

水稻苗期耐冷种质资源筛选及耐冷性综合评价

程露¹ 项阳¹ 逢洪波^{1,2*} 职铭阳¹ 赵宗耀¹ 金明¹ 陈强² 郑晓明³

(1. 沈阳师范大学 生命科学学院, 沈阳 110034;

2. 沈阳师范大学 实验教学中心, 沈阳 110034;

3. 中国农业科学院 作物科学研究所, 北京 100081)

摘要 为鉴定和筛选水稻苗期耐冷种质资源,采用主成分分析法,结合形态学和光合生理指标,对52份水稻种质资源的苗期耐冷性指标进行综合评价。结果表明,根据相关分析显示6个光合生理指标与形态学指标黄叶率之间均呈负相关关系;主成分分析将7个单项指标转换成3个相对独立的综合指标,累计贡献率达83.991%;根据耐冷性综合评价值(*D*),将52个品种划分为极强耐冷、强耐冷、中耐冷、弱耐冷及冷敏感5类,共筛选出‘东农4号’、‘合江4号’和‘津原85’3份苗期耐冷性极强的品种;回归分析表明利用该方程对供试材料进行耐冷性预测,其结果与*D*的结果相一致,表明此综合评价法可用于水稻苗期耐冷种质资源的筛选和综合鉴定评价。

关键词 水稻; 耐冷性; 主成分分析; 隶属函数

中图分类号 S511

文章编号 1007-4333(2022)02-0034-12

文献标志码 A

Screening and comprehensive evaluation of cold-tolerant germplasm resources at rice seedling stage

CHENG Lu¹, XIANG Yang¹, PANG Hongbo^{1,2*}, ZHI Mingyang¹, ZHAO Zongyao¹,
JIN Ming¹, CHEN Qiang², ZHENG Xiaoming³

(1. College of Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China;

2. Experimental Teaching Center, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China;

3. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract In order to identify and screen the cold-resistant of rice germplasm resources at the seeding stage, principal component analysis method combined with morphological and photosynthesis physiological indicators was used to comprehensively evaluate the cold tolerance of 52 rice germplasm resources at seedling stage. The results show that: According to the correlation analysis, there is a negative correlation between the 6 photosynthetic physiological indicators and the yellow leaf rate of morphological indicators; The principal component analysis result converts 7 individual indicators into three independent comprehensive indicators with a cumulative contribution rate of 83.991%; According to the comprehensive cold tolerance evaluation value (*D*), the 52 rice varieties are divided into 5 categories including extremely strong cold-resistant, strong cold-resistant, medium-resistant, weak-resistant and cold-sensitive. Rice varieties ‘Donong 4’, ‘Hejiang 4’ and ‘Jinyuan 85’ with strong cold tolerance at seedling stage were identified. The regression analysis results show that the equation can be used to predict the cold tolerance of the tested materials, and the result is consistent with the result of *D*, indicating that the comprehensive evaluation method can be used in the rice seeding stage screening and comprehensive appraisal of cold-tolerant germplasm resources.

Keywords rice; cold resistance; principal component analysis; membership function

收稿日期: 2022-02-22

基金项目: 国家自然科学基金(31970237);沈阳市中青年科技创新人才计划(RC190223);沈阳师范大学高层次人才项目(SSDBRJH2002012);大学生创新创业训练计划(S202010166012)

第一作者: 程露, 硕士研究生, E-mail: 1150999347@qq.com

通讯作者: 逢洪波, 副教授, 主要从事植物逆境分子机制研究, E-mail: panghongbo800206@163.com

水稻是亚洲人口的主粮之一^[1-2],在全球的粮食安全中占有重要地位。我国是水稻大国,据统计,约 90%的世界水稻种植和产量均集中在亚洲,其中我国水稻产量约占世界总产量的 45%。但水稻属喜温作物,其生长发育的各个阶段均易受到冷害威胁^[3-4]。在我国,平均每 4~5 年就会发生一次大面积冷害,引起水稻大幅度减产甚至绝收^[5-6]。故研究水稻耐冷机理、建立方便、精准的耐冷评价体系对于水稻耐冷品种的选育具有十分重要的意义。

近年来,研究人员已经针对水稻苗期耐冷种质资源的筛选做了很多工作。商水根等^[7]以苗期存活率为评价指标,从 1 542 份核心种质资源中筛选出 73 份耐冷性较强的材料;肖宇龙等^[8]以苗期叶片的赤枯度作为耐冷性评价指标,从江西省 23 份早稻中筛选出 8 份耐冷性较强的材料;蔡志欢等^[9]以死苗率作为评价指标,从 230 份水稻种质资源中筛选出 19 份耐冷性较强的材料;王代鑫等^[10]以抗坏血酸过氧化物酶活性等 4 个生理指标为评价指标,从吉林省 21 份晚熟水稻苗期种质资源中筛选出 5 份耐冷性较强的材料。这些研究结果表明,苗期叶片的赤枯度、存活率和死亡率等一系列生理指标均可用于苗期耐冷性评价。但耐冷性属于多个因素共同决定的数量性状,仅用某一个或几个评价指标具有一定的局限性,不能精准地鉴定出水稻的苗期耐冷性。故应同时采用形态学指标黄叶率和 6 个光合生理指标,分别是初始荧光(F_0)、最大荧光产量(F_m)、PS II 潜在活性(F_v/F_0)、原初光能转换效率(F_v/F_m)、叶绿素含量(SPAD)、叶片性能(PI),以期对水稻苗期耐冷性进行精准鉴定评价。

主成分分析是一种可将多个变量转化为少数几个综合指标(即主成分)的多元统计方法。每个综合指标可涵盖原始变量的绝大部分信息,有效避免了指标间存在的信息重叠^[11],经常与相关性分析、隶属函数法和回归分析等多种统计方法结合使用,目前已应用在水稻和小麦等多种农作物的耐盐和耐旱等抗逆性综合评价中^[12-15]。如马帅国等^[16]以 165 份粳稻为材料,以苗高、根长和 SPAD 值等 12 个形态学性状作为评价指标,通过主成分分析法、聚类分析和逐步回归分析对苗期耐盐性进行综合评价,筛选出 5 份耐盐性较强的材料;袁杰等^[17]以株高、根长和苗鲜重等 6 个形态学性状作为评价指标,通过相关性分析和主成分分析结合隶属函数法对 42 份水稻苗期耐盐性进行综合评价,筛选出 5 份耐盐性

