DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.01031

春季低温对小麦花粉育性及粒数形成的影响

高 芸^{1,**} 张玉雪^{1,2,**} 马 泉¹ 苏盛楠^{1,3} 李春燕^{1,*} 丁锦峰¹
朱 敏¹ 朱新开¹ 郭文善¹

¹ 扬州大学江苏省作物遗传生理国家重点实验室培育点 / 粮食作物现代产业技术协同创新中心, 江苏扬州 225009; ² 太仓市农业机械技术推广站, 江苏太仓 215499; ³ 太仓市城厢镇农业技术服务站, 江苏太仓 215499

摘 要: 小麦拔节后遭遇春季低温, 每穗粒数下降, 产量降低。为探明春季低温引起每穗粒数减少的生理原因, 以春性小麦扬麦 16 和半冬性小麦徐麦 30 为供试品种, 研究小麦倒二叶出生期(昼夜 5℃/–3℃)、孕穗期(昼夜 8℃/–1℃)和开花期(昼夜 12℃/4℃)分别进行低温处理对小麦花粉育性及每穗粒数形成的影响。结果表明: 倒二叶出生期和孕穗期低温均导致 2 个小麦品种在二胞花粉期和三胞花粉期花药中的多糖物质淀粉和蛋白质的代谢异常, 绒毡层解体延迟; 孕穗期低温还造成花粉母细胞减数分裂中染色体配对异常、出现微核等情况, 影响正常雄配子体形成; 花粉败育率表现为倒二叶出生期低温处理>孕穗期低温处理>开花期低温处理, 徐麦 30 败育率高于扬麦 16; 3 个时期低温均显著降低了 2 个小麦品种结实小穗数、每小穗结实粒数和每穗粒数, 以倒二叶出生期低温处理穗粒数降低的幅度最大。相关分析表明, 春季低温引起花粉母细胞减数分裂异常、绒毡层延迟解体、花药营养物质供给不足导致的花粉育性下降, 是春季低温导致小麦每穗粒数减少的主要原因。

关键词: 小麦; 低温; 粒数; 花粉育性

Effects of low temperature in spring on fertility of pollen and formation of grain number in wheat

GAO Yun^{1,**}, ZHANG Yu-Xue^{1,2,**}, MA Quan¹, SU Sheng-Nan^{1,3}, LI Chun-Yan^{1,*}, DING Jin-Feng¹, ZHU Min¹, ZHU Xin-Kai¹, and GUO Wen-Shan¹

¹ Jiangsu National Key Laboratory Nurturing Center of Crop Genetics and Physiology / Co-Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China; ² Taicang Agricultural Machinery Technology Promotion Station, Taicang 215499, Jiangsu, China; ³ Taicang Chengxiang Agricultural Technology Service Station, Taicang 215499, Jiangsu, China

Abstract: Grain yield and the number of grains per ear of wheat decreased under the low temperature after jointing stage. In order to explore the physiological reasons of the decrease of grains number per ear by low temperature in spring, the spring wheat variety Yangmai 16 and the semi-winter wheat variety Xumai 30 were used as tested varieties to analyze the effects of low temperature in spring on the fertility of pollen and the formation of grain numbers at the appearance of the penultimate leaf stage (5℃/–3℃, day/night), booting stage (8℃/–1℃, day/night), and anthesis stage (12℃/4℃, day/night). The results showed that low temperature at the appearance of the penultimate leaf stage and booting stage resulted in abnormal metabolism of starch and protein in the anther both at the binuclear and tri-nuclear pollen stages and delayed degradation of the tapetum. The low temperature at the booting stage caused abnormal meiosis of pollen mother cells, abnormalities in chromosome pairing, which affected the

本研究由国家重点研发计划项目(2018YFD0300802, 2016YFD0300107), 国家自然科学基金项目(31771711), 扬州市优秀青年基金项目(YZ2017098), 江苏省自主创新专项(CX(18)1002)和江苏高校优势学科建设工程项目资助。

The study was supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0300802, 2016YFD0300107), the National Natural Science Foundation of China (31771711), the Yangzhou Science Foundation for Excellent Youths (YZ2017098), the Funds for Creative Research of Jiangsu Province (CX(18)1002), and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions.

* 通信作者(Corresponding author): 李春燕, E-mail: licy@yzu.edu.cn

** 同等贡献(Contributed equally to this work)

第一作者联系方式: 高芸, E-mail: 307057893@qq.com

Received (收稿日期): 2020-04-05; Accepted (接受日期): 2020-08-19; Published online (网络出版日期): 2020-09-10.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20200909.1432.008.html>

formation of male gametophyte. The abortion rate of pollen was more significantly increased under low temperature at the appearance of the penultimate leaf stage than that at the booting stage, and it was the minimum at anthesis stage. The abortion rate of pollen in Xumai 30 was higher than that in Yangmai 16. The low temperature at three stages had significant effects on the number of spikelets, the number of fertile spikelets and the number of grains per spikelet. The effect of low temperature at the appearance of the penultimate leaf stage on grains number per spikelet was the most significant. There was a significant positive correlation between the number of grains per spike and pollen fertility, which was affected by abnormal meiosis, delayed degradation of the tapetum, and undersupply of nutriment for anther development. Therefore, the decline of pollen fertility caused by low temperature in spring is the main reason for the decrease of grains number per spike.

Keywords: wheat; cold stress; grain number; pollen fertility

温度是影响小麦生长发育的重要环境因素之一,特别是春季3、4月低温,小麦正处于拔节、孕穗和开花的关键生育时期,低温严重影响了小麦等农作物的生长^[1-3]。我国黄淮平原冬麦区河南省和山东省霜冻害一般发生频率达30%以上,最高年份可达70%^[4]。2016年越冬冻害造成河南省柘城县小麦减产5%~20%,早春冻害造成减产5%~30%,晚霜冻害造成减产15%~60%^[5]。近55年来,江苏省倒春寒平均每年发生3.8次,每次平均持续时间为3.2 d,中级以上倒春寒一般发生率达22%以上^[6]。2013年3月江苏省出现4次寒潮和温度急剧下降的恶劣天气,24 h降温幅度高达21.2℃,最低温度-0.7℃,受灾严重地区兴化市小麦平均减产25%左右^[7],可见春季低温是制约小麦生产的重要气候因素。

