

利用隶属函数法综合评价梨砧木抗寒性

玉苏甫·阿不力提甫 阿依古丽·铁木儿 帕提曼·阿布都热合曼 李疆*

(新疆农业大学 林学与园艺学院/新疆维吾尔自治区果树学重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

摘要 为探讨梨生产中梨树枝条部分死亡或整株死亡的问题,在低温胁迫下进行了抗寒性生理指标测定。以杜梨(*Pyrus betulaefolia* Bge.)、豆梨(*Pyrus calleryana* D. Dcne.)、鄯善砧木句句梨(新疆梨 *Pyrus sinkiangensis* Yu. Shanshan zhenmu Jujuli)、其里根阿木特(西洋梨 *Pyrus communis* L. Qiligen amute)、阿克苏砧木阿木特(西洋梨 *Pyrus communis* L. Akesu zhenmu amute)、塔城野生杏叶梨(杏叶梨 *Pyrus armeniacaefolia* Yu. Tacheng yesheng xingyeli)和库尔勒黄酸梨(新疆梨 *Pyrus sinkiangensis* Yu. Kuerle huangsuanli)7种梨砧木一年生枝条为试材,通过不同低温(−18、−21、−24、−27和−30℃)处理,测定其枝条的电解质外渗率(REC)和丙二醛(MDA)含量,可溶性蛋白、可溶性糖和游离脯氨酸(Pro)生理指标。配合 Logistic 方程确定砧木树种的半致死温度(LT₅₀)以及拟合度,并用相关性分析和隶属函数法求出隶属函数值,对7种梨砧木进行了综合评价和抗寒性排序。研究表明:随着温度的下降,枝条电解质外渗率呈现“S”型上升,半致死温度(LT₅₀)为−26.8~−52.8℃;MDA含量和可溶性糖先上升后下降;可溶性蛋白均有下降趋势;游离脯氨酸含量呈现下降和增高交替的现象。根据相关性分析结果各生理指标间电导率、丙二醛和可溶性蛋白质含量存在极显著差异。7种砧木抗寒性排序为:杜梨>阿克苏砧木阿木特>塔城野生杏叶梨>库尔勒黄酸梨>其里根阿木特>鄯善砧木句句梨>豆梨。

关键词 梨;砧木;低温胁迫;半致死温度(LT₅₀);抗寒性评价

中图分类号 S 661.2

文章编号 1007-4333(2014)03-0121-09

文献标志码 A

Comprehensive evaluation on cold hardiness of pear rootstocks by the subordinate function

YUSUFU · Ablitifu, AYIGULI · Tiemuer, PATIMAN · Abudureheman, LI Jiang*

(College of Forestry and Horticulture/key laboratory of Pomology in Xinjiang Uyghur Autonomous Region, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052)

Abstract In order to study the death of the part branches or the whole plant in Pear production, the physiological indexes for cold resistance were measured and explored during cold stress. *Pyrus betulaefolia* Bge., *Pyrus calleryana* D. Dcne., *Pyrus sinkiangensis* Yu. Shanshan zhenmu Jujuli, *Pyrus communis* L. Qiligen amute, *Pyrus communis* L. Akesu zhenmu Amute, *Pyrus armeniacaefolia* Yu. Tacheng yesheng Xingyeli, *Pyrus sinkiangensis* Yu. Kuerle Huangsuanni were taken as the experimental materials, electrolyte-(REC), malondialdehyde (MDA)-, soluble protein-, soluble sugar- and free proline (Pro)- contents as well as other physiological indexes under the low temperature stress(−18, −21, −24, −27 and −30℃) were measured. A Logistic equation was adopted to determine the pear rootstock species semi-lethal temperature (LT₅₀) and degree of fit in order to assess cold-resistance of 7 kinds of pear rootstock by the comprehensive evaluation and subordinate function values. Results showed that REC increased by low temperature stress following an S-curve and the LT₅₀ was between −26.8 and −52.8℃, the MDA and soluble sugar levels showed that increased at the beginning and then decreased, the soluble protein content decreased, free proline content showed

收稿日期: 2013-11-22

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项课题(201004085-2); 国家果树瓜类改良中心新疆香梨分中心建设项目, 新疆自治区果树学重点学科基金资助; 国家自然科学基金资助项目(41361093)

第一作者: 玉苏甫·阿不力提甫, 副教授, 博士, 主要从事果树栽培及种质资源研究, E-mail: yusufxj@163.com

通讯作者: 李疆, 教授, 博士生导师, 主要从事果树栽培与种质资源研究, E-mail: lijiangxj@163.com

alternating between decrease and increase. According to the method of subordinate function, and the subordinate function values, 7 kinds of pear rootstock cold hardiness strength is determined as follows: *Pyrus betulaefolia* Bge. > *Pyrus communis* L. Akesu zhenmu Amute > *Pyrus armeniacaefolia* Yu. Tacheng yesheng Xingyeli > *Pyrus sinkiangensis* Yu. Kuerle Huangsuanli > *Pyrus communis* L. Qiligen Amute. > *Pyrus sinkiangensis* Yu. Shanshan zhenmu Jujuli > *Pyrus calleryana* D. Dcne.