较强的材料;孔宪旺等^[18]以 20 份优异水稻种质资源为材料,以苗高、根长和茎叶鲜重等 9 个形态学性状为评价指标,通过差异性显著分析等统计学方法,综合评价了苗期耐旱性,筛选出 3 份耐旱性较强的材料。目前,已对作物的一些抗逆性,如耐盐和耐旱等进行了综合评价,而对水稻苗期耐冷性的综合评价鲜见报道。本研究以 52 份水稻种质资源作为研究对象,采用人工低温胁迫法,测定其形态学指标黄叶率和 6 个光合生理指标,应用主成分分析、隶属函数法、聚类分析和回归分析等多种统计方法,对水稻苗期耐冷性进行综合鉴定评价,旨在建立更加精准的耐冷性综合评价体系,以为培育苗期耐冷品种提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

本试验所选用的 52 份水稻种质资源由中国农业科学院作物科学研究所提供,分别来自中国、菲律宾、马来西亚、斯里兰卡及日本 5 个国家。具体品种信息,见表 1。

1.2 幼苗培养

种子置于 50 °C 72 h 打破休眠后,光照气候培养箱中培养(30 °C,光照 12 h/黑暗 12 h,光强 12 000 lx)至三叶一心后,选取健壮、长势较一致的 3 盆苗进行试验。试验分为 3 组,对照组(CK):放置于人工气候培养箱(30 °C,光照 12 h/黑暗 12 h,光强 12 000 lx)培养;试验 A 组:放置于人工气候培养箱(10 °C,光照 12 h/黑暗 12 h,光强 12 000 lx)进行 48 h 低温胁迫后测定生理指标;试验 B 组:放置于人工气候培养箱(4 °C,光照 12 h/黑暗 12 h,光强 12 000 lx)进行 24 h 低温胁迫后测定黄叶率。

1.3 生理指标的测定

参考 Zhao 等^[19]的研究,选取低温胁迫前与低温胁迫后 2 个时间点进行叶绿素含量和叶绿素荧光参数测定,测定位置选取水稻第二叶的中上部,进行 3 次生物学重复取平均值。

1.3.1 叶绿素含量的测定

采用 SPAD-502 Plus 叶绿素仪(浙江托普仪器公司)进行测定。

1.3.2 叶绿素荧光参数的测定

使用英国 Hansatech 公司的 pocket PEA 便携式荧光仪测定 F_0 、 F_m 、 F_v/F_0 、 F_v/F_m 和 PI 指标。测定前水稻叶片进行暗适应 30 min。

表1 用于本试验水稻品种详细信息

Table 1 Details of rice varieties used in this study

水稻材料 Rice material	亚种 Subspecies	国家 Country	水稻材料 Rice material	亚种 Subspecies	国家 Country
IRIS 313-11859	籼稻	中国	南粳 37 Nanjing 37	粳稻	中国
IRIS 313-11866	籼稻	中国	扬稻 5 号 Yangdao 5	籼稻	中国
IRIS 313-11882	籼稻	中国	津原 85 Jinyuan 85	粳稻	中国
IRIS 313-11884	籼稻	中国	沈农 129 Shennong 129	粳稻	中国
IRIS 313-11885	籼稻	中国	北稻 1 号 Beidao 1	粳稻	中国
IRIS 313-11887	籼稻	菲律宾	富禾 99 Fuhe 99	粳稻	中国
IRIS 313-11911	籼稻	中国	开粳 2 号 Kaijing 2	粳稻	中国
IRIS 313-11929	粳稻	菲律宾	科砂 1 号 Kesha 1	籼稻	中国
IRIS 313-11951	籼稻	中国	临籼 22 Linxian 22	籼稻	中国
IRIS 313-11968	籼稻	中国	特优 2035 Teyou 2035	籼稻	中国
IRIS 313-11986	籼稻	中国	盐粳 48 Yanjing 48	粳稻	中国
IRIS 313-12012	籼稻	中国	豫籼 9 号 Yuxian 9	籼稻	中国
IRIS 313-12135	籼稻	马来西亚	元丰 6 号 Yuanfeng 6	粳稻	中国
IRIS 313-12236	籼稻	中国	BG90-2	籼稻	斯里兰卡
IRIS 313-12273	籼稻	中国	东农 4 号 Dongnong 4	粳稻	中国
IRIS 313-15901	籼稻	菲律宾	广场 13 Guangchang 13	籼稻	中国
马来红 Malaihong	籼稻	马来西亚	广场矮 3784 Guangchangai 3784	籼稻	中国
泸红早 1 号 Luhongzao 1	籼稻	中国	龙粳 14 Longjing 14	粳稻	中国
籼小占 Xianxiaozhan	籼稻	中国	胜优 2 号 Shengyou 2	籼稻	中国

表 1(续)

水稻材料 Rice material	亚种 Subspecies	国家 Country	水稻材料 Rice material	亚种 Subspecies	国家 Country
珍珠矮 11 Zhenzhuai 11	籼稻	中国	特青 Teqing	籼稻	中国
双桂 1 号 Shuanggui 1	籼稻	中国	特三矮 2 Tesanai 2	籼稻	中国
中花 8 号 Zhonghua 8	粳稻	中国	五优稻 1 号 Wuyoudao 1	粳稻	中国
合江 4 号 Hejiang 4	粳稻	中国	镇稻 2 号 Zhendao 2	粳稻	中国
藤系 138 Tengxi 138	粳稻	中国	镇籼 272 Zhenxian 272	籼稻	中国
京稻 21 Jingdao 21	粳稻	中国	镇籼 96 Zhenxian 96	籼稻	中国
京花 103 Jinghua 103	粳稻	中国	石狩白毛 Shishoubaimao	粳稻	日本

1.4 形态指标的测定

测定 4 ℃ 低温胁迫 24 h 后幼苗黄叶的数量, 叶片发黄超过一半以上则记为黄叶, 3 次生物学重复。

$$\text{黄叶率} = \frac{\text{叶片黄化数量}}{\text{叶片总数量}} \times 100\%$$

1.5 数据处理

使用 Excel 2010 计算原始数据均值, 利用 SPSS 26.0 软件进行相关性分析、主成分分析、聚类分析以及逐步回归分析, 相关指标计算公式和方法参考付丽君等^[20]的方法。

