

余长春,罗本钒,傅强,等.不结球白菜遗传多样性分析以及耐热性鉴定[J].华中农业大学学报,2021,40(6):119-125.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlnkxb.2021.06.015

不结球白菜遗传多样性分析以及耐热性鉴定

余长春,罗本钒,傅强,徐跃进,万正杰

华中农业大学园艺林学学院,武汉 430070

摘要 为筛选适合夏季高温气候条件下生产的不结球白菜品种,并为耐热不结球白菜新品种的选育提供种质资源,对笔者所在实验室收集到的 78 份不结球白菜自交不亲和系进行了遗传多样性分析,并利用武汉夏季自然高温环境进行了热害指数测定。结果发现,四季矮脚特白梗奶白菜(编号 C72)的热害指数在所有材料中最低,并且植株对高温具有较强的耐受力。此外,经测定发现 C72 相较于其他材料具有更高的 POD、SOD 酶活性和更低的丙二醛含量及相对电导率。这些生理指标进一步表明 C72 具有更强的耐热特性。

关键词 不结球白菜; 遗传多样性; 耐热性; 热害指数

中图分类号 S 634.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2021)06-0119-07

不结球白菜 (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Makino) 又名小白菜、青菜、油菜等, 起源于中国, 是我国重要的大宗蔬菜之一。该类蔬菜种植区域广泛, 在南北各地均有栽培, 以长江中下游及以南地区为主^[1]。不结球白菜质地鲜嫩, 富含对人体有益的多种维生素、矿物质、膳食纤维、氨基酸等营养成分, 有助于提高人体免疫力, 是人们非常喜爱的“当家蔬菜”。

不结球白菜为喜凉植物, 最适生长温度为 15~20 °C, 生产上以冬春两季为主。夏季高温高湿条件下, 不结球白菜生长衰竭, 容易死苗, 并且受病虫危害大, 导致产量和品质严重下降。除了优化栽培方式之外, 不结球白菜种类繁多、遗传多样性高, 为筛选耐热的不结球白菜种质资源并选育适合夏季高温气候生产的不结球白菜品种提供了可能。科研人员通过对不结球白菜开展夏季耐热性品种比较试验, 发现京研快菜、黄金小白菜、夏抗 3 号、青伏令、夏丽、绿领 35、夏帝等品种在耐热、产量、抗性等方面表现较好, 可用于夏季不结球白菜品种的推广^[2-4]。在不结球白菜耐热新品种选育方面, 科研人员利用不同的不结球白菜亲本进行杂交, 已培育出多个耐热性强、生长势强、束腰性好、产量高的新品种, 如热抗青^[5]、夏绿妃^[6]、青梗 316^[7]、东方 2 号^[8]、苏夏 2

号^[9]、烤青^[10]、暑热^[11]等。本研究以华中农业大学十字花科蔬菜遗传育种实验室收集的 78 份不结球白菜种质资源为研究对象, 对这些不结球白菜进行遗传多样性分析及耐热性和生理指标的测定, 以期从中鉴定出耐热的优良品种, 用于夏季不结球白菜的生产。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究试验材料为 78 份不结球白菜自交不亲和系(表 1), 为华中农业大学十字花科蔬菜遗传育种实验室收集。以上试验材料种植于华中农业大学蔬菜遗传改良中心实验基地。

1.2 试验方法

1) 耐热性鉴定。不结球白菜耐热试验在华中农业大学蔬菜实验基地进行。于 2013 年、2014 年 7 月上旬进行种子萌发, 萌发后转移至穴盘中于温室中进行育苗。待其生长到 4 片真叶以后(8 月初), 移栽至露地。进行随机区组试验, 每个小区种植 20 株苗。经连续气温测定, 2013 年和 2014 年武汉 8 月份最高温度大于 40 °C, 最低气温大于 30 °C。利用夏季自然高温气候, 观察植株的生长表型, 确定各材料的耐热性。

收稿日期: 2021-05-06

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0101803); 中国博士后科学基金面上项目(2016M600602)

