

# 冬瓜苗期耐低温性鉴定及相关分析

姚金晓, 杨 飞, 王呈阳, 王国华, 吴 菊  
(舟山市农林科学研究院, 浙江 舟山 316000)

**摘要:**为研究冬瓜在苗期的耐低温特性,对 15 个冬瓜品种幼苗进行低温胁迫处理,测定幼苗的株高、茎粗、叶面积、鲜物质量和干物质量 5 个形态指标。通过相关性分析、主成分分析、隶属函数值分析、聚类分析、回归分析等分析方法对冬瓜苗期进行耐低温胁迫鉴定和指标筛选。结果表明:相对株高与相对茎粗、相对叶面积、相对鲜物质量之间呈显著性差异;通过主成分分析筛选到两个主成分,累计贡献率为 77.622%;通过综合评价的大小发现,15 份冬瓜材料耐寒能力有明显的区别;通过聚类分析筛选出 1 个耐低温品种和 3 个不耐低温品种;通过线性回归分析建立冬瓜幼苗期耐低温方程,方程分析发现冬瓜苗期的 5 个形态指标都对低温胁迫敏感,可以作为鉴定指标。

**关键词:**冬瓜;低温胁迫;形态指标;主成分分析;隶属函数值;聚类分析

早春设施栽培,因温度较低,常会导致作物出现生理失调现象,降低产量,甚至会导致冷害现象的发生,造成作物绝产。准确地鉴定作物品种耐低温特性,是筛选耐低温品种的必要前提<sup>[1]</sup>。近年来一些科研工作者对番茄、辣椒、黄瓜、甜瓜、西瓜等许多植物做了耐低温胁迫研究工作,提出了多样的耐低温指标鉴定方法,并筛选到了一批耐低温种质资源。张海利等<sup>[2]</sup>用生理指标对已经分离多代的 6 个番茄材料进行了耐低温鉴定,成功筛选到一份较耐低温和弱光的材料。王林闯等<sup>[3]</sup>研究番茄发现,苗期的叶绿素含量、可溶性糖含量、根系活力的变化趋势也与其耐低温性相一致,这些指标可以作为番茄品种耐低温性的筛选指标。任旭琴等<sup>[4]</sup>对辣椒耐低温研究发现 4℃ 条件下的 4 叶 1 心幼苗冷害指数和 15℃ 的发芽指数可以作为辣椒的耐低温评价指标。周双等<sup>[5]</sup>对 43 份黄瓜材料进行了耐低温处理,结果筛选到 7 份耐低温材料,并建立了回归方程。武雁军等<sup>[6]</sup>研究了低温对厚皮甜瓜生理生化指标的影响,研究发现抗寒性强的甜瓜品种,自身膜系统稳定性较强,保护酶类活性较高。

冬瓜幼苗耐寒力弱,可以忍受短时的较低温度,低于 3~5℃ 时出现生理机能障碍,长时间处于 10℃ 以下,在加湿度过大会发生冻害,严重时造成绝产绝收。目前,对冬瓜耐低温胁迫的研究

鲜有报道。因此,本研究以 15 份冬瓜为研究材料,经低温胁迫处理,采用相关性分析、主成分分析、聚类分析、隶属函数值分析、回归分析等分析方法,综合分析冬瓜在苗期的耐低温胁迫的能力,并进行评价。旨在为冬瓜种质资源耐低温鉴定和筛选提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选取市场种植的 15 份冬瓜品种为试验材料,试验在人工气候箱中进行。供试材料的来源名称及代码见表 1。

表 1 供试冬瓜品种及产地

Table 1 Varieties and locations of the wax gourd

代码 No.	名称 Name	来源 Origin
1	绿宝石 1 号	南宁桂福园农业有限公司
2	桂研 6 号	南宁桂研种业有限责任公司
3	绿甜 519	南宁桂研种业有限责任公司
4	绿美 518	南宁桂研种业有限责任公司
5	旺家碧玉	南宁桂研种业有限责任公司
6	冠玉 1 号	广州乾农农业科技发展有限公司
7	绿春小冬瓜	天津市耕耘种业有限公司
8	一串玲小冬瓜	北京花儿朵朵花仙子农业有限公司
9	泰美小冬瓜	重庆圣华种业有限公司
10	碧玉节瓜	成都良庆园农业开发有限公司
11	铁柱 168 冬瓜	广东科农种业有限公司
12	越南小玲珑	河北省辛集市盛农种子公司
13	芋香小冬瓜	广东省良种引进服务公司
14	舟节 1 号	舟山市农林科学院自选育杂交组合
15	舟节 2 号	舟山市农林科学院自选育杂交组合

