



基于多元统计分析的小麦低温冻害评价及水分效应差异研究

王洋洋^{1,2}, 刘万代^{1,2}, 贺利^{1,2}, 任德超³, 段剑钊^{1,2}, 胡新³, 郭天财^{1,2}, 王永华^{1,2}, 冯伟^{1,2}

¹河南农业大学农学院/作物生长发育调控教育部重点实验室, 郑州 450046; ²国家小麦工程技术研究中心, 郑州 450046; ³商丘市农林科学院小麦研究所, 河南商丘 476000

摘要:【目的】明确不同水分条件下低温胁迫引起的小麦冻害程度, 筛选冻害鉴定指标并建立冻害定量评估模型, 为小麦生产科学防控低温冻害提供理论支撑。【方法】以弱春性品种偃展 4110、兰考 198 和半冬性品种郑麦 366、丰德存麦 21 为试验材料, 在模拟冻害发生前一周进行灌水(W)和不灌水(D)处理, 于雌雄蕊分化期将盆栽小麦移到低温模拟室进行处理, 设置的温度为-2℃(T1)、-4℃(T2)、-6℃(T3)、-8℃(T4)和-10℃(T5)以及对照(CK为当天大田温度), 低温胁迫后的第2天测定小麦生理生化指标, 将标准化后的各个生理指标进行主成分、隶属函数、聚类分析和逐步回归等多元统计分析。【结果】不同品种、水分、温度下的各单项生理生化指标之间大多存在着显著相关性, 通过主成分分析将19个生理生化指标转化为6个相互独立的综合指标, 其贡献度分别为55.972%、11.93%、7.168%、5.075%、4.236%和3.079%, 代表了全部原始数据的87.459%的信息量, 并根据隶属函数算法求出各处理的冻害程度综合评价值(F值)。以F值作为因变量, 通过逐步回归分析筛选出7个关键指标, 分别为叶绿素a、叶片含水量、脯氨酸、Fv/Fm、可溶性蛋白、MDA和SOD, 并确立了定量估算F值的数学模型。同时, 将F预测值与产量损失率进行相关性分析, 线性方程决定系数 $R^2=0.898$, 表明该F预测模型能够很好地评价冻害程度。进一步对F预测值进行聚类分析, 可将不同冻害处理划分为5类: 未受冻(D-CK、W-CK)、轻度受冻(D-T1、W-T1)、中度受冻(D-T2、W-T2、W-T3)、重度受冻(D-T3、W-T4)以及特重受冻(D-T4、W-T5、D-T5), 其产量损失率分别为0、0—10%、10—30%、30—50%及50%以上, 相同的温度和水分条件下弱春性品种的冻害程度重于半冬性品种, 相同的品种和温度条件下不灌水处理的冻害程度重于灌水处理。具体考察所筛选的生理评价指标, 随着低温胁迫的加重, 叶绿素a、叶片含水量、Fv/Fm表现下降趋势, 而脯氨酸、可溶性蛋白和SOD活性表现先升后降的特征, MDA则为相反趋势。【结论】生产中在晚霜冻易发地区应选用半冬性品种, 且依据天气预报寒流来临前加强灌水管理, 并可在冻害发生时通过冻害评价指标及定量模型及时准确评估冻害发生程度, 这有利于晚霜冻害的科学防控, 为灾后产量恢复及决策管理提供依据。

关键词: 冬小麦; 晚霜冻害; 灌水; 综合评价; 评估模型

Evaluation of Low Temperature Freezing Injury in Winter Wheat and Difference Analysis of Water Effect Based on Multivariate Statistical Analysis

WANG YangYang^{1,2}, LIU WanDai^{1,2}, HE Li^{1,2}, REN DeChao³, DUAN JianZhao^{1,2}, HU Xin³, GUO TianCai^{1,2}, WANG YongHua^{1,2}, FENG Wei^{1,2}

¹College of Agronomy, Henan Agriculture University/Key Laboratory of Regulating and Controlling Crop Growth and Development, Ministry of Education, Zhengzhou 450046; ²National Engineering Research Center for Wheat, Zhengzhou 450046; ³Wheat Research Institute, Shangqiu Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shangqiu 476000, Henan

收稿日期: 2021-06-09; 接受日期: 2021-10-08

基金项目: “十三五”国家重点研发计划“粮食丰产增效科技创新”(2017YFD0300204)

联系方式: 王洋洋, E-mail: wyy65wyy@163.com. 通信作者贺利, E-mail: he-li19870308@163.com. 通信作者冯伟, E-mail: fengwei78@126.com

Abstract: 【Objective】 In order to clarify the freezing injury degree of wheat under different water conditions caused by low temperature stress, the identification indexes and quantitative evaluation model of freezing injury were screened and established, which provided the theoretical support for prevention and control of freezing injury in wheat production. 【Method】 Weak spring cultivars of Yanzhan 4110 and Lankao 198, semi-winter cultivars of Zhengmai 366 and Fengdecunmai 21 were used as experimental materials. They were treated with irrigation (W) or no irrigation (D) one week before the freezing injury, respectively. Pot experiments were moved to a low-temperature simulation room during the female and male ear differentiation stages. The temperatures were set as -2°C (T1), -4°C (T2), -6°C (T3), -8°C (T4), -10°C (T5) and control (CK is the field temperature on the same day). Physiological and biochemical indexes of wheat were measured on the second day after low temperature stress. The standardized physiological indexes were analyzed by multivariate statistical analysis, such as principal component, membership function, cluster analysis and step wise regression. 【Result】 There were significant correlations among the individual physiological and biochemical indexes under different cultivars, water contents and temperatures. Through principal component analysis, 19 physiological and biochemical indexes were transformed into 6 mutually independent comprehensive indexes, whose contribution degrees were 55.972%, 11.93%, 7.168%, 5.075%, 4.236% and 3.079%, respectively, representing 87.459% information of all original data. According to the membership function algorithm, the comprehensive evaluation value (F value) of freezing injury degree of each treatment was calculated. Take F value as the dependent variable, the seven key indexes were selected by stepwise regression analysis, namely chlorophyll a, leaf water content, proline, F_v/F_m , soluble protein, MDA and SOD, and the mathematical model for quantitative estimation of F value was established. At the same time, the correlation between F prediction value and yield loss rate was analyzed, and the linear equation determination coefficient $R^2 = 0.898$, indicating that the F prediction model could well evaluate the freezing injury degree. F predicted value could be divided into five categories by further cluster analysis: non-freezing (D-CK, W-CK), mild frozen (D-T1, W-T1), moderate frozen (D-T2, W-T2, W-T3), severe frozen (D-T3, W-T4), and extremely severe frozen (D-T4, W-T5, D-T5). Corresponding yield loss rate were 0, 0-10%, 10%-30%, 30%-50% and more than 50%, respectively. Under the same temperature and moisture conditions, the freezing injury degree of weak spring varieties was heavier than that of semi-winter varieties, and the freezing injury degree of no irrigation treatment was heavier than that of irrigation treatment under the same varieties and temperature conditions. With the increasing of low temperature stress, chlorophyll a, leaf water content and F_v/F_m showed a decreasing trend, the activities of proline, soluble protein and SOD increased first and then decreased, while MDA showed an opposite trend. According to the clustering results, under the same temperature and water conditions, the freezing injury degree of weak spring cultivars was more serious than that of semi-winter cultivars. Under the same variety and temperature conditions, the freezing damage degree without irrigation was worse than that under irrigation. 【Conclusion】 Therefore, the semi-winter varieties should be selected in the areas prone to late frost in production, and the irrigation management should be strengthened before a cold wave according to the weather forecast. When freezing injury happened, the injury degree could be accurately assessed in timely through the evaluation index and quantitative model, which was conducive to prevention and control of late frost injury, and provides technology basis for production recovery and decision management after freezing disaster.

Key words: winter wheat; frost damage degree; irrigation; comprehensive evaluation; estimation model

0 引言

【研究意义】随着温室效应的加剧,全球气温不断升高。在全球变暖的背景下,极端天气发生的次数、强度也在不断增加^[1]。低温频发增加了冬小麦生产系统的不稳定性,加剧了冬小麦产量损失风险^[2]。小麦拔节后霜冻被称为晚霜冻害,在我国小麦重要产区黄淮海地区频繁发生,此时小麦抗冻性相比前期明显变弱,产量损失风险加大,冻害一旦发生,产量损失可达15%—60%^[3],严重影响我国粮食安全。因此,及时准确评估晚霜冻害对冬小麦产量的影响,以便尽早采取

补救措施,对挽回因冻害造成的产量损失具有重要意义。【前人研究进展】研究表明,逆境胁迫对植物生长产生重要影响,主要通过影响渗透调节物质、抗氧化物酶等生理指标^[3-5],进而对叶绿体、光合结构造成破坏,从而导致叶绿素降解,叶绿素荧光如 F_v/F_m 和 qP 下降^[6-8]。低温胁迫是一种常见的逆境,植物对低温的适应与抗性建成是一个复杂的生物学过程,单一的生理指标变化无法准确评估逆境对植株的影响^[9]。目前大多数研究是从生理学和形态学指标等方面对逆境胁迫进行综合性评价^[10-11]。邹成林等^[12]利用指标之间的相关性及评分分级法,综合评价玉米苗期的抗旱性,

并提出植株含水量、叶绿素含量、酶活性、可溶性糖含量、MDA 含量可作为抗旱性鉴定指标。袁雨豪等^[13]研究了盐胁迫对糜子生理指标的影响, 利用主成分及聚类分析将多种生理指标进行综合, 进而对耐盐性进行分类, 筛选出高度耐盐品种。李春喜等^[14]通过主成分分析、隶属函数法和聚类分析法相结合, 筛选出不同抗旱性小麦品种, 并对抗旱性强弱进行分类。卢广超等^[15]对荧光参数及生理指标进行主成分分析, 实现了 4 种常用植物的抗寒性分类。以上研究表明, 前人利用生理指标在植物逆境胁迫下的响应变化, 并采用主成分分析、隶属函数法等分析方法综合评估植株的抗逆性。有关作物晚霜冻害的研究也多利用多元统计分析方法对作物抗寒性进行评价^[16]。王树刚等^[9]发现, SOD、POD、CAT、MDA 和可溶性蛋白可以作为小麦品种抗冻性鉴定的指标, 并利用主成分分析和聚类分析法对品种进行抗寒性筛选。姜丽娜等^[17]对小麦拔节期进行低温处理, 提出了渗透调节物质、抗氧化酶等生理指标可作为抗寒性鉴定指标, 并利用隶属函数法和极点排序法将不同品种的抗寒性进行强弱划分。【本研究切入点】前人相关研究多以单低温处理、多品种材料为对象, 利用主成分分析方法筛选种质资源, 以及评价不同品种的抗寒性强弱。同时寒流发生前灌水是预防小麦冻害、减轻危害的最常用的生产措施。但不同水分条件及低温水平对作物冻害程度及产量损失的效应是不同的, 而有关这方面的研究较少。因此积极探索并明确不同水分、低温及品种多种因素条件下晚霜冻害对小麦产量的影响程度及其评价方法, 这对于提前评估因冻害引起的植株伤害及其产量损失, 并及时采取预防或补救措施具有重要的参考价值。【拟解决的关键问题】本研究设置了模拟冻害发生前灌水和 not 灌水两种水分条件, 选用具有代表性且生产上大面积推广应用的不同类型小麦品种, 测定不同低温处理下植株生理生化指标的响应变化, 通过主成分分析法、隶属函数法及聚类分析方法相结合综合评估小麦冻害程度, 进而借助逐步回归分析筛选出适宜的抗寒性评价指标, 以期为灾后产量恢复以及应时决策管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2018—2020 年度在河南省商丘市农林科学院小麦试验基地的低温模拟室进行。试验材料选取河南省主推的 4 个不同类型的冬小麦品种, 弱春性品种偃展 4110 (YZ4110) 和兰考 198 (LK198), 半冬

