

低温胁迫下不同甘蔗品种的生理响应及耐寒性评价

饶席兵^{1,2}, 钱禛锋^{1,2*}, 曾 丹^{1,2}, 张蓉琼^{1,2}, 吕绍芝^{2,3}, 沈庆庆^{2,3}, 吴华英^{2,3},
何丽莲^{1,2,3}, 李富生^{1,2,3**}

1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南昆明 650201; 2. 云南省作物生产与智慧农业重点实验室, 云南昆明 650201;
3. 云南农业大学甘蔗研究所, 云南昆明 650201

摘 要: 低温是影响甘蔗生长发育、产量以及分布的主要环境因子之一。探究甘蔗在低温逆境下的生理反应特性, 筛选强耐寒性甘蔗亲本材料, 对指导甘蔗育种及推动甘蔗产业发展有重要的意义。本研究以 8 份不同甘蔗品种及 1 份甘蔗近缘野生种(蔗茅 99-1 无性系)为试验材料, 研究其在低温胁迫处理后的生理指标响应, 并利用主成分分析、模糊隶属函数法和聚类分析对 9 份材料的耐寒性进行综合评价。研究结果显示: 经低温胁迫处理(3 ℃, 3 d)后, 绝大部分材料的丙二醛(MDA)、叶绿素(Chl)、可溶性糖(SS)以及可溶性蛋白(SP)含量较 CK 升高; 所有材料的脯氨酸(Pro)含量均较 CK 升高, 而超氧化物歧化酶(SOD)活性均较 CK 降低; 此外, 绝大部分材料的过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性也较 CK 升高。并且发现强耐寒性的材料(蔗茅 99-1、崖城 89-9、ROC10)经低温胁迫处理后能够维持较低的 MDA 含量, 和较高的 SS、SP、Pro 含量以及 POD、CAT 活性。结合综合评价值(D), 通过聚类分析将 9 份材料的耐寒能力分别划分为强耐寒类型(蔗茅 99-1、崖城 89-9、ROC10)、中度耐寒类型(ROC20、粤糖 93-159、黄加利、ROC16)和弱耐寒类型(滇蔗 01-58、ROC22)3 个类群。这些结果表明, 不同甘蔗品种对低温的适应能力不同, 强耐寒性甘蔗品种在逆境下能够迅速通过自身调节, 合理提高渗透调节物质含量及抗氧化酶活性, 进一步清除体内的活性氧(ROS)等有害物质, 平衡细胞代谢过程, 从而更好地适应低温环境。本研究为探明甘蔗低温胁迫应答调控机理, 选育强耐寒性甘蔗新品种奠定基础。

关键词: 甘蔗; 耐寒性; 生理响应; 主成分分析; 聚类分析; 综合评价

中图分类号: S566.1 文献标志码: A

Physiological Response and Cold Tolerance Evaluation of Different Sugarcane Varieties under Low Temperature Stress

RAO Xibing^{1,2}, QIAN Zhenfeng^{1,2*}, ZENG Dan^{1,2}, ZHANG Rongqiong^{1,2}, LYU Shaozhi^{2,3}, SHEN Qingqing^{2,3}, WU Huaying^{2,3}, HE Lilian^{1,2,3}, LI Fusheng^{1,2,3**}

1. College of Agriculture and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China; 2. Yunnan Key Laboratory of Crop Production and Smart Agriculture, Kunming, Yunnan 650201, China; 3. Sugarcane Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China

Abstract: Low temperature is one of the main environmental factors affecting the growth, yield and distribution of sugarcane. It is of great significance to explore the physiological response characteristics of sugarcane under low temperature stress and screen strong cold-tolerant sugarcane parent materials for guiding sugarcane breeding and promoting the development of sugarcane industry. In this study, eight different sugarcane varieties and one sugarcane wild species (*Erianthus fulvus* 99-1 clone) were used as the experimental materials to study the physiological index response after

收稿日期 2022-12-22; 修回日期 2023-02-21

基金项目 云南省重大科技专项(No. 202202AE090021); 云南省作物生产与智慧农业重点实验室专项(No. 202105AG070007); 国家自然科学基金项目(No. 31960451)。

作者简介 饶席兵(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 甘蔗种质资源研究与利用; *同等贡献作者: 钱禛锋(1996—), 男, 博士研究生, 研究方向: 甘蔗种质资源研究与利用。**通信作者(Corresponding author): 李富生(LI Fusheng), E-mail: lfs810@sina.com。

low temperature stress treatment, and the cold tolerance of the nine materials was comprehensively evaluated by principal component analysis, fuzzy membership function method and cluster analysis. The contents of malondialdehyde (MDA), chlorophyll (Chl), soluble sugar (SS) and soluble protein (SP) in most materials were higher than those of CK after low temperature stress (3 °C, 3 days). The content of proline (Pro) in all materials was higher than that of CK, while the activity of superoxide dismutase (SOD) was lower. The activities of peroxidase (POD) and catalase (CAT) in most materials were higher than those of CK. According to the comprehensive evaluation value (D) and cluster analysis, the nine materials were divided into three groups: strong cold resistance type (*E. fulvus* 99-1, Yacheng 89-9, ROC10), moderate cold resistance type (ROC20, Yuetang 93-159, Huangjiali, ROC16) and weak cold resistance type (Dianzhe 01-58, ROC22). The results indicate that different sugarcane varieties have different adaptability to low temperature. Strong cold-tolerant sugarcane varieties can quickly adjust themselves under adversity, reasonably increase the content of osmotic adjustment substances and the activity of antioxidant enzymes, further remove harmful substances such as reactive oxygen species (ROS) in the body, and balance cell metabolism process, so as to better adapt to low temperature environment. This study would lay a foundation for exploring the regulation mechanism of sugarcane response to low temperature stress and breeding new sugarcane varieties with strong cold tolerance.