余长春, E-mail: yucc@mail.hzau.edu.cn

通信作者: 万正杰, E-mail: wanzj@mail.hzau.edu.cn

表1 试验材料编号及来源

Table 1 List of materials

材料编号 Accession No.	来源地 Origin	材料编号 Accession No.	来源地 Origin	材料编号 Accession No.	来源地 Origin
C01	江苏 Jiangsu	C27	重庆 Chongqing	C53	江苏 Jiangsu
C02	江苏 Jiangsu	C28	甘肃 Gansu	C54	江苏 Jiangsu
C03	福建 Fujian	C29	香港 Hongkong	C55	江苏 Jiangsu
C04	江苏 Jiangsu	C30	甘肃 Gansu	C56	湖南 Hunan
C05	广东 Guangdong	C31	山东 Shandong	C57	湖北 Hubei
C06	上海 Shanghai	C32	山东 Shandong	C58	湖北 Hubei
C07	广西 Guangxi	C33	上海 Shanghai	C59	湖北 Hubei
C08	日本 Japan	C34	浙江 Zhejiang	C60	上海 Shanghai
C09	湖北 Hubei	C35	浙江 Zhejiang	C61	湖北 Hubei
C10	湖北 Hubei	C36	日本 Japan	C62	韩国 Korea
C11	湖北 Hubei	C37	上海 Shanghai	C63	江苏 Jiangsu
C12	湖北 Hubei	C38	上海 Shanghai	C64	江苏 Jiangsu
C13	湖北 Hubei	C39	安徽 Anhui	C65	山东 Shandong
C14	湖北 Hubei	C40	安徽 Anhui	C66	山东 Shandong
C15	上海 Shanghai	C41	浙江 Zhejiang	C67	山东 Shandong
C16	台湾 Taiwan	C42	江苏 Jiangsu	C68	山东 Shandong
C17	江苏 Jiangsu	C43	甘肃 Gansu	C69	甘肃 Gansu
C18	江苏 Jiangsu	C44	浙江 Zhejiang	C70	甘肃 Gansu
C19	江苏 Jiangsu	C45	浙江 Zhejiang	C71	日本 Japan
C20	江苏 Jiangsu	C46	重庆 Chongqing	C72	甘肃 Gansu
C21	江苏 Jiangsu	C47	江苏 Jiangsu	C73	上海 Shanghai
C22	江苏 Jiangsu	C48	上海 Shanghai	C74	江西 Jiangxi
C23	江苏 Jiangsu	C49	江苏 Jiangsu	C75	江苏 Jiangsu
C24	江苏 Jiangsu	C50	上海 Shanghai	C76	上海 Shanghai
C25	上海 Shanghai	C51	江苏 Jiangsu	C77	江苏 Jiangsu
C26	重庆 Chongqing	C52	江苏 Jiangsu	C78	江西 Jiangxi

2)田间热害指数测定。参照刘志新等^[12]的方法,定植 16 d 后,随机从每个小区中选取 10 株材料,进行表型观察及热害指数计算。热害指数 = $\frac{\sum x_i \times n_i}{4N}$,式中, x_i 为不同的热害级别; n_i 为每个热害级别中的单株数; i 代表级别; N 代表观察的单株数。热害指数越大,材料的耐热性越差。

热害等级的划分:0 级:植株生长发育正常,无任何胁迫症状;1 级:植株新叶叶缘表现为轻微的皱缩;2 级:植株新叶皱缩严重,并伴随着外叶变黄;3 级:植株外叶皱缩,叶片黄化面积增大;4 级:植株叶片完全皱缩,生长缓慢,叶片表现为枯黄。

3)酶活与电导率的测定。每个小区选取 5 株长势一致的单株,取相同部位相同大小的叶片组织进行测定。参照文献[13],丙二醛采用硫代巴比妥酸法;超氧化物歧化酶采用氮蓝四唑法;过氧化物酶采用愈创木酚法;相对电导率采用电导仪法。

2 结果与分析

2.1 不结球白菜遗传多样性分析

采用 51 对 SSR 分子标记对收集的 78 份不结球白菜自交不亲和系进行遗传多样性分析。结果显示,78 份不结球白菜遗传相似系数为 0.57~0.93,具有丰富的遗传多样性(图 1)。

