

水稻芽期耐寒性综合评价及耐寒指标筛选

金明¹ 刘旭升¹ 逢洪波^{1*} 王泽¹ 赵宗耀¹ 韩康顺² 李彦利² 贾玉敏²

(1. 沈阳师范大学 生命科学学院, 沈阳 110034;

2. 通化市农业科学研究院 水稻所, 吉林 通化 135007)

摘要 为筛选水稻芽期耐寒指标并建立可靠的水稻芽期耐寒性数学评价模型, 采用 49 个水稻种质资源, 测定发芽率(GR)、相对发芽率(RGR)、发芽势(GP)、相对发芽势(RGP)、发芽指数(GI)、种子萌发指数(PI)、平均发芽时间(MGT)、成苗率(SR)和萌发系数(GC)9 个指标并进行主成分及隶属函数等分析, 对水稻芽期耐寒性进行综合评价。结果表明, 根据水稻芽期耐寒性综合评价值(D)可以将 49 个水稻品种分为 5 个等级, 分别是耐寒性极强品种(IRIS 313-11965、IRIS 313-8956 和 IRIS 313-11038, D 为 0.790~0.830)、耐寒性强品种(IRIS 313-11944 等 17 个品种, D 为 0.609~0.745)、耐寒性中等品种(IRIS 313-11049 等 7 个品种, D 为 0.503~0.576)、耐寒性弱品种(IRIS 313-11986 等 13 个品种, D 为 0.364~0.482)和耐寒性极弱品种(IRIS 313-10891 等 9 个品种, D 为 0.187~0.282)。采用逐步回归分析法建立水稻芽期耐寒性的最优回归方程: $D=0.326+0.020GI+0.021SR-0.028MGT+0.025PI+0.012GR+0.137RGP$, 筛选出发芽率、相对发芽势、发芽指数、种子萌发指数、平均发芽时间和成苗率 6 个与水稻芽期耐寒性显著相关的指标。低温胁迫条件下, 可通过测定这 6 个指标对水稻品种的芽期耐寒性进行快速准确的鉴定及评价。

关键词 水稻; 芽期耐寒; 主成分分析; 聚类分析; 综合评价

中图分类号 S511

文章编号 1007-4333(2021)07-0025-11

文献标志码 A

Comprehensive evaluation of cold tolerance and selection of cold tolerant evaluation indicators of rice at the germination stage

JIN Ming¹, LIU Xusheng¹, PANG Hongbo^{1*}, WANG Ze¹, ZHAO Zongyao¹,

HAN Kangshun², LI Yanli², JIA Yumin²

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

2. Rice Institute, Tonghua Academy of Agricultural Science, Tonghua 135007, China)

Abstract In order to screen cold-tolerant indexes at the germination stage of rice and establish a reliable mathematical evaluation model for the cold tolerance at the germination stage, 49 rice germplasm resources were selected in this study, and 9 indicators including germination rate (GR), germination potential (GP), relative germination rate (RGR), relative germination potential (RGP), germination index (GI), promptness index (PI), mean germination time (MGT), germination coefficient (GC) and seedling rate (SR) were measured. The principal components and membership functions were analyzed to comprehensively evaluate the cold tolerance of rice at the germination stage. The 49 rice varieties were divided into 5 grades according to their comprehensive evaluation values (D) of cold tolerance at the germination stage. Among them, the varieties with particularly strong cold tolerance (IRIS 313-11965, IRIS 313-8956 and IRIS 313-11038, D is ranged from 0.790 to 0.830), strong cold tolerance (IRIS 313-11944 and other 17 varieties,

收稿日期: 2020-10-09

基金项目: 国家自然科学基金(31970237); 沈阳市中青年创新人才项目(RC190223); 沈阳师范大学高层次人才项目(SSDBRJH2002012)

第一作者: 金明, 硕士研究生, E-mail: 793911893@qq.com

通讯作者: 逢洪波, 副教授, 主要从事植物逆境分子调控机制研究, E-mail: panghb@synu.edu.cn

D is range from 0.609 to 0.745), moderate cold-tolerant varieties (IRIS 313-11049 and other 7 varieties, D is ranged from 0.503 to 0.576), weak cold-tolerant varieties (IRIS 313-11986 and other 13 varieties, D is ranged from 0.364 to 0.482), varieties with particularly weak cold tolerance (IRIS 313-10891 and other 9 varieties, D is ranged from 0.187 to 0.282). Stepwise regression analysis was used to obtain the optimal regression equation for cold tolerance during the germination stage of rice: $D = 0.326 + 0.020GI + 0.021SR - 0.028MGT + 0.025PI + 0.012GR + 0.137RGP$. A total of 6 indicators were selected as follows: germination rate, relative germination potential, germination index, promptness index, mean germination time and seedling rate. These 6 indicators displayed significant impact on the cold tolerance of rice at the germination stage. In conclusion, under low temperature stress conditions, these 6 indicators can be used to quickly and accurately identify and evaluate the cold tolerance of rice varieties at the germination stage.

