

· 技术方法 ·

基于主成分-聚类分析构建甜瓜幼苗耐冷性综合评价体系

周亚峰, 许彦宾, 王艳玲, 李琼, 胡建斌*

河南农业大学园艺学院, 郑州 450002

摘要 为了构建甜瓜(*Cucumis melo*)种质耐冷性的评价体系并筛选耐冷种质, 以19份遗传背景差异明显的甜瓜种质为实验材料, 测定低温胁迫下幼苗的9个形态指标和8个生理指标, 利用主成分分析、聚类分析及回归分析等多元统计方法对各指标的耐冷系数(α 值)进行综合评价。结果表明, 低温胁迫下甜瓜幼苗的形态和生理指标发生了明显的变化, 其 α 值的变异系数均大于10%, 生理指标的 α 值变化更为明显。利用主成分分析将原有的17个指标转换为7个独立的综合指标, 其累计贡献率达84.64%, 以此计算各种质的隶属函数值, 并以主成分的贡献率进行加权, 最终获得所有种质耐冷性的综合评价值(D 值)。基于 D 值的聚类分析将所有种质按耐冷性强弱划分为3类, 其中Oujin为耐冷性最强的种质, Xujin1等11份种质具有中等耐冷性, Qiuxiang等7份种质耐冷性较弱。通过逐步回归分析建立了甜瓜幼苗耐冷性评价的数学模型: $D=0.048+0.048POD-0.119SOD+0.097PRO+0.042CRI+0.084RDW+0.206OFW$ 。模型的预测精度大于93.0%。该耐冷性评价体系可广泛用于不同甜瓜种质耐冷性的快速鉴定和预测。

关键词 甜瓜, 耐冷性, 主成分分析, 聚类分析, 评价体系

周亚峰, 许彦宾, 王艳玲, 李琼, 胡建斌 (2017). 基于主成分-聚类分析构建甜瓜幼苗耐冷性综合评价体系. 植物学报 52, 520–529.

甜瓜(*Cucumis melo*)是世界性果品, 也是我国主要夏季果品之一。据《中国农业统计资料》(2013年)公布的数据, 2013年我国甜瓜种植面积为 4.23×10^5 hm², 总产量达 1.43×10^7 t, 生产规模居世界首位。甜瓜起源于非洲、中亚和西亚等大陆性气候区, 其生长发育要求温暖干燥、昼夜温差大及日照充足等气候条件(Kerje and Grum, 2000; 林德佩, 2010)。近年来, 随着园艺设施的推广与普及, 我国华北、华中及南方等地的设施甜瓜栽培面积逐渐扩大。甜瓜属于喜温植物, 对低温敏感, 在其整个生育期中, 苗期对温度的要求很高, 幼苗在28–32°C生长良好, 在13°C即停止生长, 低于7°C则发生冷害(吴梅梅等, 2014)。在甜瓜春季设施栽培中, 育苗及定植初期常常受到低温冷害的侵袭, 导致苗期延长, 严重影响果实成熟。例如, 2015年3–4月的倒春寒, 导致山东和河南等地的甜瓜苗期延长, 定植期延后, 本应在5月上中旬上市的甜瓜推迟至5月下旬至6月上旬, 与露地甜瓜同期上市, 造成产品积压及价格下跌。低温冷害已经成为限制我

国设施甜瓜生产效益的一个严重问题。

科学评价甜瓜种质的耐冷性, 对发掘耐冷资源、培育耐冷新品种, 进而提高设施甜瓜生产效益具有重要意义。目前, 国内外学者已经从形态、生理和生化等角度对甜瓜耐冷性的鉴定指标及评价方法展开了研究, 并已筛选出一些与耐冷性相关的指标。孙玉宏等(2004)研究表明, 18°C下种子活力指数、4°C处理48小时的幼苗耐冷指数和7°C的叶片电导率可作为甜瓜耐冷性的鉴定指标。苗永美等(2013)认为18°C下种子相对发芽率、相对发芽势和活力指数以及幼苗在4°C处理3天后的成活率与处理48小时的电导率均可作为甜瓜耐冷性的评价指标。徐小军等(2015)对4°C低温下甜瓜幼苗的10个与低温逆境相关的生理指标进行了综合评价, 结果表明6个指标(丙二醛、游离脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白和叶绿素的含量及电导率)与耐冷性相关, 其中游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量可优先作为耐冷性的鉴定指标。然而, 植物对低温的反应灵敏而复杂, 涉及基因型、发育阶段、

收稿日期: 2016-06-27; 接受日期: 2016-11-11

基金项目: 国家自然科学基金(No.31672147)、河南省科技攻关计划(No.172102110052)和河南农业大学科技创新基金(No.KJXC2016-C03)

* 通讯作者。E-mail: jianbinhu@henau.edu.cn

生理生化以及外界环境等多个层面(任军等, 2013), 仅凭单一指标难以准确评判其耐冷特性。为了克服单一指标评价方式的局限性, 本研究采用多元统计方法对低温胁迫下19份甜瓜种质幼苗的多个形态及生理生化指标进行综合分析, 客观而全面地评价各种质幼苗的耐冷性, 并基于各指标与耐冷性之间的关系建立甜瓜耐冷性评价的数学模型, 以期为甜瓜耐冷性资源发掘和品种培育提供科学准确的评价体系。

1 材料与方法

1.1 实验材料及育苗

供试材料从前期构建的甜瓜(*Cucumis melo* L.)核心种质(胡建斌等, 2013)中选出, 为遗传背景差异明显的19份种质。其中厚皮种质(subsp. *melo*)13份, 薄皮种质(subsp. *agrestis*) 6份(表1)。