Keywords: sugarcane; cold resistance; physiological response; principal component analysis; cluster analysis; comprehensive evaluation

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.04.010

甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.) 原产于热带亚热带地区, 种植面积近 2700 万 hm^2 , 分布在全球 120 多个国家, 贡献了全球糖总产量的 80% 以上^[1]。除了传统的糖生产, 甘蔗因其巨大的生物产量和大规模的糖蜜乙醇生产而被公认为重要的能源和生物燃料作物, 它还是生产生物丁醇和柴油最有效的原料, 占世界生物燃料总产量的 40%^[2]。此外, 在甘蔗生产过程中还能获得其他有价值的副产品, 包括纸、醋酸、胶合板和工业酶等^[3]。甘蔗是一种喜温作物, 然而云南的气候存在“两头低温”的特点; 在早春时节, 西北地区吹来的冷空气与南方暖湿空气相持形成持续性低温阴雨天气——“倒春寒”, 而这时甘蔗正处于幼苗期, 严重阻碍了甘蔗幼苗的生长发育。并且, 在甘蔗生长后期又容易面临霜冻的侵袭, 进而影响甘蔗糖分的积累。因此, 培育出抗逆性强的甘蔗品种成为现阶段甘蔗育种的主要方向之一。

植物受到低温胁迫后一方面可以根据植株的外部表型受害情况, 另一方面能通过生理生化数据的改变所呈现, 故均可用于植物的耐寒性评价。李杨瑞等^[4]研究了寒害对甘蔗外部形态的影响, 发现低温使得甘蔗蔗叶、蔗茎都有不同程度的损伤。周会等^[5]发现甘蔗节间生长点比节间组织更容易受到低温伤害。据报道, 丙二醛 (MDA)、可溶性糖 (SS)、可溶性蛋白 (SP)、脯氨酸 (Pro) 含量以及抗氧化酶活性与植物的耐寒能力密切相关。包昌艳等^[6]研究表明, 强耐寒性西藏箭竹和错那箭竹能保持较高水平的 SP、Pro 含量和较低

水平的 MDA 含量。丘立杭^[7]研究表明, 低温胁迫后强耐寒性的甘蔗品种 SS 含量最高且增幅最大。陆思思等^[8]发现低温处理后, 强耐寒性甘蔗品种的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 活性均高于不耐寒品种。植物耐寒分子机制研究表明, 植物体内碳水化合物代谢及其相关基因的表达与植物的耐寒能力有关^[9]。牛俊奇等^[10]发现蔗糖代谢相关酶基因的表达可以平衡蔗糖代谢过程, 从而使植物更好适应低温环境。CHEN 等^[11]发现耐寒相关响应基因 *DREB*、*COR413*、*CSD* 参与菊花的低温应答反应。

研究表明, 甘蔗耐寒性属中偏低遗传力性状^[12], 杂交后代的耐寒性与其亲本的耐寒能力密切相关^[13-14]。因此, 合理评价甘蔗耐寒种质资源, 对种质创新和改良甘蔗耐寒性有重大意义。主成分分析能够确定合理概括整体的主要因子, 被研究人员广泛用于植物的抗旱、耐寒性评价^[15]。隶属函数法弥补单一指标带来的偏差, 使评定的结果与实际结果较为接近, 是近年来植物抗逆性评价方法中最常用的方法, 已在含笑^[16]、野生苔草^[17]、苹果^[18]、水稻^[19]等作物耐寒性评价中应用, 聚类分析可以对不同的材料直观地分类^[20-21]。本研究以 8 份不同品种甘蔗及 1 份甘蔗近缘野生种蔗茅无性系为试验材料, 研究其低温胁迫下的生理响应特点, 并通过主成分分析、模糊隶属函数法以及聚类分析进行耐寒性综合评价, 为研究甘蔗低温胁迫应答调控机理, 选育强耐寒性甘蔗新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究涉及的甘蔗材料包括新台糖 22 号 (ROC22)、新台糖 20 号 (ROC20)、新台糖 10 号 (ROC10)、新台糖 16 号 (ROC16)、滇蔗 01-58、崖城 89-9、黄加利、粤糖 93-159, 为进一步清晰地评价各甘蔗品种的耐寒特性, 故加入一个具有较强耐寒能力的甘蔗近缘野生种 (蔗茅 99-1)。所有供试材料均由云南农业大学甘蔗研究所资源圃种植保存。

首先将供试材料盆栽于温室大棚内, 待生长至 3~4 叶期, 将处理组 (3 °C, 3 d) 置于光量子通量密度为 300 μmol/(m²s), 光周期为 13 h/d, 相对湿度为 60%~70% 的低温光照培养箱中进行胁迫处理; 对照组 (30 °C, 3 d) 置于温室大棚中正常生长。到达胁迫处理时间点后分别将样品 (+1 叶) 取回, 用液氮保存, 进行耐寒相关生理指标测定。

1.2 方法

1.2.1 指标测定 利用格锐思生物公司的试剂盒, 采用硫代巴比妥酸法进行 MDA 含量测定, 采用可见分光光度法进行 Chl 含量测定, 采用蒽酮比色法进行 SS 含量测定, 采用 BCA 法进行 SP 含量测定, 采用酸性茚三酮法进行 Pro 含量测定, 采用 WST-8 法进行 SOD 活性测定, 采用愈创木酚法进行 POD 活性测定, 采用显色法法进行 CAT 指标测定。

1.2.2 耐寒性综合评价 通过主成分分析法转化待评价指标, 用模糊数学隶属函数法计算对应的隶属函数值, 最后以 D 值综合评价各材料的耐寒性。

(1) 各指标相对值与耐寒系数计算。

$$RV = \frac{X_i}{CK_i} \times 100\%$$

$$CC = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n RV$$

式中, RV 为相对值 (relative value); X_i 为处理测定值; CK_i 为对照测定值; CC 为耐寒系数 (cold resistance coefficient)。

(2) 主成分分析及综合评价。对耐寒系数进行主成分分析, 得到主因子系数并计算 CC 值的特征值所对应的特征向量 a_i 及主因子得分 PC 值。

$$a_i = \frac{A_i}{\sqrt{\lambda_i}}$$

$$PC_1 = a_{11}ZCC1 + a_{21}ZCC2 + \dots + a_{p1}ZCC_p$$

$$PC_2 = a_{12}ZDC1 + a_{22}ZDC2 + \dots + a_{p2}ZCC_p$$

.....

$$PC_i = a_{1i}ZDC1 + a_{2i}ZDC2 + \dots + a_{pi}ZDCp$$

式中, $a_{1i}, a_{2i}, \dots, a_{pi} (i=1, \dots, m)$, RV 值的特征值所对应的特征向量; A 为主因子系数; λ 为特征值; ZDC1, ZDC2,ZDCP 为初始变量的标准化值。