Keywords rice; cold tolerance at the germination stage; principal component analysis; cluster analysis; comprehensive evaluation

水稻是最重要的粮食作物之一,全世界一半以上的人口以水稻为主食^[1-2]。冷害是导致水稻产量下降的主要因素之一,全球大约 1 500 万 hm^2 的土地容易遭受冷害,在日本、韩国、中国的东北和西南地区尤为严重^[3-4]。水稻直播有利于机械化操作,具有省工、省力和高效等优势,随着劳动力成本不断上涨,水稻直播越来越受到农民的青睞^[5]。芽期是水稻生长发育过程中最脆弱的时期,直播的水稻种子遭受冷害会引起种子死亡,大大降低发芽率,导致不正常幼苗的形成,最终造成严重减产^[6-7]。故提高芽期耐寒性是水稻育种的重要目标,芽期耐寒性强的水稻品种将有利于粮食生产,促进粮食安全和持续发展。

水稻芽期分为萌发期和芽期 2 个阶段。萌发期耐寒性是指水稻种子在低温下的发芽能力,而芽期耐寒性是指水稻种子萌发后在低温下成苗的能力^[8]。国内外学者在水稻芽期耐寒筛选和鉴定方面已经开展了一些相应的研究,韩龙植等^[9]以成苗率作为芽期耐寒指标从 879 份水稻种质资源中筛选出 39 份芽期耐寒性极强的水稻种质资源。王丽艳等^[10]以发芽率等 4 个指标对 8 个水稻品种和 3 个自育品系进行评价筛选出‘垦粳 8’和‘鸿源香 169’2 个耐寒性强的水稻品种。黄永兰等^[11]以死苗率作为芽期耐寒性评价指标对江西省的 48 份早稻品种进行评价,得出杂交水稻品种强于常规水稻品种的结论。唐双勤等^[12]以成苗率及根长、根数等指标作为芽期耐寒指标对江西省的 33 份早籼杂交稻品种和 8 份常规稻进行评价筛选出‘陵两优 7108’、‘两优 287’和‘锦两优 816’等 9 份强耐寒品种。熊英等^[13]以成苗率和 6 个幼苗生长相关指标作为芽期耐寒性的评价指标对 204 份水稻材料进行评价,筛选出了 5 份耐寒能力突出的水稻种质。肖宇龙

等^[14]以成苗率作为芽期耐寒指标对江西省 23 个早稻主栽品种组合进行评价,筛选出 4 个芽期耐寒性极强的组合。张建华等^[15]以幼芽成活率作为芽期耐寒指标对 690 份稻种资源进行评价筛选出 25 份强耐寒品种。

已有研究中,水稻萌发期和芽期耐寒性主要分别采用发芽率和成苗率进行评价^[3,16-17]。QTL 定位研究结果发现,萌发期和芽期耐寒性的 QTL 位点只有少部分重叠,说明二者的耐寒机制可能存在较大差异^[18],而水稻耐寒性是由多个因子共同决定的复杂数量性状,因此仅采用单一指标进行耐寒性评价有局限性。且以往研究利用统计学方法对水稻芽期耐寒性进行评价时,一般只采用单一方法进行简单分析,利用多元统计方法对水稻芽期耐寒性进行综合评价鲜见报道。故本研究通过测定萌发期指标(发芽率、发芽势、相对发芽率、相对发芽势、发芽指数、种子萌发指数、平均发芽时间和萌发系数)与芽期指标(成苗率),采用主成分分析法和隶属函数法,对 49 个水稻种质进行综合评价,旨在筛选出合理的芽期耐寒性相关评价指标,建立更加快速准确的芽期耐寒评价体系,以期对水稻种质资源的耐寒评价和选育耐寒性优异的水稻新品种提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

本研究选用的 49 份水稻种质资源来源于中国、孟加拉国和印度等 10 个不同国家,种质的具体信息见表 1。

1.2 试验方法

种子置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中 72 h 打破休眠后,75% 乙醇对其表面进行消毒处理,并用无菌水冲洗 3 次^[19]。

表 1 49 份水稻种质资源名称及其来源

Table 1 Names and origin of 49 rice germplasm resources

统一编号 Uniform number	亚种 Subspecie	来源 Origin	统一编号 Uniform number	亚种 Subspecie	来源 Origin
IRIS 313-7856	粳稻	泰国	IRIS 313-11047	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-8655	籼稻	巴基斯坦	IRIS 313-11048	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-8956	籼稻	印度尼西亚	IRIS 313-11049	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-9137	籼稻	印度	IRIS 313-11056	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-9228	粳稻	日本	IRIS 313-11057	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-9389	粳稻	菲律宾	IRIS 313-11058	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-9405	粳稻	印度尼西亚	IRIS 313-11059	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-10071	粳稻	日本	IRIS 313-11061	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-10605	籼稻	孟加拉国	IRIS 313-11076	籼稻	老挝
IRIS 313-10731	籼稻	尼泊尔	IRIS 313-11154	籼稻	孟加拉国
IRIS 313-10891	籼稻	印度	IRIS 313-11164	籼稻	印度
IRIS 313-10930	籼稻	孟加拉国	IRIS 313-11170	籼稻	印度
IRIS 313-10932	籼稻	中国	IRIS 313-11171	籼稻	印度
IRIS 313-10946	粳稻	印度尼西亚	IRIS 313-11172	籼稻	印度
IRIS 313-10963	籼稻	孟加拉国	IRIS 313-11173	籼稻	印度
IRIS 313-10965	籼稻	孟加拉国	IRIS 313-11458	粳稻	印度
IRIS 313-11013	籼稻	孟加拉国	IRIS 313-11944	籼稻	尼泊尔
IRIS 313-11014	籼稻	孟加拉国	IRIS 313-11949	籼稻	中国
IRIS 313-11016	籼稻	孟加拉国	IRIS 313-11951	籼稻	中国
IRIS 313-11027	籼稻	巴基斯坦	IRIS 313-11952	籼稻	中国
IRIS 313-11029	籼稻	巴基斯坦	IRIS 313-11965	籼稻	中国
IRIS 313-11031	籼稻	巴基斯坦	IRIS 313-11966	籼稻	中国
IRIS 313-11037	籼稻	巴基斯坦	IRIS 313-11968	籼稻	中国
IRIS 313-11038	籼稻	中国	IRIS 313-11986	籼稻	中国
IRIS 313-11039	籼稻	中国			