收稿日期:2018-01-13

基金项目:舟山市公益农业科技资助项目(2015C31021)。

第一作者简介:姚金晓(1984-),男,硕士,农艺师,从事蔬菜育种和基础研究。E-mail:yjx241@126.com。



1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验于2017年在舟山市农林科学研究院马岙基地进行。冬瓜种子先28℃恒温箱内催芽,待发芽时,将种子播种到32孔穴盘中,正常管理。当冬瓜幼苗长至2叶1心时,选取形态及长势基本一致的幼苗直接放入人工气候箱中进行低温胁迫处理。温度为(12±1)℃/(6±1)℃,光照周期昼12h/夜12h,连续处理7d后<sup>[7]</sup>,进行相关指标的测定。每个品种处理8株,另外各个材料设对照组,温室大棚内,自然生长,分别设3次重复。

1.2.2 测定项目及方法 株高测定:以直尺测定植株根颈部到生长点的距离。茎粗测定:用游标卡尺测量紧贴基质表面处的茎部。鲜物质量测定:整个植株清洗干净晾干后,用天平称量。干物质量测定:将称量完鲜物质量的冬瓜幼苗植株80℃烘箱下烘干称量。

1.2.3 数据分析 采用WPS 2016和SPSS 19.0软件对指标相对值进行相关性分析、主成分分析、聚类分析、隶属函数值分析以及回归分析。

1)形态指标相对值。根据所测得的各项形态指标数据,分别计算对照和不同方法处理下各指标值的平均值。然后将低温胁迫下形态指标的平均值与对照条件下的平均值之比作为相对值。并进行相关分析。

相对值=处理平均值 / 对照平均值

2)隶属函数值。隶属函数值计算公式:

$$U_{(X_i)} = \frac{X_i - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} i=1,2,\cdots n$$

如果为负相关,则用反隶属函数公式为:

$$U_{(X_i)} = \frac{X_i - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} i=1,2,\cdots n$$

式中: $U_{(X_i)}$ 表示第*i*个综合指标; $X_{\min}$ 表示第*i*个综合指标的最小值; $X_{\max}$ 表示第*i*个综合指标的最大值。求出的所有品种的综合指标的隶属函数值。

3)权重。 $W_i = P_i / \sum_{i=1}^n P_i i=1,2,\cdots,n$

式中: $W_i$ 表示第*i*个综合指标在所有综合指标中的重要程度; $P_i$ 为主成分分析中第*i*个综合指标的贡献率。

4)综合评价。  $D = \sum_i [U(X_i) \cdot W_i] i=1,$

$2,\cdots n$

式中: $D$ 为各品种在低温胁迫下的耐低温胁迫综合评价值。根据*D*值大小,可对冬瓜各品种耐低温胁迫强弱进行排序<sup>[8]</sup>。

2 结果与分析

2.1 冬瓜苗期形态指标相对值及相关性分析和主成分分析

统计对照和低温胁迫下冬瓜的形态指标,并计算相对值(表2)。可以看出,苗期形态指标的相对值均小于1,且差异较大,表明低温胁迫使植株生长速度减缓,不同品种间的同一相对指标值差异较大,其中8号相对株高最大,达到了0.98;1和10号相对茎粗最大,都为0.99;1号相对叶面积最大,为0.80;6号相对鲜物质量最大,为0.70;12号的相对干物质量最大,为0.81。由此说明,不同品种对低温胁迫的适应程度不同。

表2 冬瓜苗期形态指标的相对值  
Table 2 Relative values of morphological indexes of wax guard at seedling stage