性品种郑麦 366 (ZM366) 和丰德存麦 21 (FDC21)。试验用盆为直径 25 cm、高度 35 cm、两头开口的圆柱形空心管。试验用土取自商丘市农林科学院小麦试验基地大田土壤, 经过细筛、晒干、称重后装入桶中, 土壤肥力状况平均为有机质 $13.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 水解氮 $74.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 速效磷 $36.31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 速效钾 $129.48 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。播种前将盆埋在大田之中, 使其顶部与地表基本持平, 使得盆栽生长环境等同于大田环境。分别于 2018 年 11 月 9 日、2019 年 11 月 12 日进行播种, 每盆均匀定株 7 株。低温处理时期为雌雄蕊分化期, 并设定两个水分处理, 分别为冻前 1 周不灌水 (土壤含水量 13%—15%, 土壤表层干旱, D), 冻前 1 周灌水 1 次 (土壤含水量 20%—22%, 土壤水饱满, W)。在两个水分条件下, 并设置了 5 个温度梯度 T1、T2、T3、T4、T5, 分别对应 -2°C 、 -4°C 、 -6°C 、 -8°C 、 -10°C , 以及对照 CK (当日大田气温分别为 $11^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ 、 $22^{\circ}\text{C}/8^{\circ}\text{C}$)。低温处理时间为 8 h, 每次处理为 5 个重复。低温处理结束后, 立即将盆栽搬到大田原位, 使其恢复原来的生长环境, 并于低温胁迫后的第 2 天进行取样测定生理指标。

1.2 低温模拟室

低温室的长宽高分别为 $7 \text{ m} \times 5 \text{ m} \times 2.6 \text{ m}$, 顶部装置有 2 条尼龙布形成的通风管道, 分别与室外的两台制冷压缩机连接。在管道两侧均匀排布若干个直径为 5 cm 的圆形通风口, 冷风通过圆形通风口在 1.9 m 以上的水平方向上进行冷气流动, 并形成一個制冷空间。冷空气均匀下沉, 形成强辐射降温。

1.3 生理指标测定

低温胁迫后第 2 天, 分别取各处理以及对照品种完全展开的顶 1 叶用于生理指标测定, 每个处理设 3 次重复。叶片相对含水量 (LWC)、茎相对含水量 (SWC) 采用烘干法, 色素类指标含量测定采用分光光度法, 具体包括叶绿素 a (Chla)、叶绿素 b (Chlb)、类胡萝卜素 (Car)、叶绿素总量 (Chla+b)、叶绿素 a/b (Chla/b), 可溶性糖含量 (SSC) 采用蒽酮比色法^[18], 可溶性蛋白 (BCA) 采用考马斯亮蓝比色法^[18], 游离脯氨酸含量 (Pro) 采用磺基水杨酸浸提-酸性茚三酮显色法^[19], 丙二醛 (MDA) 含量采用 TBA 比色法^[20], 超氧化物歧化酶 (SOD) 采用 NBT 比色法^[21], 过氧化物酶 (POD) 采用愈创木酚比色法^[21], 过氧化氢酶 (CAT) 采用过氧化氢法测定^[21]。

1.4 叶绿素荧光参数测定

叶绿素荧光参数测定采用德国 MINI-PAM 量子分

析仪。测定在上午进行,均选择完全展开的顶1叶,每个处理测试3张叶片。叶片经过30 min暗适应后测定初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、PS II潜在活性(F_v/F_0)和PS II最大光学效率(F_v/F_m);之后测定光化学淬灭系数(qP)、相对电子传递速率(ETR)和PSII实际光量子效率(Y(II))。

1.5 数据处理与分析

利用Excel软件对原始数据进行预处理,SPSS19.0软件对预处理后数据进行主成分、方差、聚类 and 逐步回归分析。因为不同的农艺指标有不同的数据范围和单位,采用数据标准化进行转化,每个生理指标转换如下:

$$S'_{ij} = \frac{T_{ij} - T'_j}{S_j} \quad (i=1,2, \dots, n; j=1,2, \dots, m) \quad (1)$$

式中, S'_{ij} 为每个指标标准化之后的数据, T_{ij} 为第 i 个品种 j 指标测定值, S_j 和 T'_j 为第 j 个指标的标准偏差和第 j 个指标的样本平均值。

在数据预处理后,用 SPSS19.0 进行主成分分析(PCA),用公式(2)求得每个处理各综合指标的隶属函数值:

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

式中, X_j 表示第 j 个综合指标; X_{min} 表示第 j 个综合指标的最小值; X_{max} 表示第 j 个综合指标的最大值。

用公式(3)可求出各综合指标的权重:

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

式中, W_j 表示第 j 个综合指标在所有综合指标中的重

要程度即权重; P_j 为各小麦品种第 j 个综合指标的贡献率。

用公式(4)计算每个处理下的小麦的冻害程度的大小^[22],以 F 值表示:

$$F = \sum_{i=1}^n [U(x_j) \times w_j] \quad (4)$$

式中, F 值为各低温处理的小麦通过用综合指标评价得到的冻害程度综合评价值。

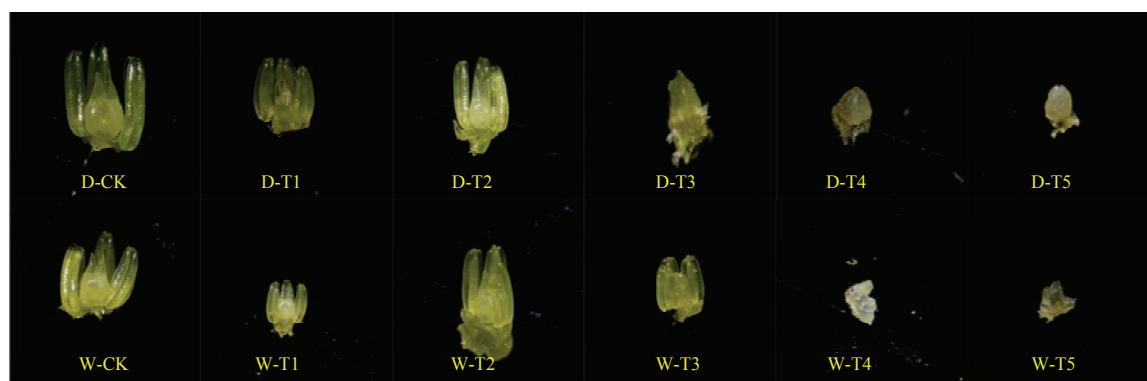
将 F 值作为因变量,对各个标准化的数据进行逐步回归分析,获得回归方程。

2 结果

2.1 冻害对不同品种和水分处理的幼穗形态及产量的影响

小麦幼穗受冻的形态结果(以YZ4110为例)表明,随着温度不断降低,幼穗受冻程度逐渐严重,幼穗逐渐失水萎缩变形,颜色变白,部分幼穗死亡,小花败育加重,导致穗粒数显著减少。在不灌水(D)条件下,T3温度时出现幼穗部分死亡,当温度降至T4和T5时,小麦幼穗死亡且不可恢复;而在灌水处理(W)条件下,T3温度胁迫的幼穗冻死率较低,受冻程度明显轻于不灌水处理,当温度降至T4时,幼穗才出现部分死亡,至T5时,幼穗死亡(图1)。

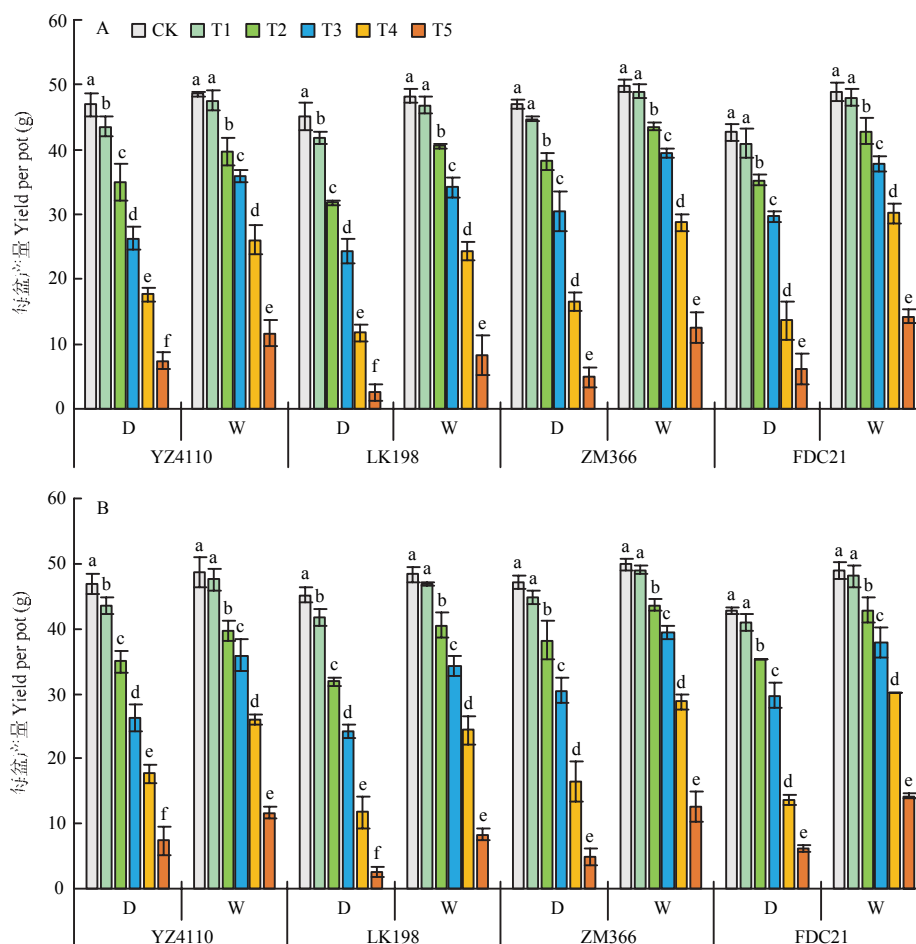
由图2可知,冻害条件下2年产量的变化趋势相同,不同低温导致的小麦产量损失情况因水分和品种而表现不同。当温度降至T1时,不灌水(D)的弱春性品种(YZ4110和LK198)的产量降低,较CK