发芽率测定参考 Fujino 等^[16-17]和 Li 等^[20]的方法,每个水稻品种挑选 40 粒饱满种子放置于铺有双层滤纸的玻璃培养皿(直径 9 cm)中,加入适量无菌水后,在气候培养箱 15 °C(12 h 光照/12 h 黑暗)中低温处理 10 d。种子露白则记为发芽,统计每天发芽种子个数用于萌发期相关耐寒指标的计算。每个品种重复 3 次。

成苗率测定参考 Zhang 等^[3]和 Pan 等^[21]的方法,将水稻种子放置于 28 °C 黑暗条件下浸种 48 h

后,放入 30 °C 培养箱黑暗条件下催芽 24 h。选择 40 粒芽长约 5 mm 的水稻种子,转移到培养皿中后放入 5 °C 气候培养箱(12 h 光照/12 h 黑暗)低温处理 10 d,转至培养室(28 °C,12 h 光照/12 h 黑暗)恢复生长。7 d 后统计成苗数。每个品种重复 3 次。

1.3 测定指标

以发芽率(GR, germination rate)、发芽势(GP, germination potential)、相对发芽率(RGR, relative germination rate)、相对发芽势(RGP,

relative germination potential)、发芽指数(GI, germination index)、种子萌发指数(PI, promptness index)、平均发芽时间(MGT, mean germination time)、萌发系数(GC, germination coefficient)以及成苗率(SR, seedling rate)作为芽期耐寒性的评价指标,对不同品种水稻的芽期耐寒性进行评价。各指标的计算公式如下:

$$\text{发芽率} = (\text{发芽的种子数} / \text{种子总数}) \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{发芽势} = (\text{培养 4 天发芽的种子数} / \text{种子总数}) \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{相对发芽率} = \text{处理发芽率} / \text{对照发芽率} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{相对发芽势} = \text{处理发芽势} / \text{对照发芽势} \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{发芽指数} = \sum (G_t / D_t) \quad (5)$$

式(5)中: G_t ,第 t 天种子的发芽数; D_t ,进行发芽实验的第 t 天。

$$\text{种子萌发指数} = 1.00 \times \text{nd}_2 + 0.75 \times \text{nd}_4 + 0.50 \times \text{nd}_6 + 0.25 \times \text{nd}_8 \quad (6)$$

式(6)中: nd_2 、 nd_4 、 nd_6 和 nd_8 分别对应第 2 天、第 4 天、第 6 天和第 8 天的发芽率。

$$\text{平均发芽时间} = (G_1 T_1 + G_2 T_2 + \dots + G_n T_n) / (G_1 + G_2 + \dots + G_n) \quad (7)$$

式(7)中: T_n 指代发芽日数, d ; G_n 是与发芽日数相

对应的发芽种子数。

$$\text{萌发系数} = \text{发芽率} / \text{平均发芽时间} \quad (8)$$

$$\text{成苗率} = (\text{成活苗数} / \text{出芽总粒数}) \times 100\% \quad (9)$$

1.4 数据处理及统计分析

利用 Excel 2016 软件进行各综合指标耐寒隶属函数值及芽期耐寒综合评价值的计算。

$$u(X_j) = (X_j - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (10)$$

$$W_j = P_j / \sum_{j=1}^n P_j \quad (11)$$

$$D = \sum_{j=1}^n [u(X_j) \times W_j] \quad (12)$$

式(10)~(12)中: j 取 1 到 n 的值; X_j 和 $u(X_j)$ 分别代表第 j 个综合指标的主成分值和隶属函数值; X_{\max} 和 X_{\min} 分别表示第 j 个主成分的最大值和最小值^[22]; W_j ,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 ,通过主成分分析后所得的第 j 个综合指标的贡献率^[23]; D ,为水稻品种在低温条件下由综合指标计算所得的耐寒综合评价值^[24]。

利用 SPSS 26.0 软件进行主成分分析等统计学相关分析。

2 结果与分析

2.1 各指标之间的相关性分析

由表 2 可知,发芽率与发芽势、相对发芽势呈显著正相关,与相对发芽率、种子萌发指数、发芽指数

表 2 水稻芽期耐寒性指标的相关系数

Table 2 Correlation coefficient of cold tolerance indexes in rice at the germination stage

指标 Index	发芽率 GR	相对发芽率 RGR	发芽势 GP	相对发芽势 RGP	种子萌发指数 PI	发芽指数 GI	平均发芽时间 MGT	萌发系数 GC	成苗率 SR
GR	1.000								
RGR	0.996**	1.000							
GP	0.352*	0.351*	1.000						
RGP	0.351*	0.352*	0.999**	1.000					
PI	0.913**	0.911**	0.595**	0.595**	1.000				
GI	0.954**	0.950**	0.539**	0.538**	0.969**	1.000			
MGT	-0.865**	-0.868**	-0.603**	-0.606**	-0.941**	-0.924**	1.000		
GC	0.998**	0.994**	0.400**	0.399**	0.937**	0.968**	-0.891**	1.000	
SR	-0.240	-0.204	0.008	0.016	-0.227	-0.244	0.255	-0.242	1.000

注: * 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平相关性显著和极显著。

Note: * and ** represent significant differences at 0.05 and 0.01, respectively.