选取饱满且整齐一致的种子, 经常规方法浸种、催芽后, 播种于72孔穴盘中。在河南农业大学实验基地的日光温室内育苗。育苗基质为混合基质, 以草炭、珍珠岩和蛭石按3:2:2 (v/v)的比例混合, 每立方米基质添加3 kg腐熟的烘干鸡粪。育苗期间温室内昼/夜温度为(23–30)°C/(15–20)°C。待幼苗长至2叶1心时选取生长一致的幼苗进行后续实验。

1.2 室内人工模拟低温处理

低温实验在河南农业大学园艺学院中心实验室进行。

将2叶1心的幼苗转移至智能型人工气候箱(MGC-350HP-2)中, 在昼/夜温度为28°C/18°C、光强300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、每天光照12小时的条件(正常温光条件)下适应2天后, 分别进行不同低温处理。

低温处理的方法有2种: (1) 参照Korkmaz等(2007)的方法进行, 各种质幼苗在4°C恒温下处理48小时后用于各项生理指标的测定, 并在正常温光条件下恢复3天后统计幼苗的冷害指数; (2) 参照周峰(2012)的方法, 各种质幼苗在昼/夜温度为14°C/5°C条件下处理8天后, 测定各项形态指标。2种低温处理除温度条件变化以外, 其它条件与正常条件一致。以正常温光条件下生长的幼苗作为对照(CK)。用于不同低温处理的每份种质保苗12–18株。每处理重复3次。

1.3 测定项目和方法

用直尺测定幼苗的株高(plant height, PLH)。用游标卡尺测定幼苗的茎粗(stem diameter, STD)。叶面积采用王加蓬等(2009)的方法计算。用万分之一电子天平称量地上部和根的干鲜重。称量干重时, 先将材料在105°C下杀青15分钟, 然后在85°C下烘干12小时, 再进行称量。叶面积增加量(leaf area growth, LAG)为低温处理前后真叶面积之差。植株生长量(plant mass growth, PMG)为处理前后植株干重之差。每处理随机选取5株幼苗测定各形态指标, 取平均值。

用CCM200叶绿素测定仪测量叶绿素含量(chlorophyll content, CHL)。利用C215型电导仪测定相对

表1 供试的19份甜瓜种质

Table 1 Nineteen melon germplasms used in this study

No.	Accession	Subsp.	Origin	No.	Accession	Subsp.	Origin
1	Qiuxiang	<i>melo</i>	Taiwan, China	11	Yangjiaomi	<i>agrestis</i>	Shandong, China
2	Xujin1	<i>melo</i>	Shaanxi, China	12	Tianxiangjiao	<i>agrestis</i>	Liaoning, China
3	West	<i>melo</i>	Sweden	13	Hongzicui	<i>agrestis</i>	Henan, China
4	Thumb	<i>melo</i>	Gansu, China	14	Hamasu	<i>agrestis</i>	Liaoning, China
5	Jinfeng	<i>melo</i>	Henan, China	15	Mapao	<i>agrestis</i>	Henan, China
6	PI313973	<i>melo</i>	Russian	16	Changxiuyu	<i>agrestis</i>	Shanghai, China
7	Nafi-Tukaie	<i>melo</i>	France	17	De Luneville	<i>melo</i>	France
8	Oujin	<i>melo</i>	Beijing, China	18	Sliver honey	<i>melo</i>	Korea
9	Xuanan1	<i>melo</i>	Henan, China	19	Golden gem	<i>melo</i>	Korea
10	Hongchengcui	<i>melo</i>	Inner Mongolia, China				

亚种的划分根据Pitrat (2008)的分类标准。Mapao为野生种, 其它均为栽培种。

The subspecies classification is based on the taxonomy described by Pitrat (2008). Mapao is wild species and the others are cultivars.

电导率(relative conductivity, REC)。可溶性蛋白含量(soluble protein content, SPC)采用考马斯亮蓝G-250染色法测定。可溶性糖含量(soluble sugar content, SSC)采用蒽酮比色法测定。游离脯氨酸含量(proline content, PRO)采用茚三酮比色法测定。过氧化氢含量采用高锰酸钾法测定。超氧化物歧化酶活性(superoxide dismutase activity, SOD)采用氮蓝四唑法测定。过氧化物酶活性(peroxidase activity, POD)采用愈创木酚法测定。以上指标的具体测定方法参见文献(李合生, 2000)所述。每个处理随机选取5株幼苗的第1片真叶, 剪碎混匀后测定各项生理指标。

幼苗叶片冷害程度分级及冷害指数(chilling-injury index, CII)的计算参考庄飞云等(2002)的标准。耐冷指数(chilling-resistance index, CRI)为冷害指数的倒数。

1.4 数据分析

用Excel 2003软件对数据进行整理和分析。甜瓜的变异类型众多, 为了消除不同种质基础性状间的差异, 采用性状的相对值(耐冷系数)对耐冷性进行评价, 即: 耐冷系数(α)=(处理测定值/对照测定值) \times 100%。利用主成分分析将各单项指标的耐冷系数转化为若干综合指标。

采用模糊数学中的隶属函数对各种质的耐冷性进行鉴定和评价。各种质综合指标的隶属函数值(μ)、权重(W)和综合评价价值(D)的计算参考谢志坚(1983)和高山等(2014)的方法。

各综合指标的隶属函数值 $\mu(X_j)=(X_j-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min})$ ($j=1, 2, \dots, n$)

各综合指标的权重 $W_j=p_j/\sum p_j$ ($j=1, 2, \dots, n$)

各种质耐冷性的综合评价价值 $D=\sum[\mu(X_j)\times W_j]$ ($j=1, 2, \dots, n$)

