

# 苹果实生砧木种质资源耐缺铁和耐盐碱性评价

林冰冰 韩振海 王忆 吴婷 张新忠\*

(中国农业大学 农学与生物技术学院/园艺植物研究所,北京 100193)

**摘要** 为了解苹果实生砧木资源抗逆性的种间、居群间和株系间差异及株系内性状分离,用8个种20份苹果资源的二年生实生苗和16个种81份苹果资源当年实生苗分别进行低铁、高盐和高pH胁迫处理,并调查缺铁黄化指数、盐害指数和碱害指数。山定子和新疆野苹果不同居群间3个性状的变异均小于苹果属种间差异,株系间、株系内实生苗3个性状分离程度最严重,但新疆野苹果同居群内株系间各性状的变异与种间差异相当。苹果属种质资源耐缺铁黄化和耐碱2个性状之间相关性显著,而缺铁黄化和耐盐之间、耐盐和耐碱之间不相关。筛选出草原海棠、小金海棠和楸子为耐缺铁黄化、耐盐、耐碱优异实生砧木资源。苹果属种质资源耐缺铁黄化、耐盐、耐碱3个性状不仅存在显著的种间差异,也存在显著的居群间变异,株系间和株系内的变异更广泛。

**关键词** 苹果;实生砧木;种质资源;耐缺铁;耐盐碱

中图分类号 S 661.1

文章编号 1007-4333(2016)01-0048-11

文献标志码 A

## Evaluation on the tolerance of apple seedling rootstock resources to iron-deficiency, salinity and alkalinity

LIN Bing-bing, HAN Zhen-hai, WANG Yi, WU Ting, ZHANG Xing-zhong\*

(College of Agronomy and Biotechnology/Institute for Horticulture Plants, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract** This study focused on the genetic variation of the resistance of apple rootstock resources among different species, populations, lines and the segregation within the same lines. 2-year-old seedlings of 20 accessions in 8 *Malus* species and 1-year-old seedlings of 81 accessions in 16 *Malus* species were subjected to iron-deficient, high-salt and high-alkaline treatments. Chlorosis index, salt injury index and alkali injury index were also investigated. For *M. sieversii* and *M. baccata*, the genetic variation of the 3 traits among different species was larger than that among different eco-geographical populations, and it was about the same between lines and among lines, while the segregation of the 3 traits within the same lines was more remarkable than that among species. A significant correlation between iron-deficient tolerance and alkali tolerance was detected in *Malus* germplasm resources, which was not significant between iron-deficient tolerance and salt tolerance or between salt tolerance and alkali tolerance. Besides, *M. ioensis*, *M. xiaojinensis* and *M. prunifolia* were successfully identified, displaying strong tolerance to iron-deficiency, salinity and alkalinity. Tolerances of apple rootstock resources to iron-deficiency, salinity and alkalinity differed substantially among different species, and there was also an obvious difference among eco-geographical populations, lines and individuals within the same lines.

**Keywords** *Malus*; seedling rootstock; germplasm resources; iron-deficiency stress; abiotic stress

苹果属植物资源有35个种,而原产中国的至少有23种;其中野生近缘种17个,栽培或半栽培种6个<sup>[1]</sup>。在丰富的苹果资源中蕴藏着大量的抗逆性优异种质,具有潜在的砧木利用价值。所以,对苹果属

收稿日期:2015-01-30

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(201203075,201303093);国家科技支撑课题(2013BAD02B01);国家现代苹果产业技术体系(CARS-28);农业部园艺作物营养与生理重点实验室,北京市果树逆境生理与分子生物学重点实验室,北京市果树良种繁育工程技术研究中心资助

第一作者:林冰冰,硕士研究生,E-mail:bingerhappy1314@163.com

通讯作者:张新忠,教授,主要从事果树种质资源遗传育种与分子生物学研究,E-mail:zhangxinzhong999@126.com

种质资源进行抗逆性评价是苹果抗逆性砧木育种的重要基础。

苹果属植物的抗逆性存在丰富的种间多样性。对40个苹果种和生态型的研究发现,耐缺铁性表现出极显著的差异性,小金海棠(*Malus. xiaojinensis*)具有较强的稳定的耐缺铁能力;生产上常用的砧木八棱海棠(*M. robusta*)、平邑甜茶(*M. hupehensis*)等抗缺铁能力中等;而山定子(*M. baccata*)抗缺铁能力差,缺铁黄化严重<sup>[2-3]</sup>。对15种苹果砧木耐盐性的比较表明,不同种类间的受害差异显著,其中平邑甜茶的盐害指数仅仅为0.157,而樱叶海棠(*M. prunifolia*)、红三叶海棠(*M. sieboldii*)和卢氏红果(*M. sieboldii*)却高达0.60以上<sup>[4]</sup>。对苹果砧木耐盐碱能力大小的田间鉴定发现,珠眉海棠(*M. zumi*)、小金海棠的盐碱害指数较小,为0.106~0.158,而黄海棠(*M. prunifolia*)的盐碱害指数高达0.886~0.898。

苹果属植物大多数种间杂交亲和,种间基因互渗使苹果属植物拥有极为丰富的遗传多样性<sup>[5]</sup>。西府海棠 *M. × micromalus* Mak (海棠花×苹果)、大鲜果 *M. × soulardi* Britt (草原海棠×苹果)、小叶海棠 *M. × Sublobata* (楸子×三叶海棠)、八棱海棠 *M. × robusta* Rehd (山荆子×楸子) 珠眉海棠 *M. × zumi* (Matsum) Rehd (毛山荆子×三叶海棠) 都是种间杂交得到的。变叶海棠 (*M. toringoides*) 的遗传多样性是变叶海棠与陇东海棠 (*M. kansuensis*) 和花叶海棠 (*M. transitoria*) 产生渗入杂交形成的<sup>[6]</sup>, 所以变叶海棠各类型中有与花叶海棠相似的耐旱性、耐盐性极强的类型,也有与陇东海棠相似耐涝性较强的类型<sup>[7]</sup>。