编码 No.	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>
1	0.90	0.99	0.80	0.43	0.33
2	0.75	0.93	0.29	0.27	0.60
3	0.79	0.90	0.70	0.34	0.42
4	0.53	0.82	0.32	0.34	0.52
5	0.68	0.85	0.53	0.42	0.55
6	0.94	0.92	0.44	0.70	0.55
7	0.79	0.92	0.62	0.50	0.55
8	0.98	0.88	0.70	0.58	0.52
9	0.80	0.84	0.69	0.59	0.48
10	0.76	0.99	0.40	0.51	0.51
11	0.62	0.79	0.39	0.45	0.49
12	0.87	0.98	0.76	0.70	0.81
13	0.62	0.69	0.40	0.27	0.34
14	0.80	0.93	0.76	0.45	0.49
15	0.73	0.93	0.45	0.56	0.41

$x_1$ 、 $x_2$ 、 $x_3$ 、 $x_4$ 和 $x_5$ 代表相对株高、相对茎粗、相对叶面积、相对鲜物质量和相对干物质量。编号1~15为冬瓜品种,下同。

$x_1$ 、 $x_2$ 、 $x_3$ 、 $x_4$  and  $x_5$  were relative plant height,relative stem diameter,relative leaf area,relative fresh matter,relative dry matter. Number 1-15 represent the number of different wax gourd varieties. The same as below.

对15个冬瓜品种的5个形态指标的相对值进行相关分析,得到各指标的相关系数。从表3



可以看出,15个品种的5个指标之间都存在着不同程度相关性。相对株高与相对茎粗、相对叶面积、相对鲜物质量之间呈显著性差异。其它指标之间相关不明显。

表3 变量间的相关系数

Table 3 Correlation coefficients matrix among variables

指标 Index	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>
X <sub>1</sub>	1.000	0.615*	0.639*	0.631*	0.190
X <sub>2</sub>	0.615*	1.000	0.385	0.434	0.338
X <sub>3</sub>	0.639*	0.385	1.000	0.374	0.029
X <sub>4</sub>	0.631*	0.434	0.374	1.000	0.459
X <sub>5</sub>	0.190	0.338	0.029	0.459	1.000

\* 代表 0.05 水平相关显著。  
\* indicate significant correlation at 0.05 level.

表4 主成分的载荷向量、特征值、累计贡献率和权重

Table 4 Load vectors,eigenvalues,cumulative and weights of principal components

主成分 Component	相关系数 Correlation coefficient					特征值 Eigen value	贡献率/% Contribution rate	累计贡献率/% Cumulative contribution rate	权重 Weight
	株高 Plant height	茎粗 Stem diameter	叶面积 Leaf area	鲜物质量 Fresh matter	干物质量 Dry matter				
1	0.882	0.770	0.686	0.799	0.477	2.709	54.171	54.171	0.864
2	-0.264	0.043	-0.546	0.239	0.804	1.073	21.451	77.622	0.136

2.2 隶属函数分析和权重的确定

在 SPSS 软件中,根据两个主因子的贡献率,利用软件中因子得分功能,求出每一品种的因子得分值  $C_x$ (表 5),再根据因子得分值  $C_x$ ,由隶属函数公式分别计算出 15 个品种冬瓜的隶属函数值  $U_x$ ,在根据综合评价公式计算每个品种的评价值,然后根据  $D$  值大小排序(表 5)。经特征值和贡献率计算,2 个主成分的权重分别为 0.864 和 0.136(表 4)。

2.3 综合评价值的确定

综合评价值( $D$ )的大小能反映出各个品种的综合耐寒能力, $D$  值越大表示该品种越耐寒。利用综合评价公式计算得出 15 个冬瓜品种的  $D$ (表5),并根据大小进行了排序。然后根据  $D$  值采用最小距离法进行聚类分析,树形聚类分析图如图 1,在距离为 10 时,将 15 份冬瓜品种耐低温胁迫能力分为 3 类,第Ⅰ类“1 号”,属于强耐冷型品种;第Ⅱ类有“3、6 和 12 号”,属于低温敏感型;其它 11 种属于中等耐低温型。