式中, $\mu(X_j)$ 是第 j 个综合指标的隶属函数值, X_j 为第 j 个综合指标, X_{\min} 和 X_{\max} 分别表示第 j 个综合指标的最小值和最大值。 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 为各种质的第 j 个综合指标的贡献率。 D 值为各种质的耐冷性综合评价价值。

用SPSS19.0软件对各种质的耐冷系数进行主成分分析, 对 D 值进行聚类分析, 并对 D 值与耐冷系数进行逐步回归分析。

2 结果与讨论

2.1 低温处理对甜瓜幼苗各单项指标的影响

根据不同低温处理和正常条件(CK)下各性状指标的测定值, 计算出各种质的耐冷系数(表2, 表3)。无论是形态指标还是生理指标, 其耐冷系数(α)明显偏离1, 说明低温处理对甜瓜幼苗的形态和生理指标均产生明显的影响。

表2的第1列为冷害指数(CII), 其它列均为耐冷系数。经过昼/夜(14°C/5°C)低温处理, 绝大部分幼苗的生长受到明显抑制。与对照相比, 处理组幼苗的株高(PLH)、叶面积增加量(LAG)、植株生长量(PMG)、地上部干重(overground dry weight, ODW)和鲜重(overground fresh weight, OFW)均有所下降($\alpha<1$)。大部分幼苗的茎粗(STD)减小, 但4份种质(6、8、10和14)的茎粗有所增加($\alpha>1$)。所有种质幼苗的根干重(root dry weight, RDW)和鲜重(root fresh weight, RFW)均有所增加($\alpha>1$)。

由表3可知, 在4°C低温处理4小时后, 幼苗的生理指标发生了明显变化。其中, 所有种质幼苗真叶的叶绿素含量(CHL)较对照有所下降($\alpha<1$), 相对电导率(REC)、可溶性蛋白含量(SPC)、过氧化氢含量(hydrogen peroxide content, H_2O_2)和游离脯氨酸含量(PRO)有所增加($\alpha>1$), 可溶性糖含量(SSC)在绝大部分种质中呈增加趋势, 仅在3份种质(5、6和16)中稍有下降。超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)的活性变化较为复杂, 大部分种质幼苗的酶活性增加, 少数种质的酶活性降低。

以上结果表明, 同一指标的耐冷系数在不同种质间出现了很大变幅, 其中生理指标的变幅(CV: 0.108–0.450)要明显大于形态指标(CV: 0.114–0.307), 说明生理指标具有更强的基因型依赖性。由于各指标在甜瓜幼苗的耐冷性中所起的作用各不相同, 因此说明甜瓜耐冷性是较为复杂的综合性状。此外, 考虑到各指标之间或多或少存在一定程度的相关性, 它们表征耐冷性的信息有所重叠, 因此单项指标难以准确客观地反映不同甜瓜种质的低温耐受能力。为了弥补单项指标评价耐冷性的不足, 需要采用多元统计分析方法对各指标的信息进行有效整合与利用。

表2 不同甜瓜种质幼苗的形态指标的耐冷系数 α Table 2 Chilling-resistance coefficient α value of morphological characters of 19 melon germplasm seedlings

No.	CII	PLH	STD	LAG	PMG	ODW	OFW	RDW	RFW
1	0.289	0.714	0.878	0.428	0.750	0.906	0.850	1.737	1.278
2	0.324	0.711	0.964	0.815	0.665	0.543	0.826	1.803	1.456
3	0.231	0.537	0.849	0.947	0.800	0.872	0.833	1.336	1.440
4	0.306	0.846	0.825	0.259	0.489	0.566	0.780	1.164	1.223
5	0.425	0.849	0.778	0.446	0.514	0.559	0.624	1.152	1.099
6	0.432	0.723	1.146	0.702	0.973	0.632	0.786	1.955	1.960
7	0.283	0.843	0.902	0.884	0.497	0.626	0.739	1.111	1.410
8	0.237	0.885	1.142	0.525	0.818	0.787	0.837	1.722	1.364
9	0.416	0.936	0.888	0.558	0.777	0.822	0.818	1.802	1.200
10	0.317	0.820	1.213	0.725	0.703	0.724	0.812	1.117	1.236
11	0.561	0.890	0.882	0.440	0.595	0.529	0.658	1.217	1.031
12	0.323	0.942	0.838	0.620	0.612	0.679	0.840	1.116	1.410
13	0.241	0.838	0.911	0.953	0.546	0.453	0.536	1.351	1.277
14	0.237	0.999	1.070	0.732	0.517	0.654	0.724	1.478	1.160
15	0.612	0.967	0.896	0.791	0.618	0.825	0.672	1.188	1.303
16	0.325	0.799	0.877	0.682	0.612	0.679	0.714	1.450	1.365
17	0.276	0.949	0.904	0.393	0.902	0.738	0.833	1.110	1.594
18	0.372	0.821	0.803	0.711	0.569	0.544	0.811	1.364	1.008
19	0.327	0.817	0.765	0.712	0.486	0.557	0.761	1.418	1.156
CV	0.307	0.132	0.139	0.298	0.223	0.194	0.114	0.199	0.169

编号1-19同表1。CII: 冷害指数; PLH: 株高; STD: 茎粗; LAG: 叶面积增加量; PMG: 植株生长量; ODW: 地上部干重; OFW: 地上部鲜重; RDW: 根干重; RFW: 根鲜重; CV: 变异系数

No.1-19 see Table 1. CII: Chilling-injury index; PLH: Plant height; STD: Stem diameter; LAG: Leaf area growth; PMG: Plant mass growth; ODW: Overground dry weight; OFW: Overground fresh weight; RDW: Root dry weight; RFW: Root fresh weight; CV: Coefficient of variance