和萌发系数呈极显著正相关,其中发芽率与萌发系数的相关系数最大, $R^2 = 0.998$; 平均发芽时间与发芽率、相对发芽率、发芽势、相对发芽势、种子萌发指数、发芽指数和萌发系数均呈极显著负相关,其中平均发芽时间与种子萌发指数的相关系数绝对值最大,为 0.941;而成苗率与其余几个指标的相关性不显著。相关性分析结果表明,大部分单项指标间都呈极显著相关性。

2.2 主成分分析

由表 3 可知,9 个芽期耐寒指标通过主成分分析后得到了 2 个主成分。其中主成分 1 的特征值为 6.370,具有 70.782% 的贡献率;而主成分 2 的特征值为 1.558,具有 17.310% 的贡献率。2 个主成分的累积贡献率为 88.092%,特征值均 > 1,依据累积贡献率 ≥ 85%,特征值 > 1 的提取标准,舍弃其余特征值 < 1 的综合指标,故将 9 个芽期耐寒

指标转化为 2 个独立的综合指标,这 2 个综合指标能够对原有单项指标的大部分信息进行足够的概括,可以用于水稻种质资源的芽期耐寒性表型指标评价。主成分 1 中系数较大的为发芽指数 (GI)0.390,种子萌发指数 (PI)0.388,萌发系数 (GC)0.380,平均发芽时间 (MGT) - 0.379,发芽率 (GR)0.373 和相对发芽率 (RGR)0.372,系数的绝对值均 > 0.3;主成分 2 中系数最大的为相对发芽势 (RGP)0.612。由表 3 可得到 2 个综合指标的对应系数为:

$$\text{主成分 1: } CI_1 = 0.373GR + 0.248GP + 0.388PI + 0.390GI - 0.379MGT + 0.380GC - 0.099SR + 0.372RGR + 0.248RGP$$

$$\text{主成分 2: } CI_2 = -0.233GR + 0.610GP - 0.008PI - 0.073GI - 0.017MGT - 0.196GC + 0.322SR - 0.226RGR + 0.612RGP$$

表 3 主成分贡献率及特征向量

Table 3 Principal component contribution ratio and eigenvector

项目 Item	指标 Index	主成分 1 CI ₁	主成分 2 CI ₂
贡献率/% Contributive ratio		70.782	17.310
累计贡献率/% Cumulative contributive ratio		70.782	88.092
特征根 Eigenvalues		6.370	1.558
权重 Weight		0.803	0.197
	发芽率 GR	0.373	-0.233
	发芽势 GP	0.248	0.610
	相对发芽率 RGR	0.372	-0.226
	相对发芽势 RGP	0.248	0.612
特征向量 Eigenvector	种子萌发指数 PI	0.388	-0.008
	发芽指数 GI	0.390	-0.073
	平均发芽时间 MGT	-0.379	-0.017
	萌发系数 GC	0.380	-0.196
	成苗率 SR	-0.099	0.322

2.3 品种综合评价

由表4可知,主成分1中,IRIS 313-11965的隶属函数值最大,为1.000,表明IRIS 313-11965在主成分1中的芽期耐寒性最强,而IRIS 313-10930的隶属函数值最小,为0.000,表明IRIS 313-10930在主成分1中的芽期耐寒性最弱;主成分2中,IRIS 313-10946的隶属函数值最大,为1.000,表明IRIS 313-10946在主成分2中的芽期耐寒性最强,而IRIS 313-10963的隶属函数值最小,为0.000,表明IRIS

313-10963在主成分2中的芽期耐寒性最弱。

依据公式(11)计算得到主成分分析筛选出的2个综合指标的权重。主成分1的权重为0.803,主成分2的权重为0.197。在49个水稻品种中,IRIS 313-11965、IRIS 313-8956和IRIS 313-11038的D值较高(0.790~0.830),评价为芽期耐寒能力极强。IRIS 313-10891、IRIS 313-9405和IRIS 313-10071等9个品种的D值较低(0.187~0.282),评价为芽期耐寒能力极弱,见表4。

表4 各品种的主成分值、隶属函数值、综合评价(D)和预测值

Table 4 Principal component value, membership function value, comprehensive evaluation value and predicted value of each variety

统一编号 Uniform number	主成分1 CI ₁	主成分2 CI ₂	隶属函数值		D	预测值 Predicted value	排序 Order
			Membership function value				
			$u(X_1)$	$u(X_2)$			
IRIS 313-7856	15.056	-1.477	0.345	0.661	0.407	0.401	38
IRIS 313-8655	-3.036	-0.852	0.069	0.876	0.228	0.223	46
IRIS 313-8956	57.244	-2.990	0.987	0.141	0.821	0.814	2
IRIS 313-9137	27.796	-2.133	0.539	0.436	0.519	0.513	25
IRIS 313-9228	20.405	-1.742	0.426	0.570	0.454	0.449	33
IRIS 313-9389	14.006	-1.449	0.329	0.671	0.396	0.390	39
IRIS 313-9405	-0.862	-0.685	0.102	0.933	0.265	0.260	42
IRIS 313-10071	-2.274	-0.596	0.081	0.964	0.254	0.249	43
IRIS 313-10605	12.002	-1.553	0.298	0.635	0.364	0.359	40
IRIS 313-10731	49.639	-3.191	0.872	0.072	0.714	0.708	6
IRIS 313-10891	3.507	-1.226	0.169	0.747	0.282	0.277	41
IRIS 313-10930	-7.567	-0.630	0.000	0.952	0.187	0.182	49
IRIS 313-10932	33.755	-2.625	0.630	0.267	0.558	0.553	22
IRIS 313-10946	-4.422	-0.491	0.048	1.000	0.235	0.231	45
IRIS 313-10963	50.603	-3.400	0.886	0.000	0.712	0.706	7
IRIS 313-10965	40.178	-2.896	0.727	0.174	0.619	0.613	18
IRIS 313-11013	42.643	-3.085	0.765	0.109	0.636	0.630	15
IRIS 313-11014	49.481	-3.301	0.869	0.034	0.705	0.699	8
IRIS 313-11016	51.697	-3.391	0.903	0.003	0.726	0.720	5
IRIS 313-11027	40.711	-2.914	0.736	0.167	0.624	0.618	16
IRIS 313-11029	20.057	-1.856	0.421	0.531	0.442	0.437	34
IRIS 313-11031	25.108	-2.266	0.498	0.390	0.477	0.471	29
IRIS 313-11037	43.883	-2.681	0.784	0.247	0.678	0.672	11
IRIS 313-11038	55.062	-3.050	0.954	0.120	0.790	0.784	3