小麦生育中后期逆境胁迫会造成小麦每穗粒数和千粒重显著下降,制约小麦产量的形成^[8-9],小麦在药隔形成期和孕穗期遇到低温影响更加显著,每穗粒数的减少与温度的降幅和低温持续时间成正比^[10-11],尤其是减数分裂期是小麦低温最敏感的时期,该时段低温胁迫致每穗粒数减少是产量下降的主要原因^[12]。

小麦幼穗发育的好坏决定了穗型的大小,其发育过程受到外界温度的影响^[13-14],而粒数的多少往往与花粉育性和花后灌浆物质多少有关。导致小麦花粉育性降低的原因很多:低温条件下小麦花粉母细胞减数分裂过程中出现非同源染色体配对的异常现象,导致花粉败育^[12];低温胁迫下植物体内活性氧过度积累,花药抗氧化酶活性降低是导致小麦花药败育的又一原因^[15-17];在不育系小麦方面的研究表明,绒毡层程序化死亡过程的异常、花粉壁无法正常合成、以及花药中小孢子母细胞淀粉和脂类物质代谢异常等是温敏核不育小麦受温度影响致花粉败育的主要原因^[18-20]。

一定强度的春季低温显著降低了小麦产量,除

穗数减少外,每穗粒数下降也是减产的重要原因之一。但导致小麦粒数下降的原因是小孢子母细胞减数分裂的异常,还是因为花药中营养物质代谢、绒毡层死亡过程的异常引起的花粉败育,尚没有明确的结论。本试验以春性小麦品种扬麦16和半冬性小麦品种徐麦30为材料,在小麦倒二叶出生期、孕穗期和开花期分别进行低温处理,研究春季低温对小麦花粉育性和粒数形成的影响及其生理机制,为提高小麦抗低温能力、确保小麦稳产提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

供试品种为春性品种扬麦16和半冬性品种徐麦30,试验于2015—2017年在扬州大学江苏省作物遗传生理实验室盆钵试验场进行。试验用土为轻壤土,两年度有机质含量平均为14.61 g kg⁻¹,碱解氮含量为52.35 g kg⁻¹,速效磷含量为37.35 g kg⁻¹,速效钾含量为96.51 g kg⁻¹。采用盆栽种植,盆钵高26 cm,上口直径26 cm,底面直径18 cm,底部一共8个排水孔。每盆装土12 kg,基施尿素0.85 g及复合肥(15% N、15% P₂O₅和15% K₂O)3.5 g,浇等量水自然沉实后播种,覆土1 kg。四叶期追施壮蘖肥,每盆施尿素0.35 g;叶龄余数2.5时追施拔节肥,每盆施尿素0.4 g和复合肥3.33 g。2015年于10月31日播种,2016年于11月18日播种,每盆播种12粒,四叶期定苗,每盆留生长一致植株8株。在人工智能控温室中进行低温处理(温度误差±0.5℃,大气相对湿度70%,光量子通量密度800 μmol m⁻² s⁻¹)。

1.1 试验设计

于倒二叶出生期(倒二叶露尖1~2 cm)、孕穗期(剑叶全展,剑叶与倒二叶叶枕距2~4 cm)和开花期(小麦中部小穗开出1~2朵小花)选取生长一致的盆钵分别进行低温处理。倒二叶出生期、孕穗期、开花期昼夜低温分别为5℃/-3℃、8℃/-1℃和

12℃/4℃。每个处理时间均设 24 h 和 48 h 两个水平, 盆钵土壤水分分为田间持水量的 60%~70%, 处理结束后移至自然条件下生长至成熟, 以室外自然生长的植株为对照。

1.2 测定内容与方法

1.2.1 花粉母细胞减数分裂观察 取处于减数分裂期的麦穗(剑叶与倒二叶叶枕距为 3~4 cm)中下部花药, 用卡诺固定液固定, 置-20℃冰箱保存。试验时将花药取出, 置于载玻片上, 加少许醋酸洋红, 用解剖针迅速将花药捣碎, 盖上盖玻片, 在酒精灯上烤一下, 在显微镜下观察, 挑选适期的花粉母细胞。在盖玻片一侧加入适量的 45%醋酸, 在另一侧放入吸水纸置换出染液, 使细胞质背景颜色变浅。在液氮中放置数秒(直到声音变弱), 用刀片迅速揭去盖玻片, 晾干。滴加 4%多聚甲醛 500 μL 静置 5 min, 分别用 70%、90%和 100%酒精脱水。滴加 DAPI10 μL , 盖上盖玻片, 压片, 荧光显微镜(Olympus BX60)放大倍数为 100 倍进行观察, 使用 Olympus cellSens Dimension 软件照相。

1.2.2 花药细胞化学观察 花药细胞化学观察方法参照李东霄^[20-21]。小麦抽穗后, 取小麦中下部花药, 一半花药通过醋酸洋红压片确定二核期和三核期, 另一半用 0.1 mol L⁻¹ (pH 7.4)磷酸盐缓冲液配置的含 3%戊二醛固定液 4℃固定 8 h, 再用磷酸缓冲液漂洗 3 次, 乙醇逐级脱水。用 LR White 树脂渗透、包埋、聚合。选用 Leica EM UC7 型(德国)超薄切片机切 1.2 μm 的半薄切片, 高碘酸-希夫反应鉴别红色多糖物质, 考马斯亮蓝 R-250 鉴别蓝色蛋白质类物质, 利用 Leica DM 2500 型(德国)正置生物显微镜进行观察。

1.2.3 花粉活性观察 于开花期取麦穗中下部花药, 采用 I₂-KI 染色制片, 采用蔡司显微镜(Axio Imager D2 型)观察花粉发育情况, 统计花粉败育率。

1.2.4 穗部性状调查 于成熟期每个处理取 5 盆, 调查每个处理每穗结实小穗数、退化小穗数、每小穗结实粒数和每穗粒数。

1.3 数据分析

本文数据采用 Microsoft Excel 2010、DPS 6.55 等软件进行数据的计算、绘图、统计分析。因 2015—2017 两年度小麦生长季各项指标变化趋势基本一致, 本文重点以 2016—2017 年数据进行详细分析。