2.2 主成分分析

主成分分析可对高维变量系统进行有效综合和简化, 将多个指标转变为少数独立的综合指标, 避免指标间的信息重叠。我们对17个形态和生理指标的耐冷系数进行主成分分析, 取大于1的特征值, 共获得7个主成分(表4), 即7个综合指标。这7个综合指标的贡献率分别为20.77%、15.80%、12.93%、11.55%、8.82%、7.62%和7.15%, 累计贡献率达84.64%, 即可解释84.64%的总变异, 其余成分可忽略不计。因此, 这7个独立的综合指标(CI1-CI7)可代表17个单项指标的绝大部分信息。

其中, 决定第1主成分CI1的特征向量主要是植株生长量(0.449)、根鲜重(0.390)、茎粗(0.364)和地上部鲜重(0.349); 第2主成分CI2主要由可溶性糖含量(0.476)、过氧化氢含量(0.324)和过氧化物酶活性

(0.350)等指标构成; 第3主成分CI3主要由地上部干重(-0.482)、超氧化物歧化酶活性(-0.452)、过氧化物酶活性(0.352)和可溶性蛋白含量(-0.336)构成; 第4主成分CI4的特征向量主要描述叶面积增加量(0.521)和相对电导率(0.331); 第5主成分CI5的冷害指数(0.417)和根干重(0.412)有较大的特征向量; 第6主成分(CI6)和第7主成分(CI7)的最大特征向量分别是可溶性蛋白含量(0.479)和株高(-0.379)。

2.3 耐冷性综合评价

2.3.1 隶属函数分析

以上述7个综合指标值为评价耐冷性的基础数据, 根据隶属函数公式计算每份种质的隶属函数值(μ), 结果见表5。针对某一综合指标, 其 μ 值越大, 表明该种质在此综合指标中耐冷性越强。如8号种质Oujin在综合指标CI1中有最大 μ 值, 为1.000, 表明该种质在这

表3 不同甜瓜种质幼苗的生理指标的耐冷系数 α Table 3 Chilling-resistance coefficient α value of physiological characters of 19 melon germplasm seedlings

No.	CHL	REC	SPC	SSC	H ₂ O ₂	SOD	POD	PRO
1	0.658	1.085	2.201	1.257	1.804	1.831	1.226	3.267
2	0.932	1.208	1.067	1.340	1.010	0.937	0.739	3.491
3	0.749	1.045	1.022	1.013	1.114	1.242	2.200	1.386
4	0.928	1.211	1.005	1.005	1.856	1.020	1.960	3.627
5	0.686	1.009	1.081	0.987	1.308	1.552	1.127	1.127
6	0.823	1.032	1.034	0.819	1.069	0.501	0.575	3.145
7	0.892	1.281	1.001	1.088	1.152	1.054	1.508	3.350
8	0.909	1.048	1.750	1.869	1.034	0.919	2.875	4.712
9	0.756	1.052	1.004	1.112	1.427	1.086	2.351	2.614
10	0.763	1.042	1.262	1.551	1.046	0.753	1.260	3.821
11	0.833	1.046	1.248	1.157	1.268	1.494	1.591	2.096
12	0.818	1.169	1.084	1.254	1.214	0.957	1.800	1.416
13	0.739	1.028	1.067	1.152	1.075	1.182	1.537	2.851
14	0.879	1.128	1.376	1.145	1.481	1.779	1.456	2.039
15	0.779	1.069	1.112	1.229	1.729	1.348	0.619	2.772
16	0.809	1.061	1.088	0.849	1.614	1.736	2.242	1.680
17	0.646	1.079	1.031	1.292	1.866	1.048	1.214	1.439
18	0.747	1.163	1.726	1.383	1.843	1.242	3.302	1.417
19	0.821	1.037	1.115	1.202	1.824	0.701	1.232	3.003
CV	0.108	0.270	0.265	0.202	0.234	0.315	0.450	0.392

编号1–19同表1。CHL: 叶绿素含量; REC: 相对电导率; SPC: 可溶性蛋白含量; SSC: 可溶性糖含量; H₂O₂: 过氧化氢含量; SOD: 超氧化物歧化酶活性; POD: 过氧化物酶活性; PRO: 游离脯氨酸含量

No.1–19 see Table 1. CHL: Chlorophyll content; REC: Relative conductivity; SPC: Soluble protein content; SSC: Soluble sugar content; H₂O₂: Hydrogen peroxide content; SOD: Superoxide dismutase activity; POD: Peroxidase activity; PRO: Proline content

一综合指标上耐冷性最强; μ 值最小的5号种质Jin-feng耐冷性最弱。

2.3.2 权重计算

根据各综合指标对表型总变异的贡献率, 利用权重计算公式计算各综合指标的权重(表5)。CI1–CI7的权重(W_i)分别为0.245、0.187、0.153、0.136、0.104、0.090和0.084。

2.3.3 综合评价

利用7个综合指标值和权重可计算出每份甜瓜种质的D值, 即耐冷性综合评价值(表5), 并根据D值大小对各种种的耐冷性强弱进行排序。其中Oujin (8)的D值最大, 表明其耐冷性最强; angjiaomi (11)的D值最小,

其耐冷性最弱。基于D值的最大距离法聚类结果(图1)表明, 19份种质可分为3类。第I类只有种质Oujin (8), 其D值高于0.8 (表5), 耐冷性最强; 第II类有11份种质, 即种质2、3、4、6、7、9、10、13、14、18和19, 其D值介于0.5–0.8之间(表5), 具有中等耐冷性; 第III类有7份种质(1、5、11、12、15、16和17), 它们的D值小于0.5 (表5), 耐冷性较弱。