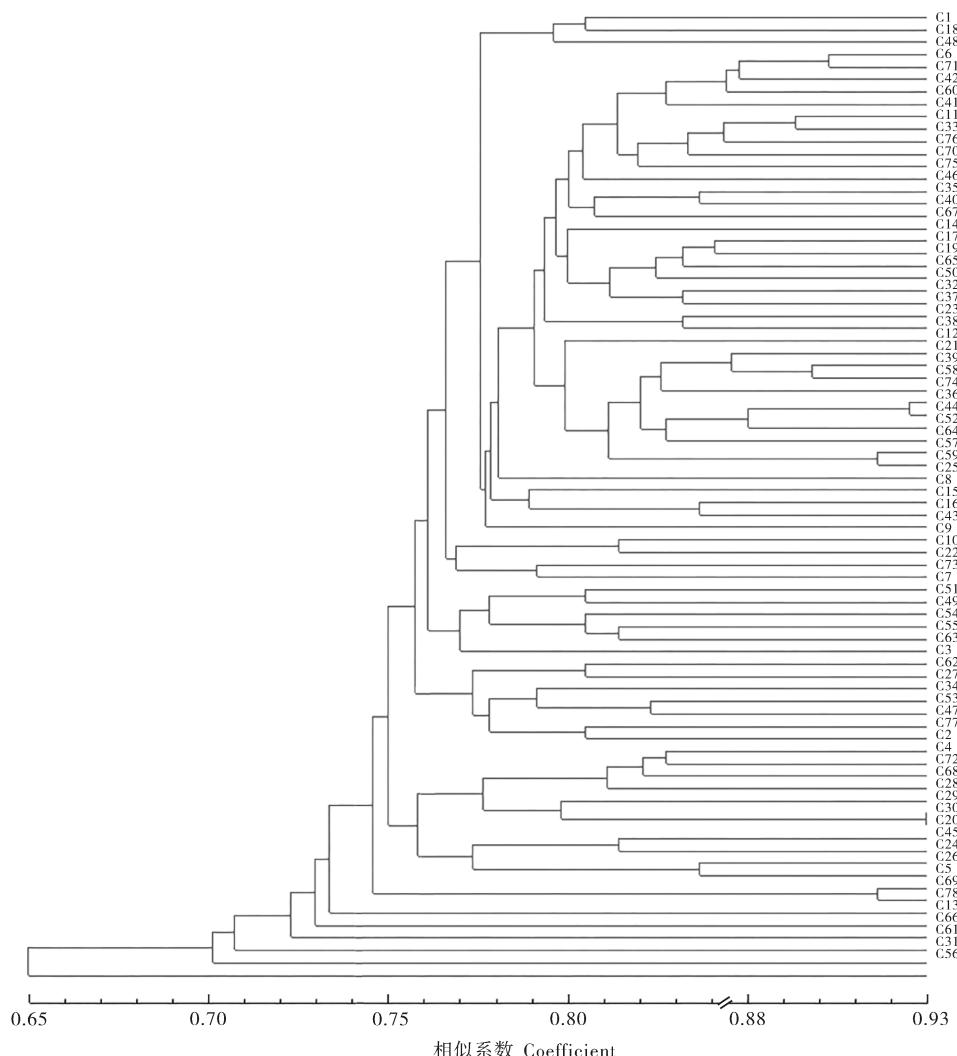


图 1 78 份不结球白菜的遗传多样性分析

Fig.1 Genetic diversity of 78 Chinese cabbages

2.2 不结球白菜的热害指数

将 78 份不结球白菜自交不亲和系随机分区后种植于露地。利用武汉夏季自然高温处理并进行热

害指数的测定。经测定发现,不结球白菜自交不亲和系 C43、C48 和 C74 的热害指数超过了 70,表明这 3 份材料对高温气候可能最不耐受(表 2)。C28、

C30 和 C72 的热害指数依次为 25.12、20.41 和 15.12，在所有测试材料中热害指数偏小，暗示它们具有较强的耐热性(表 2)。其中，C28 为新交 3 号，C30 为高禾赤叶小白菜，C72 为四季矮脚特白梗奶白菜。