2 结果与分析

2.1 春季不同时期低温对小麦花粉育性的影响

2.1.1 孕穗期低温对小麦花粉母细胞减数分裂的影响 与自然生长对照小麦花粉母细胞减数分裂后期 I、末期 I 和末期 II 相比较(图 1-1~3), 孕穗期 8℃/-1℃低温处理 48 h, 2 个品种小麦花粉母细胞减数分裂过程均观察到减数分裂异常情况。扬麦 16 花粉母细胞减数分裂后期 I 出现多条落后染色体, 组成染色体桥(图 1-4); 在末期 I 子细胞染色体排列散乱, 细胞周围出现微核(图 1-5); 在末期 II 细胞周围出现微核(图 1-6)。徐麦 30 花粉母细胞减数分裂后期 I 出现染色体桥和落后染色体(图 1-7, 8); 在末期 II 出现大小不一致的子细胞(图 1-9), 表明孕穗期低温影响小麦花粉母细胞的减数分裂过程。

2.1.2 春季不同时期低温对小麦花药发育的影响

自然生长的 2 个品种小麦花药中, 大液泡减小或者消失, 细胞质内含物积累正常, 在二胞花粉期, 多糖物质淀粉和蛋白质含量逐渐增加(图 2-A, D 和图 4-A, D); 在三胞花粉期, 绒毡层降解情况较好, 少有残留的痕迹(图 3-A, D 和图 5-A, D); 在小麦倒二叶出生期和孕穗期低温处理 48 h 后, 处在二胞花粉期的花药, 大液泡分解程度较低, 细胞质内含物未增加, 颗粒物较少, 淀粉和蛋白质积累量低, 形似空壳, 花粉细胞出现较多不规则的畸形状态(图 2-B, C, E, F 和图 4-B, C, E, F); 三胞花粉期绒毡层细胞明显延迟分解, 有较多残留(图 3-B, C, E, F 和图 5-B, C, E, F)。倒二叶出生期低温处理后小麦花药中淀粉和蛋白质的积累量均低于孕穗期低温处理, 淀粉和蛋白质代谢异常的现象更显著(图 3 和图 5)。这些结果说明倒二叶出生期和孕穗期低温胁迫均会导致花药中淀粉、蛋白质代谢异常和绒毡层降解延迟, 影响了小麦花粉的正常发育。2 个品种均表现为倒二叶出生期低温处理对花药淀粉和蛋白质代谢的影响程度大于孕穗期低温处理。

2.1.3 春季不同时期低温对小麦花粉粒活性的影响

开花期通过碘染色观察花粉粒活性, 扬麦 16 和徐麦 30 在倒二叶出生期低温处理后败育率最高, 变化范围在 23.6%~29.6%, 其次是孕穗期, 变化范围在 13.6%~19.8%, 开花期败育率仅为 7.0%~16.6% (表 1)。3 个时期低温处理后花粉粒败育率均表现为徐麦 30 高于扬麦 16, 并且随低温处理时间的延长败育率增加。

图 1 孕穗期低温处理 48 h 对小麦花粉母细胞减数分裂的影响(100×)

Fig. 1 Effects of low temperature treatment lasting for 48 hours at booting stage on the meiosis of wheat pollen mother cells (100×)

1: 扬麦 16 对照后期 I; 2: 扬麦 16 对照末期 I; 3: 扬麦 16 对照末期 II; 4: 扬麦 16 后期 I (箭头示落后染色体); 5: 扬麦 16 末期 I (箭头示微核); 6: 扬麦 16 末期 II (箭头示微核); 7: 徐麦 30 后期 I (箭头示染色体桥); 8: 徐麦 30 后期 I (箭头示落后染色体); 9: 徐麦 30 末期 II (箭头示子细胞大小不一致)。自然生长条件下, 两小麦品种花粉母细胞减数分裂过程基本一致, 本文用扬麦 16 自然生长的减数分裂图片为对照。

1: anaphase I of Yangmai 16 as the control; 2: telophase I of Yangmai 16 as the control; 3: telophase II of Yangmai 16 as the control; 4: anaphase I of Yangmai 16 (the arrow shows lagged chromosomes); 5: telophase I of Yangmai 16 (the arrow shows micronuclei); 6: telophase II of Yangmai 16 (the arrows show micronuclei); 7: anaphase I of Xumai 30 (the arrow shows chromosome bridge); 8: anaphase I of Xumai 30 (the arrow shows lagged chromosomes); 9: telophase II of Xumai 30 (the arrow shows different size cells). The meiosis of two wheat pollen mother cells was accordant, the pictures of meiosis of Yangmai 16 growing in the nature acted as the control.

图 2 不同时期低温处理的小麦花药细胞化学观察(二胞花粉期淀粉染色)

Fig. 2 Cytochemical observations of wheat anthers treated with low temperature at different stages (starch staining at the binuclear pollen stage)

A: 扬麦 16 自然生长对照; B: 扬麦 16 倒二叶出生期低温处理 48 h; C: 扬麦 16 孕穗期低温处理 48 h; D: 徐麦 30 自然生长对照; E: 徐麦 30 倒二叶出生期低温处理 48 h; F: 徐麦 30 孕穗期低温处理 48 h; Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层; M: 小孢子母细胞; P: 花粉; T: 绒毡层。

A: Yangmai 16 in the natural environment; B: Yangmai 16 under low temperature treatment at the appearance of the penultimate leaf stage for 48 hours; C: Yangmai 16 under low temperature treatment at booting stage for 48 hours; D: Xumai 30 in the natural environment; E: Xumai 30 under low temperature treatment at the appearance of the penultimate leaf stage for 48 hours; F: Xumai 30 under low temperature treatment at booting stage for 48 hours; Ep: epidermis; En: endothecium; ML: middle layer; M: microspore mother cell; P: pollen; T: tapetum.

图 3 不同时期低温处理的小麦花药细胞化学观察(三胞花粉期淀粉染色)

Fig. 3 Cytochemical observations of wheat anthers treated with low temperature at different stages (starch staining at the tri-nuclear pollen stage)

A: 扬麦 16 自然生长对照; B: 扬麦 16 倒二叶出生期低温处理 48 h; C: 扬麦 16 孕穗期低温处理 48 h; D: 徐麦 30 自然生长对照; E: 徐麦 30 倒二叶出生期低温处理 48 h; F: 徐麦 30 孕穗期低温处理 48 h; Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层; M: 小孢子母细胞; P: 花粉; T: 绒毡层。

A: Yangmai 16 in the natural environment; B: Yangmai 16 under low temperature treatment at the appearance of the penultimate leaf stage for 48 hours; C: Yangmai 16 under low temperature treatment at booting stage for 48 hours; D: Xumai 30 in the natural environment; E: Xumai 30 under low temperature treatment at the appearance of the penultimate leaf stage for 48 hours; F: Xumai 30 under low temperature treatment at booting stage for 48 hours; Ep: epidermis; En: endothecium; ML: middle layer; M: microspore mother cell; P: pollen; T: tapetum.