Key words pear; rootstocks; low temperature stress; semi-lethal temperature (LT_{50}); evaluation of cold hardiness

梨属于蔷薇科(Rosaceae)、梨属(*Pyrus*. L.)的落叶果树。中国是世界上最大的梨果生产国,面积、产量、出口量及品种数量均居世界前列^[1]。近年来各地因地制宜,相继建立了许多高标准、高质量的梨树生产基地,且生产的梨果品质优良、产量高^[2]。新疆是梨树主要栽培地区之一,为中国果树栽培提供了丰富的种质资源和物质基础。但是,近年来生产上不断出现梨树枝条部分死亡或整株死亡的现象,而且面临着越来越严重的趋势。不仅严重影响梨树的产量,而且极大地限制该地区梨产业的健康持续发展。关于果树枝梢越冬枯死问题,前人^[3]研究多集中在苹果、梨、桃、李和杏等。在枯死原因上,第一种观点是生理干旱造成的;第二种观点是冻害造成的^[4-6];第三种观点是两方面的原因^[7-8];还有学者^[9]认为是由于春秋季节冻融交替引起的冻害所致。

梨在生产上采用嫁接方法育苗繁殖。果树的根系是对低温敏感的器官,根系受到寒害或冻害,将直接影响地上部正常生长和结果,甚至全株死亡或全园毁灭。砧木对果树的影响明显^[10],对果树适应环境能力强弱、产量高低和结果早晚均有一定的影响。因此,研究梨砧木抗寒性具有十分重要的意义。

目前,果树抗寒性研究从细胞形态结构、生理代谢、种质资源及基因工程等多方面对果树抗寒性进行研究^[11]。其中,梨栽培品种的抗寒性研究报道很多,主要是利用电导法和枝条解剖法测定梨栽培种的抗寒性^[12-13]和各生理指标与梨栽培种抗寒性关系的研究^[14-15]。岳英等^[14]对梨的8个栽培品种进行了生理指标的筛选研究,说明了可溶性糖和束缚水/自由水与抗寒性的关系,枝条内可溶性糖与电导率呈显著负相关,束缚水/自由水比值也与其电导率呈显著负相关,而可溶性蛋白和脯氨酸含量则与电导率相关性不显著。初步判断可溶性糖和束缚水/自由水比值可以作为梨树抗寒性鉴定的生理指标。Abdel Hamid A Khedr等^[16]研究认为脯氨酸提高植株耐胁迫的功能可能是通过保护植物线粒体电子

传递链,增加保护蛋白质、抗氧化酶、泛素及脱水素等保护性物质的含量,并启动相应的抗胁迫代谢途径而实现的。李玉梅等^[17]在低温冷冻箱低温处理大香水、身不知等10个品种,处理温度分别为-8、-15、-20和-25℃,进行了相对电导率和伤害率方面的分析,研究表明各品种枝条组织和花芽的相对电导率和伤害率与温度均呈线性负相关。胡春霞等^[18]对南国梨的生理生化变化研究结果表明,随着人工低温处理温度的降低,游离脯氨酸、丙二醛含量和SOD活性先升高后下降。李俊才等^[19]鉴定中矮1号等6个矮化和半矮化砧木的抗寒能力,结果显示电解质渗出率呈典型的S型曲线,与相应的低温呈极显著负相关,鉴定出供试砧木的抗寒力、半致死温度与田间冻害级别相关程度达极显著水平。

在新疆梨生产中,新疆南部、吐鲁番和哈密等地都采用砧木。杜梨属杜梨种,在新疆长期以来用作梨砧木树种,具有抗寒、耐旱和耐盐碱等特点。鄯善砧木句句梨属于新疆梨系统,主要分布在鄯善、吐鲁番等地,吐鲁番地区的主要砧木材料,能适应干旱和高温气候。其里根阿木特属于西洋梨系统,主要分布和田和喀什等地,果实小,是良好的砧木和育种材料。阿克苏砧木阿木特属于西洋梨系统,主要分布阿克苏、和田、轮台和策勒等地,是适应性广、西洋梨栽培品种的主要砧木。塔城野生杏叶梨属于杏叶梨种,主要分布塔城、伊宁县等县,抗寒性强,目前仅作砧木用。库尔勒黄酸梨属于新疆梨系统,主要分布库尔勒,抗寒、抗风,根蘖作砧木用^[13]。

近几年来,梨树死亡现象加重,研究工作着重于栽培品种的抗性方面,有关梨砧木各生理指标与抗寒性研究较少^[19],而利用隶属函数法综合评价梨砧木品种抗寒性,并通过Logistic回归方程、方差分析和相关分析探讨梨砧木各生理指标对抗寒性综合作用的研究尚未见报道。

本试验以新疆梨生产中长期以来用作砧木的树种作为试验材料,研究不同低温处理下电解质含量、丙二醛含量,可溶性蛋白、可溶性糖和游离脯氨酸

(Pro)等生理指标的变化规律及与不同砧木抗寒性之间的关系,从而为梨砧木抗寒性的鉴定提供参考依据,并为选用抗寒性强的砧木和发展梨树生产等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为种植于新疆农业科学院轮台国家果树资源圃中的22年生梨砧木树种,分别为杜梨(*Pyrus betulaeifolia* Bge.)、豆梨(*Pyrus calleryana* D. Dcne.)、鄯善砧木句句梨(新疆梨 *Pyrus sinkiangensis* Yu. Shanshan zhenmu Jujuli)、其里根阿木特(西洋梨 *Pyrus communis* L. Qiligen amute)、阿克苏砧木阿木特(西洋梨 *Pyrus communis* L. Akesu zhenmu amute)、塔城野生杏叶梨(杏叶梨 *Pyrus armeniacaefolia* Yu. Tacheng yesheng xingyeli)、库尔勒黄酸梨(新疆梨 *Pyrus sinkiangensis* Yu. Kuerle huangsuanli)7种。取样时间为2012年12月3日,随机选取生长势基本相同的一年生休眠枝条30个。将采集的一年生休眠枝条报纸包裹带回室内,放入可控低温冰箱进行冷冻处理。