D 为不灌水处理; W 为灌水处理。5 个低温处理分别为 -2°C (T1), -4°C (T2), -6°C (T3), -8°C (T4) 和 -10°C (T5)。下同
D, non-irrigated treatments; W, irrigated treatments. Low temperatures for the five treatments were -2°C (T1), -4°C (T2), -6°C (T3), -8°C (T4), and -10°C (T5). The same as below

图1 不同灌水条件下低温胁迫对冬小麦 YZ4110 幼穗形态的影响

Fig. 1 Effects of freezing injury on young spike morphology of winter wheat YZ4110 under different irrigation conditions



A 为 2019 年, B 为 2020 年。YZ4110、LK198、ZM366 和 FDC21 分别为偃展 4110、兰考 198、郑麦 366 和丰德存麦 21。误差线上不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

A: 2019, B: 2020. YZ4110, LK198, ZM366 and FDC21 were Yanzhan4110, Lankao198, Zhengmai366 and Fengdecunmai21. Different letters above error bars indicated significant difference among treatments at $P < 0.05$. The same as below

图 2 不同灌水条件下冻害对小麦产量的影响

Fig. 2 Effects of freezing injury on wheat yield under different irrigation conditions

差异达显著水平, 而半冬性品种 (ZM366 和 FDC21) 产量的降低未达到显著水平; 当温度降至 T2 及以下时, 两种水分条件下的所有品种产量均显著降低。从产量损失率均值来看, 不灌水条件下 T1、T2、T3、T4—T5 的产量损失率分别为 3.33%—7.83%、17.78%—28.46%、33.56%—49.38%和 67.27%—93.65%; 灌水条件下的产量损失率分别为 1.70%—4.13%、12.15%—18.60%、22.33%—32.75%和 41.92%—76.04%。两种水分条件下产量损失率在品种间均表现为 LK198 > YZ4110 > ZM366 > FDC21。

2.2 不同处理冬小麦生理生化指标的变异性

表 1 为各个指标在不同温度和水分条件下的变化。从变异系数可以看出, 在不灌水条件下, 因低温

和品种引起的各指标变异系数范围为 4.87%—52.12%, 而灌水条件下为 3.74%—44.59%, 且各指标在不灌水的变异系数均大于灌水, 这表明了低温胁迫前进行灌水, 使得生理指标的稳定性增强。从平均值可以得出, 灌水条件下渗透调节物质含量及抗氧化酶活性均提高。灌水下的渗透调节物质 (可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸) 含量较不灌水分别提高了 26.80%、10.23%和 13.43%; 抗氧化酶活性 (CAT、POD、SOD) 较不灌水增幅分别为 14.06%、7.2%和 12.81%。对细胞膜具有毒害作用的 MDA 含量在灌水条件下较不灌水降低了 13.06%。而叶绿素指标、植株含水量、叶绿素荧光参数等也是反映植株受冻程度的生理表征指标, 其数值在灌水条件下均高于不灌水。

表 1 不同水分处理下低温胁迫处理的植株各性状比较

Table 1 Comparison of plant growth traits under different water treatments affected by low temperature stress

指标 Index	不灌水 No irrigation (D)			灌水 Irrigation (W)			曼-惠特尼 U Mann-Whitney U	
	平均值 Mean	变化范围 Variation range	变异系数 Coefficient of variance	平均值 Mean	变化范围 Variation range	变异系数 Coefficient of variance	U 值 U value	P
Chla	1.76	0.8-2.53	29.58	2.05	1.26-2.68	20.24	189.5	0.042
Chlb	0.55	0.32-0.80	24.54	0.58	0.43-0.75	15.77	170.5	0.015
Car	0.36	0.15-0.49	29.3	0.4	0.23-0.49	19.52	232.5	0.252
Chla+b	2.32	1.12-3.33	27.8	2.64	1.69-3.44	18.77	184	0.032
Chla/b	3.15	2.07-4.19	16.11	3.52	2.91-4.24	11.48	259	0.550
SWC	83.67	69.98-87.49	4.09	84.51	79.66-88.98	2.53	259	0.55
LWC	77.46	57.14-85.17	10.08	80.22	69.24-84.90	5.84	187	0.037
SSC	22.65	10.53-34.78	30.76	28.72	14.74-47.63	28	166	0.012
Pro	312.49	190.30-448.28	21.85	344.47	243.53-480.63	18.5	192	0.048
Y (II)	0.34	0.1-0.46	38.56	0.39	0.20-0.51	18.03	264	0.621
ETR	25.92	2.20-36.20	44.5	30.09	10.90-40.60	20.77	260	0.564
qP	0.41	0.11-0.63	42.56	0.49	0.19-0.63	30.02	187.5	0.038
F_v/F_m	0.59	0.10-0.84	46.72	0.65	0.28-0.84	32.72	160	0.008
F_v/F_o	3.38	0.64-5.31	46.06	3.59	1.43-5.42	32.41	190	0.043
SPC	24.65	12.45-33.16	25.63	27.96	18.87-38.76	17.37	187	0.037
CAT	2759.58	1549.16-4386.36	29.25	3147.65	1949.11-4782.55	26.71	191	0.045
MDA	22.43	12.99-47.60	52.12	19.5	11.35-39.77	44.59	190	0.043
POD	624.92	431.41-70.54	13.24	669.88	573.11-801.92	9.35	209	0.103
SOD	382.21	200.91-505.89	21.65	431.19	302.13-582.87	17.84	185	0.034

Chla 为叶绿素 a, Chlb 为叶绿素 b, Car 为类胡萝卜素, Chla+b 为叶绿素总量, Cha/b 为叶绿素 a/b, SWC 为茎含水量, LWC 为叶含水量, SSC 为可溶性糖含量, Pro 为脯氨酸, Y (II) 为 PSII 实际光量子效率, ETR 为相对电子传递速率, qP 为光化学淬灭系数, F_v/F_m 为 PS II 最大光学效率, F_v/F_o 为 PS II 潜在活性, SP 为可溶性蛋白, CAT 为过氧化氢酶, MDA 为丙二醛, POD 为过氧化物酶, SOD 为超氧化物歧化酶。下同
Chla was chlorophyll a, Chlb was chlorophyll b, Car was Carotenoids, Chla+b was total content of chlorophyll, Cha/b was chlorophyll a/b, SWC was stem water content, LWC was leaf water content, SSC was soluble sugar content, Pro was proline, Y(II) was PSII actual photochemical efficiency, ETR was relative electron transport rate, qP was photochemical quenching, F_v/F_m was PSII maximum photochemical efficiency, F_v/F_o was PSII potential activity, SP was soluble protein, CAT was catalase, MDA was malondialdehyde, POD was peroxide dismutase, SOD was superoxide dismutase. The same as below

通过 Mann-Whitney U 非参数检验可知, 除 Car、Chla+b、SWC、Y (II)、ETR 和 POD 外, 其余生理指标均在灌水和不灌水间存在显著差异 ($P<0.05$), 其中 F_v/F_m 达到极显著水平 ($P<0.01$)。以上结果表明灌水增强了植株生理生化指标对低温的应激响应能力, 减缓了低温对植株造成的伤害程度, 进而提高抗寒性。

2.3 不同生理生化指标之间相关性分析

测定指标中, MDA 与其他指标间呈负相关, 且均达极显著水平 ($P<0.01$), 其他指标间相关性均为正相关 (表 2)。Chlb 与余下参数中一半指标 (9 个) 的相关性未达显著水平; Chla/b 与 SWC 和 BAC 间相关性不显著; SWC 与 5 个指标 (SSC、BCA、CAT、POD 和 SOD) 间相关性不显著; 除以上指标外, 其余

各生理指标间的相关性均达到显著水平 ($P<0.05$)。各生理指标之间表现出大小不等的相关性, 且大多数指标之间的相关性达到显著性水平, 这就导致了生理指标之间反映植株的抗寒信息存在交叉, 甚至发生很大程度的重叠。不同低温下各个指标在植株抗寒性应激反应中的功能不尽相同, 直接应用各个指标对植株的抗寒性进行评价是不准确的, 很难准确反映出小麦的冻害严重程度, 导致评价结果具有很大的局限性。为了弥补直接应用各个生理指标进行抗寒性评价的不足, 有必要进一步采用主成分和聚类分析进行综合评价。

2.4 主成分分析及隶属函数分析

将原始数据进行标准化, 并使用 SPSS 软件对标准化后的数据主成分分析。根据累计贡献率 $>85\%$ 的

表 2 不同生理生化指标间的相关系数
Table 2 Correlation coefficient between different physiological and biochemical indexes