我们还统计了19份种质的耐冷指数(CRI), 并与D值进行比较。结果表明, 仅以CRI>4.0为标准可筛选出4份耐冷性强的种质(3、8、13和14), 其中包括在综合评价中呈中等耐冷性的3份种质, 而综合评价中耐冷性弱的种质(1、12、16和17)却有较高的CRI值(>3.0)。以上结果说明, 甜瓜幼苗耐冷性的综合评价方法比单一的CRI值更为严格、科学。

表4 甜瓜17个单项指标的主成分分析

Table 4 Principal component analysis of 17 single indexes of melon

Principle components	CI1	CI2	CI3	CI4	CI5	CI6	CI7
Eigen value	3.531	2.687	2.199	1.964	1.499	1.295	1.015
Contributive ratio (%)	20.77	15.80	12.93	11.55	8.82	7.62	7.15
Cumulative contributive ratio (%)	20.77	36.58	49.51	61.06	69.88	77.50	84.64
PLH	-0.183	0.241	0.184	-0.315	-0.144	-0.297	-0.379
STD	0.364	0.042	0.202	-0.207	0.283	0.090	-0.082
LAG	0.001	-0.263	0.183	0.521	0.042	-0.061	0.223
PMG	0.449	0.077	-0.201	0.034	-0.274	-0.108	0.089
ODW	0.272	0.146	-0.482	-0.054	-0.055	-0.136	-0.179
OFW	0.349	0.290	-0.130	0.135	-0.304	0.051	0.175
RDW	0.268	-0.013	0.073	-0.322	0.412	0.159	0.344
RFW	0.390	-0.286	0.013	0.094	-0.217	-0.075	-0.125
CII	0.025	0.041	-0.014	0.275	0.417	-0.340	0.175
CHL	-0.208	0.253	0.185	0.195	-0.322	0.246	0.342
REC	0.082	0.256	0.260	0.331	-0.109	0.316	-0.367
SPC	-0.060	0.292	-0.336	-0.046	0.125	0.479	0.227
SSC	0.025	0.476	0.041	0.130	0.219	-0.182	-0.096
H ₂ O ₂	-0.088	0.324	0.228	-0.307	-0.178	-0.204	0.323
SOD	-0.290	0.017	-0.452	0.096	0.179	0.203	-0.253
POD	0.056	0.350	-0.009	0.326	0.247	-0.288	-0.016
PRO	0.250	0.075	0.352	0.007	0.180	0.364	-0.263

PLH、STD、LAG、PMG、ODW、OFW、RDW、RFW和CII同表2。CHL、REC、SPC、SSC、H₂O₂、SOD、POD和PRO同表3。
PLH, STD, LAG, PMG, ODW, OFW, RDW, RFW, and CII See Table 2. CHL, REC, SPC, SSC, H₂O₂, SOD, POD and PRO See Table 3.

2.4 耐冷性回归模型的建立

为了揭示各单项指标与耐冷性的关系, 筛选用于耐冷性评价的可靠指标, 我们进一步建立了评价甜瓜耐冷性的数学模型。采用周广生等(2003)的方法, 将耐冷性综合评价值(*D*值)作为因变量, 以各单项指标的耐冷系数作为自变量, 进行逐步回归分析, 获得最优回归方程:

$$D=0.048+0.048POD-0.119SOD+0.097PRO+0.042CRI+0.084RDW+0.206OFW;$$

方程决定系数 $R^2=0.981$, $P=0.001$ 。

因此, 从前述17个单项指标中可筛选出对甜瓜耐冷性有显著影响的6个指标, 即POD、SOD、PRO、CRI、RDW和OFW。对回归方程预测精度进行分析, 结果表明, 19份种质耐冷性的预测精度均在93.0%以上, 平均精确度为97.37% (表6), 证明所筛选的指标

对幼苗耐冷性有显著影响。该数学模型可用于甜瓜幼苗耐冷性评价。

2.5 不同耐冷性类别特征

对图1和表5中不同种质的分类结果进行特征分析, 结果见表7。由表7可知, 第I类为强耐冷种质, 在低温胁迫下PRO保持高水平, CRI值大, POD和SOD活性低, RDW和OFW值较大; 第II类为中等耐冷种质, 低温胁迫下其POD和SOD活性大, PRO和CRI指标保持中等水平, RDW和OFW值较其它类别大; 第III类为弱耐冷种质, 低温胁迫下POD和SOD活性较低, PRO、CRI、RDW和OFW等指标数值明显低于其它类别。

2.6 讨论

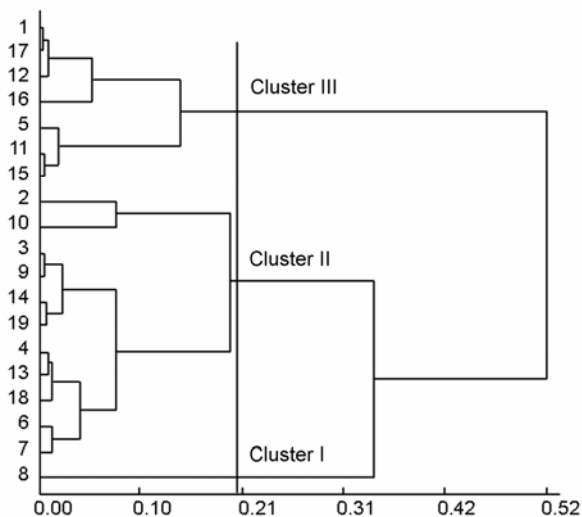
有关甜瓜耐冷性评价指标的筛选及耐冷种质的鉴定

表5 19份甜瓜种质的 $\mu(X)$ 、权重(W)、 D 值及综合评价**Table 5** The $\mu(X)$, index weight (W), and D value for each accession and their comprehensive evaluation of 19 melon germplasms