(3) 隶属函数值。

$$U_i = \frac{PC_i - PC_{\min}}{PC_{\max} - PC_{\min}}$$

式中, U_i 为隶属函数值; $PC_{\min}$ 为所有材料第 i 个主因子得分最小值; $PC_{\max}$ 为所有材料第 i 个主因子得分最大值。

(4) 主因子权重。

$$W_i = \frac{P_i}{\sum_{i=1}^n P_i} (i=1, 2, \dots, n)$$

式中, P_i 为通过主成分分析后所得的第 i 个综合指标的贡献率。

(5) 综合耐寒评级值。

$$D = \sum (U_i \times W_i)$$

1.3 数据处理

分别使用 Excel 2009、DPS (7.05) 软件进行绘图和数据差异显著性分析, 使用 SPSS 26 软件进行主成分分析及聚类分析。

2 结果与分析

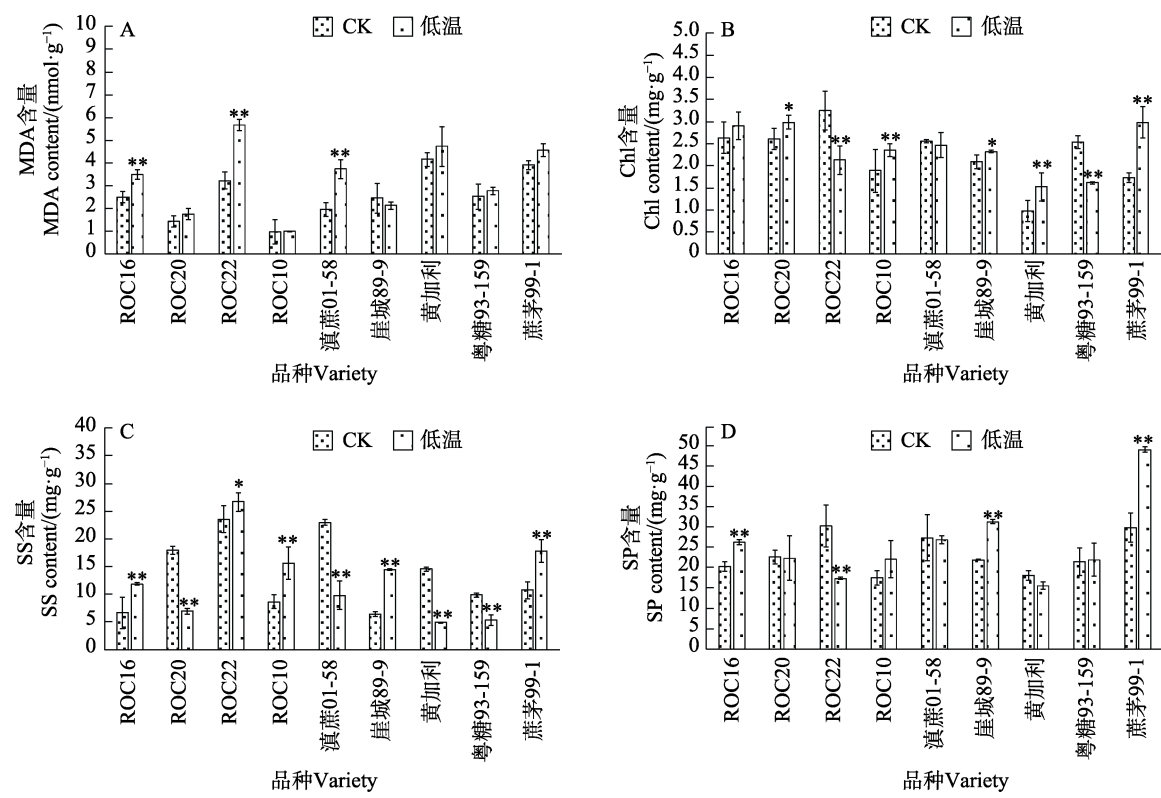
2.1 低温胁迫对甘蔗叶片生理指标的影响

2.1.1 低温胁迫对甘蔗叶片 MDA、Chl 含量的影响 低温胁迫处理 3 d 后, 除了崖城 89-9 以外, 其余供试材料的 MDA 含量均升高。其中, ROC16、ROC22 和滇蔗 01-58 的 MDA 含量较 CK 差异达极显著 (图 1A); 以滇蔗 01-58 的相对值最大, 为 190%, 崖城 89-9 的相对值最小, 为 87% (表 1)。Chl 含量方面, 低温胁迫 3 d 后, ROC22、滇蔗 01-58 及粤糖 93-159 三份材料的 Chl 含量降低, 其余 6 份材料的 Chl 含量均升高; 其中, ROC20、ROC10、崖城 89-9、黄加利及蔗茅 99-1 较 CK 差异显著 (图 1B); 以蔗茅 99-1 的相对值最大, 为 172%, 粤糖 93-159 的相对值最小, 为 64% (表 1)。

2.1.2 低温胁迫对甘蔗叶片 SS、SP、Pro 含量的影响 结果表明, 低温处理 3 d 后, 不同材料间

SS 含量变化存在差异, ROC20、滇蔗 01-58、黄加利、粤糖 93-159 的 SS 含量较 CK 极显著降低, 其余 5 份材料的 SS 含量较 CK 极显著升高 (图 1C); 其中, 崖城 89-9 的相对值最大, 为 227%; 黄加利的相对值最小, 为 33% (表 1)。SP 含量方面, ROC20、滇蔗 01-58、粤糖 93-159 处理前后变化不明显; ROC22、黄加利低温胁迫后降低,

ROC16、崖城 89-9、蔗茅 99-1 较 CK 极显著升高 (图 1D); 以蔗茅 99-1 的相对值最大, 为 164%; ROC22 的相对值最小, 为 58% (表 1)。所有材料的 Pro 含量经低温胁迫后均升高, 其中, ROC22、ROC10、崖城 89-9、粤糖 93-159 及蔗茅 99-1 较 CK 差异极显著 (图 2A); 以蔗茅 99-1 的相对值最大, 为 172% (表 1)。



*表示处理间差异显著 ($P<0.05$), **表示处理间差异极显著 ($P<0.01$)。
* indicate significant difference among treatments ($P<0.05$), ** indicate extremely significant difference among treatments ($P<0.01$).

