

文章编号:1001-1498(2012)02-0150-07

低温胁迫下3个甜角品种幼苗的抗寒性研究

赵一鹤¹, 李建宾², 杨时宇^{1*}, 陈疏影², 李体初³, 吴义军⁴

(1. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224; 2. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201;
3. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所元江试验站, 云南 元江 653300; 4. 西南林业大学林学院, 云南 昆明 650224)

摘要:以甜角品种 PRAKAYTONG(闪金)、SRITONG(金色)、SRITONGBAO(轻金色)的1年生嫁接苗为材料,采用人工气候箱连续15 d 分别进行5、10、15、20、25、30 ℃ 的温度处理,测定分析了低温胁迫下甜角幼苗叶片与抗寒性相关的生理生化指标。结果表明:20~30 ℃ 是甜角生长发育的最适温度范围,当温度下降到15 ℃ 时,随着温度的降低,甜角幼苗叶片的相对电导率、丙二醛(MDA)含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量呈上升趋势,过氧化物酶(POD)活性表现出先升后降趋势,叶片含水量呈现下降趋势;温度降到10 ℃ 时,幼苗叶片上述指标变化加剧,幼苗生长发育受到抑制。在相同的低温条件下,随着处理时间的延长,幼苗叶片的上述6个指标呈现相似的变化趋势,温度越低,变化越剧烈。根据隶属函数法,综合判定3个甜角品种的抗寒性强弱的顺序为:SRITONG > SRITONGBAO > PRAKAYTONG。

关键词:甜角;低温胁迫;抗寒性指标;隶属函数法

中图分类号:S722.3⁺6

文献标识码:A

Studies on the Cold Resistance of Three Sweet Tamarind Varieties under Low Temperature Stress in Seedling Stage

ZHAO Yi-he¹, LI Jian-bin², YANG Shi-yu¹, CHEN Shu-ying², LI Ti-chu³, WU Yi-jun⁴

(1. Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. Faculty of Agriculture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan, China; 3. Yuanjiang Experiment Station, Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Yuanjiang 653300, Yunnan, China; 4. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: The cold resistance of 1-year-old grafted seedling of Sweet Tamarind (*Tamarindus indica* L.) including three varieties of PRAKAYTONG, SRITONG and SRITONGBAO introduced from Thailand were tested for 15 days to measure and analyze the physiological and biochemical indexes of leaf related to cold resistance under treatment temperatures of 5, 10, 15, 20, 25, and 30 ℃ separately. The results showed that the optimum temperature range for the growth of Sweet Tamarind was 20~30 ℃. When the temperature dropped to 15 ℃, the electrical conductivity, MDA, proline and soluble sucrose contents increased, the activities of POD increased at first and then decreased, while the leaf water content decreased with the decrease of temperatures. When the temperature dropped to 10 ℃, the changes of these indexes were more drastically and the seedling growth was inhibited. The six indexes showed similar changes with the prolonging treatment times of low temperature below 15 ℃ and the lower temperature, the more intense the changes. The integrated assess to the cold resistance magnitude of the three varieties of Sweet Tam-

收稿日期:2011-11-10

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(rirical200901Z);国家林业公益性行业科研专项(201204420);科技部农业科技成果转化资金项目(2010GB24320620)

作者简介:赵一鹤(1970—),男(白族),云南大理人,博士,副研究员.主要从事植物生态学研究.

* 通讯作者.

arinds is as follows: SRITONG > SRITONGBAO > PRAKAYTONG, based on membership function method.

Key words: Sweet Tamarind; low temperature stress; cold resistance index; subordinate function (SF)

酸角 (*Tamarindus indica* L.) 又称罗望子, 为苏木科 (Caesalpinaceae) 酸豆属 (*Tamarindus*) 的常绿大型乔木, 原产热带非洲, 除南极洲外, 其它各大洲均有分布, 中国以云南种植面积最广, 产量最高^[1-3]。甜角是酸角的一类甜型栽培品种, 为传统水果, 在泰国已广泛种植, 每年都要向欧洲和东南亚其它国家出口大量的果实^[4]。2000年, 中国林业科学研究院资源昆虫研究所从泰国引进了3个甜角品种, 在云南省澜沧江流域的景洪市、普洱市, 红河流域的元江县、元阳县和红河县, 金沙江流域的宾川县、永胜县、元谋县等地进行引种试种, 3个品种在各地生长良好, 3~4年即开花结实, 荚果大, 产量高, 果肉香甜^[5-6]。因各地温度和降水量等气候因子不同, 3个甜角品种的开花、结实存在明显差异。