1.5.1 耐冷系数

对于所测得的原始数据进行处理, 对照组所测 3 次生物学重复进行平均值计算, 取其平均值; 处理组同对照组, 取其平均值。

$$\text{单项耐冷系数(CTC)} = \frac{T}{CK} \quad (1)$$

式中: CTC 为 52 个水稻品种其 7 个单项指标的耐冷系数, T 为试验组中各单项指标低温胁迫后 3 次测定值的平均值, CK 为对照组中各单项指标 30 ℃ 3 次测定值的平均值。

1.5.2 综合指标隶属函数值($U(X_j)$)

$$U(X_j) = \frac{X_j - X_{min}}{X_{max} - X_{min}} \quad (j = 1, 2, \dots, n) \quad (2)$$

式中: X_j 、 X_{min} 和 X_{max} 依次表示每个试验材料中第 j 个综合指标值、最小值和最大值。

1.5.3 权重(W_j)

$$W_j = \frac{P_j}{\sum_{j=1}^n P_j} \quad (j = 1, 2, \dots, n) \quad (3)$$

式中: P_j 为所有试验材料第 j 个综合指标的贡献率。

1.5.4 耐冷性综合评价值(D)

$$D = \sum_{j=1}^n [U(X_j) \times W_j] \quad (j = 1, 2, \dots, n) \quad (4)$$

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下各指标的相关性分析

由表 2 可知, 在低温胁迫下 52 份水稻种质资源 6 个光合生理指标与形态学指标黄叶率之间均呈负相关关系, 其中 F_o 、 F_v/F_o 、SPAD 与黄叶率呈显著负相关, F_m 与黄叶绿呈极显著负相关, 且相关系数最大, 达到 -0.416 ; F_m 与 F_o 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、PI 及黄叶率之间均呈极显著正相关, 其中与 F_v/F_m 之间的相关系数最大, 为 0.823 。此外, 这些指标之间均呈显著相关关系, 导致信息重叠, 无法通过这些指标准确的鉴定出水稻的苗期耐冷性, 故本研究通过主成分分析法对水稻的耐冷性进行综合评价。

表2 低温胁迫下水稻苗期各指标的相关系数矩阵

Table 2 Correlation coefficient matrix of rice seedling indicators under low temperature stress

指标 Index	F_o	F_m	F_v/F_o	F_v/F_m	SPAD	叶片性能 PI	黄叶率 Yellow leaf rate
F_o	1.000						
F_m	0.462**	1.000					
F_v/F_o	0.044	0.800**	1.000				
F_v/F_m	0.215	0.823**	0.895**	1.000			
SPAD	0.285*	0.018	-0.078	-0.061	1.000		
PI	-0.154	0.443**	0.723**	0.498**	-0.044	1.000	
黄叶率	-0.319*	-0.416**	-0.317*	-0.205	-0.326*	-0.241	1.000

注: ** 表示极显著相关($P < 0.01$), * 表示显著相关($P < 0.05$)。

Note: ** means extremely significant correlation ($P < 0.01$), * means significant correlation ($P < 0.05$).

2.2 主成分分析

由表3可知,主成分1、2、3的特征值依次为3.338、1.602和0.939,均 >0.90 ,且前3个主成分的贡献率分别是47.686%、22.892%和13.412%,

累计贡献率高达83.991%,包含了绝大多数信息。因此,本研究选取前3个主成分(CI_1 、 CI_2 和 CI_3),即将最初的7个指标转换成3个相对独立的综合指标对苗期耐冷性进行综合评价。

表3 各综合指标的特征值及贡献率

Table 3 Characteristic value and contribution rate of each comprehensive index

主成分 Principal component	特征值 Eigen-value	贡献率/% Contribution rate	累计贡献率/% Accumulative contribution rate
CI_1	3.338	47.686	47.686
CI_2	1.602	22.892	70.579
CI_3	0.939	13.412	83.991
CI_4	0.596	8.510	92.501
CI_5	0.363	5.191	97.692
CI_6	0.118	1.689	99.380
CI_7	0.043	0.620	100.000

由表4可知,在主成分1(CI_1)中, F_m 、 F_v/F_o 和 F_v/F_m 为主要作用因子,其因子载荷分别为0.917、

0.940、和0.899;主成分2(CI_2)中, F_o 、SPAD和黄叶率为主要作用因子,其因子载荷分别为0.743、

表4 各综合指标值的因子载荷矩阵

Table 4 Factor loading matrix of each comprehensive index value

主成分 Principal component	F_o	F_m	F_v/F_o	F_v/F_m	SPAD	叶片性能 PI	黄叶率 Yellow leaf rate
CI_1	0.309	0.917	0.940	0.899	0.045	0.685	-0.489
CI_2	0.743	0.128	-0.263	-0.151	0.720	-0.375	-0.533
CI_3	0.492	0.255	-0.059	0.213	-0.477	-0.451	0.390

0.720 和 -0.533; 而主成分 3(CI_3) 中, F_o 、SPAD 和 PI 为主要作用因子, 其因子载荷分别为 0.492、-0.477 和 -0.451。

2.3 水稻苗期耐冷性综合评价

由表 5 可知, 对于同一个综合指标 CI_1 而言, ‘东农 4 号’在 10 °C 低温胁迫下的综合指标值(CI_1) 最大, 达到 3.598, 且对应的隶属函数值 $U_1 = 1$, 说

明如果将主成分 1 作为苗期耐冷性评价指标, ‘东农 4 号’品种的耐冷性最强; 而 ‘IRIS 313-15901’ CI_1 值最小, 且 U_1 值为 0, 说明其耐冷性最差。根据各综合指标的贡献率结合公式(3), 求出 3 个综合指标权重 W 分别为 0.568、0.273 和 0.160, 说明主成分 1 所占的权重较大。根据公式(4), 求出各品种的耐冷性综合评价价值(D) (表 5), 且 D 与耐冷性成显著正相关。