图 1 低温胁迫对甘蔗叶片 MDA、Chl、SS、SP 含量的影响

Fig. 1 Effects of low temperature stress on the contents of MDA, Chl, SS and SP in sugarcane leaves

表 1 9 份甘蔗材料生理指标的相对值及综合耐寒系数

Tab. 1 Relative values and comprehensive cold resistance coefficients of physiological indexes of 9 sugarcane materials

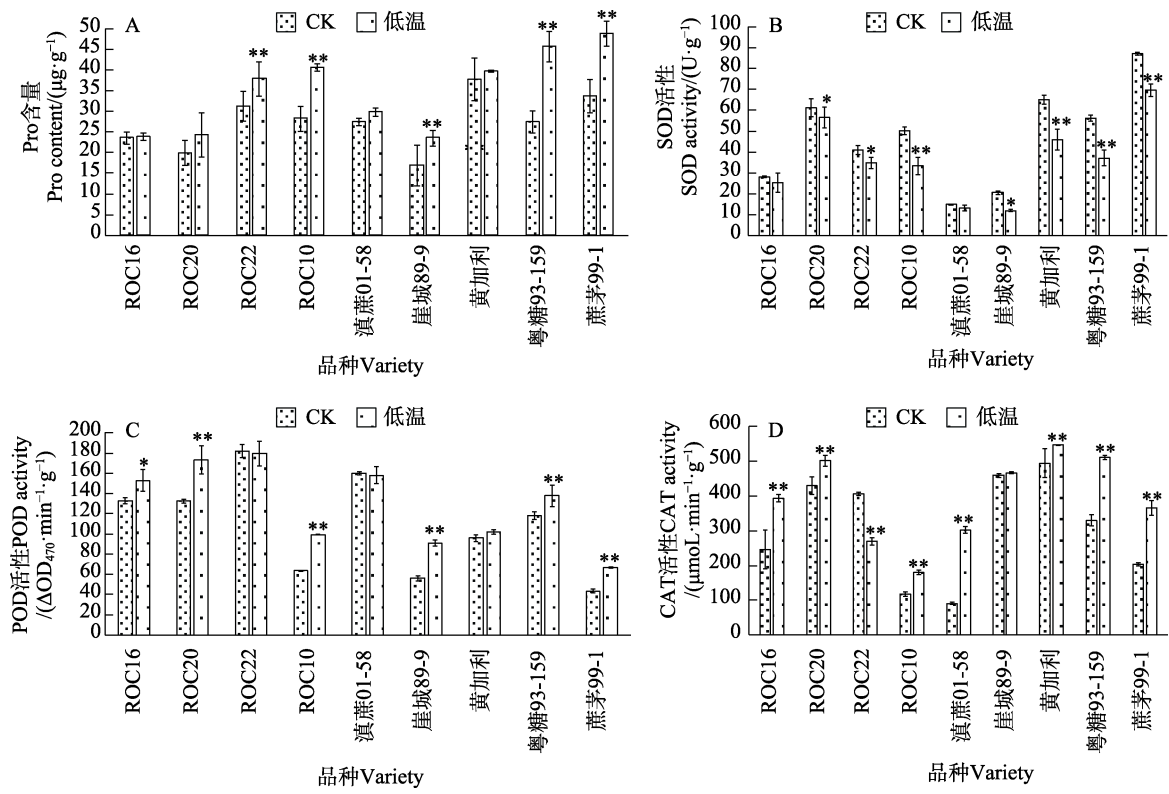
甘蔗品种 Sugarcane varieties	相对值 Relative value/%								耐寒系数 Cold resistance coefficient
	Chl	Pro	SS	MDA	SP	SOD	POD	CAT	
ROC16	110	101	178	139	130	90	115	160	1.279
ROC20	114	122	38	122	99	92	130	117	1.042
ROC22	66	121	113	176	58	85	99	67	0.981
ROC10	124	143	181	102	126	67	156	151	1.323
滇蔗 01-58	97	109	43	190	98	89	99	331	1.320
崖城 89-9	111	138	227	87	143	58	162	102	1.285
黄加利	155	105	33	114	86	71	107	110	0.976
粤糖 93-159	64	166	54	110	102	66	117	155	1.043
蔗茅 99-1	172	145	166	117	164	80	153	179	1.470

2.1.3 低温胁迫对甘蔗叶片 SOD、POD、CAT 活性的影响 低温胁迫 3 d 后,所有材料的 SOD 活性均下降。其中,ROC20、ROC22、崖城 89-9 的 SOD 活性较 CK 显著降低,ROC10、黄加利、粤糖 93-159 和蔗茅 99-1 较 CK 极显著降低(图 2B);以 ROC20 相对值最大,为 92%,崖城 89-9 的相对值最小,为 58%(表 1)。ROC22、黄加利和滇蔗 01-58 的 POD 活性经低温处理后变化不明显,其他材料的 POD 活性均显著高于 CK(图 2C);相对值最大的是崖城 89-9,为 162%。CAT 活性

方面,低温胁迫前后崖城 89-9 变化不大,ROC22 极显著低于 CK,其他材料均极显著高于 CK(图 2D);相对值最高的是滇蔗 01-58,达到 331%,最低的是 ROC22,仅有 67%。

2.2 各生理指标之间的相关性分析

相关性分析结果显示,SOD 与 Pro 呈显著负相关、与 MDA 呈显著正相关;POD 与 SS、SP 呈显著正相关,与 MDA 呈极显著负相关。SS 与 SP 呈显著正相关;其中,POD 与可溶性蛋白的相关系数最大, $R^2=0.799$,其他指标间相关性不显著(表 2)。



*表示处理间差异显著 ($P<0.05$), **表示处理间差异极显著 ($P<0.01$)。
* indicate significant difference among treatments ($P<0.05$), ** indicate extremely significant difference among treatments ($P<0.01$).

图 2 低温胁迫对甘蔗叶片 Pro、SOD、POD、CAT 活性的影响

Fig. 2 Effects of low temperature stress on the activities of Pro, SOD, POD and CAT in sugarcane leaves

表 2 耐寒性指标相关系数分析

Tab. 2 Analysis of correlation coefficients of cold resistance indicators

指标 Index	Chl	Pro	SS	SOD	POD	MDA	SP	CAT
Chl	1.000							
Pro	-0.157	1.000						
SS	0.188	0.206	1.000					
SOD	-0.056	-0.602*	-0.362	1.000				
POD	0.454	0.542	0.702*	-0.533	1.000			
MDA	-0.394	-0.528	-0.392	0.730*	-0.772**	1.000		
SP	0.572	0.334	0.677*	-0.273	0.799**	-0.554	1.000	
CAT	0.039	-0.137	-0.233	0.308	-0.206	0.468	0.185	1.000

注: *表示显著相关 ($P<0.05$), **表示极显著相关 ($P<0.01$)。
Note: * indicates significant correlation ($P<0.05$), ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$).