1.2 方法

1.2.1 低温处理

带回室内的枝条,剪成10 cm长的小段,剪好的每种砧木枝条分成为6份,每份10个枝条,1份作为对照,其余分别放入可控低温冰箱进行不同温度冷冻处理。达到处理温度后维持12 h,枝条处理温度梯度分别设为-18、-21、-24、-27和-30℃。对照为-14℃。为避免失水,处理后将枝条在-4℃条件下保存。在室内进行各指标的测定,重复3次。

1.2.2 电解质渗出率测定与计算方法

电解质外渗率(REC)测定参照电导率法^[20];将低温冷冻处理后的枝条剪成2 mm的小段,然后称取2 g试样投入三角瓶,并加入50 mL蒸馏水,浸泡24 h后,即可测定浸出液的电导率。测试材料需设重复3次,然后将低温处理后测定过的各样品,放在水浴锅中煮沸1 h,杀死组织,再加蒸馏水补充到原来溶液的定量,静止冷却后测定其电导度,用百分比法计算供试样品的抗寒力。

电解质渗出率计算公式为:电解质渗出率=
煮沸前电导值/煮沸后电导值×100%

1.2.3 可溶性蛋白和可溶性糖测定与计算方法

可溶性蛋白测定参照考马斯亮蓝G-250染色法^[21]。称取0.1 g枝条,加5 mL蒸馏水研磨,洗液并入25 mL具塞试管中,加盖。在4 000 r/min离心10 min,然后提取上清液放入10 mL容量瓶中,用蒸馏水定容到10 mL。取提取液1 mL放入具塞试管中,加入5 mL考马斯亮蓝G-250溶液,充分混合,放置2 min。在595 nm下比色,测定可溶性蛋白的含量计算公式为

$$\text{可溶性蛋白的含量}(\text{mg/g}) = (C \times V_T) / (V_S \times W_F \times 1\,000)$$

式中:C为查标准曲线值(μg);V_T为提取液总体积(mL);V_S为测定时加样量(mL);W_F为样品鲜重(g)。以空白做参比,在595 nm下比色,测定吸光度,并通过标准曲线得出可溶性蛋白含量。

可溶性糖测定参照蒽酮比色法^[21]。称取0.3 g样品放入大试管中,加入15 mL蒸馏水,在沸水浴中煮沸20 min,取出冷却,过滤入100 mL容量瓶中,用蒸馏水冲洗残渣数次,定容至刻度。取提取液1.0 mL加蒽酮试剂5 mL,在沸水浴中煮10 min,取出冷却,在620 nm波长下测定光密度,重复3次。从标准曲线上查出每毫升被测样品液可溶性糖的含量,再计算出鲜样中可溶性糖的平均值(mg/g)。可溶性糖含量计算公式为

$$\text{可溶性糖含量}/\% = (C \times V/a \times n) / (W \times 10^6) \times 100\%$$

式中:C为标准方程求得糖量(μg);a为吸取样品液的体积(mL);n为稀释倍数;V为提取液体积(mL);W为样品重量(g)。以空白做参比,在630 nm波长下比色,测定吸光度,并通过标准曲线得出可溶性糖含量。

1.2.4 游离脯氨酸和丙二醛含量测定与计算方法

游离脯氨酸参照酸性茚三酮染色法^[22]。准确称取不同处理的待测枝条各0.3 g,剪碎分别置具塞试管中,各管分别加入5 mL 3%磺基水杨酸溶液,在沸水中提取10 min(提取过程中要经常摇动)。测定:待冷却后吸取2 mL提取液于另一干净的具塞试管中,加入2 mL冰醋酸及2 mL酸性茚三酮,在沸水浴中加热30 min。冷却后各试管准确加入4 mL甲苯,振荡30 s,静置片刻。用注射轻轻吸取各管上层脯氨酸甲苯溶液至比色杯中,以甲苯溶液为空白对照,于520 nm波长处进行比色。游离脯氨酸含量计算公式为

游离脯氨酸($\mu\text{g/g}$) $= (C \times V/a)/W$
式中: C 测定液中脯氨酸的质量, μg ,由标准曲线求得; V 为提取液总体积, mL ; a 为测定时取液量, mL ; W 为样品鲜重, g 。

丙二醛(MDA)含量测定参照硫代巴比妥酸(TBA)法^[10]。称取剪碎的试材 0.1 g,加入 2 mL 10%TCA 和少量石英砂,研磨至匀浆,再加适量 TCA 进一步研磨,匀浆转移到 5 mL 离心管中,在 4 000 r/min 离心 10 min,上清液为样品提取液。

显色反应和测定:吸取离心的上清液 2 mL,加入 2 mL 0.6%TBA 溶液,混匀,在试管上加塞,于沸水浴上反应 15 min,迅速冷却,离心。取上清液测定 532、600 和 450 nm 波长下的光密度。MDA 计算公式为

$$\text{MDA 含量}(\mu\text{mol/g(FW)}) = \frac{(\text{MDA 浓度}(\mu\text{mol/L}) \times \text{提取液体积}(\text{mL}))}{(\text{植物组织鲜重}/\text{g} \times 10^3)}$$

其中,MDA 浓度计算方法为

$$\text{MDA 的浓度}(\mu\text{mol/L}) = 6.45 \times (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56 \times \text{OD}_{450}$$