图 4 不同时期低温处理的小麦花药细胞化学观察(二胞花粉期蛋白染色)

Fig. 4 Cytochemical observations of wheat anthers treated with low temperature at different periods (protein staining at the binuclear pollen stage)

A: 扬麦 16 自然生长对照; B: 扬麦 16 倒二叶出生期低温处理 48 h; C: 扬麦 16 孕穗期低温处理 48 h; D: 徐麦 30 自然生长对照; E: 徐麦 30 倒二叶出生期低温处理 48 h; F: 徐麦 30 孕穗期低温处理 48 h; Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层; M: 小孢子母细胞; P: 花粉; T: 绒毡层。

A: Yangmai 16 in the natural environment; B: Yangmai 16 under low temperature treatment at the appearance of the penultimate leaf stage for 48 hours; C: Yangmai 16 under low temperature treatment at booting stage for 48 hours; D: Xumai 30 in the natural environment; E: Xumai 30 under low temperature treatment at the appearance of the penultimate leaf stage for 48 hours; F: Xumai 30 under low temperature treatment at booting stage for 48 hours; Ep: epidermis; En: endothecium; ML: middle layer; M: microspore mother cell; P: pollen; T: tapetum.

图 5 不同时期低温处理的小麦花药细胞化学观察(三胞花粉期蛋白染色)

Fig. 5 Cytochemical observations of wheat anthers treated with low temperature at different stages (protein staining at the tri-nuclear pollen stage)

A: 扬麦 16 自然生长对照; B: 扬麦 16 倒二叶出生期低温处理 48 h; C: 扬麦 16 孕穗期低温处理 48 h; D: 徐麦 30 自然生长对照; E: 徐麦 30 倒二叶出生期低温处理 48 h; F: 徐麦 30 孕穗期低温处理 48 h; Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层; M: 小孢子母细胞; P: 花粉; T: 绒毡层。

A: Yangmai 16 in the natural environment; B: Yangmai 16 under low temperature treatment at the appearance of the penultimate leaf stage for 48 hours; C: Yangmai 16 under low temperature treatment at booting stage for 48 hours; D: Xumai 30 in the natural environment; E: Xumai 30 under low temperature treatment at the appearance of the penultimate leaf stage for 48 hours; F: Xumai 30 under low temperature treatment at booting stage for 48 hours; Ep: epidermis; En: endothecium; ML: middle layer; M: microspore mother cell; P: pollen; T: tapetum.

表 1 春季不同时期低温对小麦花粉粒活性的影响

年度 Year		低温处理 Low-temperature treatment	处理时长 Time (h)	扬麦 16 Yangmai 16		徐麦 30 Xumai 30	
				败育率	升幅	败育率	升幅
				Abortion rate (%)	Increase (%)	Abortion rate (%)	Increase (%)
2015–2016	倒二叶出生期		24	25.5 b	18.6	26.2 b	18.8
	The appearance of the penultimate leaf stage (5℃/–3℃)		48	28.4 a	21.5	29.6 a	22.2
	孕穗期		24	15.3 d	8.5	17.5 d	10.1
	Booting stage (8℃/–1℃)		48	19.2 c	12.3	19.8 c	12.4
	开花期		24	8.0 e	1.2	8.7 e	1.3
	Anthesis stage (12℃/4℃)		48	13.7 d	6.9	16.6 d	9.2
	自然生长对照 Control			6.8 e	—	7.4 e	—
	F 值 F-value			121.24**		154.35**	
2016–2017	倒二叶出生期		24	23.6 b	18.2	24.2 b	18.3
	The appearance of the penultimate leaf stage (5℃/–3℃)		48	25.2 a	19.8	26.6 a	20.6
	孕穗期		24	13.6 d	8.2	14.6 d	8.7
	Booting stage (8℃/–1℃)		48	15.4 c	10.0	16.8 c	10.9
	开花期		24	7.0 f	1.6	8.0 f	2.0
	Anthesis stage (12℃/4℃)		48	9.8 e	4.4	10.2 e	4.3
	自然生长对照 Control			5.4 g	—	6.0 g	—
	F 值 F-value			245.51**		215.02**	

** 表示极显著差异。方差分析在同一年度内进行，同列不同字母表示 0.05 水平显著性。

** indicates significant differences at $P < 0.01$. Different small letters in the same column mean significant differences among treatments for the same year at the 0.05 level.

2.2 春季不同时期低温对穗部性状的影响

倒二叶出生期和孕穗期低温胁迫后,小麦结实小穗数和每小穗结实粒数均显著低于自然生长对照,且小穗退化百分率随着低温胁迫时间的延长呈上升趋势(表 2)。在两年间,扬麦 16 倒二叶出生期低温处理 24 h 和 48 h 后平均小穗退化百分率分别为 17.9%和 18.7%,孕穗期低温处理 24 h 和 48 h 后平均小穗退化百分率分别为 14.0%和 16.4%,开花期低温处理扬麦 16 退化小穗数略高于自然对照处理,但无显著差异;徐麦 30 在两年间倒二叶出生期低温处理 24 h 和 48 h 之后平均小穗退化百分率分别为 22.0%和 24.0%,孕穗期低温处理 24 h 和 48 h 后平均小穗退化百分率分别为 19.9%和 21.2%,徐麦 30 开花期低温处理导致退化小穗数显著高于对照处理,说明徐麦 30 在开花期对低温反应更敏感。2 个品种 3 个时期低温处理后,每小穗结实粒数均低于自然生长对照处理,且随低温处理时间的延长而减少。相关性分析表明,2 个品种两年间花粉败育率与小穗退化数均成显著正相关,2015—2016 年,扬麦 16 相关系数 0.935^{**},徐麦 30 相关系数 0.780^{*},2016—2017 年,扬麦 16 相关系数 0.848^{*},徐麦 30 相关系数 0.980^{**},退化小穗数随着花粉败育率的增加呈上升趋势(图 6)。