指标 index	Chla	Chlb	Car	Chla+b	a/b	SWC	LWC	SSC	Pro	Y (II)	ETR	qP	Fv/Fm	Fv/Fo	BCA	CAT	MDA	POD	SOD
Chla	1.000																		
Chlb	0.476**	1.000																	
Car	0.872**	0.34**	1.000																
Chla+b	0.505**	0.237**	0.455**	1.000															
Chla/b	0.825**	0.094	0.872**	0.442**	1.000														
SWC	0.392**	0.362**	0.352**	0.112	0.257**	1.000													
LWC	0.804**	0.361**	0.733**	0.518**	0.666**	0.488**	1.000												
SSC	0.527**	0.07	0.524**	0.322**	0.591**	0.047	0.501**	1.000											
Pro	0.659**	0.143	0.666**	0.277**	0.739**	0.217*	0.591**	0.702**	1.000										
Y (II)	0.751**	0.134	0.813**	0.267**	0.782**	0.304**	0.669**	0.521**	0.71**	1.000									
ETR	0.740**	0.12	0.801**	0.264**	0.778**	0.286**	0.657**	0.522**	0.711**	0.995**	1.000								
qP	0.829**	0.264**	0.875**	0.411**	0.8**	0.362**	0.759**	0.57**	0.704**	0.917**	0.908**	1.000							
Fv/Fm	0.838**	0.248**	0.85**	0.419**	0.826**	0.36**	0.805**	0.557**	0.697**	0.914**	0.904**	0.922**	1.000						
Fv/Fo	0.805**	0.235**	0.826**	0.371**	0.784**	0.407**	0.708**	0.423**	0.631**	0.902**	0.887**	0.912**	0.907**	1.000					
BCA	0.292**	-0.161	0.338**	0.017	0.422**	0.09	0.201*	0.278**	0.36**	0.407**	0.399**	0.347**	0.431**	0.406**	1.000				
CAT	0.251**	0.04	0.243**	0.282**	0.349**	-0.047	0.274**	0.509**	0.415**	0.199*	0.192*	0.294**	0.32**	0.232*	0.367**	1.000			
MDA	-0.827**	-0.336**	-0.819**	-0.352**	-0.761**	-0.416**	-0.786**	-0.572**	-0.72**	-0.734**	-0.724**	-0.795**	-0.798**	-0.78**	-0.391**	-0.367**	1.000		
POD	0.394**	-0.105	0.378**	0.222*	0.540**	0.044	0.37**	0.362**	0.489**	0.43**	0.417**	0.393**	0.499**	0.472**	0.519**	0.492**	-0.526**	1.000	
SOD	0.373**	-0.11	0.33**	0.252**	0.500**	-0.164	0.302**	0.764**	0.612**	0.41**	0.413**	0.462**	0.44**	0.368**	0.333**	0.634**	-0.469**	0.465**	1.000

*和**分别表示 0.05 和 0.01 水平显著相关
* and ** are significant correlation at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

原则,共提取了6个主成分,并将19个单项指标转化为6个综合主成分(CI1—CI6),各主成分的特征向量及贡献率如表3所示。前6个主成分的累计贡献率高达87.459%,具有较强的代表性,包含了原始指标所携带的大部分信息。其中,第一主成分中指标系数

较高的为Chla、Car、Chla/b和荧光参数,第二主成分的指标为CAT和SOD,第三主成分的指标为Chlb和Chla+b,第四主成分的指标为可溶性蛋白BCA和SWC。可见,光合性状、抗氧化物酶、渗透调节物质是反映植物受冻情况最显著的生理指标。

表3 各综合指标特征值、贡献率以及隶属函数权重

Table 3 Eigenvalue, contribution rate and membership function weight of comprehensive indexes

主要因素 Principal factor	第一主成分 CI1	第二主成分 CI2	第三主成分 CI3	第四主成分 CI4	第五主成分 CI5	第六主成分 CI6
特征值 Eigen value	10.635	2.267	1.362	0.964	0.805	0.585
方差百分比 Contributive ratio (%)	55.972	11.93	7.168	5.075	4.236	3.079
累积 Cumulative contributive ratio (%)	55.972	67.902	75.069	80.144	84.38	87.459
隶属函数权重 U (X) weight	0.64	0.14	0.08	0.06	0.05	0.04

同时利用公式(2)对各低温处理下的冬小麦综合指标进行隶属函数分析并获得各成分的隶属函数值U(X)及其对应权重。并利用公式(4)计算各个低温处理下的冬小麦冻害程度综合评价(F值)(图3)。由各品种的F值范围结果可知,同一水分条件下,半冬性品种的最大、最小及平均F值均高于弱春性品种;而同一品种条件下,灌水的各项F值也均高于不灌水。

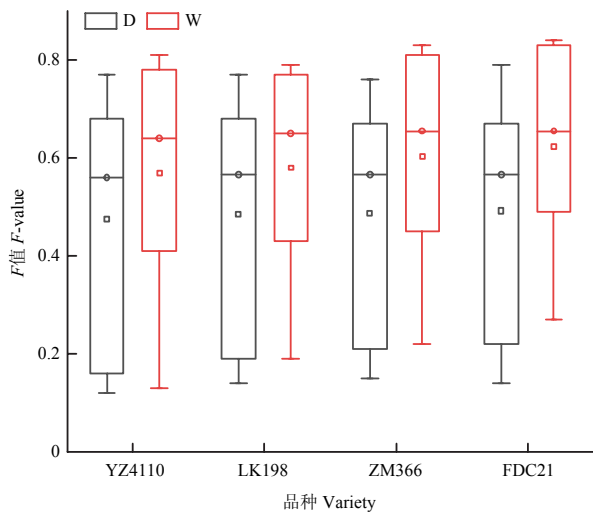


图3 不同灌水条件下4个小麦品种冻害程度综合评价(F值)的变化

Fig. 3 Change in the comprehensive evaluation of freezing injury degree (F-value) for four wheat varieties under different irrigation conditions

为筛选出表征小麦冻害程度的重要鉴定指标,以上述的综合评价(F)作因变量,试验测定的19个生理生化指标(X)为自变量,采用逐步回归分析的方法,筛选出了7个关键指标,并建立了最优化的评价冻害程度的定量数学模型:

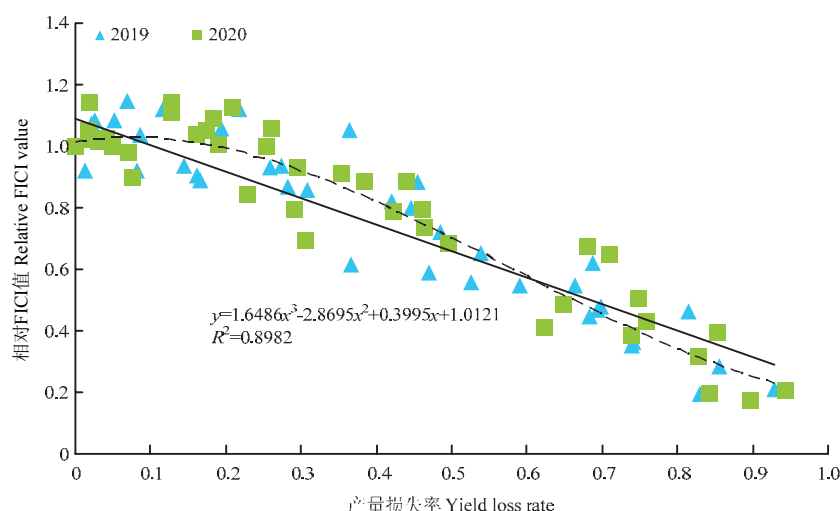
$$F=0.605+0.038X_1+0.031X_7+0.022X_9+0.06X_{13}+0.022X_{15}-0.025X_{17}+0.038X_{19} \quad (R^2=0.990, P=0.0001)$$

式中, X_1 、 X_7 、 X_9 、 X_{13} 、 X_{15} 、 X_{17} 、 X_{19} 分别为叶绿素a、叶片含水量、脯氨酸、 F_v/F_m 、可溶性蛋白、丙二醛和超氧化物歧化酶。

2.5 不同处理的F预测值聚类分析

采用最近距离法对F预测值进行聚类分析(图4),可将48个处理的小麦冻害程度划分为5类,第一类为未受冻(D-CK、W-CK),第二类为轻度受冻(D-T1、W-T1),第三类为中度受冻(D-T2、W-T2、W-T3),第四类为重度受冻(D-T3、W-T4),第五类为特重受冻(D-T4、W-T5、D-T5)。不同水分条件影响聚类结果,在T1和T2温度下,水分之间无差异;当温度降至T3时,D-T3处理为重度受冻,而W-T3处理则为中度受冻;温度继续降至T4时,W处理处于重度受冻,而D处理则为特重受冻。轻度及以下受冻的产量损失率低于10%,中度受冻为10%—30%,重度受冻为30%—50%,特重受冻为50%以上。

为验证F值评估冻害程度的准确性,进一步分析产量损失率与F相对值之间的关系(图5)。产量损失率与F值之间呈一元三次拟合关系($R^2=0.898$),当产量损失率低于10%,该阶段处于轻度及以下受冻程度,主要表现为内在生理指标的应激及响应能力提高,

图 5 相对 F 值与产量损失率间关系Fig. 5 Relationship between relative F value and yield loss rate

以减少冻害的损伤程度,使得 F 值趋近于 1;当产量损失率大于 10%,此时冻害已达到中度程度,已超出生理应激范围, F 值下降趋势逐渐明显;当胁迫程度处于重度以上时,冻害对产量影响严重,各品种 F 值降至最低,降幅平缓。这表明了基于植株早期生理生化变化所构建的冻害综合模型可以准确地评价小麦后期的产量损失状况。

2.6 低温胁迫对不同处理冬小麦生理指标的影响

通过主成分分析及多元逐步分析筛选出 7 个关键指标,以此 7 个生理指标为例,具体分析低温胁迫的影响。由图 6 可知,随着冻害程度的加重,不同小麦品种的叶片含水量、叶绿素 a 、 F_v/F_m 均下降。同一低温胁迫下,叶片含水量、叶绿素 a 、 F_v/F_m 的变化情况因品种和灌水而降幅不同。整体而言,T1 和 T2 温度时叶片含水量、叶绿素 a 、 F_v/F_m 降幅较小,当温度降至 T3 时,降幅增大且不灌水和灌水间差异显著,两个水分条件下降幅最大和最小的品种均为 LK198 和 FDC21。T3 温度相较于 CK,叶片含水量在不灌水条件下降幅为 4.75%—11.85%,而在灌水条件下降幅为 3.49%—4.64%;叶绿素 a 含量在不灌水和灌水条件下降幅分别为 17.48%—31.32%和 8.46%—15.27%; F_v/F_m 在不灌水和灌水条件下降幅分别为 14.46%—24.07%和 7.83%—15.95%。

由图 7 可知,在正常温度 CK 条件下,脯氨酸和可溶性蛋白在灌水和不灌水条件下存在显著差异,这表明不灌水下植株处于相对胁迫状态,使得渗透调节

物质含量提高。随着胁迫的不断加重,渗透调节物质脯氨酸和可溶性蛋白在两种水分条件下均表现出先升后降的趋势。脯氨酸含量在不灌水条件下各品种均于 T2 温度时达到最大值,且处理间差异达到显著,其中 LK198 增幅最小,FDC21 增幅最大,分别较对照增加了 15.43%和 27.1%,当温度降至 T3 时,ZM366 和 FDC21 的脯氨酸含量仍高于 CK,而另外两个品种已低于 CK;灌水条件下脯氨酸含量出现最高值的温度因品种而异,YZ4110 和 LK198 在 T2 温度时脯氨酸含量最高,增幅分别为 39.94%和 37.38%,而 ZM366 和 FDC21 则在 T3 温度时最高,分别较 CK 增加了 51.16%和 57.86%,且 4 个品种均在 T5 温度时脯氨酸含量开始低于 CK。不灌水下的可溶性蛋白含量在 T1 (YZ4110 和 LK198) 或 T2 (ZM366 和 FDC21) 温度时达最大值,其中 YZ4110 和 LK198 的最大增幅为 12.52%和 7.17%,而 ZM366 和 FDC21 在 T2 下可溶性蛋白含量较 CK 分别增加了 31.9%和 32.5%。而灌水条件下的各品种可溶性蛋白含量则均在 T3 温度时达峰值,较 CK 增幅最大的为 FDC21 (70.31%),增幅最小为 LK198 (42.67%)。