式中: OD_{532} 、 OD_{600} 和 OD_{450} 分别代表 450、532 和 600 nm 波长下的光密度。

对电解质渗出率采用 Logistic 方程求得半致死温度 $\text{LT}_{50}^{[23]}$ 。

1.2.5 Logistic 方程和半致死温度(LT_{50})的计算方法

Logistic 回归方程为 $y = k/(1 + ae^{-bt})$ (a 、 b 、 k 均 >0)。其中 y 为相对电解质渗出率, t 为处理温度, k 为细胞伤害率的饱和容量。由于本试验的细胞伤害率消去了本底干扰,因而 k 值为 100。 a 、 b 为方程参数。将方程进行线性化处理,得 $\ln[(k-y)/y] = \ln a - bt$, $y = \ln[(k-y)/y]$,转化为相对电解质渗出率(y)与处理温度(t)的直线方程。通过直线回归的方法求得 a 、 b 值及相关系数 R ,用曲线的拐点作为半致死温度,即 $\text{LT}_{50} = -\ln a/b^{[23]}$ 。

应用隶属函数法^[24-25]进行综合抗寒性评判。

1)与抗寒性呈正相关的参数以下公式计算

$$U(X_{ijk}) = (X_{ijk} - X_{\min})/(X_{\max} - X_{\min})$$

2)与抗寒性呈负相关的参数以下公式计算

$$U(X_{ijk}) = 1 - U(X_{ijk}) = 1 - (X_{ijk} - X_{\min})/(X_{\max} - X_{\min})$$

式中: $U(X_{ijk})$ 为第 i 个品种第 j 个温度阶段第 k 项指标的隶属度,且 $U(X_{ijk}) \in [0, 1]$; X_{ijk} 表示第 i 个

树种第 j 个温度阶段第 k 个指标测定值; $X_{\max}$ 、 $X_{\min}$ 为所有参试种中第 k 项指标的最大值和最小值。用每一种各项指标隶属度的平均值作为品种抗寒能力综合评判标准,进行比较。

2 结果与分析

2.1 不同低温胁迫下梨砧木电解质外渗率的动态变化

梨砧木枝条经过不同的低温处理后,随处理温度的降低,各参试材料的电解质外渗率逐渐升高,规律较明显(图 1),梨砧木电解质外渗率与处理温度之间呈急剧或缓慢上升的“S”形曲线。处理温度从 $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ 降为 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,鄯善砧木句句梨、其里根阿木特、库尔勒黄酸梨的电解质外渗率上升较快,均达到 30%以上;处理温度从 -18 降为 $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,豆梨上升较快; $-21\sim -27\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,其里根阿木特上升较快; $-27\sim -30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,豆梨和鄯善砧木句句梨电解质外渗率急剧上升,分别为 58.64%和 52.41%。库尔勒黄酸梨和杜梨 2 个品种在温度降为 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,电解质外渗率仍处于较低水平。从各砧木的 LT_{50} (表 1)可以发现,应用 Logistic 方程进行拟合后, r 值介于 0.853 9~0.984 2,不同砧木均大于相关系数临界值 $r_{0.01} = 0.875$,除了库尔勒黄酸梨其余均呈极显著水平, ($r_{0.05} = 0.755$)。半致死温度在 $-26.8\sim -52.8\text{ }^{\circ}\text{C}$,其中杜梨、阿克苏砧木阿木特、塔城野生杏叶梨和库尔勒黄酸梨的半致死温度较高,分别为 -52.8 、 -46.9 、 -39.0 、 $-37.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

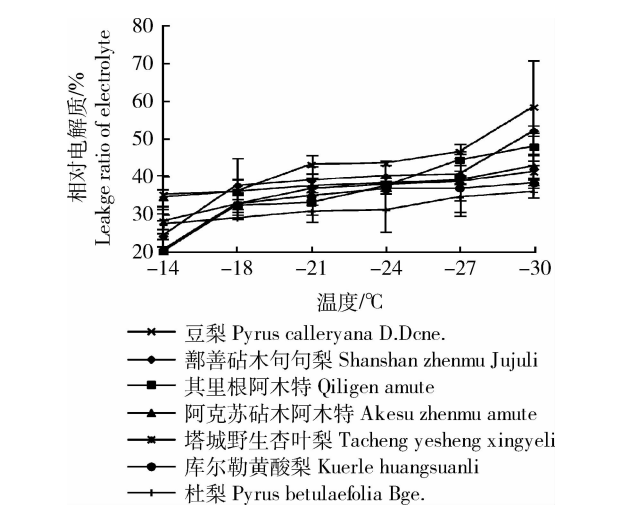


图 1 低温胁迫下梨砧木枝条电解质渗出率的影响
Fig. 1 Effects of low temperature stress on leakage ratios of electrolyte of pear rootstock branches

根据 LT_{50} 计算结果,在不同梨砧木种间有差异, LT_{50} 高低与抗寒力强弱间呈负相关;即 LT_{50} 越低,抗寒力越强, LT_{50} 越高,抗寒力越弱。按 LT_{50} 抗寒性顺序:杜梨>阿克苏砧木阿木特>塔城野生杏叶梨>库尔勒黄酸梨>其里根阿木特>鄯善砧木句句梨>豆梨。

表 1 低温处理后不同砧木枝条的半致死温度
Table 1 Semi-lethal temperature LT_{50} of rootstocks under low temperature treatment