3 讨论

3.1 春季低温对小麦花粉育性的影响

花药的发育情况直接影响小麦粒数的形成。有研究表明,不育小麦的花药异常情况大多出现在小孢子母细胞期、单核靠边期和二胞花粉期^[22-23],小麦剑叶与倒二叶叶耳距为 0~4 cm 时幼穗中小孢子母细胞处于减数分裂的盛期,对零度以上低温最为敏感,低温导致后期出现落后的染色体、后期或末期染色体仍停留在赤道板上等异常现象^[24]。本研究结果亦表明,孕穗期低温对 2 个品种小麦花粉母细胞减数分裂有显著影响,低温处理后的小麦花粉母细胞出现染色体配对紊乱、减数分裂染色体不同步、子细胞差异明显等异常现象。赵莎等^[25]研究表明,败育小麦农垦 58 花药的绒毡层细胞提前启动细胞程序性死亡,但解体过程缓慢,使单核花粉无法获得所需的营养物质而败育。温敏核不育小麦花药在二胞花粉后期,细胞质中内含物质不持续增加,淀粉粒积累终止与花粉败育有关^[20]。本试验研究结果

表明,倒二叶出生期和孕穗期低温处理后的花药中,绒毡层在三胞花粉时期仍有较多残留的痕迹,说明绒毡层没有适时解体,影响了花粉发育过程中营养物质的供给。同时亦观察到 2 个时期低温处理均降低了花粉细胞内淀粉粒数量和蛋白质的积累量,使得花粉在发育过程中没有充足的养分供应,不能进一步发育为成熟的花粉粒。与温敏核不育花粉相比,本研究中低温处理仅使花粉的内含物质积累量下降,并没有出现非常严重的空泡化现象,这也是低温处理后结实率并没有显著下降的原因。有研究表明,小麦拔节期、孕穗期低温显著降低叶片的光合能力^[26-27],减少植株干物质积累^[28]。本研究中倒二叶出生期低温处理对花药中淀粉和蛋白质积累的影响大于减数分裂期低温,这可能是由于倒二叶出生期低温处理对叶片伤害重,影响了叶片的光合作用,也间接影响了花粉的营养供给,导致花粉败育率显著增加;同一时期随着低温处理时间的延长,败育率增高。有研究指出,冬性小麦低温诱导的抗冻害基因在从营养生长期转向生殖生长期的过程中表达量是显著下降的,遇春季低温抗寒性下降^[29],本试验中 2 个品种间徐麦 30 败育率大于扬麦 16,这个结果与每穗结实粒数下降的结果一致,进一步说明半冬性品种徐麦 30 在小麦后期低温的敏感性高于春性品种扬麦 16。

从花药原基分化到成熟花粉粒形成的过程中,花粉母细胞减数分裂和花药绒毡层正常发育是形成可育花粉的关键^[30]。本试验研究结果表明,孕穗期低温处理后出现了花粉母细胞减数分裂异常,花药细胞畸形以及绒毡层分解迟缓等现象,花粉育性亦降低。在拟南芥中 RCK 基因发生突变后同源染色体联会和交叉紊乱,二价体数目减少,出现单价体,花粉母细胞减数分裂异常,导致花粉败育^[31]。在绒毡层发育的过程中,多个受体蛋白激酶^[32]、转录因子 MYB (v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)结构域蛋白^[33]、锌指蛋白中的 PHD-Finger 结构域蛋白^[34]等均参与调控,小麦雄性不育与育性相关基因表达也有关,早在减数分裂期育性基因的表达就出现差异,且外界温度对不育基因表达量有调控作用^[35],本试验中低温胁迫是否导致基因或者蛋白调控过程异常,从而影响花粉母细胞减数分裂和绒毡层的程序性死亡的启动致花粉败育,尚需从分子生物学角度开展深入研究。

表 2 春季不同时期低温对小麦穗退化的影响(2015–2017)
Table 2 Effects of low temperature in spring at different stages on the number of degenerate spikelet (2015–2017)

年份 Year	品种 Cultivar	处理 Treatment	结实小穗数 Number of fertile spikelet per ear	退化小穗数 Number of degenerate spikelet per ear	总小穗数 Number of total spikelet per ear	每小穗结实粒数 Fertile grains per spikelet	小穗退化百分率 Percentage of degenerate spikelet (%)	每穗粒数 Grains per ear
2015–2016	Yangmai 16	倒二叶出生期	15.83 b	3.33 a	19.16 a	2.83 b	17.4	44.50 bc
		The appearance of the penultimate leaf stage (5℃/–3℃)	15.67 b	3.50 a	19.17 a	2.50 d	18.3	41.83 e
		孕穗期	16.33 b	2.83 a	19.16 a	2.83 b	14.8	45.67 cd
		Booting stage (8℃/–1℃)	16.00 b	3.17 a	19.17 a	2.67 c	16.5	43.67 cd
		开花期	17.50 a	1.68 b	19.18 a	2.50 d	8.8	46.67 b
		Anthesis stage (12℃/4℃)	17.33 a	1.83 b	19.16 a	2.33 c	9.6	43.83 cd
	徐麦 30 Xumai 30	自然生长对照	17.83 a	1.33 b	19.16 a	3.00 a	7.0	53.83 a
		F 值 F-value	11.48**	25.39**	ns	41.65**	—	63.94**
		倒二叶出生期	14.50 c	4.83 a	19.33 a	2.17 c	25.2	32.33 b
		The appearance of the penultimate leaf stage (5℃/–3℃)	14.17 c	5.18 a	19.35 a	2.17 c	26.8	30.83 c
		孕穗期	14.67 c	4.50 a	19.17 a	2.33 b	23.5	33.33 b
		Booting stage (8℃/–1℃)	14.33 c	4.83 a	19.16 a	2.33 b	25.2	32.67 b
2016–2017	徐麦 30 Xumai 30	开花期	15.83 b	3.33 b	19.16 a	2.00 d	17.4	33.33 b
		Anthesis stage (12℃/4℃)	15.67 b	3.50 b	19.17 a	2.17 c	18.3	33.00 b
		自然生长对照	16.33 a	2.83 c	19.16 a	2.50 a	14.7	40.33 a
		F 值 F-value	14.71**	14.21**	ns	132.24**	—	40.23**

