh R P, Prasad P V V, Sunita K, et al. Influence of high temperature and breeding for heat tolerance in cotton : A review [J]. *Adv in Agron*, 2007, 93 : 315-385.
- [2] Liu Z, Yuan Y L, Liu S Q, et al. Screening for high-temperature tolerant cotton cultivars by testing *in vitro* pollen germination, pollen tube growth and boll retention [J]. *J Integrat Plant Biol*, 2006, 48(6) : 706-714.
- [3] 刘志, 刘少卿, 余筱南, 等. 特棉 S-1 雄性不育发生的细胞学基础及可育花粉对温度的反应 [J]. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 2007, 33(4) : 403-406.
- [4] Kakani V G, Reddy K R, Koti S, et al. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature [J]. *Ann Bot*, 2005, 96 : 59-67.
- [5] Salem M A, Kakani V G, Koti S, et al. Pollen-based screening of soybean genotypes for high temperatures [J]. *Crop Sci*, 2007, 47 : 219-231.
- [6] Singh S K, Kakani V G, Brand D, et al. Assessment of cold and heat tolerance of winter-grown canola (*Brassica napus* L.) cultivars by pollen-based parameters [J]. *J Agron Crop Sci*, 2008, 194(3) : 225-236.
- [7] Feaster C V, Turcotte E L. Use of heat tolerance in cotton breeding [C]//National Cotton Council of America. Proceedings of the Beltwide Cotton Conference. Memphis : National Cotton Council, 1985 : 364-366.
- [8] Brown P W, Zeiher C A. Varietal response to heat stress during reproductive development [C]//National Cotton Council of America. Proceedings of the Beltwide Cotton Conference. Memphis : National Cotton Council, 1998 : 1451-1452.
- [9] Lu Z M, Percy R G, Qualset C O, et al. Stomatal conductance predicts yields in irrigated Pima cotton and bread wheat grown at high temperatures [J]. *J Exp Bot*, 1998, 49 : 453-460.
- [10] Rahman H, Malik S A, Saleem M. Heat tolerance of upland cotton during the fruiting stage evaluated using cellular membrane thermostability [J]. *Field Crops Res*, 2004, 85 : 149-158.

责任编辑: 苏爱华  
英文编辑: 罗文翠