表 2 热害指数测定结果

Table 2 Result of heat injury indexes

材料编号 Accession No.	热害指数 Heat injury index						
C01	45.42	C21	46.45	C41	48.45	C61	50.00
C02	40.00	C22	42.23	C42	36.48	C62	62.36
C03	33.33	C23	48.15	C43	70.25	C63	29.36
C04	59.17	C24	68.33	C44	46.56	C64	45.69
C05	38.12	C25	37.23	C45	48.79	C65	36.59
C06	45.85	C26	38.12	C46	55.46	C66	50.83
C07	65.83	C27	56.67	C47	48.33	C67	45.36
C08	50.83	C28	25.12	C48	75.12	C68	37.48
C09	66.23	C29	47.50	C49	50.00	C69	48.89
C10	64.26	C30	20.41	C50	49.16	C70	49.66
C11	34.23	C31	39.42	C51	60.12	C71	41.36
C12	68.13	C32	29.3	C52	62.13	C72	15.12
C13	56.25	C33	43.23	C53	49.17	C73	35.12
C14	48.48	C34	43.33	C54	36.22	C74	75.13
C15	46.78	C35	66.23	C55	44.17	C75	36.58
C16	51.67	C36	45.12	C56	48.33	C76	47.46
C17	55.00	C37	47.12	C57	39.15	C77	49.22
C18	60.23	C38	53.16	C58	46.56	C78	66.12
C19	34.12	C39	59.48	C59	60.23		
C20	48.33	C40	65.00	C60	44.66		

2.2 高温胁迫下不结球白菜丙二醛(MDA)含量

在高温气候下，随着处理时间的延长，所有测试的不结球白菜中 MDA 含量均逐渐升高，但耐热材料 C72 的 MDA 含量与其他材料相比上升较为缓慢。当高温气候处理 17 d 后，C72 材料中 MDA 含量为 $19.32 \mu\text{mol/g}$ ，远低于其他 4 份材料(图 2)。结果表明，不结球白菜 C72 在高温胁迫条件下膜系统相对完整，增强了植株对高温气候的耐受性。

2.3 高温条件下不结球白菜过氧化物酶及超氧化物歧化酶的活性

对不结球白菜 C72 及其他 4 份不耐热品种的过氧化物酶(POD)及超氧化物歧化酶(SOD)进行了酶活测定。在自然高温处理 12 d 后，不结球白菜 C72 的 POD 活性显著高于其他材料(图 3A)。

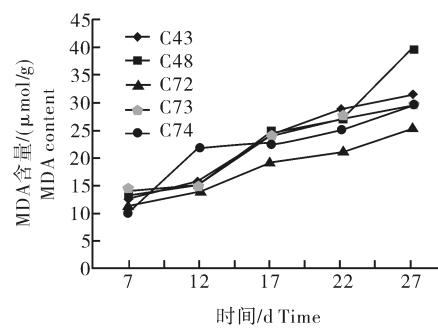


图 2 高温胁迫条件下不结球白菜的丙二醛(MDA)含量

Fig.2 MDA content in Chinese cabbages under the high temperature stress

在处理 17 d 后，各类不结球白菜 POD 的酶活均达到了最高值，其中不结球白菜 C72 的 POD 活性最高，远大于其他 4 份材料。对高温胁迫条件下不结

球白菜 SOD 活性的测定发现,随着高温处理时间的延长,SOD 活性逐渐升高,耐热材料 C72 的 SOD 酶活上升幅度最大,并且在各个时期该材料的 SOD 活性均高于其他材料(图 3B)。