树种 Species	回归方程 $Y=K/(1+a \cdot e^{-bx})$ Regression equation	$LT_{50}=-\ln a/b/^{\circ}C$	拟合度 (R^2) Fitness
豆梨 <i>Pyrus calleryana</i> D. Dcne.	$Y=100/(1+4.301\ 568e^{-(-0.054\ 424\ t)})$	-26.807 6	0.931 0**
鄯善砧木句句梨 <i>Shanshan zhenmu Jujuli</i>	$Y=100/(1+4.201\ 947e^{-(-0.049\ 59\ t)})$	-28.945 9	0.933 5**
其里根阿木特 <i>Qiligen amute</i>	$Y=100/(1+9.448\ 138e^{-(-0.074\ 52\ t)})$	-30.139 1	0.967 0**
阿克苏砧木阿木特 <i>Akesu zhenmu amute</i>	$Y=100/(1+2.512\ 783e^{-(-0.019\ 61\ t)})$	-46.997 5	0.963 1**
塔城野生杏叶梨 <i>Tacheng yesheng xingyeli</i>	$Y=100/(1+3.838\ 986e^{-(-0.034\ 51\ t)})$	-38.979 7	0.964 4**
库尔勒黄酸梨 <i>Kuerle huangsuanli</i>	$Y=100/(1+5.715\ 924e^{-(-0.046\ 69\ t)})$	-37.339 5	0.853 9*
杜梨 <i>Pyrus betulaefolia</i> Bge.	$Y=100/(1+3.821\ 389e^{-(-0.025\ 38\ t)})$	-52.820 0	0.984 2**

注:“*”差异显著 ($P<0.05$);“**”差异极显著 ($P<0.01$)。
Note: * Correlation is significant at the 0.05 level, ** Correlation is significant at the 0.01 level.

2.2 不同低温处理对砧木丙二醛和可溶性糖含量的影响

丙二醛(MDA)含量在低温处理下的变化是衡量植物抗寒性的一个生理指标。丙二醛是脱质过氧化作用的最终产物,对质膜有毒害作用,膜透性直接反映膜伤害程度。本研究显示随着温度的降低丙二醛含量呈现下降和增高交替,其中库尔勒黄酸梨和杜梨在-30℃时达到最高值并且存在极显著差异($P<0.01$),豆梨和阿克苏砧木阿木特的丙二醛含量先下降后上升,但变化幅度较小。(表2)

可溶性糖在植物的抗寒生理中能提高细胞的渗透浓度,降低水势,增加保水能力,从而使冰点下降,而且糖能对原生质体,线粒体及膜上敏感偶联因子起到保护作用。由表2可知,不同低温处理后可溶性糖含量变化呈现先升后降,但可溶性糖含量最高值出现的温度有差异。豆梨、鄯善砧木句句梨在-18℃时出现可溶性糖含量最高值,其里根阿木特和库尔勒黄酸梨在-21℃,阿克苏砧木阿木特、塔城

野生杏叶梨在-24℃,杜梨在-27℃时可溶性糖含量最高。阿克苏砧木阿木特与对照呈显著差异($P<0.05$),杜梨差异不显著,其他品种呈极显著差异($P<0.01$)(表2)。

2.3 低温胁迫对7种梨砧木种可溶性蛋白和脯氨酸含量的影响

低温胁迫对植物细胞蛋白质的影响变化主要表现在可溶性蛋白和酶类的变化以及产生抗寒性蛋白。可溶性蛋白具有较强的亲水性,它能明显增强细胞的持水力,而可溶性蛋白含量的增加可以束缚更多的水分,减少低温条件下原生质因结冰而受伤害致死的机会从而提高植物抗寒性。由表3可知,可溶性蛋白含量在豆梨、鄯善砧木句句梨、其里根阿木特和库尔勒黄酸梨上呈现“降-升-降”,阿克苏砧木阿木特、塔城野生杏叶梨和杜梨是先上升后降低的变化,并与对照呈极显著差异($P<0.01$)。7个砧木品种的可溶性蛋白含量变化规律基本一致。

表 2 不同低温处理对砧木 MDA 和可溶性糖含量的影响

Table 2 Effects on MDA and soluble sugar of rootstock species after treatment with low temperature

测定指标 Determination of indicators	温度/℃ Temperature	砧 木 Rootstocks						
		豆梨 <i>Pyrus calleryana</i> D. Dcne.	鄯善砧木 阿木特 Shanshan zhenmu Jujuli	其里根阿 木特 Qiligen amute	阿克苏砧木 阿木特 Akesu zhenmu amute	塔城野生 杏叶梨 Tacheng yesheng xingyeli	库尔勒 黄酸梨 Kuerle- huangsuanli	杜梨 <i>Pyrus betulaefolia</i> Bge.
丙二醛含量/ (μmol/g) MDA	Ck	0.10 aA	0.33 abAB	0.39 dC	0.38 aA	0.38 abAB	0.04 bB	0.27 bB
	−18	0.02 cC	0.20 bA	0.45 cdC	0.36 aAB	0.19 cB	0.03 bcB	0.37 abAB
	−21	0.07 bB	0.36 abAB	0.59 bcABC	0.25 bcABC	0.24 bcB	0.03 bcB	0.27 bB
	−24	0.09 aAB	0.24 bAB	0.70 abAB	0.24 bcBC	0.35 abAB	0.04 bB	0.37 abAB
	−27	0.09 aAB	0.20 bB	0.78 aA	0.20 cC	0.48 aA	0.02 cB	0.34 bAB
	−30	0.09 aA	0.42 aA	0.53 cdBC	0.33 abABC	0.31 bcAB	0.07 aA	0.52 aA
可溶性糖的 含量/% Soluble sugar	Ck	4.03 bB	3.86 aA	4.09 bB	4.26 bA	3.63 bB	2.41 bC	3.55 aA
	−18	4.77 aA	2.95 bB	2.71 dcD	3.15 cB	4.30 aA	2.28 bC	2.88 bBC
	−21	1.69 dD	2.63 bcB	5.47 aA	2.05 dD	3.05 cC	3.25 aA	3.02 bB
	−24	3.33 cC	1.82 dC	3.09 cC	4.76 aA	4.34 aA	2.62 bBC	2.24 dD
	−27	1.08 eE	1.49 dC	2.52 dD	2.39 dCD	2.36 dD	3.16 aAB	3.71 aA
	−30	3.18 cC	2.40 cB	2.38 dD	2.90 cBC	1.25 eE	1.25 cD	2.55 cCD

数据后不同小写字母表示差异显著, ($P<0.05$); 数据后不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)。下表同。

Note: Numbers followed by the small letters within column are significantly different ($P<0.05$), numbers followed by the capital letters within column are extreme significantly different ($P<0.01$). The same as in the following table.