2.3 主成分分析

将 8 个耐寒性指标的相对值进行主成分分析，由表 3 可知，共得到 3 个主因子，其中，主因子 1 的特征值为 3.940，具有 49.247%的贡献率；主因子 2 的特征值为 1.613，具有 20.164%的贡献率；主因子 3 的特征值为 1.005，具有 12.559%的贡献率。3 个主因子的特征值均大于 1，累计贡献率为 81.970%（表 2）。将 8 个耐寒生理指标转化为 3 个独立的综合指标，对甘蔗耐寒性指标进行评价。主因子 1 中，系数较大的有 POD（0.940）、MDA（-0.882）、SP（0.784）、SOD（-0.709），绝对值均大于 0.700。主因子 2 中，系数最大的是叶绿素（0.662），最小的是 POD（0.143）。主因子 3 中，系数最大的是 CAT（0.698），最小的是 POD（0.391）（表 2）。

2.4 耐寒性综合评价

结合生理指标的相对值和主因子系数得到主因子得分 PC 值，由表 4 可知，崖城 89-9 在主因子 1 中的数值最大，粤糖 93-159 在主因子 2 中的数值最大，黄加利在主因子 3 中的数值最大。通过模糊隶属函数法计算出各主因子的隶属函数值。在主因子 1、主因子 2、主因子 3 中，隶属函数值中的最大（1.00）的分别是蔗茅 99-1、崖城 89-9、滇蔗 01-58，表明各自在不同主因子中耐寒性最强，隶属函数值最小（0.00）的分别是滇蔗 01-58、粤糖 93-159、黄加利，表明各自在不同主

因子中耐寒性最弱。根据主成分分析得到的主因子贡献率计算出 3 份主因子的权重。主因子 1 的权重为 0.60，主因子 2 的权重为 0.25，主因子 3 的权重为 0.15。再根据隶属函数值和权重计算得到综合评价值（D），D 值越大则耐寒性越强。其中，D 值较大的是蔗茅 99-1（0.84）、崖城 89-9（0.83）、ROC10（0.74），D 值较小的是 ROC22（0.23）、滇蔗 01-58（0.24）、黄加利（0.41）；9 份材料的耐寒性排序为：蔗茅 99-1>崖城 89-9>ROC10> ROC16>粤糖 93-159>ROC20>黄加利>滇蔗 01-58>ROC22。

表 3 主因子系数及贡献率			
Tab. 3 Main factor coefficient and contribution rate			
指标 Index	主因子 1 Main factor 1	主因子 2 Main factor 2	主因子 3 Main factor 3
POD	0.940	0.143	0.037
MDA	-0.882	0.199	0.189
SP	0.784	0.543	0.201
SOD	-0.709	0.466	-0.110
SS	0.707	0.174	-0.047
Pro	0.609	-0.471	0.522
Chl	0.442	0.662	-0.391
CAT	-0.309	0.592	0.698
特征值	3.940	1.613	1.005
贡献率/%	49.247	20.164	12.559
累计贡献率/%	49.247	69.411	81.970

表 4 主因子得分、隶属函数值、权重及综合评价值								
Tab. 4 Main factor score, membership function value, weight and comprehensive evaluation value								
材料 Material	主因子得分 Main factor score			隶属函数值 Membership function value			综合评价值 D	排序 Order
	PC1	PC2	PC3	U1	U2	U3		
ROC16	-0.60	1.10	-0.54	0.39	0.93	0.32	0.51	4
ROC20	-0.79	0.46	-0.68	0.36	0.74	0.28	0.44	6
ROC22	-2.23	-0.46	-0.62	0.11	0.47	0.30	0.23	9
ROC10	2.01	-0.09	0.27	0.84	0.58	0.59	0.74	3
滇蔗 01-58	-2.90	-0.83	1.52	0.00	0.36	1.00	0.24	8
崖城 89-9	2.92	0.13	-0.08	1.00	0.64	0.47	0.83	2
黄加利	-0.66	0.43	-1.55	0.38	0.73	0.00	0.41	7
粤糖 93-159	0.21	-2.08	1.43	0.53	0.00	0.97	0.46	5
蔗茅 99-1	2.03	1.33	0.26	0.84	1.00	0.58	0.84	1
权重				0.60	0.25	0.15		

2.5 聚类分析

将综合评价值（D）利用组间联接法和平方欧氏距离进行聚类分析，在欧氏距离 5 处将 9 份

材料分为 3 个类群，对应耐寒性为强、中、弱 3 个等级。第Ⅰ类群包括蔗茅 99-1、崖城 89-9、ROC10，耐寒性强；第Ⅱ类群包括 ROC20、粤糖

93-159、黄加利、ROC16, 耐寒性中; 第Ⅲ类群包括滇蔗 01-58、ROC22, 耐寒性弱 (图 3)。

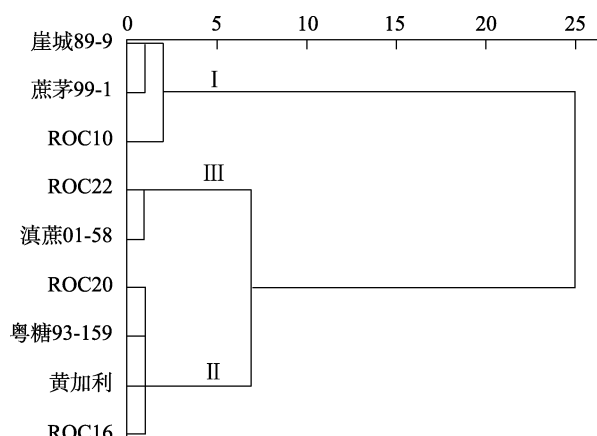


图 3 聚类分析结果

Fig. 3 Cluster analysis result

3 讨论

低温是影响甘蔗生长发育、产量以及分布的主要环境因子之一。探究甘蔗在低温逆境下的生理反应特性, 筛选强耐寒性甘蔗亲本材料, 对指导甘蔗育种及推动甘蔗产业发展有重要的意义。研究表明, 叶片在植物光合作用、生理生化反应过程中发挥重要的作用, 对外界温度的变化也较为敏感, 可以作为植物耐寒性生理响应研究的重要器官^[22]。故本研究以 9 份低温胁迫的甘蔗叶片进行耐寒生理响应分析, 从而综合评价其耐寒性。