表 4(续)

统一编号 Uniform number	主成分 1 CI ₁	主成分 2 CI ₂	隶属函数值		D	预测值 Predicted value	排序 Order
			Membership function value				
			$u(X_1)$	$u(X_2)$			
IRIS 313-11039	42.707	-2.978	0.766	0.145	0.644	0.638	14
IRIS 313-11047	-0.860	-1.021	0.102	0.818	0.243	0.238	44
IRIS 313-11048	33.616	-2.661	0.627	0.254	0.554	0.548	23
IRIS 313-11049	36.472	-2.851	0.671	0.189	0.576	0.571	21
IRIS 313-11056	17.068	-1.776	0.375	0.558	0.411	0.406	37
IRIS 313-11057	30.785	-2.565	0.584	0.287	0.526	0.520	24
IRIS 313-11058	41.185	-3.035	0.743	0.125	0.621	0.616	17
IRIS 313-11059	21.756	-1.967	0.447	0.493	0.456	0.450	32
IRIS 313-11061	39.358	-2.884	0.715	0.177	0.609	0.604	20
IRIS 313-11076	47.548	-3.049	0.840	0.121	0.698	0.692	9
IRIS 313-11154	23.095	-1.989	0.467	0.485	0.471	0.465	30
IRIS 313-11164	-6.151	-0.637	0.022	0.950	0.204	0.199	47
IRIS 313-11170	20.370	-2.077	0.426	0.455	0.431	0.426	36
IRIS 313-11171	28.183	-2.253	0.545	0.394	0.515	0.509	26
IRIS 313-11172	45.578	-2.776	0.810	0.215	0.693	0.687	10
IRIS 313-11173	40.611	-3.014	0.734	0.133	0.616	0.610	19
IRIS 313-11458	45.399	-3.158	0.807	0.083	0.665	0.659	12
IRIS 313-11944	52.712	-3.294	0.918	0.037	0.745	0.739	4
IRIS 313-11949	20.699	-2.018	0.431	0.475	0.439	0.434	35
IRIS 313-11951	-6.054	-0.780	0.023	0.901	0.196	0.191	48
IRIS 313-11952	27.469	-2.307	0.534	0.376	0.503	0.497	27
IRIS 313-11965	58.071	-3.006	1.000	0.136	0.830	0.824	1
IRIS 313-11966	21.609	-1.927	0.444	0.506	0.457	0.452	31
IRIS 313-11968	43.121	-2.882	0.772	0.178	0.656	0.650	13
IRIS 313-11986	24.728	-2.114	0.492	0.442	0.482	0.477	28

2.4 回归分析

将 D 作为因变量, 9 个单项指标作为自变量进行逐步回归分析, 建立最优回归方程: $D = 0.326 + 0.020GI + 0.021SR - 0.028MGT + 0.025PI + 0.012GR + 0.137RGP$ 。决定系数 $R^2 = 1.000$, $P = 0.000$, 6 个自变量几乎可决定 D 的全部变异, 分别是发芽指数 (GI)、成苗率 (SR)、平均发芽时间 (MGT)、种子萌发指数 (PI)、发芽率 (GR) 和相对发芽势 (RGP)。用该回归方程对 49 个品种水稻芽期耐寒性进行预测, 其预测值与综合评价值 D 的排序