由图 8 可知,在正常温度 CK 条件下,两种水分处理间 SOD 酶活性存在显著性差异。SOD 酶作为抗氧化酶系统的第一道防线,随着温度的不断降低,SOD 酶活性呈现出先升后降的趋势。不灌水条件下的各品种 SOD 酶活性在 T2 温度均达最大值,4 个品种的最大值较 CK 分别增加了 25.39%、19.65%、29.83%和

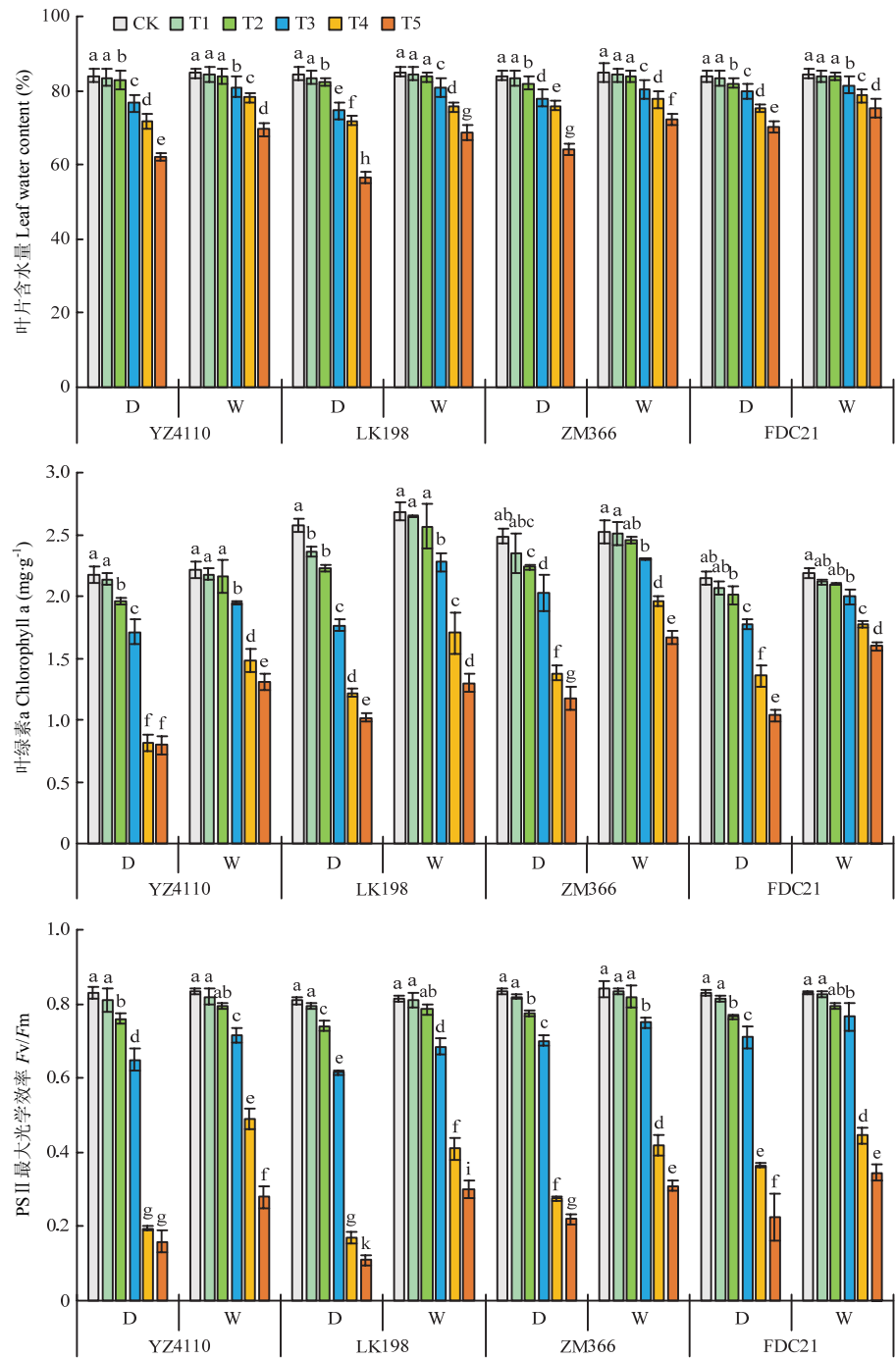


图 6 不同灌水处理下冻害对叶片含水量、叶绿素 a 和 F_v/F_m 的影响

Fig. 6 Effects of freezing injury on leaf water content, chlorophyll a content and F_v/F_m under different irrigation treatments

33.04%；灌水条件下各品种 SOD 酶活性均在 T3 温度下达最大值，以上 4 个品种较 CK 增幅分别为 55.84%、49.71%、62.6%和 68.62%。作为膜脂过氧化最终产物的 MDA，其含量随温度降低呈先降后升的趋势。在不灌水条件下，4 个品种均在 T1 温度时最低，降幅分

别为 8.67%(YZ4110)、6.05%(LK198)、10%(ZM366)和 11.53%(FDC21)；而灌水条件下的 MDA 含量在 T2 温度时最小，4 个品种一致，具体降幅为 FDC21 (29.54%) > ZM366 (29.13%) > YZ4110 (25.65%) > LK198 (17.86%)。

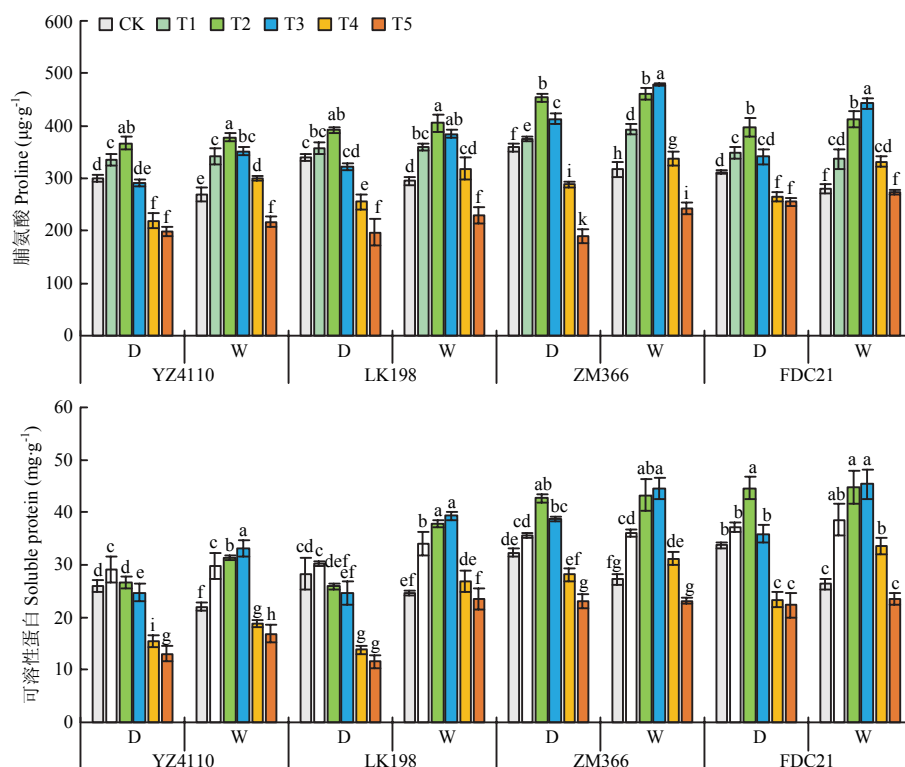


图 7 不同灌水处理下冻害对脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响

Fig. 7 Effects of freezing injury on proline and soluble protein under different irrigation treatments

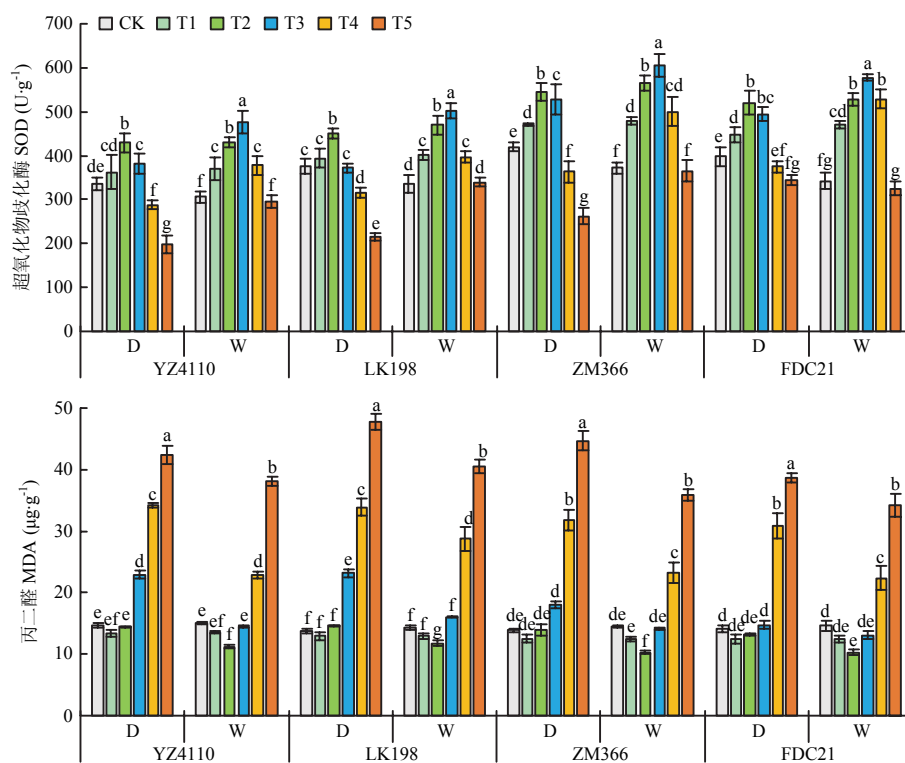


图 8 不同灌水处理下冻害对 SOD 酶活性及 MDA 含量的影响

Fig. 8 Effects of freezing injury on SOD activity and MDA content under different irrigation treatments