当植物暴露于低温逆境时, 体内会产生大量的 ROS, 随着胁迫程度的不断加深, 打破了自由基产生与清除的动态平衡, 导致细胞膜脂发生过氧化作用, 膜内物质外渗并产生大量 MDA, 从而影响一系列生理生化反应的正常进行, 故可通过 MDA 含量的变化, 分析膜系统受损程度以及植物的耐寒能力。黄丽芳等^[23]研究表明, 经低温胁迫后不同咖啡品种的 MDA 含量呈上升趋势。彭云玲等^[24]发现, 玉米经低温胁迫后其 MDA 含量均较 CK 升高。本研究结果与前人的研究结果基本一致; 经低温胁迫后, 耐寒性相对较弱的 ROC22、滇蔗 01-58 中积累了较多的 MDA, 而在耐寒性相对较强的蔗茅 99-1、崖城 89-9 以及 ROC10 中, MDA 的累积量并不多, 说明 MDA 含量是衡量植物低温耐受性的重要因素, 可作为植物耐寒性评价的关键指标之一。低温胁迫下, 叶绿体的超微结构被破坏, Chl 合成酶的活性显著降低, 导致

Chl 含量下降, 进一步影响植物的光合作用与代谢。张保青等^[25]、王振波等^[26]研究发现, 耐寒性较强的材料经低温胁迫后, 其体内的 Chl 含量仍能保持一个较高的水平; 本研究结果与之一致。

经过漫长的选择与进化, 植物形成了其特有的调控机制来适应逆境带来的不利影响, 渗透调节便是其中的一种。SS、SP 和 Pro 是重要的渗透调节物质, 其积累能增加细胞内束缚水与自由水的比值、原生质的保水能力和细胞液浓度等, 从而平衡在低温条件下的细胞代谢, 对生物膜系统起到很好的保护作用, 以抵御环境胁迫带来的不利影响^[27]。何子华等^[28]进行不同禾本科牧草的耐寒性评价, 发现经低温胁迫后不同禾本科牧草的 SS 含量和 Pro 含量均呈不同程度的增加趋势。陈明辉等^[29]发现 6 个不同品种果蔗的 SS、SP 和 Pro 含量随着低温胁迫时间的延长而持续升高。本研究中, 经低温胁迫后, 强耐寒性材料蔗茅 99-1、崖城 89-9 的 SS、SP 以及 Pro 含量较 CK 极显著升高, 说明渗透调节物质含量的增加, 是植物对低温胁迫的一种应对策略; 而在弱耐寒性材料中, SS 及 SP 的含量反而低于 CK, 可能是由于超出其低温耐受范围, 导致细胞内渗透失衡。

SOD、POD、CAT、APX、GR 等是植物体内重要的抗氧化酶, 在植物逆境应答, 活性氧清除过程中发挥着重要的作用。SOD 是植物抗氧化酶系统的第一道防线, 它能特异性地将超氧阴离子 (O_2^-) 歧化为对植物毒害较小的 H_2O_2 ; POD 可以催化由过氧化氢参与的各种还原剂的氧化反应: $RH_2 + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + R$, 清除由逆境产生的 H_2O_2 ; CAT 在清除植物体内的氧自由基时也起着重要作用^[30]。全怡吉等^[31]研究了不同甘蔗品种对低温的生理响应, 发现低温胁迫后, 蔗茎 CAT 活性上升, 而 SOD、POD 活性下降。曹哲群等^[32]研究表明, 经低温 ($3^\circ C$) 处理 3 d 后, 各甘蔗材料叶片的 SOD 活性均有不同程度的下降。孙波等^[33]发现低温持续胁迫下, 甘蔗根系的 POD、SOD 活性呈现先升高后降低的趋势, 但耐寒性强的品种在处理后期也能保持一定的活性。本研究中, 经低温胁迫后, 所有材料叶片的 SOD 活性均较 CK 降低, 多数材料的 POD、CAT 活性较 CK 升高。该结果与前人研究结果有差异, 可能是由于甘蔗基因型、测定时期、测定部位等不同所导致。在各指标相关性分析中, 发现 POD 与 SS、

SP 呈显著正相关,进一步说明 POD 在植物甘蔗抵御低温胁迫中发挥着重要的作用。

研究表明,植物耐寒性属于多因素调控的数量性状,用单一指标、单一的分析方法作为植物耐寒性评价较为片面,采用多种指标增大数据处理量的同时,各指标信息也存在交叉与重叠现象。主成分分析法可将多个单项指标转化为互相独立的综合指标,不仅可以降低变量个数,同时又能保证不会对最终评价造成偏差。本研究利用主成分分析,共提取出 3 个主因子,累计贡献率为 81.970%;相关研究表明,主子因素累计贡献率达 80%以上得到的结果相对可靠。杨小英等^[34]通过聚类分析,将不同品种玉米分为高度抗旱、中度抗旱、抗旱、敏感、高度敏感 5 个亚群。金明等^[35]将不同水稻种质材料分为耐寒性极强、耐寒性强、耐寒性中等、耐寒性弱和耐寒性极弱 5 个等级。本研究通过聚类分析,将 9 份甘蔗材料划分为强耐寒类型、中度耐寒类型和弱耐寒类型。

本研究通过分析不同甘蔗品种苗期叶片的生理响应,利用主成分分析、隶属函数等方法对其耐寒性进行综合评价。结果表明,耐寒能力最强的甘蔗品种为崖城 89-9,最弱的为 ROC22,强耐寒性甘蔗品种能够更好地提高渗透调节物质含量及抗氧化酶活性,进一步清除 ROS,平衡细胞代谢过程,从而更好地适应低温环境。