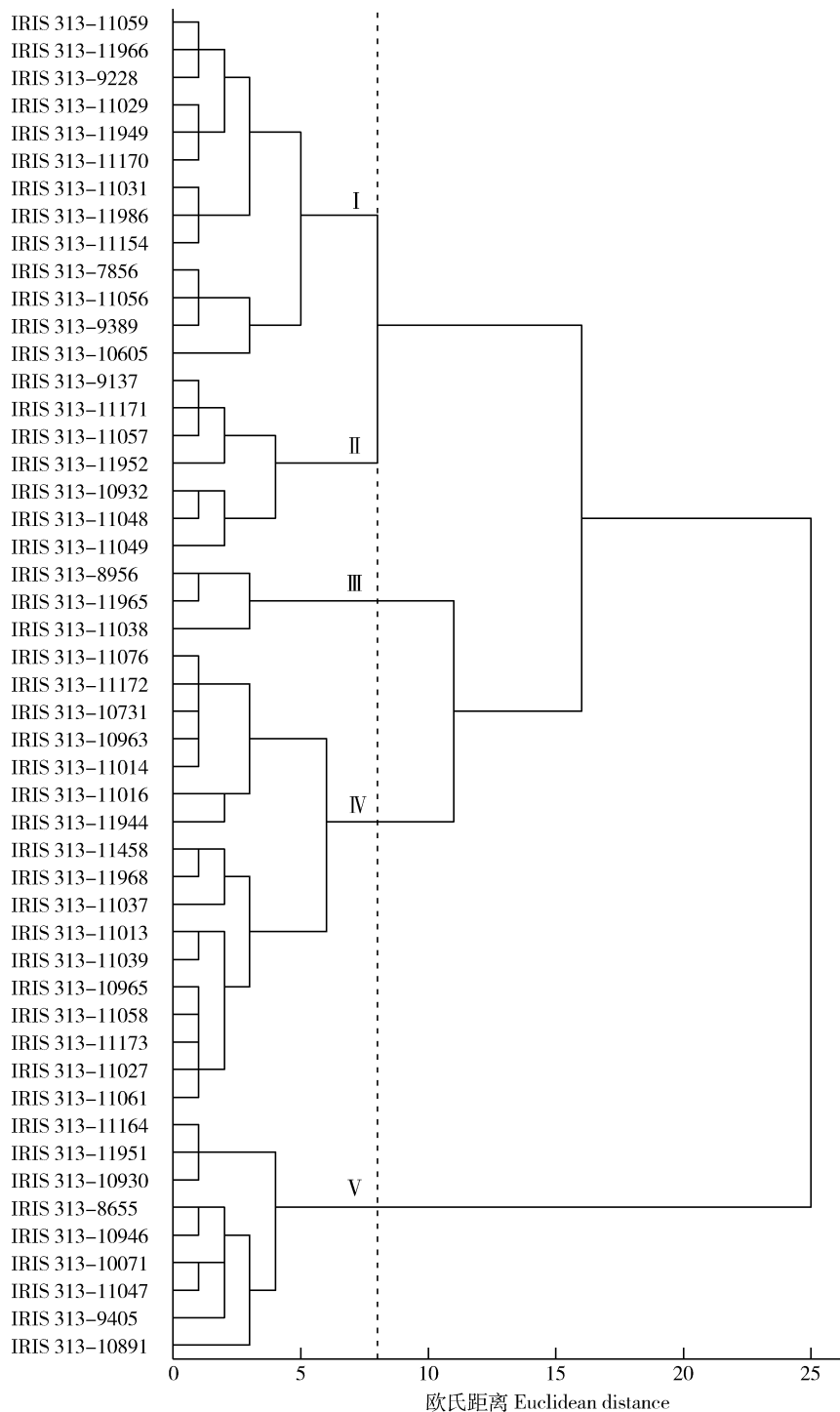
完全一致(表 4), 说明该回归方程可对水稻芽期耐寒性进行准确的预测。

2.5 聚类分析

利用 D , 采用组间联接法和欧氏距离进行聚类分析, 在欧氏距离 8.0 处将 49 份品种分为 5 个类群, 见图 1, 对应水稻耐寒性划分的极强、强、中、弱和极弱 5 个等级。第 I 类群包括 IRIS 313-11986、IRIS 313-11031 和 IRIS 313-11154 等 13 个水稻品种, 耐寒性弱; 第 II 类群包括 IRIS 313-11049、IRIS 313-10932 和 IRIS 313-11048 等 7 个水稻品种, 耐

寒性中等;第Ⅲ类群包括 IRIS 313-11965、IRIS 313-8956 和 IRIS 313-11038 共 3 个水稻品种,耐寒性极强;第Ⅳ类群包括 IRIS 313-11944、IRIS 313-11016

和 IRIS 313-10731 等 17 个品种,耐寒性强;第Ⅴ类群包括 IRIS 313-10891、IRIS 313-9405 和 IRIS 313-10071 等 9 个水稻品种,耐寒性极弱。



I, 耐寒性弱; II, 耐寒性中等; III, 耐寒性极强; IV, 耐寒性强; V, 耐寒性极弱。虚线表示欧式距离 8。

I, weak cold-tolerant varieties; II, moderate cold-tolerant varieties; III, particularly strong cold tolerance; IV, strong cold tolerance; V, particularly weak cold tolerance. The dotted line indicates that Euclidean distance value is 8.

图 1 基于 9 个芽期耐寒指标的 49 份水稻种质资源聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis results of 49 rice germplasm resources based on 9 cold tolerance indexes at the germination stage

3 讨论

耐寒种质资源的筛选和鉴定是培育耐寒水稻品种的直接有效手段。随着机械化生产和直播稻面积的大量增加,水稻芽期耐寒性变得尤为重要。以往的研究多选用发芽率^[10]、成苗率^[9,12-13,15]、发芽指数^[10]和根长^[12-13]等指标评价水稻芽期耐寒性,但水稻耐寒性是由多个因子共同决定的复杂数量性状,仅使用某一个单项指标对其进行耐寒性鉴定评价具有局限性^[25-26],故本研究通过利用萌发期耐寒指标(发芽率、发芽势、相对发芽率、相对发芽势、发芽指数、种子萌发指数、萌发系数和平均发芽时间)和芽期耐寒指标(成苗率)共9个指标进行综合评价。

主成分分析可以将多个关联的单项指标转化成数量很少并且相互独立的综合指标,避免了多指标评价中各指标间具有一定相关性且信息重叠等问题。这种方法已经用于农艺性状的评价中,如高粱耐盐性^[27]、大豆耐低磷^[28]、小麦抗旱性^[29]和水稻耐盐性^[30-31]等。本研究计算出每个水稻种质的主成分值及对应的隶属函数值和权重,避免人为确定权重的主观性;将2个综合指标的特征向量进行归一化处理,得到水稻芽期耐寒性的综合评价值(D),这样既考虑了各指标间的相关性,又考虑了各指标的重要性,从而使获得的评价结果更为科学合理。利用多元统计学分析进行综合评价将9个芽期耐寒性指标量化,与芽期耐寒性强弱建立数量关系,根据 D 对本研究的49个水稻品种芽期耐寒性进行排序以及分级,结果表明,IRIS 313-11965、IRIS 313-8956和IRIS 313-11038共3个水稻种质的芽期耐寒性在选取的49个水稻品种中最强,可以在今后的水稻芽期耐寒品种选育和改良中加以应用。

聚类分析可以将不同的种质进行准确的分类,能够直观地对不同种质间的分类关系进行分析^[32]。本研究中,根据 D 对49个水稻品种进行聚类分析,将其划分为5个类别,与韩龙植等^[9]研究中极强、强、中、弱和极弱的5个水稻耐寒等级划分一致。本研究利用逐步回归分析构建了1个最优回归方程作为水稻芽期耐寒性的评价模型,利用该模型得到的预测值及排序都与利用 D 进行评价的结果基本相同。结果验证了利用该模型评价水稻芽期耐寒性比较可靠,其评价指标容易测定且准确有效,可以用于预测目标种质芽期耐寒性的强弱。