表 5 低温胁迫下 52 个水稻品种的综合指标值(CI)及其权重(W)、隶属函数值(U)、耐冷性评价价值(D)及排序
Table 5 Comprehensive index value (CI) and its weight (W), membership function value (U), cold tolerance evaluation (D) and ranking of 52 rice varieties under low temperature stress

水稻品种 Rice variety	CI_1	CI_2	CI_3	U_1	U_2	U_3	D	排序 Rank
IRIS 313-11859	1.285	0.142	0.903	0.339	0.113	0.611	0.321	47
IRIS 313-11866	1.739	0.135	0.892	0.469	0.109	0.601	0.392	43
IRIS 313-11882	1.637	0.823	1.054	0.439	0.523	0.749	0.512	25
IRIS 313-11884	0.934	0.079	1.037	0.239	0.075	0.733	0.273	48
IRIS 313-11885	1.230	0.639	0.875	0.323	0.412	0.585	0.390	44
IRIS 313-11887	1.217	0.881	0.847	0.319	0.558	0.559	0.423	41
IRIS 313-11911	1.459	0.451	0.955	0.389	0.299	0.658	0.408	42
IRIS 313-11929	1.571	0.479	1.105	0.421	0.316	0.796	0.452	32
IRIS 313-11951	1.658	0.664	1.328	0.446	0.427	1.000	0.530	23
IRIS 313-11968	1.318	0.831	1.030	0.348	0.528	0.727	0.458	31
IRIS 313-11986	1.600	0.550	1.064	0.429	0.359	0.758	0.463	30
IRIS 313-12012	1.517	0.548	0.936	0.405	0.358	0.640	0.430	39
IRIS 313-12135	1.293	0.949	0.870	0.341	0.599	0.580	0.450	33
IRIS 313-12236	1.760	0.937	0.785	0.475	0.592	0.502	0.512	26
IRIS 313-12273	1.681	0.723	0.888	0.452	0.463	0.597	0.479	29
IRIS 313-15901	0.099	0.300	0.663	0.000	0.208	0.390	0.119	51
马来红 Malaihong	1.484	0.691	0.785	0.396	0.443	0.502	0.426	40
泸红早 1 号 Luhongzao 1	0.376	0.593	0.410	0.079	0.385	0.159	0.175	50
籼小占 Xianxiaozhan	0.415	0.803	0.265	0.090	0.511	0.026	0.195	49
珍珠矮 11 Zhenzhuai 11	1.778	0.312	0.918	0.480	0.215	0.624	0.431	38
双桂 1 号 Shuanggui 1	2.186	0.726	0.863	0.596	0.464	0.574	0.557	20
中花 8 号 Zhonghua 8	1.037	1.305	0.333	0.268	0.813	0.088	0.388	45
合江 4 号 Hejiang 4	2.233	1.523	1.094	0.610	0.944	0.786	0.730	3

表5(续)

水稻品种 Rice variety	CI_1	CI_2	CI_3	U_1	U_2	U_3	D	排序 Rank
藤系 138 Tengxi 138	1.913	1.606	0.967	0.518	0.994	0.669	0.673	7
京稻 21 Jingdao 21	1.973	1.396	0.850	0.535	0.868	0.562	0.631	11
京花 103 Jinghua 103	2.106	1.477	0.550	0.573	0.917	0.287	0.622	16
南粳 37 Nanjing 37	2.143	1.125	0.701	0.584	0.704	0.426	0.592	18
扬稻 5号 Yangdao 5	1.858	0.958	0.804	0.503	0.604	0.520	0.534	22
津原 85 Jinyuan 85	2.875	1.471	0.595	0.793	0.913	0.328	0.752	2
沈农 129 Shennong 129	2.682	1.119	0.565	0.738	0.701	0.301	0.659	9
北稻 1号 Beidao 1	2.025	1.616	0.513	0.550	1.000	0.253	0.626	15
富禾 99 Fuhe 99	2.646	0.848	0.623	0.728	0.538	0.354	0.617	17
开粳 2号 Kaijing 2	2.361	1.076	0.933	0.646	0.675	0.638	0.654	10
科砂 1号 Kesha 1	2.260	-0.046	0.861	0.617	0.000	0.572	0.442	34
临粳 22 Linxian 22	1.688	0.027	0.655	0.454	0.044	0.383	0.331	46
特优 2035 Teyou 2035	1.502	0.477	1.111	0.401	0.315	0.801	0.442	35
盐粳 48 Yanjing 18	2.030	0.401	0.864	0.552	0.269	0.575	0.479	28
豫籼 9号 Yuxian 9	2.178	0.440	1.118	0.594	0.292	0.808	0.547	21
元丰 6号 Yuanfeng 6	2.783	1.217	0.588	0.767	0.760	0.322	0.695	5
BG90-2	1.574	0.722	0.697	0.422	0.462	0.422	0.433	37
东农 4号 Dongnong 4	3.598	1.021	0.490	1.000	0.642	0.232	0.780	1