3 讨论

3.1 灌水平缓低温胁迫影响的生理机制

低温胁迫下植物会发生一系列生理生化反应以响应和抵御低温造成的伤害^[23], 冻害程度超出植株承受能力后, 抵御低温胁迫的能力降低, 如渗透调节物质含量、抗氧化酶活性降低, 使得细胞丧失抗寒能力, 从而导致植株死亡^[24-28]。为了减缓植株受冻害的程度, 前人通过灌水措施加强作物田间保温, 提高植株冠层温度, 有助于稳定叶片含水量^[29], 在减缓叶绿素和光合机构受损程度方面发挥一定作用^[30], 增强植株的抗寒性, 为此有研究者将植株冠层温度作为低温胁迫指标^[31]。曹娜等^[32]研究表明, 晚稻抽穗扬花期在受到低温胁迫时, 通过灌水处理可以提高冠层温度和叶片温度, 降低冷害胁迫程度。刘立军等^[29]认为, 低温条件下, 灌水处理的高羊茅叶片含水量降幅较小, 不仅提高渗透调节物质含量, 而且降低膜脂过氧化程度, 缓解电解质渗透速度, 从而减弱低温胁迫对细胞膜的伤害。单旭东等^[33]研究认为, 灌水处理通过提高抗氧化酶活性, 从而降低了 MDA 含量, 缓解低温胁迫对结缕草细胞膜的损伤。曹倩等^[34]发现苜蓿在遭受低温胁迫时, 适宜土壤水分提高了渗透调节物质的含量, 增强了植株的渗透调节能力, 使得光合机构和叶绿素体结构破坏程度降低。在小麦冻前浇水研究表明, 冻前灌水对遭受到低温胁迫的冬小麦具有正效应, 可有效缓解冻害造成的伤害^[4]。但前人侧重研究土壤表层湿度减轻低温导致的产量损失程度, 较少解释增加土壤湿度进而增强植株抗寒性的生理机制。植株含水量是对土壤水分状况的最直接的反映, 本试验中, 灌溉土壤含水量高于未灌溉土壤含水量, 进而导致正常温度 CK 条件下灌溉植株含水量高于未灌溉植株, 但两种水分处理间差异并不显著, 而可溶性蛋白、脯氨酸、SOD 酶活性在水分处理间差异达到显著水平, 这在一定程度上显示出一些生理生化指标的变化尽管与含水量有关, 却较含水量更能反映出在低温胁迫时缓解冻害的作用, 其内在的机理还有待进一步明确。在同一温度下, 灌水处理叶片含水量高于不灌水处理, 在正常温度 CK 条件下两种水分处理间没有显著差异, 但随着低温胁迫的加重, 两种水分处理间差异水平越明显, 如 T2 以后差异达显著水平, 导致这种现象的原因可能与水分相态发生变化进而影响组织结构及水分运输有关, 在这方面还需深入研究明确。本研究中叶片含

水量与 MDA 含量及荧光参数极显著相关, 表明良好的水分状况有利于减轻膜脂过氧化的伤害程度, 维持较高的光合活性, 进而减轻低温对植株的冻害。整体而言, 灌溉处理下叶片含水量高于未灌水, 表明适当的冻前灌水处理增强了细胞保水能力, 并降低了细胞膜透性, 同时抗氧化酶类活性提高, 缓解了膜脂过氧化程度, 使得 MDA 含量低于不灌水处理; 可溶性蛋白、脯氨酸等渗透调节物质的累积量增加, 进一步降低了细胞冰点, 减缓了细胞膜受损程度, 并且缓解了叶绿素的降解, 光合受损程度降低, 进而增强了植株的抗寒性。各品种在灌水处理下的叶片含水量、叶绿素含量、叶绿素荧光参数等指标在不同低温胁迫下的降幅均低于不灌水处理; 而通常作为抗寒性鉴定指标 SOD 酶等抗氧化酶、渗透调节物质含量在相同低温胁迫下, 灌水高于不灌水, 这表明灌水处理的小麦植株通过最大程度的生理应激响应, 以维持机体的正常代谢机能, 减缓了受冻程度, 并使得各品种能够在严重胁迫下生存。本试验中, 灌水处理的小麦在 T3 温度下冻害程度仅为中度受冻, 而不灌水则已处于重度受冻。这表明冻前灌水提高了冬小麦的抗寒性, 缓解了低温胁迫造成的冻害程度, 生产中应依据天气预报在寒流到来前, 尤其对干旱地块进行灌水, 可以在很大程度上防御晚霜冻害。

3.2 多因素作用下冻害程度的综合评估

不同的生理生化指标对逆境胁迫的响应程度不同, 单项生理生化指标无法准确评估植株抗逆性^[9]。前人研究多利用综合评价方法鉴定植株的抗逆性^[22,35-36]。姜丽娜等^[17]分析了 24 个小麦品种受到拔节期低温胁迫的生理响应, 通过隶属函数和综合排序法将品种抗寒性分为 5 类。张军等^[37]通过分析低温胁迫对生理指标的影响效应, 基于所测生理指标的隶属值评估小麦品种的抗寒性。但由于各指标之间存在一定的相关性和生理重叠性, 仅用隶属函数法评估小麦的抗寒性具有较大的局限性^[10]。而主成分分析法 (PCA) 可以将多个指标转化成新的个数较少且彼此独立的综合指标, 同时根据各自贡献率的大小明确每个综合指标的相对重要性。因此, 前人利用主成分和隶属函数相结合的方法评估植物的耐寒性, 实现了综合评价不同品种抗寒性强弱的目标^[16-17,38-39]。前人对小麦冻害程度的研究多为单一低温条件下品种资源的抗寒性比较, 而不同的水分条件及基因型品种对低温的响应程度及抗寒性存在明显差异, 这导致以前确立的综合评价方法并不

适用于不同品种、灌水及温度等多因素综合条件下的小麦冻害程度评估。为此,本试验研究小麦生产中 3 个关键要素(2 个品种类型、2 种灌水处理和 6 个温度处理)条件下植株的受冻程度,但仅用单一的生理指标或者简单相关分析冻害程度具有局限性,且缺乏准确性。故利用主成分分析和隶属函数法将 19 个生理指标和荧光参数进行综合分析,最终得到冻害程度综合评价价值(F 值)。随着温度胁迫的不断加重,不同品种在相同水分下的综合 F 值均表现为先升后降趋势,其原因是胁迫程度未超出细胞承受能力时,抗氧化酶和渗透调节物质含量升高,以抵御低温胁迫对细胞的伤害,因此 F 值越大,表示抗寒性越强;当胁迫加重后,由于细胞膜破裂,抗氧化酶和渗透调节物质含量开始明显下降,叶片含水量、叶绿素含量和叶绿素荧光参数等降低,进而 F 值表现逐渐变小。在相同的温度和水分条件时, F 值表现为半冬性品种(FDC21、ZM366) > 弱春性品种(YZ4110、LK198),表明基因型在作物抗寒机制中发挥基础作用;在相同的品种和温度条件下, F 值表现为灌水 > 不灌水,表明灌水处理通过加强对生理指标的应激响应能力,在生理生化层面上增强了植株的抗寒能力。进一步以 F 值为因变量,19 个生理指标为自变量,通过逐步回归确立了冻害综合指数 F 的定量估算模型。基于该 F 预测值进行聚类分析,可划分为 5 类:未受冻、轻度受冻、中度受冻、重度受冻和特重受冻,对应的产量损失率分别为 0、<10%、10%—30%、30%—50% 及 >50%。研究结果有利于准确评估冻害发生后的小麦受冻程度及产量损失状况,为冻害后的补救措施制定提供科学依据。

3.3 冻害综合评估的指标筛选与提前预测评估

有关植物抗寒性的生理生化鉴定指标,前人相关研究并不完全一致,这与作物种类、品种类型、生态区以及生长环境有关^[16,25,27,29]。作物抗逆性是基于基因和环境互作的多种生理指标的综合体现,但由于生理指标较多,各个指标在逆境应激反应中的作用也不一样,并不是所有的生理生化指标均能有效准确鉴定植物的抗逆性能。为此,前人多通过主成分-回归分析相结合的方法筛选出抗逆性评价指标,先后在花生耐荫性^[40]、谷子耐盐性^[41]及棉花抗旱性评估^[34]方面取得较好效果。目前对于小麦抗寒性指标的筛选研究大多通过生理指标与农艺参数的相关系数及关联性进行,王涛等^[42]以小麦返青率为目标,筛选出相对含水量是小麦抗寒性评价指标;赵瑞玲等^[43]以小麦叶片枯黄面

积为标准,发现相对电导率可指示冻害程度;张自阳等^[44]以小麦幼穗结实数为对象,明确了 POD 活性、SOD 活性、MDA 含量为小麦抗寒性鉴定指标;吴青霞等^[45]以产量为标准,筛选出脯氨酸、可溶性蛋白含量等为抗寒性指标。前人基于主成分-隶属分析-逐步回归等多元统计方法筛选生理指标的研究较少,缺少低温胁迫下植株生理生化反应的综合评价指标构建,以及少数关键敏感性因子的降维。随着全球气候变暖及春季极端温度波动加大,晚霜冻害的发生频率呈上升趋势,晚霜冻害已成为影响黄淮海区小麦生产的主要灾害因子。晚霜冻害严重时,会使冬小麦小穗大面积受伤甚至死亡,降低产量。由于晚霜冻害发生较晚,往往茎叶无异常表现,受害部位主要是穗部,危害情况难以直观地了解和评估,只有在抽穗以后才能够观察,而此时小麦成穗数已完全确定,对穗粒数所造成的影响也难以挽回。因此,冻害发生后及时依据少数关键几个植株生理生化指标的变化定量评估小麦冻害程度,这对于产量损失评估及补救措施制定具有重要意义。本研究设置不同水分条件、品种类型及低温胁迫水平,于冻后第 2 天测定 19 个生理生化指标,通过主成分-隶属函数-逐步回归分析法筛选出 7 个关键性评估冻害程度的生理指标:叶绿素 a、叶片含水量、脯氨酸、 F_v/F_m 、可溶性蛋白、MDA 和 SOD,以此确立的冻害综合指数预测值与产量间方程决定系数达到 0.898。小麦晚霜冻害发生后,植株生理生化变化比外观形态指标更为显著,在冻后第 2 天及时进行生理指标的采集,更能及时反映出植株的冻害程度,这为早期评估晚霜冻害对小麦造成的损害程度,从而为农业生产中及时制定积极主动的补救措施提供依据和决策参考。此外,本文筛选出的 7 个指标不仅能代表众多生理指标的原始信息量,更达到了评价指标降维的目的,减少了实际测量的工作量,这有利于准确有效评估小麦冻害程度,可应用性强。但是生产中晚霜冻害发生的时期及小麦幼穗发育所处的阶段并不固定,抗寒性生理指标是否存在差异,还需进一步验证。小麦拔节后幼穗发育对低温的抵抗力显著下降,及时灌水改善土壤墒情是减轻晚霜冻害的主要措施,有关灌水增强小麦低温应激响应的护穗机理,以及减轻冻害伤害的代谢调控网络均有待进一步明确,这将为小麦冻害防御与补救减损提供理论依据和技术参考。