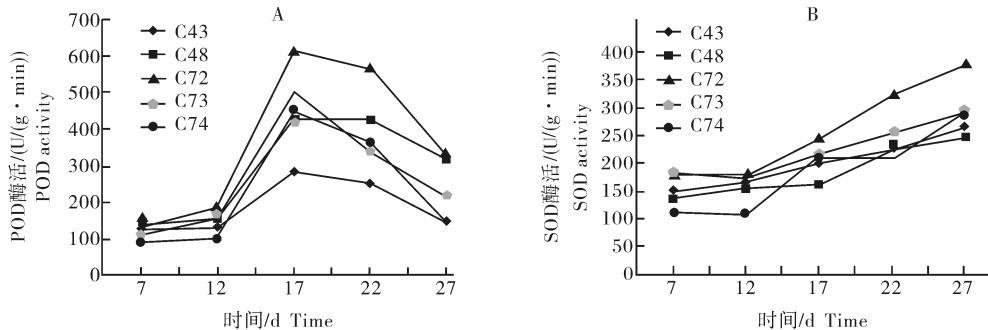


图 3 高温胁迫下不结球白菜过氧化物酶(A)及超氧化物歧化酶(B)活性测定结果

Fig.3 Enzymatic activities of peroxidase (POD, A) and superoxide dismutase (SOD, B) in Chinese cabbages under the high temperature stress

2.4 高温条件下不结球白菜电导率的测定

对不同处理阶段不结球白菜电导率的测定结果显示,随着高温处理时间的延长,各类不结球白菜的电导率逐渐上升,但 C72 的电导率一直低于其他材料(图 4)。结果表明,在高温条件下,不结球白菜 C72 的细胞膜相对完整,对高温气候耐受力强。

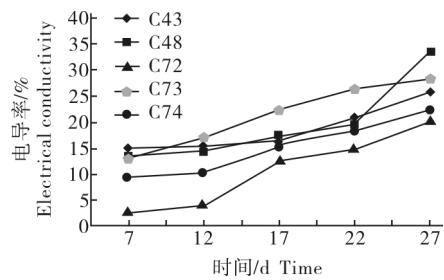


图 4 高温胁迫下不结球白菜的电导率

Fig.4 Electrical conductivity of Chinese cabbages under the high temperature stress

3 讨 论

在高温、干旱等非生物胁迫条件下,植物体内通常会积累大量的活性氧分子。这些活性氧分子一方面作为信号分子,触发植物对非生物胁迫的抗性反应;另一方面大量积累的活性氧会对植物造成不可逆的氧化损伤^[14-16]。细胞膜结构的稳定性与植物对高温的耐受能力密切相关^[17-19]。在高温胁迫下植物膜蛋白变性,细胞膜通透性增大,导致大量的电解质

外渗,因此,电导率可以反映植株对高温胁迫的耐受性。此外,高温胁迫会诱发植物产生大量的活性氧分子,这些活性氧分子非常活跃,容易造成质膜的过氧化作用,损伤植物的膜系统。MDA 是脂质过氧化的产物,一定程度上可以反映质膜的损伤程度。近年来,研究发现对非生物逆境具有耐受性的植物往往具有较强的活性氧清除能力,通常表现为植株具有较高的 POD、SOD、CAT 活性,或体内产生大量的还原剂,如抗坏血酸等,这些酶或还原剂可以有效地清除植物体内的活性氧分子,使植物免受氧化性损伤^[20-22]。

夏季的高温天气对不结球白菜生产是一个重大的限制因素。鉴定耐热的不结球白菜种质资源及选育农艺性状优良的耐热新品种是一项非常重要的研究工作。除了耐热指标外,夏季不结球白菜选种还需注意其他重要的农艺性状,如感官品质(束腰、绿色深浅等)、营养品质(VC、可溶性蛋白等)、抗性品质(抗病)、耐抽薹等方面。此外,栽培技术的优化也能提高不结球白菜在夏季的成活率和产量,如遮阳网的使用、合理的水肥管理及矮壮素等农药的使用等^[8, 23]。

本研究从收集到的 78 份不结球白菜种质资源中鉴定出 1 份对夏季高温耐受的材料(编号 C72, 四季矮脚特白梗奶白菜)。对该材料及其他品种进行生理生化指标测定发现,该耐热品种在高温胁迫条件下具有更高的 POD、SOD 酶活和较低的 MDA 含

量及电导率。这些生理指标进一步佐证所鉴定的不结球白菜品种具有很强的耐热性。本研究结果将为长江流域夏季耐热不结球白菜资源发掘和品种筛选提供理论依据和材料来源,保障我国长江流域夏季不结球白菜的周年供应。