No.	$\mu(X_1)$	$\mu(X_2)$	$\mu(X_3)$	$\mu(X_4)$	$\mu(X_5)$	$\mu(X_6)$	$\mu(X_7)$	D	CRI	Comprehensive evaluation
1	0.499	0.450	0.000	0.328	0.509	1.000	0.525	0.439	3.461	S
2	0.754	0.240	1.000	0.372	0.344	0.962	0.477	0.596	3.086	M
3	0.596	0.294	0.328	0.749	0.522	0.378	0.737	0.504	4.325	M
4	0.453	0.449	0.915	0.423	0.333	0.702	0.322	0.518	3.264	M
5	0.000	0.267	0.380	0.469	0.445	0.491	0.677	0.320	2.351	S
6	0.999	0.000	0.845	0.177	0.080	0.957	0.606	0.544	2.317	M
7	0.589	0.310	0.988	0.554	0.391	0.748	0.253	0.558	3.538	M
8	1.000	1.000	0.727	1.000	1.000	0.000	0.455	0.822	4.213	R
9	0.598	0.445	0.620	0.339	0.305	0.637	0.486	0.501	2.403	M
10	0.986	0.602	0.881	0.000	0.574	0.867	1.000	0.774	3.153	M
11	0.055	0.320	0.497	0.291	0.193	0.944	0.144	0.302	1.781	S
12	0.386	0.392	0.620	0.498	0.211	0.559	0.504	0.445	3.092	S
13	0.400	0.243	0.811	0.491	0.670	0.590	0.791	0.524	4.149	M
14	0.334	0.447	0.606	0.417	0.479	0.581	0.761	0.481	4.226	M
15	0.323	0.254	0.485	0.087	0.000	0.994	0.000	0.306	1.633	S
16	0.352	0.286	0.288	0.554	0.408	0.660	0.344	0.391	3.074	S
17	0.515	0.356	0.538	0.390	0.207	0.478	0.556	0.440	3.618	S
18	0.143	0.760	0.585	0.649	0.330	0.693	0.932	0.530	2.687	M
19	0.386	0.331	0.885	0.312	0.257	0.655	0.779	0.486	3.054	M
W	0.245	0.187	0.153	0.136	0.104	0.090	0.084			

编号1–19同表1。CRI: 耐冷指数; S: 冷敏感; R: 耐冷; M: 耐冷性中等

No. 1–19 see Table 1. CRI: Chilling-resistance index; S: Chilling-sensitive; R: Chilling-tolerance; M: Medium chilling-tolerance

**图1** 19份甜瓜种质耐冷性的聚类分析

编号1–19同表1。

Figure 1 Cluster analysis of chilling tolerance of 19 melon germplasms

No. 1–19 see Table 1.

已有一些报道(Korkmaz and Dufault, 2001; 孙玉宏等, 2004; 苗永美等, 2013; 徐小军等, 2015)。经过整理分析, 我们发现大约有20个形态、生理指标可用于甜瓜耐冷性评价。其中形态指标主要有幼苗真叶面积、低温下种子的活力指数和耐冷指数等; 生理指标主要有相对电导率及游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量等。但甜瓜对低温的忍耐程度(耐冷性)是复杂的数量性状, 也是基因与环境共同作用的结果, 用单项指标直接评判种质的耐冷性无疑会存在片面性。此外, 由于甜瓜种质类型较多, Pitrat (2008)曾将其划分为2亚种、16个变种, 不同类型(变种)之间存在基础性状的差异, 如厚皮甜瓜幼苗的生长势明显强于薄皮甜瓜。如果仅通过比较指标的绝对值来评价甜瓜耐冷性, 不能消除不同类型种质间性状的固有差异, 无疑会影响耐冷性评价的准确性。以相对值为基础的隶属函数法很好地解决了这一问题, 而且同一指标或不同指标之间可以进行有效比较(王贺正等, 2007; 龙海涛等, 2015)。

表6 19份甜瓜种质耐冷性评价回归方程的预测精度分析**Table 6** Analysis of forecast accuracy of the chilling tolerance regression equation of 19 melon germplasms

No.	Primary value	Regression	Difference	Evaluation accuracy (%)
1	0.439	0.442	-0.003	99.31
2	0.596	0.576	0.020	96.68
3	0.504	0.502	0.002	99.53
4	0.518	0.553	-0.035	93.63
5	0.320	0.333	-0.013	95.97
6	0.544	0.526	0.018	96.76
7	0.558	0.537	0.021	96.20
8	0.822	0.825	-0.003	99.63
9	0.501	0.523	-0.022	95.85
10	0.674	0.685	-0.011	98.33
11	0.306	0.315	-0.009	97.15
12	0.445	0.451	-0.006	98.60
13	0.524	0.512	0.012	97.67
14	0.481	0.478	0.003	99.45
15	0.302	0.300	0.002	99.40
16	0.391	0.388	0.003	99.17
17	0.440	0.432	0.008	98.14
18	0.530	0.493	0.037	93.02
19	0.486	0.509	-0.023	95.50

编号1-19同表1。No.1-19 see Table 1.