表 3 不同低温处理对梨砧木可溶性蛋白质和脯氨酸含量影响

Table 3 Effects on soluble protein and proline of different types of Pear Rootstock species after treatment with low temperature

测定指标 Determination of indicators	温度/℃ Temperature	砧 木 Rootstocks						
		豆梨 <i>Pyrus calleryana</i> D. Dcne.	鄯善砧木 阿木特 Shanshan zhenmu Jujuli	其里根阿 木特 Qiligen amute	阿克苏砧木 阿木特 Akesu zhenmu amute	塔城野生 杏叶梨 Tacheng yesheng xingyeli	库尔勒 黄酸梨 Kuerle- huangsuanli	杜梨 <i>Pyrus betulaefolia</i> Bge.
可溶性 蛋白质含量/ (mg/g) Soluble protein	Ck	14.94 aA	10.64 aA	16.75 aA	2.13 cD	2.59 cdBC	13.84 aA	3.07 bBC
	−18	7.44 cC	3.24 cC	3.66 eD	2.65 bcBC	3.61 bB	2.02 cC	3.39 bB
	−21	9.44 bB	6.29 bB	9.68 bB	5.30 aA	5.01 aA	6.20 bB	4.77 aA
	−24	5.90 dD	1.32 dD	5.81 cC	3.20 bB	3.15 bcBC	5.62 bB	2.42 cC
	−27	1.02 fF	0.44 eD	1.80 eE	1.33 dD	2.35 dC	2.62 cC	1.05 dD
	−30	4.47 eE	0.92 deD	4.78 dC	1.42 dD	0.27 eD	2.68 cC	0.28 eD
游离脯氨酸 含量/% Proline	Ck	81.87 bB	32.64 abA	67.32 cC	49.19 aAB	34.75 abA	53.22 aA	54.57 abAB
	−18	33.75 cC	21.89 bA	72.92 cC	50.54 aAB	27.94 abA	31.96 abA	31.07 bcBC
	−21	183.24 aA	43.15 aA	57.45 cC	50.31 aAB	28.61 abA	43.15 abA	74.03 aA
	−24	20.33 cC	41.81 abA	150.12 bBC	36.89 abAB	53.89 aA	25.25 bA	18.09 cC
	−27	31.29 cC	44.27 aA	189.50 abB	56.59 aA	41.14 abA	24.80 bA	46.51 bABC
	−30	17.64 cC	35.99 abA	246.12 aA	16.75 bB	24.13 bA	38.01 abA	47.18 bABC

植物在正常条件下,游离脯氨酸含量很低,但遇到逆境胁迫时,游离脯氨酸便会积累,并且积累指数与植物的抗逆性有关。从表 3 可知,在低温处理过程中,其里根阿木特的游离脯氨酸含量变化幅度较大,其余砧木变化幅度较小。其里根阿木特的游离脯氨酸积累最高值在-30 ℃时出现并与对照有极显著性差异($P<0.01$);豆梨、库尔勒黄酸梨和杜梨的在-21 ℃时出现;塔城野生杏叶梨的在-24 ℃时出现;鄯善砧木句句梨和阿克苏砧木阿木特的在-27 ℃时出现;在所有处理温度下豆梨呈现极显著差异($P<0.01$);鄯善砧木句句梨不存在显著性差异,其余种在不同的处理低温

下都呈现显著性差异(表 3)。由此可见,可溶性蛋白和脯氨酸含量随着人工低温处理温度的降低呈现先升后降。

2.4 各抗寒指标间的相关性分析

由表 4 可知,各类抗寒性指标间的有一定的相关性。丙二醛与脯氨酸($r=0.346$)呈显著正相关;与电导率($r=0.403$)呈极显著正相关。可溶性糖与可溶性蛋白($r=0.373$)呈显著正相关;可溶性糖与电导率($r=-0.325$)呈显著负相关;可溶性蛋白和电导率($r=-0.446$)呈极显著负相关。其它抗寒性指标间虽呈相关关系,但相关系数较低,差异均不显著。

表 4 各抗寒性指标间的相关性分析
Table 4 Analysis of correlation of indexes for cold resistance

生理指标 Physiological indexes	相关性系数 Correlation coefficient				
	丙二醛 MDA	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	游离脯氨酸 Proline	电导率 Leakage ratios of electrolyte
丙二醛 MDA	1				
可溶性糖 Soluble sugar	-0.072	1			
可溶性蛋白 Soluble protein	0.250	0.373*	1		
脯氨酸 Proline	0.346*	-0.121	0.192	1	
电导率 Leakage ratios of electrolyte	0.403**	-0.325*	-0.446**	0.177	1

注: * 表示 5%显著水平, ** 表示 1%极显著水平。
Note: * Correlation is significant at the 5% level, ** Correlation is significant at the 1% level.