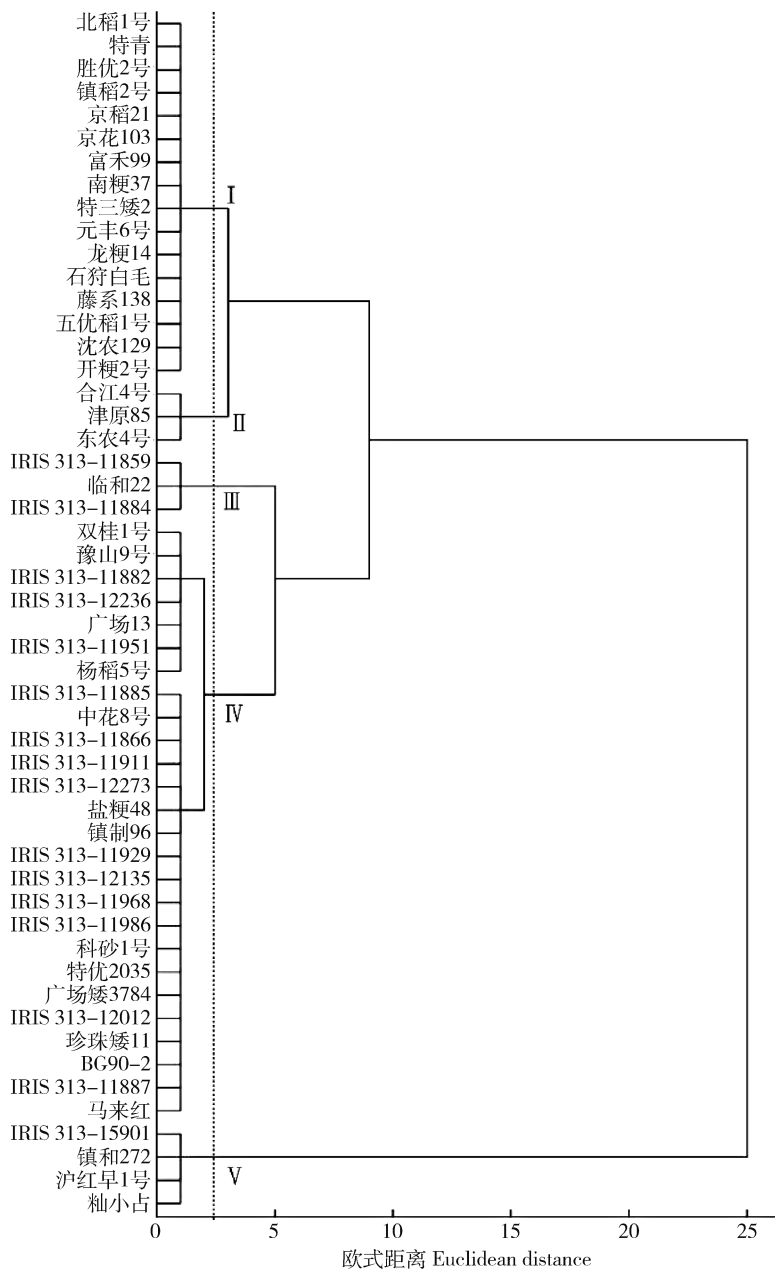
表 5(续)

水稻品种 Rice variety	CI ₁	CI ₂	CI ₃	U ₁	U ₂	U ₃	D	排序 Rank
广场 13 Guangchang 13	2.365	0.569	0.545	0.648	0.370	0.282	0.514	24
广场矮 3784 Guangchangai 3784	1.722	0.534	0.793	0.464	0.349	0.509	0.440	36
龙粳 14 Longjing 14	2.708	1.151	0.761	0.746	0.720	0.480	0.697	4
胜优 2 号 Shengyou 2	2.208	1.184	0.797	0.603	0.740	0.514	0.627	13
特青 Teqing	2.220	1.547	0.375	0.606	0.958	0.126	0.626	14
特三矮 2 Tesanai 2	1.777	1.262	0.946	0.480	0.787	0.650	0.591	19
五优稻 1 号 Wuyoudao 1	2.514	1.496	0.414	0.690	0.928	0.162	0.671	8
镇稻 2 号 Zhendao 2	2.609	1.098	0.456	0.717	0.688	0.200	0.627	12
镇粳 272 Zhenxian 272	0.297	0.198	0.527	0.057	0.147	0.266	0.115	52
镇粳 96 Zhenxian 96	1.899	0.582	0.843	0.515	0.378	0.555	0.484	27
石狩白毛 Shishoubaimao	2.829	1.443	0.237	0.780	0.896	0.000	0.688	6
权重 Weight	0.568	0.273	0.160	—	—	—	—	—

2.4 聚类分析

根据 D , 将 52 份水稻品种进行耐冷性划分为 5 类, 见图 1, 分别为极强耐冷、强耐冷、中耐冷, 弱耐冷及冷敏感。极强耐冷组中是‘合江 4 号’、‘津原 85’和‘东农 4 号’ 3 份材料; 强耐冷分组中有 16 份材料, 分别是‘北稻 1 号’、‘特青’、‘胜优 2 号’、‘镇稻 2 号’、‘京稻 21’、‘京花 103’、‘富禾 99’、‘南粳 37’、‘特三矮 2’、‘元丰 6 号’、‘龙粳 14’、‘石狩白毛’、‘藤系 138’、‘五优稻 1 号’、‘沈农 129’和‘开粳 2 号’; 中耐冷组有 26 个品种, 分别是‘双桂 1 号’、‘豫粳 9 号’、‘IRIS 313-11882’、‘IRIS 313-12236’、

‘广场 13’、‘IRIS 313-11951’、‘扬稻 5 号’、‘IRIS 313-11885’、‘中花 8 号’、‘IRIS 313-11866’、‘IRIS 313-11911’、‘IRIS 313-12273’、‘盐粳 48’、‘镇粳 96’、‘IRIS 313-11929’、‘IRIS 313-12135’、‘IRIS 313-11968’、‘IRIS 313-11986’、‘科砂 1 号’、‘特优 2035’、‘广场矮 3784’、‘IRIS 313-12012’、‘珍珠矮 11’、‘BG90-2’、‘IRIS 313-11887’和‘马来红’; 弱冷寒组有 3 个品种, 分别是‘IRIS 313-11859’、‘临粳 22’和‘IRIS 313-11884’; 冷敏感组有 4 份材料, 分别是‘IRIS 313-15901’、‘镇稻 272’、‘泸红早 1 号’和‘粳小占’。



I, 强耐冷; II, 极强耐冷; III, 弱耐冷; IV, 中耐冷; V, 冷敏感。虚线表示欧式距离 2.5。

I, strong cold tolerance; II, extremely strong cold tolerance; III, weak cold tolerance;

IV, moderate cold tolerance; V, cold sensitivity. The dotted line represents Euclidean distance 2.5.