参考文献

- [1] ASLAM U, TABASSUM B, NASIR I A, KHAN A, HUSNAIN T. A virus-derived short hairpin RNA confers resistance against sugarcane mosaic virus in transgenic sugarcane[J]. *Transgenic Research*, 2018, 27(2): 203-210.
- [2] ASHWIN N J, CHAKRAVARTHI M, NERKAR G, MANOJ V M, DHARSHINI S, SUBRAMONIAN N, PREMACHANDRAN M N, ARUN K R, KRISHNA S K, HEMAPRABHA G, RAM B, APPEND C. Overexpression of expansin *EaEXPA1*, a cell wall loosening protein enhances drought tolerance in sugarcane[J]. *Industrial Crops and Products*, 2021, 159: 113035.
- [3] BUDEGUER F, ENRIQUE R, PERERA M F, RACEDO J, CASTAGNARO A P, NOGUERA A S, WELIN B. Genetic transformation of sugarcane, current status and future prospects[J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 768609.
- [4] 李杨瑞, 方锋学, 吴建明, 李翔, 张荣华, 刘昔辉, 何红, 杨荣仲, 杨丽涛, 陈赶林, 苏树权, 谢金兰, 刘晓燕, 黄伟华, 段维兴, 何为中, 汪森. 2010/2011 榨季广西甘蔗生产冻害调查及防御对策[J]. *南方农业学报*, 2011, 42(1): 37-42.
- [5] LI Y R, FANG F X, WU J M, LI X, ZHANG R H, LIU X H, HE H, YANG R Z, YANG L T, CHEN G L, SU S Q, XIE J L, LIU X Y, HUANG W H, DUAN W X, HE W Z, WANG M. Survey of frost and cold damage on sugarcane production in Guangxi in 2010/2011 milling season and countermeasures[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2011, 42(1): 37-42. (in Chinese)
- [6] 周会, 雷敬超, 桂意云, 贤武, 梁强, 杨荣仲, 李杨瑞. 甘蔗种质资源自然条件下耐寒性评价[J]. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(6): 968-973.
- [7] ZHOU H, LEI J C, GUI Y Y, XIAN W, LIANG Q, YANG R Z, LI Y R. Evaluation on cold tolerance of sugarcane varieties under field conditions[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, 13(6): 968-973. (in Chinese)
- [8] 包昌艳, 赵俊, 杨汉奇. 西藏拉萨引种的 4 种竹子的耐寒性评价[J]. *西部林业科学*, 2022, 51(3): 118-124.
- [9] BAO C Y, ZHAO J, YANG H Q. Physiological response to low temperature stress of four bamboos introduced in Lasa, Xizang, China[J]. *Journal of West China Forestry Science*, 2022, 51(3): 118-124. (in Chinese)
- [10] 丘立杭. 不同甘蔗品种低温胁迫下的生理生化特性及其蛋白质表达分析[D]. 南宁: 广西大学, 2010.
- [11] QIU L H. Analysis of physiological and biochemical characteristics and protein expressions in different sugarcane varieties under low temperature stress[D]. Nanning: Guangxi University, 2010. (in Chinese)
- [12] 陆思思, 李素丽, 李琼, 李志刚, 梁和. 低温胁迫对不同抗寒性甘蔗品种节间几种酶活性的影响[J]. *西南农业学报*, 2013, 26(3): 968-972.
- [13] LU S S, LI S L, LI Q, LI Z G, LIANG H. Effect of low temperature stress on enzyme activities of sugarcane internode[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 26(3): 968-972. (in Chinese)
- [14] 齐红岩, 姜岩岩, 华利静. 短期夜间低温对栽培番茄和野生番茄果实蔗糖代谢的影响[J]. *园艺学报*, 2012, 39(2): 281-288.
- [15] QI H Y, JIANG Y Y, HUA L J. Responses to short-term low night temperature of sucrose-metabolizing in domesticated tomato and wild relative[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, 39(2): 281-288. (in Chinese)
- [16] 牛俊奇, 檀小辉, 黄静丽, 刘铭, 杨丽涛, 李杨瑞, 王爱勤. 低温胁迫对不同耐寒型甘蔗蔗糖代谢相关酶基因表达及其酶活性的影响[J]. *南方农业学报*, 2014, 45(9): 1566-1573.
- [17] NIU J Q, TAN X H, HUANG J L, LIU M, YANG L T, LI Y R, WANG A Q. Effect of chilling stress on sucrose metabolism enzymes in leaf of sugarcane varieties with different

- cold resistance[J]. Journal of Southern Agriculture, 2014, 45(9): 1566-1573. (in Chinese)
- [11] CHEN Y, JIANG J, CHANG Q, GU C, SONG A, CHEN S, DONG B, CHEN F. Cold acclimation induces freezing tolerance via antioxidative enzymes, proline metabolism and gene expression changes in two chrysanthemum species[J]. Molecular Biology Reports, 2014, 41(2): 815-822.
- [12] HALE A L, VIATOR R P, KIMBENG C. Use of artificially-induced freezing temperatures to identify freeze tolerance in above-ground buds of *Saccharum* and *Erianthus accestions*[J]. Euphytica, 2017, 213(2): 46.
- [13] 常硕其, 邓启云, 罗伟, 陈小龙. 超级杂交稻及其亲本的耐冷性研究[J]. 杂交水稻, 2015, 30(1): 51-57.
CHANG S Q, DENG Q Y, LUO W, CHEN X L. Studies on cold tolerance of super hybrid rice and its parents[J]. Hybrid Rice, 2015, 30(1): 51-57. (in Chinese)
- [14] 杨荣仲, 贤武, 廖诗童, 周会, 梁强, 桂意云, 李杨瑞. 甘蔗杂交组合耐寒评价分析[J]. 西南农业学报, 2011, 24(6): 2062-2066.
YANG R Z, XIAN W, LIAO S T, ZHOU H, LIANG Q, GUI Y Y, LI Y R. Cold tolerance evaluation of sugarcane crosses[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2011, 24(6): 2062-2066. (in Chinese)
- [15] CHEN L T, SUN A Q, YANG M, CHEN L L, MA X L, LI M L, YIN Y P. Seed vigor evaluation based on adversity resistance index of wheat seed germination under stress conditions[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27(9): 2968-2974.
- [16] LI R X, JIN X L, HU X J, CHAI Y X, CAI M Y, LUO F, ZHANG F J. Analysis and comprehensive evaluation on cold resistance of six varieties of *Michelia*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(5): 1464-1472.
- [17] YE Y R, WANG W L, ZHENG C S, FU J, LIU H W. Evaluation of cold resistance of four wild *Carex* speices[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(1): 89-95.
- [18] HU Y, WANG Y, ZHU Y, CHEN B. Multivariate statistical analyses and predictive model of cold resistance associated with eleven crabapples and Fuji apple[J]. Cryo Letters, 2018, 39(4): 235-244.
- [19] 潘晓雪, 胡明瑜, 王忠伟, 吴红, 雷开荣. 不同水稻种质资源重要农艺性状与发芽期耐寒性鉴定研究[J]. 作物杂志, 2021(1): 47-53.
PAN X X, HU M Y, WANG Z W, WU H, LEI K R. Evaluation of agronomic traits and cold tolerance at germination stage in rice (*Oryza sativa* L.) germplasms[J]. Crops, 2021(1): 47-53. (in Chinese)
- [20] 杨洋, 王先宏, 杨清辉. 不同采集地割手密种质资源的耐寒性评价[J]. 热带作物学报, 2019, 40(4): 638-648.
YANG Y, WANG X H, YANG Q H. Evaluation of cold tolerance of *Saccharum spontaneum* L. clones collected from different habitats[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(4): 638-648. (in Chinese)
- [21] 薛云云, 白冬梅, 田跃霞, 权宝全. 24 份山西花生资源芽期和苗期耐寒性鉴定[J]. 核农学报, 2018, 32(3): 582-590.
XUE Y Y, BAI D M, TIAN Y X, QUAN B Q. Cold tolerance identification for 24 peanut resources from Shanxi province at the stage of germination and seedling[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(3): 582-590. (in Chinese)
- [22] 刘瑞媛, 董喜存, 梁开平, 顾文婷, 曲颖, 孙好丞, 金文杰, 李文建. 不同品种甜高粱苗期耐寒性分析研究[J]. 中国农学通报, 2018, 34(31): 19-26.
LIU R Y, DONG X C, LIANG K P, GU W T, QU Y, SUN H C, JIN W J, LI W J. Chilling tolerance of different sweet sorghum varieties at seedling stage[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2018, 34(31): 19-26. (in Chinese)
- [23] 黄丽芳, 李金芹, 龙宇宙, 董云萍, 王晓阳, 林兴军, 孙燕, 陈鹏, 闫林. 低温胁迫下不同咖啡生理生化指标的变化及耐寒性评价[J]. 热带作物学报, 2021, 42(7): 1941-1947.
HUANG L F, LI J Q, LONG Y Z, DONG Y P, WANG X Y, LIN X J, SUN Y, CHEN P, YAN L. Changes of physiological, biochemical and evaluation of cold tolerance in coffea[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(7): 1941-1947. (in Chinese)
- [24] 彭云玲, 王亚昕, 赵小强, 吕玉燕. 不同玉米自交系耐寒性评价及差异分析[J]. 干旱地区农业研究, 2016, 34(3): 267-280.
PENG Y L, WANG Y X, ZHAO X Q, LYU Y Y. Evaluation of chilling tolerance in different maize inbred lines[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2016, 34(3): 267-280. (in Chinese)
- [25] 张保青, 杨丽涛, 李杨瑞. 自然条件下甘蔗品种抗寒生理生化特性的比较[J]. 作物学报, 2011, 37(3): 496-505.
ZHANG B Q, YANG L T, LI Y R. Comparison of physiological and biochemical characteristics related to cold resistance in sugarcane under field conditions[J]. Acta Agronomica Sinica, 2011, 37(3): 496-505. (in Chinese)
- [26] 王振波, 陈疏影, 李智勇, 李富生. 甘蔗苗期对低温的响应及其耐寒性评价[J]. 中国农学通报, 2015, 31(30): 162-168.
WANG Z B, CHEN S Y, LI Z Y, LI F S. Response to low temperature stress and evaluation for its cold resistance at sugarcane seedling stage[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(30): 162-168. (in Chinese)
- [27] OZTURK M, TURKYILMAZ UNAL B, GARCÍA-CAPAR-RÓS P, KHURSHEED A, GUL A, HASANUZZAMAN M. Osmoregulation and its actions during the drought stress in