参考文献 References

- [1] 刘凤军,宋英,李军,等. 秋茬青梗小白菜品种(系)比较试验[J]. 长江蔬菜,2011(14):33-35. LIU F J, SONG Y, LI J, et al. Comparison of Chinese cabbage cultivars (lines) cultivated in autumn[J]. Journal of Changjiang vegetables, 2011 (14): 33-35 (in Chinese with English abstract).
- [2] 陈登金,曹晓婕,周瑞春,等. 夏季抗病耐热大棵小白菜品种比试验[J]. 长江蔬菜,2009(9):42-43. CHEN D J, CAO X J, ZHOU R C, et al. Comparison test of Chinese cabbage varieties in resistance to diseases and heat in summer[J]. Journal of Changjiang vegetables, 2009(9): 42-43 (in Chinese).
- [3] 白会超,何声团,何由国,等. 海南夏季栽培小白菜品种比较试验[J]. 热带农业科学,2018,38(12): 53-55. BAI H C, HE S T, HE Y G, et al. Comparison trial of Chinese cabbage varieties in summer in Hainan[J]. Chinese journal of tropical agriculture, 2018, 38 (12): 53-55 (in Chinese with English abstract).
- [4] 刘照坤,杨雪梅,韩建军,等. 夏季耐热小白菜品种比较研究[J]. 长江蔬菜,2019(4): 51-53. LIU Z K, YANG X M, HAN J J, et al. Comparative study on different heat-tolerance Chinese cabbage cultivars in summer[J]. Journal of Changjiang vegetables, 2019(4): 51-53(in Chinese with English abstract).
- [5] 苏小俊,袁希汉,庄勇,等. 耐热不结球小白菜新品种——热抗青[J]. 江苏农业学报,2000,16(3): 192. SU X J, YUAN X H, ZHUANG Y, et al. A new nonheading Chinese cabbage variety with heat tolerance: Rekangqing[J]. Journal of Jiangsu agricultural science, 2000, 16(3): 192(in Chinese).
- [6] 邵贵荣,陈文辉,方淑桂,等. 耐热小白菜新品种夏绿妃[J]. 中国蔬菜,2010(17): 31. SHAO G R, CHEN W H, FANG S G, et al. Breeding of a new heat-resistant Chinese cabbage cultivar Xialufei[J]. China vegetables, 2010(17): 31(in Chinese).
- [7] 邱海荣,章洪娟. 耐热小白菜新品种青梗 316 的选育[J]. 现代农业科技,2015(12):106. QIU H R, ZHANG H J. Breeding of Qinggeng 316, a novel Chinese cabbage with tolerance to heat [J]. Modern agricultural science and technology, 2015 (12): 106(in Chinese).
- [8] 徐海,陈龙正,宋波,等. 耐热小白菜新品种东方 2 号的选育及速生栽培技术[J]. 上海蔬菜,2016(4): 12-13. XU H, CHEN L Z, SONG B, et al. Breeding of Dongfanghong 2, a heat-resistant Chinese cabbage cultivar, and the technology of its fast-growing cultivation[J]. Shanghai vegetables, 2016 (4): 12-13 (in Chinese).
- [9] 王若莺,徐溟,束哲蔚,等. 耐热小白菜新品种苏夏 2 号的选育[J]. 上海蔬菜,2018(1):10-12. WANG R Y, XU M, SU X W, et al. Breeding of Xiasu 2, a heat-resistant Chinese cabbage cultivar[J]. Shanghai vegetables, 2018(1): 10-12(in Chinese).
- [10] 杨阳,金业浒,李艳艳,等. 抗热小白菜新品种烤青的选育[J]. 长江蔬菜,2018(10): 55-56. YANG Y, JIN Y H, LI Y Y, et al. Breeding of Kaoqing, a heat-resistant Chinese cabbage cultivar[J]. Journal of Changjiang vegetables, 2018 (10): 55-56 (in Chinese with English abstract).
- [11] 杨阳,李艳艳,司聪聪,等. 抗热白梗小白菜新品种暑热的选育[J]. 长江蔬菜,2020(4): 61-64. YANG Y, LI Y Y, SI C C, et al. Breeding of Shure, a new heat-resistant white stalk Chinese cabbage cultivar[J]. Journal of Changjiang vegetables, 2020(4): 61-64(in Chinese with English abstract).
- [12] 刘志新,李慧,姚培杰,等. 十三个不结球白菜杂交组合的比较试验及耐热性鉴定[J]. 南方农业,2021,15(1): 22-26. LIU Z X, LI H, YAO P J, et al. Comparison test and heat tolerance identification of thirteen non-heading Chinese cabbage hybrid combinations[J]. South China agriculture, 2021, 15(1): 22-26 (in Chinese with English abstract).
- [13] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2006. WANG X K. Principles and techniques of plant physiology and biochemistry experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006(in Chinese).
- [14] GECHEV T S, VAN BREUSEGEM F, STONE J M, et al. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death[J]. Bioessays, 2006, 28 (11): 1091-1101.
- [15] BAXTER A, MITTLER R, SUZUKI N. ROS as key players in plant stress signalling[J]. Journal of experimental botany, 2014, 65(5): 1229-1240.
- [16] CHAN Z L, YOKAWA K, KIM W Y, et al. ROS regulation during plant abiotic stress responses[J/OL]. Frontiers in plant science, 2016, 7: 1536[2021-05-06]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01536>.
- [17] WAHID A, GELANI S, ASHRAF M, et al. Heat tolerance in plants: an overview[J]. Environmental and experimental botany, 2007, 61(3): 199-223.
- [18] IBA K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance[J]. Annual review of plant biology, 2020, 53(1): 225-245.
- [19] BLUM A, EBERCON A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat 1[J]. Crop science, 1981, 21(1): 43-47.
- [20] GARG N, MANCHANDA G. ROS generation in plants: boon or bane? [J]. Plant biosystems, 2009, 143(1): 81-96.
- [21] DAS K, ROYCHOUDHURY A. Reactive oxygen species