4 结论

本研究明确了两种类型小麦品种在不同水分和低

温处理下植株的生理生化指标变化,利用主成分分析、隶属函数法及多元逐步回归构建出冻害综合评估 F 模型,并筛选出叶绿素 a 、叶片含水量、脯氨酸、 F_v/F_m 、可溶性蛋白、MDA 和 SOD 为小麦冻害程度的评价指标。进一步利用聚类分析将不同处理的 F 值分为 5 类:第一类为未受冻 (D-CK、W-CK), 第二类为轻度受冻 (D-T1、W-T1), 第三类为中度受冻 (D-T2、W-T2、W-T3), 第四类为重度受冻 (D-T3、W-T4), 第五类为特重受冻 (D-T4、W-T5、D-T5), 其产量损失率分别对应为 0、<10%、10%—30%、30%—50%及 50%以上。比较而言,弱春性品种的冻害程度重于半冬性品种,灌水处理低于不灌水处理。可见,在小麦易发生冻害地区应选用半冬性品种,且根据天气变化及早灌水,有利于减轻晚霜冻害,并依靠冻害鉴定指标及模型为灾害评估及管理提供技术支持。

参考文献 References

- [1] KODRA E, STEINHAEUSER K, GANGULY A R. Persisting cold extremes under 21st-century warming scenarios. *Geophysical Research Letters*, 2011, 38(8): 1-5.
- [2] ZHENG B Y, CHENU K, FERNANDA D M, CHAPMAN S C. Breeding for the future: What are the potential impacts of future frost and heat events on sowing and flowering time requirements for Australian bread wheat (*Triticum aestivum*) varieties?. *Global Change Biology*, 2012, 18(9): 2899-2914.
- [3] 张永阁. 柘城县小麦冻害发生原因及防治措施. *河南农业*, 2016, 1: 45.
ZHANG Y G. Reasons and protective measures of wheat frost damage in Zhecheng. *Agriculture of Henan*, 2016, 1: 45. (in Chinese)
- [4] BALI A S, SIDHU G P S. Abiotic stress-induced oxidative stress in wheat/HASANNZZAMAN M, NAHAR K, HOSSAIN M A. *Wheat Production in Changing Environments*. Singapore: Springer, 2019: 225-239
- [5] UPADHYAYA H, SAHOO L, PANDA S K. Molecular physiology of osmotic stress in plants/ROUT G R, DAS A B. *Molecular Stress Physiology of Plants*. India: Springer, 2013: 179-192.
- [6] GALIBA G, VANKOVÁ R, TARI I, BÁNFALVI Z, MSC P P, DOBREV P, BOLDIZSÁR A, VÁGÚJFALVI A, KOCSY G. Hormones, NO, antioxidant and metabolites as key players in plant cold acclimation/IMAI R, YOSHIDA M, MASTUMOTO N. *Plant and Microbe Adaptations to Cold in a Changing World*. New York: Springer, 2013: 73-87.
- [7] 陈思思, 李春燕, 杨景, 徐雯, 朱新开, 郭文善, 封超年. 拔节期低温冻害对扬麦 16 光合特性及产量形成的影响. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2014, 35(3): 59-64.
CHEN S S, LI C Y, YANG J, XU W, ZHU X K, GUO W S, FENG C N. Effect of low temperature at jointing stage on photosynthetic characteristics and yield in wheat cultivar Yangmai 16. *Journal of Yangzhou University(Agricultural and Life Science Edition)*, 2014, 35(3): 59-64. (in Chinese)
- [8] 刘蕾蕾, 纪洪亭, 刘兵, 马吉锋, 肖浏骏, 汤亮, 曹卫星, 朱艳. 拔节期和孕穗期低温处理对小麦叶片光合及叶绿素荧光特性的影响. *中国农业科学*, 2018, 51(23): 4434-4448.
LIU L L, JI H T, LIU B, MA J F, XIAO L J, TANG L, CAO W X, ZHU Y. Effects of jointing and booting low temperature treatments on photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics in wheat leaf. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(23): 4434-4448. (in Chinese)
- [9] 王树刚, 王振林, 王平, 王宏伟, 李府, 黄玮, 武玉国, 尹燕桦. 不同小麦品种对低温胁迫的反应及抗冻性评价. *生态学报*, 2011, 31(4): 1064-1072.
WANG S G, WANG Z L, WANG P, WANG H W, LI F, HUANG W, WU Y G, YIN Y P. Evaluation of wheat freezing resistance based on the responses of the physiological indices to low temperature stress. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(4): 1064-1072. (in Chinese)
- [10] 张笑笑, 潘映红, 任富莉, 蒲伟军, 王道平, 李玉斌, 陆平, 李桂英, 朱莉. 基于多重表型分析的准确评价高粱抗旱性方法的建立. *作物学报*, 2019, 45(11): 1735-1745.
ZHANG X X, PAN Y H, REN F L, PU W J, WANG D P, LI Y B, LU P, LI G Y, ZHU L. Establishment of an accurate evaluation method for drought resistance based on multilevel phenotype analysis in sorghum. *Acta Agronomica Sinica*, 2019, 45(11): 1735-1745. (in Chinese)
- [11] 秦岭, 张艳亭, 陈二影, 杨延兵, 黎飞飞, 管延安. 谷子萌发期耐盐种质筛选及其保护酶系统对盐胁迫的响应. *中国农业科学*, 2019, 52(22): 4027-4038.
QIN L, ZHANG Y T, CHEN E Y, YANG Y B, LI F F, GUAN Y A. Screening for germplasms tolerant to salt at germination stage and response of protective enzymes to salt stress in foxtail millet. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(22): 4027-4038. (in Chinese)
- [12] 邹成林, 谭华, 黄开建, 吴永升, 郑德波, 黄爱花, 莫润秀, 韦新兴. 广西玉米品种苗期生理生化指标与其抗旱性的综合评价. *南方农业学报*, 2015, 46(3): 408-414.
ZOU C L, TAN H, HUANG K J, WU Y S, ZHENG D B, HUANG A H, MO R X, WEI X X. Comprehensive evaluation of physiological and biochemical indexes and drought resistance of maize varieties during seedling stage in Guangxi. *Journal of Southern Agriculture*,

- 2015, 46(3): 408-414. (in Chinese)
- [13] 袁雨豪, 杨清华, 党科, 杨璞, 高金锋, 高小丽, 王鹏科, 陆平, 刘敏轩, 冯佰利. 糜子资源耐盐性评价与盐胁迫生理响应. 中国农业科学, 2019, 52(22): 4066-4078.
- YUAN Y H, YANG Q H, DANG K, YANG P, GAO J F, GAO X L, WANG P K, LU P, LIU M X, FENG B L. Salt-tolerance evaluation and physiological response of salt stress of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(22): 4066-4078. (in Chinese)
- [14] 李春喜, 郭雪妮, 张黛静, 刘雪晴, 刘安琪, 王艳杰. 轻度干旱胁迫下黄淮麦区不同基因型小麦的响应分析. 生态环境学报, 2016, 25(9): 1446-1452.
- LI C X, GUO X N, ZHANG D J, LIU X Q, LIU A Q, WANG Y J. Response of different genotypes wheat to light drought stress in the Huang-Huai Plain. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016, 25(9): 1446-1452. (in Chinese)
- [15] 卢广超, 许建新, 薛立, 张柔, 吴彩琼, 邵怡若. 低温胁迫对4种幼苗的叶绿素荧光特性的影响. 中南林业科技大学学报, 2014, 34(2): 44-49.
- LU G C, XU J X, XUE L, ZHANG R, WU C Q, SHAO Y R. Effects of low temperature stress on chlorophyll fluorescence characteristics of four types of tree species seedlings. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2014, 34(2): 44-49. (in Chinese)
- [16] 徐澜, 高志强, 安伟, 原亚琦, 李彦良. 冬麦春播小麦穗分化阶段对低温胁迫的响应及耐寒性. 应用生态学报, 2015, 26(6): 1679-1686.
- XU L, GAO Z Q, AN W, YUAN Y Q, LI Y L. Low-temperature response and cold tolerance at spike differentiation stage of winter wheat varieties sowed in spring. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(6): 1679-1686. (in Chinese)
- [17] 姜丽娜, 张黛静, 宋飞, 刘佩, 樊婷婷, 余海波, 李春喜. 不同品种小麦叶片对拔节期低温的生理响应及抗寒性评价. 生态学报, 2014, 34(15): 4251-4261.
- JIANG L N, ZHANG D J, SONG F, LIU P, FAN T T, YU H B, LI C X. Evaluation of cold resistance of different wheat varieties based on physiological responses of leaves to low temperature at the jointing stage. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(15): 4251-4261. (in Chinese)
- [18] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 184-185, 195-197.
- LI H S. The Experiment Principle and Technique on Plant Physiology and Biochemistry. Beijing: Higher Education Press, 2000: 184-185, 195-197. (in Chinese)
- [19] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海植物生理学会. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999: 303.
- Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences, Plant Physiology Academy of Shanghai. Modern Plant Physiology Experiment of Directory. Beijing: Science Press, 1999: 303. (in Chinese)
- [20] 侯福林. 植物生理学实验教程. 北京: 科学出版社, 2004: 91.
- HOU F L. Plant Physiology Experimental Course. Beijing: Science Press, 2004: 91. (in Chinese)
- [21] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- ZHANG Z L, QU W J. The Experimental Guide for Plant Physiology. 3rd edition. Beijing: Higher Education Press, 2003. (in Chinese)
- [22] ZOU J, HU W, LI Y X, HE J Q, ZHU H H, ZHOU Z G. Screening of drought resistance indices and evaluation of drought resistance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(2): 495-508.
- [23] 王秀田, 卢秋巍, 苍晶, 包雨卓, 孟德义, 于晶, 徐庆华, 赵虎, 李想, 相智也, 谢波. 低温驯化对冬小麦叶绿素荧光特性及抗氧化酶活性的影响. 植物生理学报, 2016, 52(12): 1959-1969.
- WANG X T, LU Q W, CANG J, BAO Y Z, MENG D Y, YU J, XU Q H, ZHAO H, LI X, XIANG Z Y, XIE B. Effects of cold acclimation on chlorophyll fluorescence characteristics and antioxidant enzyme activity in winter wheat. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(12): 1959-1969. (in Chinese)
- [24] 李春燕, 陈思思, 徐雯, 李东升, 顾晓, 朱新开, 郭文善, 封超年. 苗期低温胁迫对扬麦16叶片抗氧化酶和渗透调节物质的影响. 作物学报, 2011, 37(12): 2293-2298.
- LI C Y, CHEN S S, XU W, LI D S, GU X, ZHU X K, GUO W S, FENG C N. Effects of low temperature at seedling stage on antioxidant enzymes and cytoplasmic osmoticum of leaves in wheat cultivar Yangmai 16. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37(12): 2293-2298. (in Chinese)
- [25] 赵慧, 赵一博, 郭江波, 辛翠花. 植物耐受低温胁迫研究进展. 种子, 2017, 36(5): 47-50.
- ZHAO H, ZHAO Y B, GUO J B, XIN C H. Research progress of plant under low temperature stress. *Seed*, 2017, 36(5): 47-50. (in Chinese)
- [26] 刘海卿, 孙万仓, 刘自刚, 武军艳, 钱武, 王志江, 郭仁迪, 马骊, 侯献飞, 刘林波. 北方寒旱区白菜型冬油菜抗寒性与抗旱性评价及其关系. 中国农业科学, 2015, 48(18): 3743-3756.
- LIU H Q, SUN W C, LIU Z G, WU J Y, QIAN W, WANG Z J, GUO R D, MA L, HOU X F, LIU L B. Evaluation of drought resistance and cold resistance and research of their relationship at seedling stage of