许多热带、亚热带植物遇到低温容易发生冷害, 导致植物体内一系列的生理生化反应, 植物抗寒性的研究包括低温条件下植物形态、生理生化特性、生态及细胞遗传学等方面^[7-11]。目前, 有关甜角抗寒性的研究, 绝大多数都集中在宏观气候学和生态特征的观察与描述上, 对其生理生化特性及在低温下的生理生化变化等深入和系统研究的相关文献尚未见报道^[4-6, 12]。云南地处低纬高原, 立体气候明显, 多纬度带气候特征共存, 低温是云南省最为常见和严重的自然灾害之一^[13]。本研究是在人工低温胁迫条件下, 通过测定甜角幼苗叶片与抗寒性相关的生理生化指标, 综合评价3个甜角品种的抗寒性, 为甜角品种耐寒性选育和种植区划提供理论基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究以盆栽1年生甜角嫁接苗(苗高40~60 cm)为实验材料, 3个甜角品种嫁接苗由中国林业科学研究院资源昆虫研究所元江试验站提供, 放在云南农业大学后山农场的温室大棚中培育10 d后, 选取长势良好, 生长一致的植株作为实验材料。供试3个甜角品种分别为 PRAKAYTONG (闪金)、SRITONG (金色)、SRITONGBAO (轻金色)。

1.2 实验处理

低温胁迫实验设5、10、15、20、25、30℃6个处理温度。将选好的甜角幼苗分别放入设有不同温度

的6个人工气候箱中, 湿度为60%, 每天光照12 h, 光照强度为4 000 lx的条件下连续培养15 d。每个气候箱中放置3个品种, 每个品种18株, 6个处理, 共计324株。在培养期间, 不追施肥料, 适时补充水分, 保持土壤湿润。

1.3 抗寒性生理生化指标测定

在幼苗放入人工气候箱开始处理前每个品种分别取4株, 取下每株上的所有叶片, 洗净, 充分混合均匀成原始样品。根据所测生理生化指标所需样品重量, 从原始样品中随机取样称质量, 测定各项生理生化指标。放入人工气候箱开始温度胁迫处理后, 分别观察各个处理植株的生长发育状况, 记录植株产生的不良形态变化, 如植株萎焉、叶片收缩、变色、脱落等。以后每4 d测定1次, 每个品种取3~4株进行测定, 共测定4次。测定指标为相对电导率、丙二醛含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、过氧化物酶活性、含水量, 测定方法分别采用电导率仪法、硫代巴比妥酸法、酸性茚三酮法、萘酚法、愈创木酚法和称质量法等^[14]。

1.4 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 对实验测定数据进行统计分析, 参照许桂芳等的方法, 计算隶属函数值和平均隶属度, 分析评价3个甜角品种的抗寒性^[15-16]。

隶属函数计算公式:

$$A \quad U_{ij} = \frac{X_{ij} - X_{j\min}}{X_{j\max} - X_{j\min}} \quad (\text{正相关})$$

$$B \quad U_{ij} = 1 - \frac{X_{ij} - X_{j\min}}{X_{j\max} - X_{j\min}} \quad (\text{负相关})$$

上式中: U_{ij} 表示第 i 种第 j 指标的抗寒性隶属函数值; X_{ij} 表示第 i 种第 j 指标的测定值; $X_{j\min}$ 表示所有品种第 j 指标的最小值; $X_{j\max}$ 表示所有品种第 j 指标的最大值; i 表示某个品种; j 表示某项指标。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对甜角幼苗叶片相对电导率的影响

不同温度处理下, 甜角叶片的相对电导率见图1, 由图1可知: 不同温度范围内, 相对电导率的变化不同。在15~5℃范围内, 甜角叶片的相对电导率表现出随着温度的降低而升高; 在相同的温度条件下, 随着低温处理时间的延长而增加的变化趋势。温度越低, 相对电导率变化越剧烈。在5℃时, 3个

甜角品种叶片的相对电导率(Y)与低温处理时间(X)呈直线相关的关系(表1)。在20~30℃,相对电导率不随温度的升高和处理时间的延长而增加。这一结果表明,当温度低于15℃时,甜角幼苗细胞膜开始受到伤害,并随着温度的降低,叶片细胞膜受伤害的程度增加,达5℃时,细胞膜的伤害程度与持续时间呈直线相关的关系。

表1 5℃低温不同时间处理下甜角叶片相对电导率的变化及相关方程

品种	相对电导率/%			相关方程	拟合度(R^2)
	0 d	4 d	8 d		
PRAKAYTONG	40.6	55.0	72.9	$Y=16.15X+23.8$	0.996 1
SRITONG	41.4	53.6	71.2	$Y=14.9X+25.6$	0.989 2
SRITONGBAO	41.6	54.7	72.0	$Y=15.2X+25.7$	0.993 7