- (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants[J/OL]. Frontiers in environmental science, 2014, 2: 53[2021-05-06].<https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00063>.
- [22] YOU J, CHAN Z. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants[J/OL]. Frontiers in plant science, 2015, 6: 1092[2021-05-06].<https://doi.org/fpls.2015.01092>.
- [23] 李进. 矮壮素对小白菜高温半致死温度及耐热性的影响[J]. 中国瓜菜, 2021, 34(1): 69-71. LI J. Effect of chlormequat chloride on high temperature semi-lethal temperature and heat resistance of Chinese cabbage[J]. Chinese cucurbits and vegetables, 2021, 34(1): 69-71(in Chinese with English abstract).

Genetic diversity and identification of heat tolerance of non-heading Chinese cabbages

YU Changchun, LUO Benfan, FU Qiang, XU Yuejin, WAN Zhengjie

College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University,
Wuhan 430070, China

Abstract The genetic diversity of 78 self-incompatible lines of non-heading Chinese cabbage collected in the author's laboratory was analyzed and the natural high temperature in summer in Wuhan was used to measure the heat injury indexes in order to screen non-heading Chinese cabbage varieties suitable for production under high temperature conditions in summer and to provide germplasm for breeding new heat-tolerant non-heading Chinese cabbage varieties. The results showed that Siji'aijiaotebaigengnaibaicai(Accession No. C72) had the lowest heat injury index among all the lines studied and its plants showed strong tolerance to high temperature. Compared with other lines, C72 had a higher enzymatic activity of both POD and SOD, lower content of malondialdehyde and lower relative conductivity, further indicating that C72 has stronger heat tolerance. It will provide a theoretical basis and germplasm for discovering and screening heat-tolerant non-heading cabbage resources in the Yangtze River Basin in summer, and guarantee the whole-year supply of non-heading Chinese cabbage in the Yangtze River Basin in China in summer.

Keywords non-heading Chinese cabbage; genetic diversity; heat tolerance; heat injury index

(责任编辑:张志钰)