苹果属植物种内居群间遗传分化明显。新疆野苹果 (*M. sieversii*) 自然分布区的7个居群180份样品表现出丰富的遗传多样性及明显遗传分化, 新源县的新疆野苹果遗传多样性最丰富, 居群内的变异甚至大于居群间的变异<sup>[8]</sup>。同样, 伊犁和塔城地区的新疆野苹果居群中83.1%的遗传多样性存在于群体内部, 16.9%的遗传多样性存在于群体之间<sup>[9]</sup>。来源于不同地区的山定子居群间的耐盐碱性也存在极显著差异<sup>[10]</sup>。

苹果属植物长期无性繁殖以及自交不亲和性, 使得很多苹果属植物不仅居群间变异程度大, 而且居群内以及株系间、甚至同一株系的不同植株间性状分离也很广泛<sup>[10]</sup>。对苹果属植物遗传多样性的

研究表明, 山定子居群内遗传多样性贡献率占到76.40%<sup>[11]</sup>; 在等位酶水平上检测到湖北海棠 (*M. hupehensis*) 9个野生居群内存在丰富的遗传变异<sup>[12]</sup>。八棱海棠实生群体内耐盐碱性存在广泛的株间分离, 可以分为耐盐碱性极强、强、中等、弱和极弱5种耐盐碱类型<sup>[13]</sup>。对小金海棠无融合生殖后代的耐缺铁试验证明, 尽管实生后代之间基本保持耐缺铁能力, 但仍表现出与倍性相关的多样性分离<sup>[14]</sup>。

本试验以苹果属砧木资源81份当年实生苗和20份二年生实生苗为试材, 通过抗逆性鉴定方法对其耐缺铁性、耐盐碱性等种间差异及种内遗传多样性进行评价, 以期对苹果砧木育种以及实生砧木区域化利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2014年3月将8个种20份种质资源的二年生实生苗定植于温室沙槽中, 另16个种81份种质资源的种子于温室中营养钵播种育苗, 6月上旬成苗(4~5片真叶)后定植于温室沙槽中(表1)。所有试材均采用沙培, 用智能控制滴灌霍格兰营养液<sup>[15]</sup>, 每天6:00—18:00每间隔3h滴灌1次, 每次滴液3min; 24:00滴灌一次, 每天共滴液3.6L。苗木采用常规水肥管理和病虫害防治。缓苗后分别实施低铁、高盐和高pH处理, 以滴灌全营养液为对照, 试验设置3次生物学重复, 单株小区。供试材料中, 38份新疆野苹果种子由新疆农业大学何天明教授提供, 其余材料来源于本实验室种质资源圃。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 耐缺铁性

全营养液铁浓度为40mol/L的EDTAFe, 缺铁处理采用4mol/L<sup>[16]</sup>。二年生实生苗缺铁处理75d后调查黄化, 一年生实生苗缺铁处理25d后调查黄化, 黄化情况分级采用李英慧等<sup>[17]</sup>的分级标准, 将黄化程度最低定为0级, 最高定为4级: 黄化0级, 不黄化, 完全没有黄化; 黄化1级, 轻微黄化, 叶尖黄化, 不超过1/2; 黄化2级, 中度黄化, 全叶片黄化, 但不呈典型的缺铁黄化; 黄化3级, 重度黄化, 全叶黄化, 典型的缺铁黄化, 即脉间失绿; 黄化4级全叶失绿, 呈黄化或白化症状。调查每株所有嫩叶, 按以下公式计算每个单株缺铁黄化指数: 缺铁黄化指数 =  $[\sum(\text{黄化级值} \times \text{相应黄化级值叶片数}) / (\text{总叶片数} \times 4)] \times 100\%$

表1 供试的苹果实生砧木资源材料

Table 1 Apple seedling rootstock resources used in this study

种 Species	一年生实生苗 1-year-old seedlings	二年生实生苗 2-year-old seedlings
<i>M. sieversii</i> (Led.) Roem.	新疆野苹果 3 号、新疆野苹果 8 号、新疆野苹果 16 号、新疆野苹果 19 号、新疆野苹果 30 号; GL1 #、GL2 #、GL3 #、GL4 #、GL5 #、GL6 #、GL7 #、GL8 #、GL9 #、GL10 #、XY01 #、XY03 #、XY05 #、XY06 #、XY07 #、XY10 #、M-01、M-02、M-03、M-06-1、M-06-2、M-10、M-11、M-13、M-14、M-16、M-18、M-17、M-22、M-23、M-27、M-28、M-31	新疆野苹果
<i>M. asiatica</i> , Nakai.	紫塞明珠、白沙果、红海棠 2 号、涿鹿滦庄沙果	
<i>M. robusta</i> (Carr.) Rehd.	三块石海棠 1 号、三块石海棠 2 号、三块石海棠 3 号、小矾山八棱海棠、八棱海棠	平顶海棠、八棱海棠
<i>M. prunifolia</i> (Willd.) Borkh.	围矮 1 号、围矮 2 号、围矮 3 号、海棠果、海棠(围场)、大个海棠、半壁山海棠、冷海棠、热碾子、碾子、热碾子海棠、碾子短枝型、圆叶海棠	楸子
<i>Malus</i> , Hybrid	五峰山海棠 2 号、五峰山海棠 3 号、五峰山海棠 4 号、五峰山海棠 5 号、五峰山海棠 6 号、P22	
<i>M. baccata</i> (L.) Borkh	巴头沟 1 号、巴头沟 2 号、克勤沟大果、宿萼山定子、高抗山定子	S-2-1、S-2-2、S-2-3、S-3-2、S-3-3、X-1-23、X-4-25、X-7-35、小兴腹地、大兴安岭
<i>M. hupehensis</i> (Pamp.) Rehd.	崂山 4 号	7 # E1N9、7 # E4N2、12 # N-1
<i>M. mandshurica</i> (Komarovii) Likh.	毛山定子	
<i>M. ioensis</i> (Wood.) Brit.	草原海棠	
<i>M. angustifolia</i> (Ait.) Michx.	窄叶海棠	
<i>M. sikkimensis</i> (Wenzig) Koehne.	锡金海棠	
<i>M. orbophila</i> Hand. -Mazz	沧江海棠	
<i>M. soulardi</i> (Bailey) Brit.	大鲜果	
<i>M. xiaojinensis</i> Cheng et Jiang.		小金海棠
<i>M. torigoides</i> (Rehd.) Hughe		变叶海棠 23
<i>M. domestica</i> Borkh.	M7、spy227、达尔文	国光实生苗