(续表 2)

年份 Year	品种 Cultivar	处理 Treatment	处理时间 Time (h)	结实小穗数 Number of fertile spikelet per ear	退化小穗数 Number of degenerate spikelet per ear	总小穗数 Number of total spikelet per ear	每小穗结实粒数 Fertile grains per spikelet	小穗退化百分率 Percentage of degenerate spikelet (%)	每穗粒数 Grains per ear
2016–2017	Yangmai 16	倒二叶出生期 (5℃/–3℃)	24	15.52 c	3.50 a	19.02 a	2.95 a	18.4	47.80 c
			48	15.34 c	3.62 a	18.96 a	2.91 ab	19.1	44.60 e
		孕穗期	24	16.94 b	2.56 c	19.50 a	2.83 bc	13.1	48.00 c
			48	16.72 b	3.24 b	19.96 a	2.77 c	16.2	46.20 d
		开花期	24	18.14 a	1.72 d	19.86 a	2.91 ab	8.7	52.80 b
			48	18.18 a	1.72 d	19.90 a	2.85 b	8.6	51.80 b
	Xumai 30	Anthesis stage (12℃/4℃)	0	18.18 a	1.70 d	19.88 a	2.96 a	8.6	56.60 a
				68.41**	161.29**	ns	5.98**	—	126.65**
		自然生长对照	24	16.22 c	3.80 b	20.10 a	2.15 c	18.9	34.80 d
			48	15.92 c	4.28 a	20.20 a	1.97 d	21.2	31.40 e
		孕穗期	24	17.04 b	3.32 c	20.36 a	2.24 b	16.3	38.20 b
			48	16.78 b	3.50 c	20.28 a	2.09 c	17.3	35.00 d
	Xumai 30	开花期	24	17.60 a	2.80 d	20.40 a	2.28 ab	13.7	40.20 a
			48	17.58 a	2.86 d	20.44 a	2.07 c	14.0	36.40 c
		自然生长对照	0	17.64 a	2.78 d	20.42 a	2.33 a	13.6	41.00 a
				28.47**	50.95**	ns	21.69**	—	83.99**
		孕穗期	24	17.04 b	3.32 c	20.36 a	2.24 b	16.3	38.20 b
			48	16.78 b	3.50 c	20.28 a	2.09 c	17.3	35.00 d

** 表示极显著差异。方差分析在同一年度内进行, 同列不同字母表示 0.05 水平显著性。

** indicates significant differences at $P < 0.01$. Different small letters in the same column mean significant differences among treatments for the same year at the 0.05 probability level.

图 6 小麦花粉败育率与退化小穗数的关系

Fig. 6 Relationships of pollen abortion rate and the number of degenerate spikelet

3.2 春季低温对小麦每穗粒数的影响

春季低温造成穗数和每穗粒数显著下降^[11,13,36]。拔节期和孕穗期低温对穗数和每穗粒数的影响超过对粒重的影响,特别是在孕穗期低温处理后每穗粒数下降达 55.1%,是产量降低的主要原因^[37]。Subedi 等^[38-39]研究结果表明,抽穗后低温显著降了小麦结实率,孕穗至开花期低温导致小麦每穗粒数显著下降,产量下降了 35%~78%。本试验研究结果亦表明,倒二叶出生期和孕穗期低温均显著降低了小麦结实小穗数和每穗粒数,增加了退化小穗数,且随着低温时间的延长,小穗退化百分率呈上升趋势,每穗粒数呈下降趋势。开花期低温略降低了结实小穗数和每穗粒数。相关分析表明花粉败育率与退化小穗数呈显著正相关,这也进一步说明倒二叶出生期和孕穗期低温引起花粉败育是此期低温致每穗粒数下降的主要原因。生产中这 2 个生育时期若发生低温天气值得关注,后续将开展春季低温的避灾减灾调控途径研究,以提高小麦抗春季低温逆境能力,实现稳产增产。

4 结论

小麦孕穗期低温导致花粉母细胞减数分裂出现染色体配对紊乱等异常现象,倒二叶出生期和孕穗期低温延迟了花药绒毡层的降解,花药中多糖物质淀粉和蛋白质的积累量下降,花粉发育因营养物质不足败育率增加,开花期低温处理花粉败育率略有下降。3 个时期低温处理均降低小麦每小穗结实粒数和每穗粒数,并随低温处理时间的延长呈上升趋势,以倒二叶出生期低温处理穗粒数降低的幅度最大,其次是孕穗期,开花期穗粒数降低幅度最小。相