图 1 基于 D 的 52 份水稻种质资源的耐寒性聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis of cold tolerance of 52 rice germplasm resources based on D value

2.5 回归模型建立与苗期耐冷性主要评价指标的筛选

为了进一步确定水稻苗期耐冷性评价指标,以 D 作为因变量 y , 7 个相关指标作为自变量 x , 进行了逐步回归分析, 回归方程如下:

$$Y = -0.043 + 0.244X_1 + 0.208X_2 + 0.100X_3 + 0.152X_4 + 0.123X_5 - 0.016X_6 - 0.110X_7。$$

式中: X_{1-7} 依次代表 F_o 、 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、SPAD、PI 和黄叶率, 方程判定系数 $R^2 = 1$, $P = 0$, 7 个自变量几乎可决定 D 的全部变异, 由此可见。这 7 个单项指标与水稻苗期耐冷性显著相关, 其中 F_o 、 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 和 SPAD 共 5 个指标与其耐冷性呈显著正相关, 叶片性能 PI 和黄叶率与其耐冷性呈显著负相关, 可以作为水稻苗期耐冷性的主要评价指标。

3 讨论

3.1 水稻苗期耐冷指标筛选

植物受逆境胁迫的影响与逆境种类、逆境强度和持续时间等多种因素紧密相连,且与植物种类有关^[21-23]。研究表明,低温胁迫对水稻的外部形态特征和生理生化指标均会产生影响^[24-28]。形态学指标是一种直接的诊断工具,可以直接反映植物受低温损伤的程度^[29-30]。相对于形态学指标而言,生理学指标可进一步反映植物在逆境条件下体内各代谢过程的变化^[31-32],水稻在低温胁迫下会减少叶绿素合成,故叶绿素含量和叶绿素荧光相关的参数通常被作为判断植物耐受逆境胁迫能力的重要指标^[25]。本研究选用形态学指标黄叶率并在此基础上结合 F_o 、 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、SPAD 及 PI 6 个光合生理指标作为水稻苗期耐寒性的评价指标。

3.2 水稻苗期耐冷性综合评价

植物耐冷特性是一个由多种因素共同调节的复杂机制^[33],仅用单一的某个指标评价植物的耐冷性具有一定的局限性,可能导致结果出现误差。多个评价指标可以从不同方面反映出耐冷性,但多个指标间往往存在一定的相关性,数据出现信息重叠,导致难以正确判断各个指标对于某一性状的影响。应用主成分分析法,可有效消除各项指标之间的相关性,且指标间相关系数越大,分析效果越好。此外,主成分分析可将多个指标转换成相对独立的几个综合指标,且按照方差大小依次排序,通常选择累计贡献率 $\geq 80\%$ 的主成分,包含绝大部分原始数据信息。如王丽艳等^[34]以 11 份水稻种质资源的种子萌发和幼苗生长指标为耐冷评价依据,唐双勤等^[35]以供试的 41 份水稻种质资源芽期的 7 个单项指标为耐冷评价依据,通过主成分分析、聚类分析并结合隶属函数数值方法对其进行耐冷性综合评价。目前已有的主成分分析研究中,有关水稻苗期耐冷性的研究相对较少,并且由于生理指标的评定工作量大且繁琐,因此绝大多数研究均采用形态学指标,只有少数研究采用生理学指标。本研究选用了形态学指标黄叶率,并在此基础上添加了叶绿素含量和叶绿素荧光参数作为生理指标,以上生理指标可直接通过仪器测定,简便易行,工作量小。已有研究表明,光合作用可反映植物在逆境条件下自身的生长发育状态,叶绿素含量和叶绿素荧光参数的大小可作为植物耐受逆境的生理指标^[36]。

3.3 不同水稻品种间的耐冷性差异

本试验基于耐冷性综合评价值(D)将 52 份种质资源聚类分为 5 个耐冷等级。其中极强耐冷品种 3 个,均属于粳稻;强耐冷品种共 16 份,13 份是粳稻;弱耐冷的 3 个品种与冷敏感 4 个品种均为籼稻。从结果上看,粳稻的耐冷性普遍强于籼稻,这也与以往的研究结果相一致^[29,37]。3 个极强耐冷品种‘合江 4 号’、‘东农 4 号’和‘津原 85’是来自黑龙江省和天津市培育成的品种。同时本研究中有 3 份籼稻属于强耐冷品种,说明籼稻中也存在较好的耐冷资源,这 3 份材料是来自广东省的‘特青’、‘胜优 2 号’和‘特三矮 2’。广东省位于中国南部,属亚热带和热带季风气候,其北靠南岭山脉,南临南海,稻区辽阔,从低海拔的潮田到海拔千米的山区梯田都有水稻种植,且很多地区是双季稻。且这 3 个籼稻品种是早籼稻。这也反映出水稻品种的耐冷性不仅仅是由其自身遗传因素所决定的,还可能与当地种植的习俗有关。

4 结论

本研究选用形态学性状指标黄叶率,并在此基础上结合 F_o 、 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、SPAD 及 PI 等 6 个光合生理指标,对 52 份水稻种质资源进行苗期耐冷性鉴定,通过相关性分析,表明低温胁迫下 7 个单项指标之间存在不同程度的相关性;通过主成分分析,将 7 个单项指标转换成 3 个相对独立的综合指标;并结合隶属函数法得到各主成分的权重及 52 个水稻品种耐冷特性的综合评价值(D);通过聚类分析将 52 份水稻种质资源划分成 5 个耐冷等级;基于 D 筛选出 3 份极强耐冷种质资源,分别为‘东农 4 号’、‘合江 4 号’、‘津原 85’;通过回归分析对水稻苗期耐冷性进行预测,其结果与隶属函数法所得结果相吻合,综合主成分分析和回归分析筛选出的这 7 个指标可以作为鉴定水稻苗期耐冷特性的可靠指标。

参考文献 References

- [1] Fairhurst T H, Dobermann A. Rice in the global food supply [J]. *Better Crops International*, 2002, 16(3): 3-6
- [2] Zhang Q, Chen Q H, Wang S L, Hong Y H, Wang Z L. Rice and cold stress: Methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci [J]. *Rice*, 2014, 7(24): 1-12