### 1.2.2 耐盐碱性

完成缺铁处理后恢复全营养液,二年生实生苗为 20 d 后,一年生实生苗为 10 d 后,二年生实生苗新梢长出新的完全没有黄化的嫩叶标志着恢复正常生长。实施高盐胁迫处理,营养液加 100 mmol/L 的 NaCl(质量分数为 0.58%),pH 调至 6.5<sup>[4]</sup>,二年生实生苗处理 45 d 后调查盐害情况,一年生实生苗

处理 30 d 后调查盐害状况。完成高盐胁迫处理后恢复全营养液,各正常供液 15 d 后,所有实生苗新梢重新长出无盐害症状嫩叶,沙槽中盐含量正常后,进行高 pH 胁迫处理加 100 mmol/L 的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, pH 调至 8.5<sup>[13]</sup>。处理 20 d 后,进行碱害调查。所有盐碱害调查均参考王业磷等<sup>[18]</sup>的分级标准,共采用 5 级标准:0 级,无受害症状;1 级,1/3 的叶片叶

缘失水萎蔫；2 级，1/2 的叶片叶缘失水萎蔫并有枯焦；3 级，2/3 叶片枯焦，面积达 1/3，整株约一半叶片脱落；4 级，所有叶片枯焦面积达 1/2 以上，多数叶片脱落。

### 1.3 数据处理

数据统计分析采用 Excel 2007 软件进行分析，用算术平均数来表征各数值性状的平均水平，用标准差、变异系数等作为考查各性状群体内离散度的指标。显著性用最小显著差数法(LSD)进行多重比较，用相关系数来说明变量间的相关性。

## 2 结果与分析

### 2.1 二年生实生苗

不同苹果属种质资源二年生实生苗材料之间在

耐缺铁性、耐盐性、耐碱性方面均存在显著差异。实施低铁胁迫 75 d 后，20 份种质资源缺铁黄化指数变异为 0.12~0.67，变异系数为 0~100%。经多重比较，楸子、12# N-1、小金、S-3-2、平顶海棠耐缺铁性较强。实施高盐胁迫 20 d 后，盐害指数变异明显，为 0.00~0.70，变异系数为 0%~173%。经多重比较，S-2-1、S-2-3、7# E4N2、7# E1N9、小金、楸子耐盐性较强。实施高 pH 胁迫 15 d 后，苹果种质资源碱害指数差异明显，为 0.00~0.67，变异系数为 0%~173%。经多重比较，S-3-3、小兴腹地山定子、7# E4N2、7# E1N9、小金、楸子耐碱性较强。综合分析小金海棠和楸子表现，在耐缺铁黄化性、耐盐性和耐碱性均优良，而山定子耐缺铁性和耐盐碱性均弱(表 2)。

表 2 苹果种质资源二年生实生苗耐盐性、耐碱性和耐缺铁黄化评价结果

Table 2 Evaluation on 2-year-old seedlings of apple germplasms under salt, alkali and iron deficiency conditions

二年生 实生群体 2-year-old seedlings	黄化指数 Chlorosis index		盐害指数 Salt injury index		碱害指数 Alkali injury index	
	平均值 Mean	变异系数/% CV	平均值 Mean	变异系数/% CV	平均值 Mean	变异系数/% CV
	S-2-1	0.22 efg	13	0.13 de	87	0.33 abcde
S-2-2	0.34 def	54	0.47 abcd	25	0.40 abcd	50
S-2-3	0.33 def	16	0.13 de	173	0.27 bcde	87
S-3-2	0.16 fg	87	0.47 abcd	66	0.27 bcde	43
S-3-3	0.42 bcde	9	0.53 abc	57	0.13 cde	173
X-1-23	0.59 ab	27	0.60 ab	0	0.53 ab	57
X-7-35	0.38 cde	18	0.40 abcd	50	0.33 abcde	92
X-4-5	0.65 a	31	0.73 a	16	0.67 a	17
小兴腹地	0.55 abc	16	0.47 abcd	49	0.13 cde	173
大兴安岭	0.28 efg	27	0.73 a	16	0.53 ab	43
12# N-1	0.13 g	100	0.33 bcde	92	0.33 abcde	69
7# E1N9	0.50 abcd	31	0.13 de	173	0.13 cde	173
7# E4N2	0.22 efg	13	0.00 e		0.00 e	
平顶	0.16 fg	33	0.53 abc	57	0.20 bcde	100
八棱	0.67 a	25	0.27 bcde	115	0.20 bcde	173
新野	0.41 bcde	20	0.53 abc	22	0.47 abc	65
小金	0.17 fg	71	0.00 e		0.07 de	173
国光	0.50 abcd	0	0.33 bcde	92	0.53 ab	43
楸子	0.12 g	45	0.20 cde	173	0.07 de	173
变叶 23	0.38 cde	72	0.27 bcde	43	0.60 ab	0

注：同一列不同字母表示差异显著(P=0.05)，同表 4。

Note: Different letters in the same column mean significant difference (P=0.05). The same below.