2.5 不同砧木抗寒性的综合评判

抗寒性是多项指标综合作用的结果,用单一指标评价多年生木本植物的抗寒性不具有代表性,用多个指标进行综合评价才能体现综合性的抗寒能力。本研究为了较全面地反映其抗寒性,运用隶属函数法,综合各项相关指标用平均隶属度对梨 7 种砧木的抗寒能力进行综合评价。平均隶属度越大,表明

抗寒能力越强,反之抗寒能力越弱。结果表明(表 5),梨 7 种砧木的平均隶属度 0.405 6~0.532 0 之间,杜梨的平均隶属度为最高,为 0.532 0,其里根阿木特的平均隶属度最低,为 0.405 6。表 5 中平均隶属度显示梨 7 种砧木的抗寒性强弱的排序为:杜梨>阿克苏砧木阿木特>鄯善砧木句句梨>塔城野生杏叶梨>库尔勒黄酸梨>豆梨>其里根阿木特。

表5 不同梨砧木抗寒性的综合评判

Table 5 Synthetic evaluation of cold resistance character of different pear rootstock species

树种 Species	相对电导率 Relative electric conductivity	丙二醛 Malondialdehyde (MDA)	可溶性糖 Soluble sugar	游离脯氨酸 Free proline	可溶性蛋白质 Soluble protein	平均隶属度 Average membership	抗寒性排序 Cold resistance order
豆梨 <i>Pyrus calleryana</i> D. Dcne.	0.630 2	0.308 4	0.466 6	0.264 0	0.443 9	0.422 6	6
鄯善砧木阿木特 Shanshan zhenmu Jujuli	0.475 0	0.585 7	0.435 3	0.658 3	0.330 1	0.496 9	3
其里根阿木特 Qiligen amute	0.433 1	0.532 5	0.322 0	0.387 5	0.353 2	0.405 6	7
阿克苏砧木阿木特 Akesu zhenmu amute	0.574 5	0.464 1	0.443 6	0.668 5	0.337 4	0.497 6	2
塔城野生杏叶梨 Tacheng yesheng xingyeli	0.404 8	0.531 9	0.616 8	0.362 2	0.540 5	0.491 2	4
库尔勒黄酸梨 Kuerle huangsuanli	0.280 4	0.600 3	0.621 3	0.396 3	0.294 2	0.438 5	5
杜梨 <i>Pyrus betulaefolia</i> Bge.	0.519 1	0.648 5	0.513 1	0.485 3	0.494 2	0.532 0	1

3 讨 论

3.1 低温胁迫与电解质外渗率之间的关系

随处理温度的降低,各参试材料的电解质外渗率升高,规律较明显。研究显示低温胁迫下,梨7种砧木的电解质外渗率与处理温度之间呈急剧或缓慢上升的“S”形曲线。LYONS^[26]认为植物受到低温影响时,细胞质膜透性会发生不同程度的增大,电解质外渗,以致电导率增大。本试验结果与LYONS的寒冷在植物生长发育的伤害(Chilling injury in plants)研究结果基本一致。按照综合评判结果分析杜梨和阿克苏砧木阿木特的抗寒性最强,生产上可以作为梨的抗寒性砧木用。

3.2 各抗寒性生理指标间的关系分析

研究结果显示,梨砧木MDA含量呈S形趋势,即先升后降。豆梨和阿克苏砧木阿木特的MDA含量最高值出现较早,库尔勒黄酸梨和杜梨的MDA含量在-30℃时,出现最高值并存在极显著差异。抗寒性弱的品种MDA含量上升的较早而后开始下

降,抗寒性强的品种MDA含量逐渐上升。这与陈长兰等^[27]的研究结果一致。

可溶性糖含量是造成植物体内总的溶质浓度变化的主要因素,可溶性糖含量的增加表明植物抗寒性的增强^[28]。可溶性糖含量随着处理温度强度的增加呈现升→降→升的趋势,很不稳定。不同砧木在不同温度梯度下,具有的高峰点不同。豆梨和鄯善砧木阿木特在-18℃时可溶性糖含量最高,其里根阿木特和库尔勒黄酸梨在-21℃时可溶性糖含量最高,阿克苏砧木阿木特和塔城野生杏叶梨在-24℃时可溶性糖含量最高,杜梨在-27℃的低温下,可溶性糖含量最高并且存在极显著差异。张基德等^[15]认为可溶性糖含量较高品种的抗性则较强,本研究抗寒性综合评价结果显示的抗寒性强的品种可溶性糖含量也较高,结果基本一致。

植物体内可溶性蛋白含量是一个重要的生理生化指标,当遭受低温胁迫时,体内蛋白质含量就会有所积累,以调节植物抗寒作用^[29]。本研究中,7个砧木品种的可溶性蛋白质含量随着处理温度的降低呈

现下降的趋势且变化规律比较一致。这与王勇等^[30]不同低温下核桃枝条抗寒性生理生化指标分析研究结果基本一致的。

脯氨酸作为渗透调节物质,可以提高渗透压,增强保水力,提高植物抗冷性^[31-32]。豆梨、其里根阿木特游离脯氨酸含量变化幅度较大,鄯善砧木阿木特、阿克苏砧木阿木特、塔城野生杏叶梨、库尔勒黄酸梨、杜梨的游离脯氨酸含量变化幅度较小。豆梨、其里根阿木特的抗寒能力较为突出,其他品种的抗寒能力大致一致。

各类抗寒性指标间的有一定的相关性。丙二醛与脯氨酸、电导率和可溶性蛋白呈正相关,其中丙二醛与电导率呈极显著正相关。可溶性糖与($r=0.373$)呈显著正相关;可溶性糖与电导率、脯氨酸和MDA呈负相关;可溶性蛋白质和电导率($r=-0.446$)呈极显著负相关。其他抗寒性指标间虽呈相关关系,但相关系数较低,差异均不显著。