- winter rapeseed (*Brassica campestris* L.) in cold and arid regions in North China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(18): 3743-3756. (in Chinese)
- [27] RUBIO M C, JAMES E K, CLEMENTE M R, BUCCIARELLI B, FEDOROVA M, VANCE C P, BECANA M. Localization of superoxide dismutases and hydrogen peroxide in legume root nodules. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2004, 17(12): 1294-1305.
- [28] 王晓楠, 付连双, 李卓夫, 孙艳丽, 王玉波, 刘灿, 王金伟, 陈禹兴. 低温驯化及封冻后不同抗寒性小麦品种的形态建成及生理基础分析. *作物学报*, 2009, 35(7): 1313-1319.
- WANG X N, FU L S, LI Z F, SUN Y L, WANG Y B, LIU C, WANG J W, CHEN Y Y. Morphogenesis and physiological basis in wheat cultivars with different levels of cold-resistance during cold acclimation and freezing period. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(7): 1313-1319. (in Chinese)
- [29] 刘立军, 陈为峰, 王凯, 张呈祥. 不同灌水量下限对高羊茅绿期及抗寒性生理指标的影响. *应用生态学报*, 2012, 23(1): 38-44.
- LIU L J, CHEN W F, WANG K, ZHANG C X. Effects of different irrigation minima on green period and cold-resistance physiological indices of *Festuca arundinacea*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(1): 38-44. (in Chinese)
- [30] 谭孟祥, 景元书, 薛杨, 曾文全. 水层深度对早稻幼穗分化期遭遇低温过程时叶片生理特性的影响. *中国农业气象*, 2015, 36(5): 553-560.
- TAN M X, JING Y S, XUE Y, ZENG W Q. Effects of different water depth on leaf physiological characteristics of early rice during panicle primordium suffered to low temperature. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2015, 36(5): 553-560. (in Chinese)
- [31] 曹娜, 熊强强, 陈小荣, 贺浩华, 朱昌兰, 傅军如, 才硕, 徐涛. 幼穗分化期低温条件下灌水对早稻温度调节、产量形成及相关生理特性的影响. *核农学报*, 2018, 32(4): 760-770.
- CAO N, XIONG Q Q, CHEN X R, HE H H, ZHU C L, FU J R, CAI S, XU T. Effects of irrigation on temperature regulation, yield formation and related physiological characteristics in early rice under low temperature conditions during panicle primordium differentiation stage. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(4): 760-770. (in Chinese)
- [32] 曹娜, 陈小荣, 贺浩华, 朱昌兰, 才硕, 徐涛, 谢亨旺, 刘方平. 抽穗扬花期不同灌水处理对晚稻抵御低温、产量和生理特性的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(12): 3935-3944.
- CAO N, CHEN X R, HE H H, ZHU C L, CAI S, XU T, XIE H W, LIU F P. Effects of different irrigation treatments during heading and flowering stage on cold resistance, yield and physiological characteristics of late rice. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(12): 3935-3944. (in Chinese)
- [33] 单旭东, 高娅楠, 张桐瑞, 程锦, 许立新. 保温和浇水处理对结缕草冬季胁迫的缓解作用. *草地学报*, 2021, 29(1): 202-210.
- SHAN X D, GAO Y N, ZHANG T R, CHENG J, XU L X. Alleviating effects of heat preservation and watering treatments on winter stress of *zoysia japonica*. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(1): 202-210. (in Chinese)
- [34] 曹倩, 王显国, 张尚雄, 刘博文, 金美艳, 宁亚明. 抗寒锻炼前土壤水分含量对苜蓿抗寒性的影响. *中国草地学报*, 2021, 43(3): 1-9.
- CAO Q, WANG X G, ZHANG S X, LIU B W, JIN M Y, NING Y M. The effect of soil water content before cold hardening on cold resistance of alfalfa. *Chinese Journal of Grassland*, 2021, 43(3): 1-9. (in Chinese)
- [35] 汪灿, 周棱波, 张国兵, 张立异, 徐燕, 高旭, 姜訥, 邵明波. 薏苡种质资源苗期抗旱性鉴定及抗旱指标筛选. *中国农业科学*, 2017, 50(15): 2872-2887.
- WANG C, ZHOU L B, ZHANG G B, ZHANG L Y, XU Y, GAO X, JIANG N, SHAO M B. Drought resistance identification and drought resistance indices screening of Job's Tears (*Coxi lacryma-jobi* L.) germplasm resources at seedling stage. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(15): 2872-2887. (in Chinese)
- [36] NAROU RAD M R, ABBASI M R, FANAEI H R. Evaluation of drought stress tolerance with use of stress tolerance indexes in sorghum collected germplasms national plant gene bank of Iran. *Agronomy*, 2009, 22(1): 11-18.
- [37] 张军, 鲁敏, 孙树贵, 杜万里, 刘洋, 武军, 陈新宏. 拔节期低温胁迫对小麦生理生化特性和产量的影响. *西北农业学报*, 2014, 23(2): 73-79.
- ZHANG J, LU M, SUN S G, DU W L, LIU Y, WU J, CHEN X H. Changes of physiological and biochemical parameters and grain yield at jointing stage of wheat under low temperature stress. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2014, 23(2): 73-79. (in Chinese)
- [38] 刘建新, 欧晓彬, 刘秀丽, 王金成. 过氧化氢缓解裸燕麦幼苗低温胁迫的主成分和隶属函数分析. *植物研究*, 2018, 38(5): 748-756.
- LIU J X, OU X B, LIU X L, WANG J C. Principal component and subordinate function of the alleviating effects of hydrogen peroxide (H_2O_2) on low-temperature stress in naked oat (*Avena nuda*) seedlings. *Bulletin of Botanical Research*, 2018, 38(5): 748-756. (in Chinese)
- [39] 邵怡若, 许建新, 薛立, 张柔, 吴彩琼, 卢广超. 低温胁迫时间对4种幼苗生理生化及光合特性的影响. *生态学报*, 2013, 33(14): 4237-4247.

- SHAO Y R, XU J X, XUE L, ZHANG R, WU C Q, LU G C. Effects of low temperature stress on physiological-biochemical indexes and photosynthetic characteristics of seedlings of four plant species. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(14): 4237-4247. (in Chinese)
- [40] 胡廷会, 成良强, 王军, 吕建伟, 饶庆琳. 不同基因型花生耐荫性评价及其鉴定指标的筛选. *中国农业科学*, 2020, 53(6): 1140-1153.
- HU T H, CHENG L Q, WANG J, LÜ J W, RAO Q L. Evaluation of shade tolerance of peanut with different genotypes and screening of identification indexes. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(6): 1140-1153. (in Chinese)
- [41] 陈二影, 王润丰, 秦岭, 杨延兵, 黎飞飞, 张华文, 王海莲, 刘宾, 孔清华, 管延安. 谷子芽期耐盐碱综合鉴定及评价. *作物学报*, 2020, 46(10): 1591-1604.
- CHEN E Y, WANG R F, QIN L, YANG Y B, LI F F, ZHANG H W, WANG H L, LIU B, KONG Q H, GUAN Y A. Comprehensive identification and evaluation of foxtail millet for saline-alkaline tolerance during germination. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, 46(10): 1591-1604. (in Chinese)
- [42] 王涛, 王晓楠, 王明芳, 孙莹璐, 李卓夫, 付连双. 低温下冬小麦水分含量的变化与抗寒性鉴定. *作物杂志*, 2015(1): 61-66.
- WANG T, WANG X N, WANG M F, SUN Y L, LI Z F, FU L S. Moisture content changes and cold resistance identification by winter wheat varieties at low temperature. *Crops*, 2015(1): 61-66. (in Chinese)
- [43] 赵瑞玲, 赵勇, 徐渴, 李嘉豪, 张树华, 杨学举. 室内冷冻法鉴定小麦抗寒性的研究. *植物遗传资源学报*, 2019, 20(2): 284-296.
- ZHAO R L, ZHAO Y, XU K, LI J H, ZHANG S H, YANG X J. Identification of cold resistance wheat varieties by laboratory freezing method. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(2): 284-296. (in Chinese)
- [44] 张自阳, 王智煜, 王斌, 王志伟, 朱启迪, 霍云凤, 茹振钢, 刘明久. 春季穗分化阶段低温处理对不同小麦品种幼穗结实性及生理特性的影响. *华北农学报*, 2019, 34(4): 130-139.
- ZHANG Z Y, WANG Z Y, WANG B, WANG Z W, ZHU Q D, HUO Y F, RU Z G, LIU M J. Effects of low temperature treatment at spring spike differentiation stage on young ear fruiting and physiological characteristics of different wheat varieties. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2019, 34(4): 130-139. (in Chinese)
- [45] 吴青霞, 杨林, 邵慧, 冉从福, 杨子博, 余静, 李立群, 李学军. 药隔期低温胁迫对小麦生理及产量的影响. *麦类作物学报*, 2013, 33(4): 752-757.
- WU Q X, YANG L, SHAO H, RAN C F, YANG Z B, YU J, LI L Q, LI X J. Effects of low temperature stress at anther connective formation phase on physiological characteristics and yield of wheat. *Journal of Triticeae Crops*, 2013, 33(4): 752-757. (in Chinese)

(责任编辑 杨鑫浩)