缺铁黄化指数、盐害指数、碱害指数均存在明显的种间差异和居群间、株系间及株系内变异。缺铁黄化指数、盐害指数、碱害指数种间变异系数均较大,分别为40%、60%和70%。山定子居群间缺铁黄化指数、盐害指数、碱害指数变异系数分别为30%、28%和32%,均小于种间变异系数。各居群

山定子株系间、株系内缺铁黄化指数、盐害指数、碱害指数变异系数均大于居群间变异。山西山定子株系内变异系数甚至均大于种间变异。平邑甜茶株系间和株系内,缺铁黄化指数、盐害指数以及碱害指数变异系数均较大,甚至大于种间变异系数(表3)。

表3 苹果属种质资源二年生实生苗耐盐性、耐碱性和耐缺铁黄化种内变异系数

Table 3 Coefficients of variation in 2-year-old seedlings of different apple germplasms under salt, alkali and iron deficiency conditions %

变异来源 Sources of variation		变异系数 CV		
		黄化指数 Chlorosis index	盐害指数 Salt injury index	碱害指数 Alkali injury index
种间		40	60	69
山定子居群间		30	28	32
山西山定子	株系间	35	57	35
	株系内	45	77	65
辽宁山定子	株系间	27	29	33
	株系内	34	32	52
黑龙江山定子	株系间	45	31	85
	株系内	39	37	90
平邑甜茶	株系间	67	108	108
	株系内	70	155	141

## 2.2 一年生实生苗

在一年生实生苗试验组,砧木资源之间耐缺铁性、耐盐性、耐碱性方面也均存在显著性差异。实施低铁胁迫25 d后,81份种质资源缺铁黄化指数变异为0.01~0.96,变异系数为2%~173%。经多重比较,缺铁黄化指数小于0.30(平均值-标准偏差)耐缺铁性强的种质资源共有15份;缺铁黄化指数为0.30~0.78耐缺铁性较强的共52份;缺铁黄化指数大于0.78(平均值+标准偏差)耐缺铁性弱的共12份(表4)。

实施高盐胁迫10 d后,盐害指数变异为0.00~0.90,变异系数为0~173%。经多重比较,盐害指数小于0.13(平均值-标准偏差)耐盐性强的种质资源有7份;盐害指数为0.12~0.58的耐盐性较强的57份;盐害指数大于0.58(平均值+标准偏差)耐盐性弱的共16份。

实施高pH胁迫15 d后,苹果种质资源碱害指

数变异为0.00~0.67,变异系数为0~173%。经多重比较,碱害指数小于0.02(平均值-标准偏差)耐碱性强的种质资源有18份;碱害指数0.02~0.40耐碱性较强的42份;碱害指数大于0.40(平均值+标准偏差)耐碱性弱的21份。

综合分析,草原海棠表现为耐缺铁黄化、耐盐性和耐碱性均强的优异实生砧木资源。M7实生、海棠(围场)、五峰山海棠4号、窄叶海棠、新疆野苹果16号、M-06-1耐缺铁性和耐碱性均强。五峰山海棠3号表现为耐缺铁性和耐盐性均强,耐碱性较强的优良实生砧木资源。半壁山海棠、克勒沟大果山定子、紫塞明珠和GL7#表现耐盐性和耐碱性均强。

缺铁黄化指数、盐害指数、碱害指数均存在明显的种间差异和居群间、株系间及株系内变异。如表5所示,缺铁黄化指数、盐害指数、碱害指数种间变异系数分别为48%、56%和90%。新疆野苹果缺

表 4 苹果种质资源一年生实生苗耐盐性、耐碱性和耐缺铁黄化评价结果

Table 4 Evaluation on 1-year-old seedlings of apple germplasms under salt, alkali and iron deficiency conditions

一年生实生群体 1-year-old seedlings	黄化指数 Chlorosis index		盐害指数 Salt injury index		碱害指数 Alkali injury index	
	平均值 Mean	变异系数/% CV	平均值 Mean	变异系数/% CV	平均值 Mean	变异系数/% CV
	三块石海棠 1 号	0.28 lmnopq	122	0.47 abcdefg	89	0.07 fg
三块石海棠 2 号	0.69 abcdefghi	8	0.27 defgh	115	0.47 abce	50
三块石海棠 3 号	0.23 mnopq	83	0.20 efgh	173	0.40 abcef	50
围矮 1 号	0.46 fghijklmnop	4	0.33 cdefgh	92	0.00 g	
围矮 2 号	0.70 abcdefgh	10	0.90 a	16	0.20 cefg	141
围矮 3 号	0.30 ijlmnopq	47	0.27 defgh	87	0.27 bcefg	87
五峰山海棠 2 号	0.61 abcdefghijkl	36	0.60 abcde	94	0.00 g	
五峰山海棠 3 号	0.28 klmnopq	87	0.00 h		0.07 fg	173%
五峰山海棠 4 号	0.04 q	141	0.27 defgh	115	0.00 g	
五峰山海棠 5 号	0.42 ghijklmnop	3	0.73 abc	16	0.07 fg	173
五峰山海棠 6 号	0.58 defghijklm	0	0.80 ab	43	0.47 abce	99
宿萼山定子	0.96 a	2	0.60 abcde	33	0.13 efg	87
高抗山定子	****	****	0.20 efgh	100	0.00 g	
毛山定子	0.56 defghijklmn	41	0.13 fgh	87	0.07 fg	173
巴头沟 1 号	0.68 abcdefghij	29	0.13 fgh	173	0.33 abcefg	35
巴头沟 2 号	0.71 abcdefgh	39	0.13 fgh	173	0.13 efg	173
礅子	0.86 abcde	7	0.00 h		0.07 fg	173
礅子短枝型	0.46 ghijklmnop	88	0.13 fgh	173	0.20 cefg	100
P22	0.59 abcdefghijklm	6	0.53 abcdef	57	0.20 cefg	100
spy227	0.86 abcde	10	0.60 abcde	33	0.67 a	35
M7	0.28 klmnopq	57	0.53 abcdef	43	0.00 g	
热礅子	0.35 hijklmnopq	141	0.00 h		0.13 efg	173
热礅子海棠	0.62 abcdefghijk	58	0.00 h		0.20 cefg	173
草原海棠	0.13 pq	141	0.13 fgh	173	0.00 g	
大个海棠	0.55 defghijklmn	71	0.40 bcdefgh	100	0.40 abcef	132
窄叶海棠	0.26 mnopq	126	0.60 abcde	33	0.00 g	
锡金海棠	0.42 ghijklmnop	9	0.40 bcdefgh	87	0.40 abcef	
圆叶海棠	0.58 bcdefghijklm	52	0.13 fgh	173	0.07 fg	173
半壁山海棠	0.61 abcdefghijkl	21	0.00 h		0.00 g	
沧江海棠	0.55 defghijklmn	51	0.47 abcdefg	89	0.40 abcef	87
红海棠 2 号	0.01 q	0	0.27 defgh	87	0.07 fg	173
冷海棠	0.13 pq	141	0.47 abcdefg	89	0.13 efg	173
小矾山八棱海棠	0.38 hijklmnopq	98	0.33 cdefgh	53	0.00 g	
八棱海棠	0.93 ab	12	0.20 efgh	173	0.40 abcef	50
海棠(围场)	0.13 pq	173	0.20 efgh	100	0.00 g	
白沙果	0.70 abcdefgh	29	0.00 h		0.07 fg	173
海棠果	0.63 abcdefghij	21	0.53 abcdef	22	0.07 fg	173
克勤沟大果	0.54 defghijklmn	22	0.13 fgh	173	0.00 g	
涿鹿滦庄沙果	0.60 abcdefghijklm	0	0.40 bcdefgh	0	0.13 efg	141
大鲜果	0.08 pq	47	****	****	0.20 cefg	100
紫塞明珠	0.61 abcdefghijkl	30	0.13 fgh	173	0.00 g	