运用隶属函数法能较全面地反映其不同砧木的抗寒特性,平均隶属度越大,表明抗寒能力越强,反之抗寒能力越弱^[33]。根据综合评判结果在新疆等干旱和寒冷地区表现较好的梨砧木有杜梨、阿克苏砧木阿木特、鄯善砧木句句梨和塔城野生杏叶梨,为梨生产可提供可靠的依据。

梨树枝条部分死亡和整株死亡问题除了与砧木抗寒性指标有关外,营养条件、抗病性、抗旱性和管理技术等都有一定关系。因此,要进行更深入研究。

参 考 文 献

- [1] 张亮,赵邦宏. 改革开放30年来我国梨果产业经济发展研究[J]. 西北林学院学报,2009(4):239-241
- [2] 赵德英,程存刚,曹玉芬,等. 我国梨果产业现状及发展战略研究[J]. 江苏农业科学,2010(5):501-504
- [3] 朱劲伟,彭小兰. 红松幼苗枯梢原因的探讨[J]. 林业科技通讯,1982(1):5-7
- [4] 张炳祥,王海江,周远明,等. 辽西地区1982年苹果冻害剖析[J]. 中国果树,1983(1):16-18
- [5] Zraly B. Frost hardiness of raspberry canes [J]. Acta Horticulturae,1987,81:129-135
- [6] Sako J, Hiirsalmi H. Winter hardiness and productivity of red raspberry in Finland[J]. Acta Horticulturae, 1980, 112: 221-228
- [7] 卢振元,杨彩民. 红松苗木枯梢原因的模拟实验[J]. 林业科技通讯,1984(6):3-5
- [8] 张永和,高庆玉,桂明珠,等. 黑穗醋栗枝条死亡原因的研究[J]. 东北农业大学学报,1994,25(2):115-121

- [9] 杨国慧,霍俊伟,睢薇. 黑穗醋栗抗冻害能力的研究[J]. 东北农业大学学报,2002,33(1):29-33
- [10] 郝荣廷. 果树栽培学总论[M]. 北京:中国农业出版社,2004:122-123
- [11] 黄敏,陈杰忠. 果树抗寒性研究进展(综述)[J]. 亚热带植物科学,2011,40(1):80-84
- [12] 王文举,李小伟,顾文龙. 法测定西洋梨的抗寒性研究[J]. 北方园艺,2008(2):1-3
- [13] 宋洪伟,林凤起. 梨种质资源抗寒性鉴定评价[J]. 河北果树,2000(4):10-12
- [14] 岳英,鲁晓燕,杨小娟,等. 梨抗寒性生理指标的筛选[J]. 石河子大学学报:自然科学版,2011,29(5):551-556
- [15] 张基德,李玉梅,陈艳秋,等. 梨品种枝条可溶性糖、脯氨酸含量变化规律与抗寒性的关系[J]. 延边大学农学学报,2004,26(4):281-285
- [16] Abdel Hamid A Khedr, et al. Proline induces the expression of salt-stress responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L to salt-stress [J]. Journal of Experimental Botany,2003,54:2553-2562
- [17] 李玉梅,陈艳秋,李莉. 延边地区梨品种的抗寒性测定[J]. 延边大学农学学报,2004,26(3):178-182
- [18] 胡春霞,王丽,汤杰. 低温对南果梨的生理生化指标的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2009,40(3):349-352
- [19] 李俊才,刘成,王家珍,等. 梨矮化砧抗寒力试验研究[J]. 北方园艺,2009,(2):104-105
- [20] 沈德绪. 果树育种实验技术[M]. 北京:中国农业出版社,1992:66-69
- [21] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2004:111-130
- [22] 刘家尧. 植物生理学实验教程[M]. 北京:高等教育出版社,2010:72-75
- [23] 唐士勇. Logistic方程在果树半致死温度测定中的应用[J]. 北方果树,1993(4):23-24
- [24] 孟艳琼,张令峰,王雷宏,等. 低温胁迫对6种彩叶藤本植物抗寒性生理指标的影响[J]. 安徽农业大学学报,2009,36(2):172-177
- [25] 黎燕琼,刘兴良,郑绍伟,等. 岷江上游干旱河谷四种灌木的抗旱生理动态变化[J]. 生态学报,2007,27(3):870-878
- [26] Lyons J M. Chilling injury in plants [J]. Ann Rev Plant Physical,1975,24:445-446
- [27] 陈长兰,贾敬贤. 梨种和品种抗寒性的测定[J]. 北方果树,1989,10(1):12-14
- [28] 潘瑞炽,董恩得. 植物生理学[M]. 北京,高教出版社,1995:318-328
- [29] 刘祖祺,张石诚. 植物抗性生理学[M]. 北京,中国农业出版社,1994:43-45
- [30] 王勇,乔永胜,梅霞,等. 不同低温下核桃枝条抗寒性生理生化指标分析[J]. 中国农学通报,2013,29(10):40-44
- [31] 王燕凌,廖康,刘君,等. 越冬前低温锻炼期间不同品种葡萄枝条中渗透性物质和保护酶活性的变化[J]. 果树学报,2006,23(3):375-378
- [32] 王丽雪,李荣富,张富仁,等. 葡萄枝条中蛋白质、过氧化物酶活性变化与抗寒性的关系[J]. 内蒙古农牧学院学报,1996,17(1):45-50
- [33] 许桂芳,张朝阳,向佐湘. 利用隶属函数法对4种珍珠菜属植物的抗寒性综合评价[J]. 西北林学院学报,2009,24(3):24-26

责任编辑:王燕华