- [3] 张希瑞. 水稻孕穗期花药耐寒生理响应及转录组分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019
Zhang X R. The Analysis of physiological response and transcriptome of rice anthers under freezing stress at booting stage[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019 (in Chinese)
- [4] 赵黎明, 顾春梅, 王士强, 萧长亮, 王丽萍, 王贺, 那永光, 解保胜. 低温下水稻 SPAD 值与产量构成变化及化防效果分析[J]. 北方水稻, 2019, 49(5): 1-4
Zhao L M, Gu C M, Wang S Q, Xiao C L, Wang L P, Wang H, Na Y G, Xie B S. Change of SPAD value and yield composition of rice and analysis of chemical control under low temperature[J]. *North Rice*, 2019, 49(5): 1-4 (in Chinese)
- [5] Sthapit B R, Witcombe J R. Inheritance of tolerance to chilling stress in rice during germination and plumule greening[J]. *Crop Science*, 1998, 38(3): 660-665
- [6] 高益波, 景元书, 刘明璐, 景桔湜. 抽穗扬花期低温强度对水稻生长发育的影响与模拟[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(5): 55-57
Gao Y B, Jing Y S, Liu M L, Jing Z H. Influence and simulation of cold damage degree on rice growth during heading and flowering stage[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(5): 53-57 (in Chinese)
- [7] 商水根, 邱先进, 杨隆维, 邢丹英, 徐建龙. 水稻核心种质资源的苗期耐冷性鉴定与评价[J]. 分子植物育种, 2020, 18(9): 3068-3078
Shang S G, Qiu X J, Yang L W, Xing D Y, Xu J L. Identification and evaluation of cold tolerance of rice core germplasm resources at seedling stage[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(9): 3068-3078 (in Chinese)
- [8] 肖宇龙, 钟家有, 胡启锋, 林洪鑫, 雷建国, 王智权, 王晓玲, 余传元. 江西省早稻主栽品种可控条件下芽期耐冷性鉴定[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(2): 243-248
Xiao Y L, Zhong J Y, Hu Q F, Lin H X, Lei J G, Wang Z Q, Wang X L, Yu C Y. Identification of major cultivated early rice varieties in Jiangxi Province for cold tolerance at bud stage under controllable conditions[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2014, 36(2): 243-248 (in Chinese)
- [9] 蔡志欢. 水稻苗期低温种质资源筛选及低温调控[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2018
Cai Z H. Screening of low temperature germplasm resources at rice seedling stage and low temperature regulation [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2018 (in Chinese)
- [10] 王代鑫, 徐升, 程哲, 张振宇, 李海波. 吉林省中晚熟水稻品种耐冷性鉴定结果与分析[J]. 中国稻米, 2020, 26(3): 48-55
Wang D X, Xu S, Cheng Z, Zhang Z Y, Li H B. Identification of cold tolerance of middle-late maturing rice varieties in Jilin Province[J]. *China Rice*, 2020, 26(3): 48-53 (in Chinese)
- [11] 迟国泰, 曹婷婷, 张昆. 基于相关主成分分析的人的全面发展评价指标体系的构建[J]. 系统工程理论与实践, 2012, 32(1): 111-119
Chi G T, Cao T T, Zhang K. The establishment of human all-around development evaluation indicators system for people based on correlation principal component analysis[J]. *Systems Engineering-Theory & Practice*, 2013, 32(1): 112-119 (in Chinese)
- [12] 白志英, 李存东, 孙红春, 赵金锋. 小麦代换系抗旱生理指标的主成分分析及综合评价[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4264-4272
Bai Z Y, Li C D, Sun H C, Zhao J F. Principal component analysis and comprehensive evaluation on physiological indices of drought resistance in wheat substitution [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(12): 4264-4272 (in Chinese)
- [13] 尹启琳, 郭丁预, 姜倩倩, 张立培, 陈磊, 赵婧, 宋建成, 赵吉强. 干旱胁迫对不同小麦品种苗期抗旱生理指标的影响[J]. 烟台大学学报: 自然科学与工程版, 2020, 33(3): 289-297
Yin Q L, Guo D Y, Jiang Q Q, Zhang L P, Chen L, Zhao J, Song J C, Zhao J Q. Effects of drought stress on drought tolerant physiological indexes of different wheat varieties at seedling stage [J]. *Journal of Yantai University: Natural Science and Engineering Edition*, 2020, 33(3): 289-297 (in Chinese)
- [14] 高旭, 张志仙, 朱长志, 檀国印, 何道根. 青花菜种质资源苗期耐涝性综合鉴定及评价[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2018, 46(4): 117-127
Gao X, Zhang Z X, Zhu C Z, Tan G Y, He D G. Comprehensive identification and evaluation of waterlogging tolerance during seedling stage of broccoli germplasms [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition*, 2018, 46(4): 117-127 (in Chinese)
- [15] 景宇鹏, 李跃进, 蔺亚莉, 李焕春, 李秀萍, 莎娜, 栗燕芳. 玉米耐 Na_2CO_3 胁迫的生理响应及耐盐碱性综合评价[J]. 中国土壤与肥料, 2019, (5): 179-186
Jing Y P, Li Y J, Lin Y L, Li H C, Li X P, Sha N, Li Y F. Comprehensive evaluation of physiological response and saline-alkali resistance of maize to Na_2CO_3 stress [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2019, (5): 179-186 (in Chinese)
- [16] 马帅国, 田蓉蓉, 胡慧, 吕建东, 田蕾, 罗成科, 张银霞, 李培富. 粳稻种质资源苗期耐盐性综合评价与筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(5): 1089-1101
Ma S G, Tian R R, Hu H, Lv J D, Tian L, Luo C K, Zhang Y X, Li P F. Comprehensive evaluation and selection of rice (*Oryza sativa Japonica*) germplasm for saline tolerance at seedling stage[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21(5): 1089-1101 (in Chinese)
- [17] 袁杰, 王学强, 贾春平, 张燕红, 赵志强, 王奉斌, 李自超. 水稻苗期耐盐性的综合鉴定及评价[J]. 分子植物育种, 2020, 18(19): 6474-6482
Yuan J, Wang X Q, Jia C P, Zhang Y H, Zhao Z Q, Wang F B, Li Z C. Comprehensive identification and evaluation of rice salt tolerance at seedling stage[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(19): 6474-6482 (in Chinese)
- [18] 孔宪旺, 孙明茂. 水稻不同种质苗期耐旱性综合评价[J]. 江西农业学报, 2019, 31(4): 1-7
Kong X W, Sun M M. Comprehensive evaluation of drought tolerance of different rice germplasms at seedling stage[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2019, 31(4): 1-7 (in Chinese)
- [19] Zhao Y Q, Han Q H, Ding C B, Huang Y, Liao J Q, Chen