表4(续)

一年生实生群体 1-year-old seedlings	黄化指数 Chlorosis index		盐害指数 Salt injury index		碱害指数 Alkali injury index	
	平均值 Mean	变异系数/% CV	平均值 Mean	变异系数/% CV	平均值 Mean	变异系数/% CV
	崂山4号	0.32 ijklmnopq	28	0.27 defgh	115	0.40 abcef
达尔文	0.64 abcdefghij	8	0.00 h	50	0.20 cefg	173
新疆野苹果3号	0.56 defghijklmn	91	0.13 fgh	173	0.40 abcef	50
新疆野苹果8号	0.48 fghijklmno	96	0.20 efgh	173	0.33 abcefg	92
新疆野苹果16号	0.23 mnopq	122	0.50 abcdefg	141	0.00 g	
新疆野苹果19号	0.91 abcd	14	0.13 fgh	173	0.07 fg	173
新疆野苹果30号	0.78 abcdefg	14	0.60 abcde	33	0.47 abce	108
GL1#	0.45 ghijklmnop	0	0.53 abcdef	22	0.40 abcef	0
GL2#	0.36 hijklmnopq	5	0.60 abcde	0	0.20 cefg	100
GL3#	0.70 abcdefgh	33	0.20 efgh	1	0.27 bcefg	115
GL4#	0.65 abcdefghij	11	0.47 abcdefg	25	0.53 abc	22
GL5#	0.83 abcdef	17	0.27 defgh	115	0.07 fg	173
GL6#	0.07 q	87	0.20 efgh	100	0.47 abce	89
GL7#	0.46 ghijklmnop	42	0.13 fgh	173	0.00 g	
GL8#	0.65 abcdefghij	44	0.20 efgh	0	0.07 fg	173
GL9#	0.48 fghijklmno	55	0.07 gh	173	0.20 cefg	0
GL10#	0.57 defghijklm	49	0.90 a	16	0.27 bcefg	87
XY01#	0.10 pq	0	0.47 abcdefg	89	0.07 fg	173
XY03#	0.77 abcdefg	26	0.07 gh	173	0.07 fg	173
XY05#	0.70 abcdefgh	40	0.47 abcdefg	89	0.40 abcef	100
XY06#	0.71 abcdefgh	7	0.27 defgh	87	0.07 fg	173
XY07#	0.60 abcdefghijkl	27	0.13 fgh	87	0.60 ab	0
XY10#	0.64 abcdefghij	55	0.40 bcdefgh	50	0.07 fg	173
M-01	0.68 abcdefghi	11	0.60 abcde	33	0.00 g	
M-02	0.81 abcdef	22	0.47 abcdefg	49	0.33 abcefg	69
M-03	0.93 abc	4	0.53 abcdef	57	0.00 g	
M-06-1	0.15 opq	94	0.80 ab	0	0.00 g	
M-06-2	0.79 abcdefg	25	0.27 defgh	173	0.60 ab	58
M-10	0.52 fghijklmno	15	0.27 defgh	87	0.27 bcefg	43
M-11	0.73 abcdefg	4	0.47 abcdefg	89	0.47 abce	49
M-13	0.77 abcdefg	13	0.33 cdefgh	92	0.33 abcefg	92
M-14	0.31 ijklmnopq	82	0.33 cdefgh	69	0.13 efg	173
M-16	0.84 abcdef	2	0.40 bcdefgh	87	0.20 cefg	100
M-18	0.81 abcdef	7	0.20 efgh	100	0.50 abce	28
M-17	0.48 fghijklmno	33	0.60 abcde	0	0.27 bcefg	43
M-22	****	****	0.67 abcd	17	0.27 bcefg	115
M-23	0.91 abcd	10	0.47 abcdefg	89	0.60 ab	33
M-27	0.53 efghijklmn	35	0.53 abcdef	22	0.00 g	
M-28	0.49 fghijklmno	46	0.40 bcdefgh	50	0.13 efg	173
M-31	0.72 abcdefgh	8	0.80 ab	0	0.53 abc	57

表 5 苹果属种质资源一年生实生苗耐盐性、耐碱性和耐缺铁黄化种内变异系数

Table 5 Coefficients of variation in 1-year-old seedlings of different apple germplasms under salt, alkali and iron deficiency conditions %