关分析表明,春季低温导致小麦花粉育性下降是每穗粒数降低的主要生理原因。

References

- [1] Augspurger C K. Reconstructing patterns of temperature, phenology, and frost damage over 124 years: spring damage risk is increasing. *Ecology*, 2013, 94: 41-50.
- [2] Zheng B Y, Chapman S C, Christopher J T, Frederiks T M, Chenu K. Frost trends and their estimated impact on yield in the Australian wheat belt. *J Exp Bot*, 2015, 66: 3611-3623.
- [3] Barlow K M, Christy B P, O'Leary G J, Riffkin P A, Nuttall J G. Simulating the impact of extreme heat and frost events on wheat crop production: a review. *Field Crops Res*, 2015, 171: 109-119.
- [4] 罗新兰, 张彦, 孙忠富, 杜克明, 宋广树. 黄淮平原小麦霜冻害时空分布特点的研究. *中国农学通报*, 2011, 27(18): 45-50.
Luo X L, Zhang Y, Sun Z F, Du K M, Song G S. Spatial and temperature distribution of winter wheat frost injury in Huanghuai plain. *Chin Agric Sci Bull*, 2011, 27(18): 45-50 (in Chinese with English abstract).
- [5] 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. *Henan Agron*, 2016, (1): 45 (in Chinese).
- [6] 赵刚, 申双和, 褚荣浩. 江苏省倒春寒发生程度评估. *江苏农业科学*, 2018, 46(6): 243-247.
Zhao G, Shen S H, Chu R H. Assessment of the incidence of cold spring in Jiangsu. *Jiangsu Agric Sci*, 2018, 46 (6): 243-247 (in Chinese).
- [7] 王威威, 刘君圣, 徐迎菊. 2013 年春季霜冻对兴化市冬小麦生长的影响及应对补救措施. *现代农业科技*, 2014, (16): 225-226.
Wang W W, Liu J S, Xu Y J. Effect of spring frost on the growth of winter wheat and remedial techniques in Xinghua in 2013. *Morden Agric Sci Tech*, 2014, (16): 225-226 (in Chinese).
- [8] 蔡剑, 姜东. 气候变化对中国冬小麦生产的影响. *农业环境科学学报*, 2011, 30: 1726-1733.
Cai J, Jiang D. The effect of climate change on winter wheat production in China. *J Agro-Environ Sci*, 2011, 30: 1726-1733 (in Chinese with English abstract).
- [9] 冯伟森, 张学品, 吴少辉, 高海涛, 张灿军. 不同播期对洛旱 7 号小麦幼穗分化及产量的影响. *河南农业科学*, 2011, 40(10): 32-34.
Feng W S, Zhang X P, Wu S H, Gao H T, Zhang C J. Effects of different sowing dates on spike characteristics and yield of Luohan 7. *J Henan Agric Sci*, 2011, 40(10): 32-34 (in Chinese with English abstract).
- [10] 李春燕, 徐雯, 刘立伟, 雷晓伟, 杨景, 周冬冬, 朱新开, 郭文善. 药隔至开花期低温对小麦产量和生理特性的影响. *麦类作物学报*, 2016, 36(1): 77-85.
Li C Y, Xu W, Liu L W, Lei X W, Yang J, Zhou D D, Zhu X K, Guo W S. Effect of short-time low temperature from anther connective stage to anthesis on wheat yield and physiological characteristics. *J Triticeae Crops*, 2016, 36(1): 77-85 (in Chinese with English abstract).
- [11] 张自阳, 王智煜, 王斌, 王立志, 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 Agric Boreali Sin*, 2019, 34(4): 130–139 (in Chinese with English abstract).
- [12] Thakur P, Kumar S, Malik J A, Berger J D, Nayyar H. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: an overview. *Environ Exp Bot*, 2010, 67: 429–443.
- [13] 王亚梁, 张玉屏, 朱德峰, 向镜, 武辉, 陈惠哲, 张义凯. 水稻穗分化期高温胁迫对颖花退化及籽粒充实的影响. 作物学报, 2016, 42: 1402–1410.
- Wang Y L, Zhang Y P, Zhu D F, Xiang J, Wu H, Chen H Z, Zhang Y K. Effect of heat stress on spikelet degeneration and grain filling at panicle initiation period of rice. *Acta Agron Sin*, 2016, 42: 1402–1410 (in Chinese with English abstract).
- [14] 王俊生, 张改生, 原蕾, 张明珠, 牛娜, 马守才, 叶景秀. 化学杂交剂诱导的小麦生理型雄性不育花药的活性氧代谢. 西北植物学报, 2009, 29: 1351–1357.
- Wang J S, Zhang G S, Yuan L, Zhang M Z, Niu N, Ma S C, Ye J X. Metabolism of reactive oxygen species of physiological male-sterile anther induced by chemical hybrid agent in wheat. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2009, 29: 1351–1357 (in Chinese with English abstract).
- [15] 蒙立颖, 石晓艺, 胡甘, 齐智, 宋喜悦. K 型温敏雄性不育小麦 KTM3315A 的鉴定及花粉败育特点的初步分析. 中国农业大学学报, 2015, 20(5): 1–8.
- Meng L Y, Shi X Y, Hu G, Qi Z, Song X Y. Identification and characteristics of KTM3315A, a thermos-sensitive male sterile line with *Aegilops kotschy* cytoplasm. *J China Agric Univ*, 2015, 20(5): 1–8 (in Chinese with English abstract).
- [16] 马翎健, 司美茹, 宋喜悦, 胡银刚, 奚亚军, 何蓓如, 刘曙东. 牡山羊草细胞质小麦核代换系酶活性及其与花粉败育的关系. 麦类作物学报, 2001, 21(3): 35–37.
- Ma L J, Si M R, Song X Y, Hu Y G, Xi Y J, He P R, Liu S D. Relationship between microspore abortion and activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) of wheat nuclear substitutional lines in *Ae. juvenalis* cytoplasm. *J Triticeae Crops*, 2001, 21(3): 35–37 (in Chinese with English abstract).
- [17] 巨岚, 朱启迪, 张改生, 张皎, 于永昂, 刘红占, 牛娜, 王军卫. 小麦生理型雄性不育系中天冬氨酸蛋白酶与绒毡层代谢的相关性分析. 核农学报, 2018, 32: 430–437.
- Ju L, Zhu Q D, Zhang G S, Zhang J, Yu Y A, Liu H Z, Niu N, Wang J W. The research on the correlation between aspartic proteinase and anther tapetum in physiological male sterility wheat. *J Nucl Agric Sci*, 2018, 32: 430–437 (in Chinese with English abstract).
- [18] 张艳, 何勇, 李建雄, 田志宏. 绒毡层发育和激素对拟南芥育性的影响. 安徽农学通报, 2017, 23(6): 34–38.
- Zhang Y, He Y, Li J X, Tian Z H. Effects of tapetal development and hormones on fertility of arabidopsis thaliana. *Anhui Agric Sci Bull*, 2017, 23(6): 34–38 (in Chinese with English abstract).
- [19] 宋国琦, 胡银岗, 林凡云, 董普辉, 马翎健, 宋喜悦, 何蓓如. YS 型小麦温敏雄性不育系 A3017 控温条件下的花粉育性比较. 麦类作物学报, 2006, 26(1): 17–20.
- Song G Q, Hu Y G, Lin F Y, Dong P H, Ma L J, Song X Y, He B R. Comparison on the pollen fertility of YS type thermo-sensitive male-sterile wheat line A3017 under artificial temperature conditions. *J Triticeae Crops*, 2006, 26(1): 17–20 (in Chinese with English abstract).
- [20] 李东霄, 李淦, 冯素伟, 茹振钢. 温敏核不育小麦可育和不育花药的细胞化学观察. 作物学报, 2013, 39: 878–884.
- Li D X, Li G, Feng S W, Ru Z G. Cytochemical observation of fertile and sterile anthers of thermo-sensitive genic male-sterile wheat. *Acta Agron Sin*, 2013, 39: 878–884 (in Chinese with English abstract).
- [21] 李东霄, 邓小莉, 冯素伟, 徐龙龙, 茹振钢. 温敏核不育小麦可育和败育花粉的超微结构观察. 中国细胞生物学学报, 2013, 35: 1119–1125.
- Li D X, Deng X L, Feng S W, Xu L L, Ru Z G. Ultrastructural observation of fertile and sterile pollen grains of a thermo-sensitive genic male-sterile wheat. *Chin J Cell Biol*, 2013, 35: 1119–1125 (in Chinese with English abstract).
- [22] 刘海英, 甄俊琦, 胡铁柱, 茹振钢, 李珍, 胡雪寒, 邢晨涛, 高远. 小麦温敏雄性不育系 BNS366 小孢子发育和花粉育性检测方法研究. 麦类作物学报, 2018, 38: 379–385.
- Liu H Y, Zhen J Q, Hu T Z, Ru Z G, Li Z, Hu X H, Xing C T, Gao Y. Study on microspore development and pollen fertility detection of thermos-sensitive male-sterile wheat line BNS366. *J Triticeae Crops*, 2018, 38: 379–385 (in Chinese with English abstract).
- [23] 韩笑冰, 利容千, 徐乃瑜, 王建波, 徐祖元. 小麦不同胞质不育系花粉败育的细胞学比较研究. 作物学报, 1996, 22: 646–651.
- Han X B, Li R Q, Xu N Y, Wang J B, Xu Z Y. A comparative cytological study on the pollen abortion of different cytoplasmic male sterile lines of wheat. *Acta Agron Sin*, 1996, 22: 646–651 (in Chinese with English abstract).
- [24] Barton D A, Cantrill L C, Law A M K, Phillips C G, Sutton B G, Overall R L. Chilling to zero degrees disrupts pollen formation but not meiotic microtubule arrays in *Triticum aestivum* L. *Plant Cell Environ*, 2014, 37: 2781–2794.
- [25] 赵莎, 姚家玲. 光敏核不育水稻花粉发育的细胞学研究 with PCD 检测. 华中农业大学学报, 2007, 26: 283–288.
- Zhao S, Yao J L. Cytological study and PCD assay on pollen development of photoperiod sensitive genic male sterile rice. *J Huazhong Agric Univ*, 2007, 26: 283–288 (in Chinese with English abstract).
- [26] 王瑞霞, 闫长生, 张秀英, 孙果忠, 钱兆国, 亓晓蕾, 牟秋焕, 肖世和. 春季低温对小麦产量和光合特性的影响. 作物学报, 2018, 44: 288–296.
- Wang R X, Yan C S, Zhang X Y, Sun G Z, Qian Z G, Qi X L, Mou Q H, Xiao S H. Effect of low temperature in spring on yield and photosynthetic characteristics of wheat. *Acta Agron Sin*, 2018, 44: 288–296 (in Chinese with English abstract).
- [27] Li X N, Pu H C, Liu F L, Zhou Q, Cai J, Dai T B, Cao W X, Jiang D. Winter wheat photosynthesis and grain yield responses to spring freeze. *Agron J*, 2015, 107: 1002–1010.
- [28] Liu L L, Ji H T, An J P, Shi K J, Ma J F, Liu B, Tang L, Cao W X, Zhu Y. Response of biomass accumulation in wheat to low-temperature stress at jointing and booting stages. *Environ Exp Bot*, 2019, 157: 46–57.