- T, Feng S L, Zhou L J, Zhang Z W, Chen Y E, Yuan S, Yuan M. Effect of low temperature on Chlorophyll II biosynthesis and chloroplast biogenesis of rice seedlings during greening[J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, [2020-02-19]. DOI: 10.3390/ijms21041390
- [20] 付丽军, 李聪晓, 苏胜宇, 李玉华, 周禹. 黄瓜苗期耐热种质筛选与耐热性评价体系构建[J]. *植物生理学报*, 2020, 56(7): 1593-1604
- Fu L J, Li C X, Su S Y, Li Y H, Zhou Y. Screening of cucumber germplasms in seedling stage and the construction of evaluation system for heat tolerance[J]. *Plant Physiology Journal*, 2020, 56(7): 1593-1604 (in Chinese)
- [21] 曾宪海, 安锋, 蔡明道, 陈俊明, 林位夫. 高渗胁迫后橡胶树萌发籽苗抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(1): 260-264
- Zeng X H, An F, Cai M D, Chen J M, Lin W F. Analysis of the principal component and the subordinate function on rubber seedling drought resistance under hypertonic solution stresses[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(1): 260-264 (in Chinese)
- [22] 张云, 林凡. 基于主成分分析的木麻黄抗旱性评价[J]. *江苏农业科学*, 2008, 36(5): 159-162
- Zhang Y, Lin F. Drought resistance evaluation of *Casuarina equisetifolia* based on principal component analysis[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2008, 36(5): 159-162 (in Chinese)
- [23] 张晓霞, 高永革, 严学兵, 王成章, 王彦华, 彭宝安. 紫花苜蓿抗热性鉴定与评价的研究进展[J]. *草业科学*, 2010, 27(2): 113-118
- Zhang X X, Gao Y G, Yan X B, Wang C Z, Wang Y H, Peng B A. Research progress on heat resistance identification and evaluation in *Alfalfa* [J]. *Pratacultural Science*, 2010, 27(2): 113-118 (in Chinese)
- [24] Hasanuzzaman M, Nahar K, Alam M M, Roychowdhury R, Fujita M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(5): 9643-9684
- [25] Zhang Q, Chen Q H, Wang S L, Hong Y H, Wang Z L. Rice and cold stress; Methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci[J]. *Rice*, 2014, 7(1): 1-12
- [26] Los D A, Murata N. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes*, 2004, 1666(1-2): 142-157
- [27] Mittal D, Madhyastha D A, Grover A. Genome-wide transcriptional profiles during temperature and oxidative stress reveal coordinated expression patterns and overlapping regulons in rice[J/OL]. *PLoS One*, [2012-07-16]. DOI: 10.1371/journal.pone.0040899
- [28] Pamplona R. Advanced lipoxidation end-products[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2011, 192(1-2): 14-20
- [29] Ma Y, Dai X Y, Xu Y Y, Luo W, Zheng X M, Zeng D L, Pan Y J, Lin X L, Liu H H, Zhang D J, Xiao J, Guo X Y, Xu S J, Niu Y D, Jin J B, Zhang H, Xun X, Li L G, Wang W, Qian Q, Ge S, Chong K. COLD1 confers chilling tolerance in rice[J]. *Cell*, 2015, 160: 1209-1221
- [30] 郭慧, 李树杏, 孙平勇, 郝留根, 张宏伟, 邓华凤. 水稻苗期耐冷性差异的转录组分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(6): 1731-1739
- Guo H, Li S X, Sun P Y, Hao L G, Zhang H W, Deng H F. Transcriptomes analysis of the cold tolerance difference of rice seedlings[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(6): 1731-1739 (in Chinese)
- [31] 赵杨. 早晚稻兼用品种耐冷性研究及外源 NO 对苗期耐冷性的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015
- Zhao Y. Researches on the cold tolerance of early/late season rice and regulated effect of exogenous nitric oxide on the seedlings [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [32] 王威豪, 石瑜敏, 刘百龙, 韦善富, 毛昌祥. 水稻幼苗期耐寒生理特性鉴定及利用[J]. *南方农业学报*, 2011, 42(3): 253-256
- Wang W H, Shi Y M, Liu B L, Wei S F, Mao C X. Identification and utilization of physiological characteristics imparting chilling-resistance in rice at seedling stage [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2011, 42(3): 253-256 (in Chinese)
- [33] 刘雪梅, 尚庆茂, 张志刚. 辣椒不同品种种子萌芽期耐低温性及评价方法研究[J]. *中国生态农业学报*, 2010, 18(3): 521-527
- Liu X M, Shang Q M, Zhang Z G. Low-temperature tolerance of pepper at germination stage and its evaluation method[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(3): 521-527 (in Chinese)
- [34] 王丽艳, 唐金敏, 郑桂萍, 李红宇, 钱永德, 吕艳东, 郭永霞, 荆瑞勇. 水稻萌发期和幼苗期耐低温指标体系构建及综合评价[J]. *中国农业科技导报*, 2019, 21(10): 58-65
- Wang L Y, Tang J M, Zheng G P, Li H Y, Qian Y D, Lv Y D, Guo Y X, Jing R Y. Characterization and evaluation of low temperature resistance of rice at germination and seedling stages[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2019, 21(10): 58-65 (in Chinese)
- [35] 唐双勤, 吴自明, 谭雪明, 曾勇军, 石庆华, 潘晓华, 曾研华. 直播早籼稻品种芽期耐冷性鉴定研究[J]. *作物杂志*, 2019(1): 159-167
- Tang S Q, Wu Z M, Tan X M, Zeng Y J, Shi Q H, Pan X H, Zeng Y H. Identification of cold tolerance of direct seeded early rice varieties at bud stage[J]. *Crops*, 2019(1): 159-167 (in Chinese)
- [36] Sharma P, Sharma N, Deswal R. The molecular biology of the low-temperature response in plants [J]. *BioEssays*, 2005, 27(10): 1048-1059
- [37] Liu C T, Ou S J, Mao B G, Tang J Y, Wang W, Wang H R, Cao S Y, Schlappi M R, Zhao B R, Xiao G Y, Wang X P, Chu C C. Early selection of bZIP73 facilitated adaptation of *Japonica* rice to cold climates[J/OL]. *Nature Communications*, [2018-08-17]. DOI: 10.1038/s41467-018-05753-w