4 结论

本研究对49份水稻种质资源的芽期耐寒性进行综合评价。利用主成分分析、隶属函数分析、聚类分析和逐步回归分析等多元统计学方法,从测定的9个单项指标中筛选出发芽率(GR)、相对发芽势(RGP)、发芽指数(GI)、种子萌发指数(PI)、平均发芽时间(MGT)和成苗率(SR)6个与水稻芽期耐寒性有显著相关的关键指标,建立了最优回归方程, $D=0.326+0.020GI+0.021SR-0.028MGT+0.025PI+0.012GR+0.137RGP$ 可用于水稻种质资源芽期耐寒性的快速鉴定与预测。利用综合评价值(D)筛选出3份芽期耐寒性极强的水稻种质材料是IRIS 313-11965、IRIS 313-8956和IRIS 313-11038。

参考文献 References

- [1] Zhang Q, Chen Q, Wang S, Hong Y, Wang Z. Rice and cold stress: Methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci[J]. *Rice*, 2014, 7(24): 1-12
- [2] 刘次桃, 王威, 毛毕刚, 储成才. 水稻耐低温逆境研究: 分子生理机制及育种展望[J]. *遗传*, 2018, 40(3): 171-185
Liu C T, Wang W, Mao B G, Chu C C. Research on low temperature stress resistance of rice: Molecular physiology mechanism and breeding prospects[J]. *Hereditas*, 2018, 40(3): 171-185 (in Chinese)
- [3] Zhang M C, Ye J, Xu Q, Feng Y, Yuan X P, Yu H Y, Wang Yi P, Wei X H, Yang Y L. Genome-wide association study of cold tolerance of Chinese *indica* rice varieties at the bud burst stage[J]. *Plant Cell Reports*, 2018, 37(3): 529-539
- [4] 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
- [5] 陈雪飞, 唐艳萍, 谢英杰, 李尚, 楚建波, 敖方源, 彭维钦, 李海山, 万玉华. 我国机械化直播水稻生产技术研究进展[J]. *中国稻米*, 2018, 24(4): 9-15
Chen X F, Tang Y P, Xie Y J, Li S, Chu J B, Ao F Y, Peng W Q, Li H S, Wan Y H. Research progress in mechanized direct seeding rice production technology in China[J]. *China Rice*, 2018, 24(4): 9-15 (in Chinese)
- [6] 陆婷婷. 水稻芽期耐冷性的 QTL 初步定位[D]. 长沙: 中南大学, 2012
Lu T T. Primary mapping of QTL underlying cold tolerance at the germination stage in rice [D]. Changsha: Central South University, 2012 (in Chinese)
- [7] Demir I, Ermis S, Mavi K, Matthews K. Mean germination time of pepper seed lots (*Capsicum annum* L.) predicts size

- and uniformity of seedlings in germination tests and transplant modules[J]. *Seed Science and Technology*, 2008, 36(1): 21-30
- [8] 雷建国. 低温胁迫下水稻耐冷性 QTL 定位及差异表达基因分析[D]. 南昌: 江西农业大学, 2018
Lei J G. QTL mapping and analysis of differentially expressed genes for cold tolerance in rice under low temperature stress[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2018 (in Chinese)
- [9] 韩龙植, 曹桂兰, 安永平, 张媛媛, 阮仁超, 张艳蕊, 曲英萍. 水稻种质资源芽期耐冷性的鉴定与评价[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(4): 346-350
Han L Z, Cao G L, An Y P, Zhang Y Y, Ruan R C, Zhang Y R, Qu Y P. Identification and evaluation of cold tolerance of rice germplasm resources at the germination stage[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2004, 5(4): 346-350 (in Chinese)
- [10] 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. Construction and comprehensive evaluation of low temperature tolerance index system during germination and seedling stages of rice[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2019, 21(10): 58-65 (in Chinese)
- [11] 黄永兰, 龙起樟, 丁芸, 万建林, 王会民. 江西省早稻品种芽期耐冷性鉴定评价研究[J]. 江西农业大学学报, 2016, 38(3): 440-447
Huang Y L, Long Q Z, Ding Y, Wan J L, Wang H M. Identification and evaluation of cold tolerance during the germination stage of early rice varieties in Jiangxi Province[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2016, 38(3): 440-447 (in Chinese)
- [12] 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 during the germination stage of direct seeding early *indica* rice varieties[J]. *Crops*, 2019(1): 159-167 (in Chinese)
- [13] 熊英, 欧阳杰, 何永歆, 黄乾龙, 王静. 芽期耐低温淹水的水稻种质的评价与筛选[J]. 杂交水稻, 2015, 30(4): 54-58
Xiong Y, Ouyang J, He Y X, Huang Q L, Wang J. Evaluation and selection of rice germplasm tolerant to low temperature flooding during the germination stage[J]. *Hybrid Rice*, 2015, 30(4): 54-58 (in Chinese)
- [14] 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 cold tolerance at the germination stage of main early rice varieties in Jiangxi Province under controlled conditions[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2014, 36(2): 243-248 (in Chinese)
- [15] 张建华, 廖新华, 戴陆园, 叶昌荣, 工藤悟. 稻种资源芽期和苗期的耐冷性评价[J]. 中国农学通报, 1996, 12(5): 10-13
Zhang J H, Liao X H, Dai L Y, Ye C R, Kudo S. Evaluation of cold tolerance at the germination and seedling stage of rice resources[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 1996, 12(5): 10-13 (in Chinese)
- [16] Fujino K, Sekiguchi H, Matsuda Y, Sugimoto K, Ono K, Yano M. Molecular identification of a major quantitative trait locus, *qLTG3-1*, controlling low-temperature germinability in rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(34): 12623-12628
- [17] Fujino K, Sekiguchi H, Sato T, Kiuchi H, Nonoue Y, Takeuchi Y, Ando T, Lin S Y, Yano M. Mapping of quantitative trait loci controlling low-temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108: 794-799
- [18] Yang J, Li D, Liu H, Liu Y, Huang M, Wang H, Chen Z, Guo T. Identification of QTLs involved in cold tolerance during the germination and bud stages of rice (*Oryza sativa* L.) via a high-density genetic map[J]. *Breed Science*, 2020, 70: 292-302
- [19] Jiang L, Liu S J, Hou M Y, Tang J Y, Chen L M, Zhai H Q, Wan J M. Analysis of QTLs for seed low temperature germinability and anoxia germinability in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Field Crops Research*, 2006, 98(1): 68-75
- [20] Li L F, Liu X, Xie K, Wang Y H, Liu F, Lin Q Y, Wang W Y, Yang C Y, Lu B Y, Liu S J, Chen L M, Jiang L, Wang J M. *qLTG-9*, a stable quantitative trait locus for low-temperature germination in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(9): 2313-2322
- [21] Pan Y H, Zhang H L, Zhang D L, Li J J, Xiong H Y, Yu J P, Li J L, Rashid M A R, Li G L, Ma X D, Cao G L, Han L Z, Li Z C. Genetic analysis of cold tolerance at the germination and booting stages in rice by association mapping[J]. *PLoS ONE*, [2015-03-19]. DOI: 10.1371/journal.pone.0120590
- [22] 武辉, 侯丽丽, 周艳飞, 范志超, 石俊毅, 阿丽艳·肉孜, 张巨松. 不同棉花基因型幼苗耐寒性分析及其鉴定指标筛选[J]. 中国农业科学, 2012, 45(9): 1703-1713
Wu H, Hou L L, Zhou Y F, Fan Z C, Shi J Y, Aliyan R, Zhang J S. Analysis of chilling-tolerance and determination of chilling-tolerance evaluation indicators in cotton of different genotypes[J/OL]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(9): 1703-1713 (in Chinese)
- [23] 李春红, 姚兴东, 鞠宝韬, 朱明月, 王海英, 张惠君, 敖雪, 于翠梅, 谢甫绶, 宋书宏. 不同基因型大豆耐荫性分析及其鉴定指标的筛选[J]. 中国农业科学, 2014, 47(15): 2927-2939
Li C H, Yao X D, Ju B T, Zhu M Y, Wang H Y, Zhang H J,