变异来源 Sources of variation	变异系数 CV			
	黄化指数 Chlorosis index	盐害指数 Salt injury index	碱害指数 Alkali injury index	
种间	48	56	90	
新疆野苹果各居群间	9	19	10	
新疆野苹果	株系间	44	70	82
	株系内	63	111	121
GL	株系间	41	73	72
	株系内	50	77	98
XY	株系间	42	58	110
	株系内	50	95	128
M	株系间	34	40	78
	株系内	36	61	99

铁黄化指数、盐害指数、碱害指数居群间变异系数分别为 9%、19% 和 10%，说明各居群间变异远小于种间差异。新疆野苹果缺铁黄化指数、盐害指数、碱害指数株系间变异系数分别为 44%、70% 和 82%，与种间变异相当。新疆野苹果缺铁黄化指数、盐害指数、碱害指数株系内变异系数分别为 63%、111% 和 121%，说明株系内性状分离不仅大于居群间差异，也大于种间差异。

### 2.3 缺铁黄化、耐盐耐碱的相关性

分别用 81 份种质资源一年生实生苗耐缺铁黄化指数、盐害指数和碱害指数计算两两性状之间的相关系数。结果缺铁黄化指数和碱害指数之间存在极显著正相关 ( $r_1 = 0.315, r_{0.01} = 0.302$ )。缺铁黄化指数和盐害指数之间以及盐害指数和碱害指数之间的相关系数均未达到显著水平 ( $r_2 = -0.031, r_3 = 0.100, r_{0.05} = 0.232$ ) (表 6)。

表 6 一年生实生苗各指数之间的相关系数

Table 6 Correlation coefficients of 1-year-old seedlings between two indexes

指标 Index	黄化指数与盐害指数 Chlorosis index and salt injury index	黄化指数与碱害指数 Chlorosis index and alkali injury index	盐害指数与碱害指数 Salt injury index and alkali injury index
相关系数 Correlation coefficient	-0.031	0.315	0.100

## 3 讨论

优良苹果砧木不仅能促进早果丰产，还能有效提高果树对各种病虫害的抵抗力以及对各种土壤环境的适应力，因此砧木对苹果生产具有重要作用。但新型砧木类型的选育难度大，周期长，一种新砧木从育种到商业化应用通常需要 30~35 年的时

间<sup>[19]</sup>。选育周期较长主要是由于砧木的后期评价繁琐，从而极大地延缓了砧木的育种进程。利用当年生苹果实生苗进行抗性评价试验，可以避免树体较大时给试验带来的不便，同时幼苗期植株对土壤环境条件较敏感，且易表现出明显症状，其结果在一定程度上可以反映砧木品种的特性<sup>[20-22]</sup>。本试验利用一年生实生苗和二年生苗进行种质资源抗性评



价,其结果在一定程度上可以反映砧木的耐缺铁及耐盐碱能力,具有可行性。

苹果属植物大多数自交不亲和而种间杂交亲和,种间产生基因互渗,同时不同种类杂交亲和性表现出同系不同种间>系间>组间<sup>[5]</sup>,这就使得苹果属植物在种间、居群间、株系间和株系内拥有不同的遗传变异幅度。前人通过分子标记技术研究认为:变叶海棠、新疆野苹果等居群内变异高于居群间<sup>[23-25]</sup>。小金海棠区域分布群体与其子代群体间及同代不同群体间存在遗传差异,本变异大部分来源于实生群体间<sup>[26]</sup>。本研究利用当年播种实生苗为试材进行抗逆性评价,发现新疆野苹果耐缺铁黄化、耐盐、耐碱性居群间变异幅度不仅小于种间变异,而且也小于居群内3个性状分离程度,且同一居群的株系间各个性状的变异与种间差异相当。说明苹果属资源抗性种间差异明显,且新疆野苹果种内抗逆多样性不仅居群间分布虽然很广泛,居群内抗逆性分离在株系间和株系内分离更严重。这与文献报道也是一致的<sup>[8-9,23]</sup>。

本研究前期分析了苹果属实生砧木形态指标和抗病性变异结果,表明了山定子、八棱海棠、平顶海棠等砧木资源株系内形态性状分离严重;实生砧木资源对苹果腐烂病和苹果轮纹病的抗病性不仅存在显著的种间差异,也均存在显著的居群间或株系间变异以及严重的株系内性状分离<sup>[10]</sup>。本研究再次利用二年生实生苗为试材进行抗逆性评价,发现山定子株系间、株系内耐缺铁黄化、耐盐、耐碱性分离严重,且大于居群间变异,山西山定子株系内变异幅度甚至均大于种间变异,说明山定子的遗传多样性主要分布在株系间和株系内,但居群间的遗传分化程度也较高,与前人报道一致<sup>[10-11]</sup>。所以,生产上选择苹果实生苗作为砧木时,应注意种子的产地。

盐、碱、缺铁3种逆境下植株会遭受不同的伤害,但都表现出一定的黄化现象,说明各逆境对植株的胁迫并不是单独起作用的,相互之间存在一定的联系。本研究数据显示,一年生苹果实生苗的耐缺铁黄化与耐碱性之间存在极显著正相关,而缺铁黄化和耐盐之间以及耐盐性与耐碱性之间未见显著相关性。前人研究表明:缺铁对八棱海棠叶片黄化的影响最大,其次才是pH,盐影响最小<sup>[27]</sup>。更有研究发现:低浓度NaCl处理可以促进叶绿素合成,而只有随胁迫时间延长,高浓度NaCl才使叶绿素含量明显下降<sup>[28-29]</sup>。同样,高浓度NaCl处理葡萄,叶片