表7 19份甜瓜种质耐冷性聚类图中各类别表现特征**Table 7** Description of each cluster in the chilling tolerance dendrogram of 19 melon germplasms

Cluster	Average of each index					
	POD (U·g ⁻¹ · min ⁻¹)	SOD (U·g ⁻¹ · h ⁻¹)	PRO (μg·g ⁻¹)	CRI	RDW (g)	OFW (g)
Cluster I	10.057	53.765	29.203	4.213	0.033	1.308
Cluster II	20.719	69.113	14.084	3.286	0.034	1.435
Cluster III	14.148	56.713	12.307	2.666	0.022	1.106

CRI: 耐冷指数。POD、SOD和PRO同表3。RDW和OFW同表2。
CRI: Chilling-resistance index. POD, SOD, and PRO See Table 3. RDW and OFW see Table 2.

本实验选取与低温逆境相关的17个形态、生理指标, 先计算各指标的耐冷系数, 再将所有指标进行相对化处理(除CII外), 然后利用主成分分析法将17个指标转换为7个独立的综合指标(CI1-CI7), 最后在获得7个综合指标的隶属函数值的基础上, 通过其贡献率(权重)进行加权, 最终获得不同甜瓜种质耐冷性的

综合评价值(D值)。本方法具有以下优点: (1) 有效消除了各指标之间的相关性, 避免信息重叠, 且简化了数据分析的工作; (2) 以主成分的贡献率为综合指标的权重, 使评价结果更具客观性; (3) D值作为一个在[0, 1]区间的无量纲纯数, 可在不同种质之间进行直接比较, 并直观地反映种质的耐冷性差异(王军等, 2007)。冷害指数(CII)或耐冷指数(CRI)通常用来衡量植物的冷害程度, 它是通过对植株的冷害程度进行分级后计算各级别植株的比例而求得, 是评价耐冷性的重要直观指标。CII或CRI作为单项指标, 仅能反映植株在低温下的形态变化, 并不能表征植株的生理、生化代谢特征, 因而具有一定的局限性。而D值综合了植株多个形态、生理指标的信息, 可以更科学、客观地反映参评种质的耐冷性本质。从本实验结果来看, 通过D值从19份种质中筛选出1份强耐冷种质(8), 而仅从CRI值考虑, 4份种质(3、8、13和14)耐冷性均很强。显然, D值评价标准比依据CRI值更严格和科学。从生产实践来看, 8号种质Oujin是在20世纪70年代选育的极早熟甜瓜品种, 适合早春栽培, 耐冷性较强。而4份具有较高CRI值的种质(1、12、16和17)在生产中却表现出耐热不耐冷的特性。例如, Qiuxiang (1)和De Luneville (17)均是大果网纹甜瓜品种, 均具有晚熟、耐热特性, 生产中常用作越夏、秋延后栽培; Tianxiangjiao (12)和Changxiuyu (16)均为适合露地夏秋栽培的薄皮甜瓜品种, 其耐冷性较弱, 这均与D值评价结果一致。因此, 供试种质的生产应用也很好支持了D值对甜瓜耐冷性的评价结果。

通过逐步回归分析, 本研究建立了可靠的甜瓜幼苗耐冷性评价的回归方程: $D=0.048+0.048POD-0.119SOD+0.097PRO+0.042CRI+0.084RDW+0.206OFW$, 筛选出6个对耐冷性有显著影响的指标, 即POD、SOD、PRO、CRI、RDW和OFW。我们总结出耐冷性强的甜瓜幼苗的基本特征: 在低温胁迫下具有较高的PRO含量和CRI值, POD和SOD活性低, RDW和OFW值较大。PRO含量和3种形态指标(CRI、RDW和OFW)与耐冷性呈正相关, 这与大多数研究结果相符。而POD和SOD作为活性氧和自由基清除的保护性酶, 其活性与耐冷性呈一定程度的负相关, 这与以往的一些报道相悖(武雁军和刘建辉, 2007; 和红云等, 2008; 黄锡志等, 2013)。其原因可能是由于研究材料的基因型不同所致。李琦等(2011)发现,

低温处理下耐冷性强的甜瓜品种POD和SOD的活性低于耐冷性弱的品种。在黄瓜(*Cucumis sativus*)诸多生理指标中,这些保护性酶类活性与耐冷性之间的关系也存在较大争议(逯明辉等,2004)。本研究构建的回归方程对耐冷性的预测结果与原始值高度一致,说明该数学模型能够准确评价甜瓜种质的耐冷性。在与本实验相同的低温条件下测定上述6个指标的耐冷系数,利用该数学模型即可计算出参试种质的D值,并对其进行耐冷性评价。同时考虑到用于模型构建的甜瓜种质具有较强的代表性,既有薄皮种质也有厚皮种质;既有国内种质也有国外种质,因而该模型可广泛用于甜瓜种质的耐冷性评价。