主成分分析法就是研究如何用少数几个综合指标或因素来代表众多指标或因素,综合后的新指标称为原来指标的主成分,彼此相互独立,又能综合反映原来多个指标(多因素)的大部分信息。通过对测定的 5 个指标相对值,进行主成分分析,得到特征向量和累计贡献率。从表 4 中可以看出,5 个形态指标变量中,株高、茎粗、叶面积和鲜物质量在第 1 主成分上有较高载荷,说明第 1 主成分基本反映了这些指标的信息。干物质量在第 2 主成分上有较高载荷,说明第 2 主成分基本反应了这些指标的全部信息,分离出的 2 个主成分,贡献率分别为 54.171%和 21.451%,累计贡献率为 77.622%,基本上能综合评价冬瓜的耐低温性。经特征值和贡献率计算,2 个主成分的权重分别为 0.864 和 0.136。

表5 各品种的因子得分值( $C_x$ )、隶属函数值( $U_x$ )、综合评价值( $D$ )和排序

Table 5 Factor score( $C_x$ ),subordinate function value( $U_x$ ),comprehensive evaluation value( $D$ ) and sort of each varieties

编号 No.	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	U <sub>1</sub>	U <sub>2</sub>	D	排序 Sort
1	3.014	1.663	1	1	1	1
2	1.615	1.144	0.369	0.866	0.437	12
3	1.557	1.026	0.138	0.836	0.233	14
4	1.121	0.685	0.769	0.748	0.766	2
5	0.726	0.62	0.571	0.731	0.593	7
6	0.624	0.598	0.248	0.726	0.313	13
7	0.518	0.441	0.404	0.686	0.442	11
8	0.308	0.117	0.621	0.602	0.619	4
9	-0.122	-0.093	0.503	0.548	0.509	9
10	-0.199	-0.477	0.604	0.449	0.583	8
11	-0.749	-0.603	0.778	0.417	0.729	3
12	-0.965	-0.804	0.000	0.365	0.050	15
13	-1.728	-0.809	0.637	0.364	0.600	6
14	-2.426	-1.284	0.491	0.242	0.457	10
15	-3.295	-2.222	0.700	0.000	0.605	5



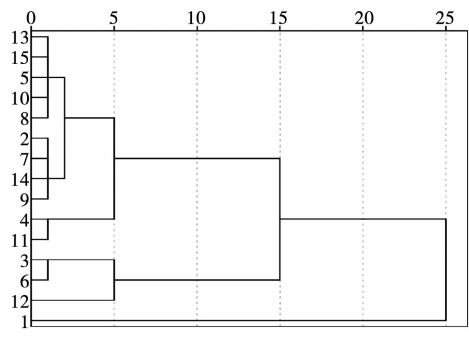


图 1 15 个冬瓜品种幼苗期耐低温胁迫聚类图  
Fig.1 Cluster analysis of 15 wax gourd stress  
at seedling stage in low temperature

2.4 耐低温弱光指标的筛选

以耐低温综合评价值( $D$  值) 为因变量,各单  
项指标的相对值为自变量,通过逐步回归分析,建  
立最优回归方程:

$$F = -1.238 + 0.500x_1 + 0.788x_2 + 0.209x_3 + 0.550x_4 + 0.601x_5$$

式中:  $x_1$ 、 $x_2$ 、 $x_3$ 、 $x_4$  和  $x_5$  分别代表相对株高、  
相对茎粗、相对叶面积、相对鲜物质质量和相对干物  
质量。由上述方程可知,5 个单项指标都对冬瓜  
幼苗耐低温胁迫都有显著影响,因此在鉴定冬瓜  
耐低温程度强弱时,5 个指标都要进行测定。

3 结论与讨论

利用主成分分析法和隶属函数值法,可以求  
出所有品种的综合评价,可以较为科学地对各  
品种的抗逆性进行准确的评价<sup>[9]</sup>。本试验对冬瓜  
幼苗的 5 个形态指标进行了研究,了解了 15 个冬  
瓜品种的耐低温能力,并将它们聚类,主要分为  
3 类,第Ⅰ类有 1 号,属于强耐冷型品种;第Ⅱ类  
有 3、6 和 12 号,属于低温敏感型;其它 11 种属于  
中等耐低温型。另外本试验建立了冬瓜苗期耐低  
温能力的回归方程,试图通过对比和分析,剔除 5  
个指标中一些不能反映冬瓜耐低温的指标,结果  
研究分析发现回归方程中,5 个形态指标都反