叶绿素含量下降,但等摩尔浓度的NaHCO<sub>3</sub>胁迫下叶片极易黄化<sup>[30]</sup>。碱胁迫下,沙棘植株不仅出现碱害症状,还伴随出现严重的缺铁性黄化现象,Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaHCO<sub>3</sub>为主的碱性盐比NaCl为主的中性盐对植物造成的危害更大<sup>[31]</sup>。所以,生产上选用抗性强的实生苗做砧木时,应注意砧木的综合抗性。

本研究101份苹果实生砧木资源中,草原海棠、小金海棠和楸子表现为耐缺铁黄化、耐盐性和耐碱性均强的优异实生砧木资源。苹果实生砧木资源重要抗性具有显著的遗传多样性,不仅存在极显著的种间差异,同一苹果物种的不同居群间、株系间也存在显著差异,甚至大部分的同一种物同一株系内实生苗间抗性分离也很严重。因此,选育和应用优良的无性系砧木是我国苹果产业发展的重要方向。

## 参 考 文 献

- [1] 李育农. 苹果属植物种质资源研究[M]. 北京:中国农业出版社,2001  
Li Y N. *Researches of Germplasm Resources of Malus Mill* [M]. Beijing:China Agriculture Press,2001 (in Chinese)
- [2] 韩振海,许雪峰. 不同铁效率果树基因型研究的现状和前景[J]. 园艺学年评,1995(1):1-12  
Han Z H, Xu X F. Current situation and foreground of Fe-efficient Gene-type fruit tree [J]. *Annual Review of Horticulturae Science*, 1995;11-16 (in Chinese)
- [3] 韩振海,王永章,孙文彬. 铁高效及低效苹果基因型的铁离子吸收动力学研究[J]. 园艺学报,1995,22(4):313-317  
Han Z H, Wang Y Z, Sun W B. Iron absorption kinetics for Fe-efficient vs Fe-inefficient species in *Malus*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1995,22(4):313-317 (in Chinese)
- [4] Yin R, Bai T H, Ma F W, Wang X J, Li Y H, Yue Z Y. Physiological responses and relative tolerance by Chinese apple rootstocks to NaCl stress[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 126(2):247-252
- [5] 毛宝琴,李纯凡,罗世科,丁祖蓉,李晓伟. 苹果属植物杂交亲和性研究[J]. 西南农业大学学报, 1996, 18(4):311-315  
Mao B Q, Li C F, Luo S K, Ding Z R, Li X F. Research on cross-compatibility in the genus *malus*[J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 1996,18(4):311-315 (in China)
- [6] 石胜友,成明昊,梁国鲁,郭启高,李晓林,周志钦. 变叶海棠遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 园艺学报,2006,33(2):381-384  
Shi S Y, Cheng M H, Liang G L, Guo Q C, Li X L, Zhou Z Q. Genetic diversity of *Malus toringoides* (Rehd) Hughes based on AFLP[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006,33(2):381-384 (in China)
- [7] 石胜友,成明昊,梁国鲁. 苹果优良砧木资源:变叶海棠[J]. 西南农业大学学报:自然科学版,2004, 26(1):51-54