参考文献

- 高山,钟开勤,许端详,林碧英,陈中杉,钟凤林(2014).不同基因型苦瓜幼苗耐低温弱光综合评价及鉴定指标筛选.热带作物学报 35, 2191–2198.
- 和红云,薛琳,田丽萍,陈远良(2008).低温胁迫对甜瓜幼苗根系活力及渗透调节物质的影响.石河子大学学报(自然科学版) 26, 583–586.
- 胡建斌,马双武,王吉明,苏艳,李琼(2013).基于表型性状的甜瓜核心种质构建.果树学报 30, 404–411.
- 黄锡志,李红斌,吕晓菡,张跃建,苗立祥(2013).不同厚皮甜瓜品种幼苗对低温胁迫的响应差异研究.中国园艺文摘 29, 14–16.
- 李合生(2000).植物生理生化实验原理和技术.北京:高等教育出版社. pp. 119–261.
- 李琦,别之龙,牛蒙亮,刘志雄,张朝霞(2011).不同低温处理对甜瓜幼苗生长和根系生理特性的影响.长江蔬菜 24, 25–29.
- 林德佩(2010).中国栽培甜瓜植物的起源、分类及进化.中国瓜菜 23, 34–36.
- 龙海涛,李丽梅,谢泽虹,刘帅,李晓云,邓斌,刘海燕,李玲(2015).综合隶属函数法评价花生品种抗旱性与*AhNCED1*基因表达的关系.植物学报 50, 706–712.
- 逯明辉,娄群峰,陈劲枫(2004).黄瓜的冷害及耐冷性.植物学报 21, 578–586.
- 苗永美,高青海,戈应祥,居文军,杨海林,王万洋(2013).甜瓜耐低温鉴定指标的研究.安徽科技学院学报 27, 39–44.
- 任军,黄志霖,曾立雄,施征(2013).低温胁迫下植物生理反应机理研究进展.世界林业研究 26, 15–20.
- 孙玉宏,徐跃进,彭金光,周谟兵,李煜华,李爱成,毛巧云(2004).甜瓜耐冷性鉴定指标的筛选.中国蔬菜 41, 7–10.
- 王贺正,李艳,马均,张荣萍,李旭毅,汪仁全(2007).水稻苗期抗旱性指标的筛选.作物学报 33, 1523–1529.
- 王加蓬,蔡焕杰,王健,陈新明(2009).温室膜下滴灌甜瓜初花期叶面积动态变化与增长模型研究.节水灌溉 1, 27–30.
- 王军,周美学,许如根,吕超,黄祖六(2007).大麦耐湿性鉴定指标和评价方法研究.中国农业科学 40, 2145–2152.
- 吴梅梅,张显,郑俊鸾,杨小振(2014).西瓜甜瓜抗寒性研究进展.中国瓜菜 27, 1–5.
- 武雁军,刘建辉(2007).低温胁迫对厚皮甜瓜幼苗抗寒性生理生化指标的影响.西北农林科技大学学报(自然科学版) 35, 139–143.
- 谢志坚(1983).农业科学中的模糊数学方法.武汉:华中理工大学出版社. pp. 99–193.
- 徐小军,张桂兰,周亚峰,邢燕,胡建斌,王盼乔(2015).甜瓜幼苗耐冷性相关生理指标的综合评价.果树学报 32, 1187–1194.
- 周峰(2012).甜瓜耐低温、耐弱光鉴定方法和鉴定指标研究.硕士学位论文.扬州:扬州大学. pp. 23–28.
- 周广生,梅方竹,周竹青,朱旭彤(2003).小麦不同品种耐湿性生理指标综合评价及其预测.中国农业科学 36, 1378–1382.
- 庄飞云,陈劲枫,钱春桃,李式军,任刚,王志军(2002).甜瓜属种间杂交新种及其后代对低温的适应性反应.南京农业大学学报 25, 27–30.
- Kerje T, Grum M (2000). The origin of melon, *Cucumis melo*: a review of the literature. *ISHS Acta Hort* 510, 37–44.
- Korkmaz A, Dufault RJ (2001). Developmental consequences of cold temperature stress at transplanting on seedling and field growth and yield. II. Muskmelon. *J Amer Soc Hortic Sci* 126, 410–413.
- Korkmaz A, Uzunlu M, Demirkiran AR (2007). Acetyl salicylic acid alleviates chilling-induced damage in muskmelon seedlings. *Can J Plant Sci* 87, 581–585.
- Pitrat M (2008). Melon. In: Prohens J, Nuez F, eds. Handbook of Plant Breeding, Vol. 1. New York: Springer. pp. 283–315.

Establishment of a Comprehensive Evaluation System for Chilling Tolerance in Melon Seedlings Based on Principal Component Analysis and Cluster Analysis

Yafeng Zhou, Yanbin Xu, Yanling Wang, Qiong Li, Jianbin Hu*

College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

Abstract The present study aimed to establish a system for evaluating chilling tolerance in melon seedlings and select the chilling-tolerance germplasms. Overall, 19 melon germplasms with different genetic background were used as experimental materials and their seedlings were measured for 9 morphological indices and 8 physiological indices under low temperature stress. Multiple statistics analyses (e.g., principal component analysis, cluster analysis, and regression analysis) were used to analyze the chilling-tolerance coefficients (α value) of the indices and evaluate the chilling tolerance of the melon germplasms. Obvious variation was observed with the α value of both morphological and physiological indices of the seedlings (coefficient of variation >10%) under low-temperature stress, particularly for the α value of physiological indices. By principal component analysis, the primary 17 indices were changed to 7 separate comprehensive indices with a cumulative contribution rate 84.64%. The comprehensive evaluation value (D value) for each melon germplasm was obtained by calculating their membership function values and then weighting the values with the contribution rate of the 7 principal components. According to the D values, all melon germplasms were clustered into 3 groups: chilling-tolerance (1 accession), medium chilling-tolerance (11 accessions), and chilling-sensitive (7 accessions). Finally, stepwise regression analysis was used to establish a mathematic model (forecast accuracy >93.0%) for evaluating the chilling tolerance of melon seedlings: $D=0.048+0.048\text{POD}-0.119\text{SOD}+0.097\text{PRO}+0.042\text{CRI}+0.084\text{RDW}+0.206\text{OFW}$. The evaluation system established was suitable for rapid examination and prediction of chilling tolerance of different melon germplasms and may also be widely used for screening chilling-tolerance germplasms and cultivar breeding.

Key words melon, chilling tolerance, principal component analysis, cluster analysis, evaluation system

Zhou YF, Xu YB, Wang YL, Li Q, Hu JB (2017). Establishment of a comprehensive evaluation system for chilling tolerance in melon seedlings based on principal component analysis and cluster analysis. *Chin Bull Bot* **52**, 520–529.

* Author for correspondence. E-mail: jianbinhu@henau.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)