映出冬瓜耐低温能力。植物耐低温胁迫是个复杂  
的生理调控过程,不同品种在不同时期耐低温性  
不尽相同。任何单一指标都难以全面地反映植株  
的耐低温情况<sup>[10]</sup>。本试验通过研究 5 个冬瓜苗  
期的形态指标,虽然在一定程度上反映了冬瓜苗  
期的耐低温能力,但是,总体来说相对较少,难以  
完全反映冬瓜整个生长期的耐低温能力。要全面  
的反映冬瓜耐低温情况,在以后的研究中要对冬  
瓜发芽期,生长期、开花期和坐果期等进行研究。  
另外,除了形态指标的研究外,还要对多个生理生  
化指标进行研究,如 MDA 含量、SOD 活性、POD  
活性和 CAT 活性等。只有这样,才能做到方法  
更科学、合理,结果更准确和可靠。

参考文献:

[1] 高青海,王亚坤,郭远远.薄皮甜瓜种质资源苗期耐低温弱  
光鉴定及形态指标选择[J].浙江农业学报,2016,28(8):  
1360-1367.  
[2] 张海利,陈勇兵,熊自立,等.耐低温耐弱光番茄种质资源筛  
选方法初探[J].浙江农业科学,2010,1(1):22-23.  
[3] 王林闯,贺超兴,张志斌,等.番茄品种苗期耐低温性生理指  
标的研究[J].华北农学报,2009,24(b08):137-140.  
[4] 任旭琴,曹碧生,缪旻昶,等.辣椒不同生育期耐低温性鉴定  
及相关分析[J].安徽农业大学学报,2010,37(1):141-144.  
[5] 周双,秦智伟,周秀艳.黄瓜种质资源苗期耐低温性评  
价[J].中国蔬菜,2015,1(10):22-26.  
[6] 武雁军,刘建辉.低温胁迫对厚皮甜瓜幼苗抗寒性生理生化  
指标的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),  
2007,35(3):139-143.  
[7] 芦露,李宝华,蒋欣梅,等.华北型黄瓜苗期耐低温能力的筛  
选[J].吉林农业科学,2014,39(4):75-79.  
[8] 许桂芳,张朝阳,向佐湘.利用隶属函数法对 4 种珍珠菜属  
植物的抗寒性综合评价[J].西北林学院学报,2009,24(3):  
24-26.  
[9] 陈世国,谢景,李育军.PEG 模拟干旱条件下苦瓜品种芽期  
抗旱性鉴定与筛选[J].广东农业科学,2012,39(19):  
29-32.  
[10] 冯士令,程浩然,李倩倩,等.3 个油茶品种幼苗对于旱胁  
迫的生理响应[J].西北植物学报,2013,33(8):  
1651-1657.

# Identification and Analysis of Low Temperature Tolerance in Wax Gourd at Seedling Stage

YAO Jin-xiao,YANG Fei,WANG Cheng-yang,WANG Guo-hua,WU Ju  
(Zhoushan Academy of Agricultural and Forestry Sciences,Zhoushan 31600,China)





# 一种高效的蝴蝶兰花梗诱导丛生芽体系

王丽娜,金 勋,李泽宇,顾 鑫,齐国超

(黑龙江省农业科学院 大庆分院,黑龙江 大庆 163316)