- Shi S Y, Cheng M H, Liang G L. *Malus toringoides* (Rehd) Hughes: A promising stock for apple trees[J]. *Journal of Southwest Agricultural University: Natural Science*, 2004, 26(1): 51-54 (in China)
- [8] 秦伟, 沙红, 刘立强, 廖康, 耿文娟, 王云. 新疆野苹果资源遗传多样性 SSR 分析[J]. *果树学报*, 2012, 29(2): 002
- Qin W, Sha H, Liu L Q, Liao K, Geng W J, Wang Y. SSR analysis for genetic diversity of *Malus sieversii* from Xinjiang, China[J]. *Journal of Fruit Science*, 2012, 29(2): 002 (in China)
- [9] Yan G R, Long H, Song W Q. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China[J]. *Genetic Resources And Crop Evolution*. 2008, 55: 171-181
- [10] 邢丽敏, 槐心体, 张新忠, 王忆, 韩振海. 苹果实生砧木资源重要性状的遗传多样性分析[J]. *果树学报*, 2013, 30(4): 003
- Xing L M, Huan X T, Zhang X Z, Wang Y, Han Z H. Genetic diversity in morphology, stress tolerance and graft-compatibility among species, ecotypes and their segregation within populations of apple rootstock resources[J]. *Journal of Fruit Science*, 2013, 30(4): 003 (in China)
- [11] 王雷宏, 郑玉红, 汤庚国. 8 个山荆子居群遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *西北植物学报*, 2010(7): 1337-1343
- Wang L H, Zheng Y H, Tang G G. ISSR analysis of genetic diversity of eight populations in *Malus baccata* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2010(7): 1337-1343 (in Chinese)
- [12] 康明, 黄宏文. 湖北海棠的等位酶变异和遗传多样性研究[J]. *生物多样性*, 2002, 10(4): 376-385
- Kang M, Huang H W. Allozymic variation and genetic diversity in *Malus hupehensis* (Rosaceae) [J]. *Biodiversity Science*, 2002, 10(4): 376-385 (in Chinese)
- [13] 宗鹏鹏, 曲艳华, 柴朋, 朱立新, 贾克功. 八棱海棠耐盐碱性评价[J]. *中国农业大学学报*, 2013, 18(3): 15
- Zong P P, Qu Y H, Chai P, Zhu L X, Jia K G. Evaluation on the resistance of *Malus robusta* Rehd to alkalinity and salinity[J]. *Journal of China Agricultural University*. 2013, 18(3): 15 (in Chinese)
- [14] 徐连生, 王磊, 王然, 王忆, 张新忠, 许雪峰, 韩振海. 小金海棠实生后代耐缺铁性状分离分析[J]. *果树学报*, 2012, 29(5): 770-775
- Xu L S, Wang L, Wang R, Wang Y, Zhang X Z, Xu X F, Han Z H. Segregation of tolerance to iron deficiency in apomictic and hybrid progeny of *Malus xiaojinensis* [J]. *Journal of Fruit Science*, 2012, 29(5): 770-775 (in China)
- [15] Hoagland D R, Arnon D I. *The Water-culture Method for Growing Plants without Soil, Circular* [M]. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950: 16-23
- [16] Han Z, Wang Q, Shen T. Comparison of some physiological and biochemical characteristics between Fe-efficient and Fe-inefficient species in the genus [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1994, 17(7): 1257-1264
- [17] 李英慧, 韩振海, 许雪峰. 苹果铁高效相关性状与黄化指数相关性的研究[J]. *园艺学报* 2004, 31(3): 350-352
- Li Y H, Han Z H, Xu X F. Fe-efficient traits and their relationships to chlorosis index in genus[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2004, 31(3): 350-352 (in China)
- [18] 王业遴, 马凯, 姜卫兵, 凌志奋. 五种果树耐盐力试验初报[J]. *中国果树*, 1990(3): 8-12
- Wang Y L, Ma K, Jiang W B, Ling Z F. Five kinds of fruit trees at the beginning of the salt endurance test report[J]. *Zhong Guo Guo Shu*, 1990(3): 8-12 (in Chinese)
- [19] Khan I A. *Citrus Gengtics, Breeding and Biotechnology* [M]. Kings Lynn: Agriculture and Biosciences International, 2007
- [20] 翟衡, 杜中军, 罗新书. 苹果砧木耐盐性鉴定[J]. *山东农业大学学报*, 1999, 30(3): 296
- Zhai H, Du Z J, Luo X S. Identification of apple rootstock salt tolerance[J]. *Journal of Shandong Agricultural University*, 1999, 30(3): 296 (in China)
- [21] 张凌云, 翟衡, 张宪法, 李佳. 苹果砧木铁高效基因型筛选[J]: *中国农业科学*, 2002, 35(1): 68-71
- Zhang L Y, Zhai H, Zhang X F, Li J. Screening of Fe-efficient apple rootstock genotypes [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(1): 68-71 (in China)
- [22] 白团辉, 马锋旺, 李翠英, 束怀瑞, 韩明玉, 王昆. 苹果砧木幼苗对根际低氧胁迫的生理响应及耐性分析[J]: *中国农业科学*, 2008, 41(12): 4140-4148
- Bai T H, Ma F W, Li C Y, Shu H R, Han M Y, Wang K. Physiological responses and analysis of tolerance of apple rootstocks to root-zone hypoxia stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(12): 4140-4148 (in China)
- [23] 秦伟, 沙红, 刘立强, 廖康, 耿文娟, 王云. 新疆野苹果资源遗传多样性 SSR 分析[J]. *果树学报*, 2012, 29(2): 002
- Qin W, Sha H, Liu L Q, Liao K, Geng W J, Wang Y. SSR analysis for genetic diversity of *Malus sieversii* from Xinjiang, China[J]. *Journal of Fruit Science*, 2012, 29(2): 002 (in China)
- [24] Cheng M H, Zhou Z Q, Deng H P, Li X L. Variation and differentiation among and within populations of *Malus toringoides* Hughes revealed by morphological evidence[J]. *Journal of Shandong Agricultural University*, 2002, 33: 19-24
- [25] 邓洪平, 成明昊, 周志钦, 李晓林. 变叶海棠居群多样性的形成与分化研究[J]. *园艺学报*, 2002, 29(2): 95-99
- Deng H P, Cheng M H, Li X L. The formation and differentiation of the diversity of *Malus toringoides* Hughes [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2002, 29(2): 95-99 (in China)
- [26] 周志钦, 成明昊, 宋洪元, 李晓林, 杨天秀. 苹果属小金海棠的遗传多样性初步研究[J]. *生物多样性*, 2001, 9(2): 145-150
- Zhou Z Q, Cheng M H, Song H Y, Li X L, Yang T X. A preliminary study on the genetic diversity of *Malus xiaojinensis* [J]. *Biodiversity Science*, 2001, 9(2): 145-150 (in China)
- [27] 杨静慧, 张志霞, 李秀娟. 苹果植株绿叶面积与铁盐碱关系的研究[J]. *落叶果树*, 1997 (S1): 1-4

- Yang J H, Zhang Z X, Li X J. Area of leaves of apple as influenced by iron salinity pH and B: Carbonate in solution culture[J]. *Deciduous Fruits*, 1997 (S1): 1-4 (in China)
- [28] 郑春芳, 冀德伟, 刘伟成, 仇建标, 伍锦姑, 陈少波, 黄丽, 黄晓琳. NaCl胁迫下高纬度移植桐花树幼苗的生理生态效应[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(9): 2279-2284
- Zheng C F, Ji D W, Liu W C, Qiu J B, Wu J G, Chen S B, Huang L, Jia X L. Eco-physiological responses of high-latitude transplanted *Aegiceras corniculatum* seedlings to NaCl stress [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(9): 2279-2284 (in China)
- [29] 张晓磊, 马风云, 马玉辉, 孙海菁, 陈益泰, 施翔. 盐胁迫对东方杉生长和生理生化的影响[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(14): 145-148
- Zhang X L, Ma F Y, Ma Y H, Sun H J, Chen Y T, Shi X. Effects of salt stress on growth and physiological of *Taxodium mucronatum* × *Cryptomeria fortune* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(14): 145-148 (in China)
- [30] 晋学娟, 翟衡. 不同盐碱胁迫对红地球/贝达嫁接苗生长及光合作用的影响[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2012 (3): 8-11
- Jin X J, Zhai H. Effect of different salt and alkali stress on the growth and photosynthesis of Red Globe/Beta grafted seedlings [J]. *Sino-overseas Grapevine & Wine*, 2012(3): 8-11 (in China)
- [31] Chen W C, Cui P J, Sun H Y, Guo W Q, Yang C W, Jin H, Fang B, Shi D C. Comparative effects of salt and alkali stresses on organic acid accumulation and ionic balance of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L) [J]. *Industrial Crops and Products*, 2009(30): 351-358

责任编辑: 王燕华