- plants[J]. *Physiol Plantarum*, 2021, 172(2): 1321-1335.
- [28] 何子华, 杨成行, 王沛, 包爱科, 马清. 高寒地区6种禾本科牧草对低温胁迫的生理响应及耐寒性评价[J]. *草业科学*, 2021, 38(10): 2019-2028.
- HE Z H, YANG C X, WANG P, BAO A K, MA Q. Effect of low-temperature stress on the physiological responses of six gramineous forages in alpine regions and evaluation of their cold resistance[J]. *Pratacultural Science*, 2021, 38(10): 2019-2028. (in Chinese)
- [29] 陈明辉, 程世平, 张志录, 张保青. 不同品种果蔗幼苗对低温的生理响应及耐寒性评价[J]. *华南农业大学学报*, 2018, 39(2): 40-46.
- CHEN M H, CHENG S P, ZHANG Z L, ZHANG B Q. Physiological response and cold resistance evaluation of seedlings of different chewing cane cultivars to low temperature[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2018, 39(2): 40-46. (in Chinese)
- [30] 田国忠, 李怀方, 裴维蕃. 植物过氧化物酶研究进展[J]. *武汉植物学研究*, 2001(4): 332-344.
- TIAN G Z, LI H F, QIU W F. Advances on research of plant peroxidases[J]. *Wuhan Botanical Research*, 2001(4): 332-344. (in Chinese)
- [31] 全怡吉, 樊仙, 李如丹, 杨绍林, 邓军. 不同甘蔗品种对低温胁迫的生理响应及耐寒性综合评价[J]. *热带作物学报*, 2020, 41(1): 63-68.
- QUAN Y J, FAN X, LI R D, YANG S L, DENG J. Integrative assessments on physiological response and cold tolerance of different sugarcane varieties to low temperature[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2020, 41(1): 63-68. (in Chinese)
- [32] 曹哲群, 肖芙蓉, 陈疏影, 何丽莲, 李富生. 7个蔗茅野生种及其后代材料苗期耐寒性鉴定[J]. *作物杂志*, 2017(5): 43-48.
- CAO Z Q, XIAO F R, CHEN S Y, LE L L, LI F S. Identification of cold tolerance in seven wild sugarcane and three offsprings at seedling stage[J]. *Crops*, 2017(5): 43-48. (in Chinese)
- [33] 孙波, 刘光玲, 杨丽涛, 李杨瑞. 甘蔗幼苗根系形态结构及保护系统对低温胁迫的响应[J]. *中国农业大学学报*, 2014, 19(6): 71-80.
- SUN B, LIU G L, YANG L T, LI Y R. Response of chilling stress on root morphology and protection systems of sugarcane seedlings[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2014, 19(6): 71-80. (in Chinese)
- [34] 杨小英, 许莹莹, 赵美爱, 曾建琪, 韩静, 裴玉贺, 宋希云, 李军. 模拟干旱条件下玉米品种萌发期抗旱性评价[J]. *玉米科学*, 2019, 27(6): 25-30.
- YANG X Y, XU Y Y, ZHAO M A, ZENG J Q, HAN J, PEI Y H, SONG X Y, LI J. Evaluation of drought resistance of different maize varieties under drought stress simulation at germination stage[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2019, 27(6): 25-30. (in Chinese)
- [35] 金明, 刘旭升, 逢洪波, 王泽, 赵宗耀, 韩康顺, 李彦利, 贾玉敏. 水稻芽期耐寒性综合评价及耐寒指标筛选[J]. *中国农业大学学报*, 2021, 26(7): 25-35.
- JIN M, LIU X S, PANG H B, WANG Z, ZHAO Z Y, HAN K S, LI Y L, JIA Y M. Comprehensive evaluation of cold tolerance and selection of cold tolerant evaluation indicators of rice at the germination stage[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2021, 26(7): 25-35. (in Chinese)