**摘要:**为提高蝴蝶兰组织培养效率,分别以幼嫩花梗和已开花蝴蝶兰花梗腋芽为外植体,采用两种消毒剂  $\text{HgCl}_2$ 、 $\text{NaClO}$ ,3种消毒方式 0.1%  $\text{HgCl}_2$ ,10 min;10%  $\text{NaClO}$ ,10 min;5%  $\text{NaClO}$ ,10 min 为处理,以 VW(大量)+MS(微量、铁盐、有机)+100  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  马铃薯+0.1  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ga}_3(\text{PO}_4)_2$ +6  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA+0.2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA 为诱导基本培养基;VW(大量)+MS(铁盐、有机、微量)+100  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  马铃薯+3  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA+0.2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA 为增殖分化培养基;1/2MS+0.1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA 为生根培养基诱导丛生芽,拟建立以蝴蝶兰花梗腋芽为外植体的高效丛生芽诱导体系。结果表明:在 0.1%  $\text{HgCl}_2$ ,10 min 消毒方式下,幼嫩花梗腋芽的污染率为 0,丛生芽诱导率为 95.6%;增殖率为 216%;在生根培养基 1/2MS+0.1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA 上生根率为 95.6%,建立了高效的蝴蝶兰幼嫩花梗腋芽诱导丛生芽。

**关键词:**花梗腋芽;诱导;增殖和分化;蝴蝶兰

蝴蝶兰(*Phalaenopsis amabilis*),又名蝶兰,为兰科蝴蝶兰属植物,其花型优美酷似蝴蝶、花色艳丽、花瓣醇厚、花期持久,深受消费者喜爱,已成为当今人们生活中家喻户晓,最受欢迎的年销花之一。蝴蝶兰为单茎性气生兰,难以实现传统的分株繁殖,因种子小,萌发条件苛刻,不能直接播种于基质,且无菌播种后代分化现象明显<sup>[1]</sup>。花梗腋芽诱导丛生芽技术能够从根本上解决植株繁育的难题,具有取材不伤害植株本身、易于诱导、

操作简单、保持亲本的优良性状、稳定遗传、变异率低、缩短成苗期的特点,已成为蝴蝶兰种苗大规模繁育的主要手段。不同的蝴蝶兰品种的花梗腋芽诱导丛生芽差异显著<sup>[2]</sup>。本研究所采用的诱导增殖分化的培养基是经过长期试验筛选出来的最佳配方,与以往研究不同的是该培养基中添加  $\text{Ga}_3(\text{PO}_4)_2$  试剂,研究表明  $\text{Ga}^{2+}$ 、 $(\text{PO}_4)^{2-}$  能够有效提高细胞膜离子交换及营养物质的吸收,对丛生芽诱导有促进作用<sup>[3]</sup>。在诱导培养基中丛生芽的诱导、增殖及分化处于同步阶段,而在增殖分化培养基中丛生芽主要趋向于增殖。本试验分别以幼嫩和已开花的蝴蝶兰花梗为外植体,采用  $\text{HgCl}_2$  和  $\text{NaClO}$  两种不同的消毒试剂,3种消毒方式,在基本培养基中进行花梗腋芽丛生芽的诱导。比较消毒剂浓度、消毒剂类型的消毒效果,并统计两

收稿日期:2018-03-01

基金项目:大庆市指导性科技计划资助项目(zd-2016-118)。

第一作者简介:王丽娜(1983-),女,硕士,助理研究员,从事植物组织培养及生理生化研究。E-mail: dqnkywln@163.com。

通讯作者:金勋(1962-),男,博士,研究员,从事作物分子育种研究。E-mail: jinxun6268@126.com。

**Abstract:** In order to research the characteristics of wax gourd resistant to low temperature, taking 15 wax gourd varieties treated with low temperature at seedling stage as the materials to assess their low temperature tolerance and select the indicators by correlation analysis, principal component analysis, membership function analysis, cluster analysis and regression analysis. A total of 5 indicators including seedling height, stem diameter, leaf area, fresh matter and dry matter were measured after low temperature stress at seedling stage. The results showed that the relative height had significant difference with relative stem diameter, relative leaf area and relative fresh weight. The two principal components were screened out by principal component analysis, and the cumulative contribution rate was 77.622%. The cold resistance of the 15 wax gourd materials was distinctly different, by comparing the comprehensive evaluation values. One resistant variety and 3 intolerant varieties were selected out through cluster analysis. A tolerance equation of wax gourd seedlings was established by stepwise regression analysis. Five morphological indexes of wax gourd seedling were sensitive to low temperature and could be used as identification index.

**Keywords:** wax gourd; low temperature tolerance; morphological index; principal component analysis; membership function value; cluster analysis