- Ao X, Yu C M, Xie F T, Song S H. Analysis of shade-tolerance and determination of shade-tolerance evaluation indicators in different soybean genotypes[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(15): 2927-2939 (in Chinese)
- [24] 戴海芳, 武辉, 阿曼古丽·买买提阿力, 王立红, 麦麦提·阿皮孜, 张巨松. 不同基因型棉花苗期耐盐性分析及其鉴定指标筛选[J]. 中国农业科学, 2014, 47(7): 1290-1300
- Dai H F, Wu H, Amanguli M, Wang L H, Maimaiti A, Zhang J S. Analysis of salt-tolerance and determination of salt-tolerant evaluation indicators in cotton seedlings of different genotypes[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(7): 1290-1300 (in Chinese)
- [25] 乔永利, 韩龙植, 安永平, 张媛媛, 曹桂兰, 高熙宗. 水稻芽期耐冷性 QTL 的分子定位[J]. 中国农业科学, 2005, 38(2): 217-221
- Qiao Y L, Han L Z, An Y P, Zhang Y Y, Cao G L, Gao X Z. Molecular mapping of QTL for cold tolerance of rice at the germination stage[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(2): 217-221 (in Chinese)
- [26] 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)
- [27] 高春华, 朱金英, 张华文, 田艺心, 高凤菊. 38 个粒用高粱品种芽期耐盐性的综合鉴定及评价[J]. 核农学报, 2019, 33(9): 1841-1855
- Gao C H, Zhu J Y, Zhang H W, Tian Y X, Gao F J. Comprehensive identification and evaluation of salt tolerance of 38 grain sorghum varieties at the germination stage [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(9): 1841-1855 (in Chinese)
- [28] 武兆云, 郭娜, 赵晋铭, 李丽红, 盖钧镒, 邢邯. 大豆苗期耐低磷主成分及隶属函数分析[J]. 大豆科学, 2012, 31(1): 42-46
- Wu Z Y, Guo N, Zhao J M, Li L H, Gai J Y, Xing H. Analysis of the main components and membership functions of soybean seedlings tolerance to low phosphorus[J]. *Soybean Science*, 2012, 31(1): 42-46 (in Chinese)
- [29] 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 of drought resistance physiological indexes of wheat substitution lines[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(12): 4264-4272 (in Chinese)
- [30] 田蕾, 陈亚萍, 刘俊, 马晓刚, 王娜, 杨兵, 李莹, 郭海东, 李娟, 胡慧, 张银霞, 李培富. 粳稻种质资源芽期耐盐性综合评价与筛选[J]. 中国水稻科学, 2017, 31(6): 631-642
- Tian L, Chen Y P, Liu J, Ma X G, Wang N, Yang B, Li Y, Guo H D, Li J, Hu H, Zhang Y X, Li P F. Comprehensive evaluation and selection of rice (*Oryza sativa japonica*) germplasm for saline tolerance at germination stage[J]. *China Journal of Rice Science*, 2017, 31(6): 631-642 (in Chinese)
- [31] 耿雷跃, 马小定, 崔迪, 张启星, 韩冰, 韩龙植. 水稻全生育期耐盐性鉴定评价方法研究[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(2): 267-275
- Geng L Y, Ma X D, Cui D, Zhang Q X, Han B, Han L Z. Research on the method of identification and evaluation of salt tolerance in the whole growth period of rice[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(2): 267-275 (in Chinese)
- [32] 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[J]. 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 and relationship of cold resistance and drought resistance of cabbage type winter rape in northern cold and arid regions[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(18): 3743-3756 (in Chinese)

责任编辑: 吕晓梅