- [29] Prášil I T, Prášilová P, Pánková K. The relationship between vernalization requirement and frost tolerance in substitution lines of wheat. *Biol Plant*, 2005, 49: 195–200.
- [30] 刘伟华, 邱博, 罗红兵. 花药绒毡层发育和花粉母细胞减数分裂相关基因研究进展. *作物研究*, 2015, 29: 311–316.
Liu W H, Qiu B, Luo H B. Advances in genes related to tapetum development and microsporocyte meiosis in anther. *Crop Res*, 2015, 29: 311–316 (in Chinese with English abstract).
- [31] Chen C B, Zhang W, Timofejeva L, Gerardin Y, Ma H. The arabidopsis *ROCK-N-ROLLERS* gene encodes a homolog of the yeast ATP-dependent DNA helicase MER3 and is required for normal meiotic crossover formation. *Plant J*, 2005, 43: 321–334.
- [32] Johnson K L, Ingram G C. Sending the right signals: regulating receptor kinase activity. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8: 648–656.
- [33] Stracke R, Werber M, Weisshaar B. The *R2R3-MyB* gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4: 447–456.
- [34] Ito T, Shinozaki K. The *MALE STERILITY1* gene of *Arabidopsis*, encoding a nuclear protein with a PHD-finger motif, is expressed in tapetal cells and is required for pollen maturation. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43: 1285–1292.
- [35] 刘菲, 马晓飞, 李艳飞, 王爱芳, 靳凤, 马翎健. 两个育性相关基因在几类小麦雄性不育材料中的表达研究. *西北植物学报*, 2012, 32: 1731–1735.
Liu F, Ma X F, Li Y F, Wang A F, Jin F, Ma L J. Expression analysis of two genes related to male fertility in a few types of male sterile wheat. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2012, 32: 1731–1735 (in Chinese with English abstract).
- [36] Zhang W J, Wang J Q, Huang Z L, Mi L, Xu K F, Wu J J, Fan Y H, Ma S Y, Jiang D G. Effects of low temperature at booting stage on sucrose metabolism and endogenous hormone contents in winter wheat spikelet. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 498.
- [37] Ji H T, Xiao L J, Xia Y M, Song H, Liu B, Tang L, Cao W X, Zhu Y, Liu L L. Effects of jointing and booting low temperature stresses on grain yield and yield components in wheat. *Agric ForMeteorol*, 2017, 243: 33–42.
- [38] Subedi K D, Gregory P J, Summerfield R J, Gooding M J. Cold temperatures and boron deficiency caused grain set failure in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Res*, 1998, 57: 277–288.
- [39] Subedi K D, Gooding M J, Gregory P J. Cultivar variation in boron accumulation and grain set in wheat under the influence of cold temperature. *Ann Appl Biol*, 2001, 138: 97–101.