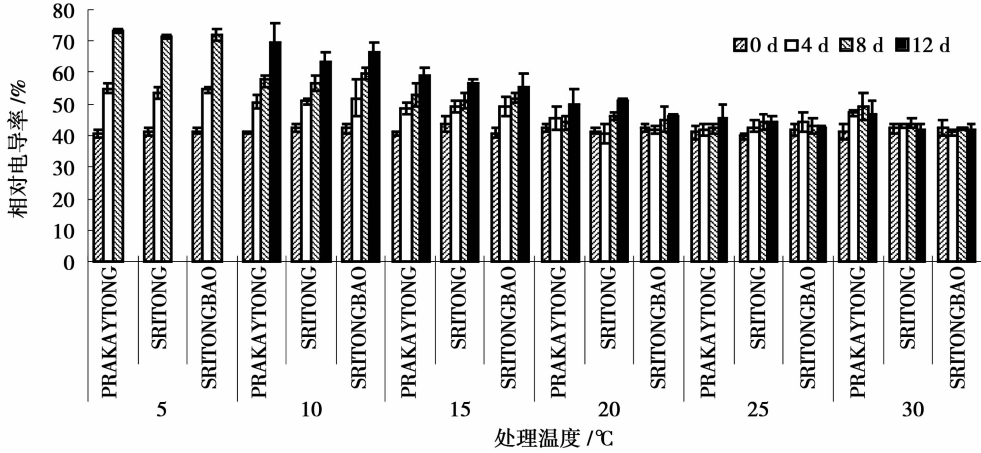


图1 不同温度不同时间处理下甜角叶片的相对电导率

2.2 低温胁迫对甜角幼苗叶片内丙二醛(MDA)含量的影响

不同温度处理下,甜角叶片的丙二醛(MDA)含量见图2,由图2可知:在15~5℃范围内,MDA含量随着温度的降低而升高;在相同的温度下,随着处理时间的延长而增加,且温度越低,这种变化越激

烈;而在20~30℃,MDA含量不随温度的升高和处理时间的延长而增加。这一结果表明,当温度低于15℃时,甜角幼苗叶片细胞膜开始受到伤害,膜脂发生过氧化作用而降解。温度持续下降时,甜角叶片细胞内膜脂过氧化加剧,损害了膜脂功能,MDA含量急剧增加。

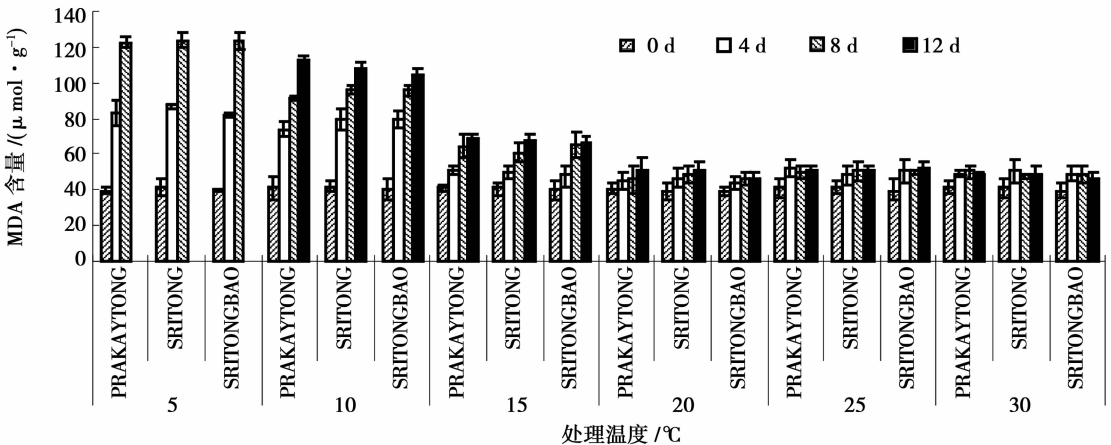


图2 不同温度不同时间处理下甜角鲜叶片的MDA含量

2.3 低温胁迫对甜角幼苗叶片内脯氨酸含量的影响

不同温度处理下,甜角叶片的脯氨酸含量见图

3,由图3可知:在15~10℃范围内,随着温度的降低和低温处理时间的延长,脯氨酸的含量呈现出增加的趋势。15℃条件下处理8d内,脯氨酸的含量

增加缓慢,而处理8 d后,含量快速增加;与之相反,10 ℃条件下处理的甜角幼苗,脯氨酸的含量在处理前期(4 d)增加快速,中期缓慢,后期又加快。在5 ℃时,随着低温处理时间的延长,脯氨酸的含量呈

现出先快速增加后迅速减少的变化趋势。说明甜角幼苗处于低温胁迫时,为了提高其抗寒性而生成了大量的脯氨酸。当温度达5 ℃时,脯氨酸的合成功能降低,含量下降。

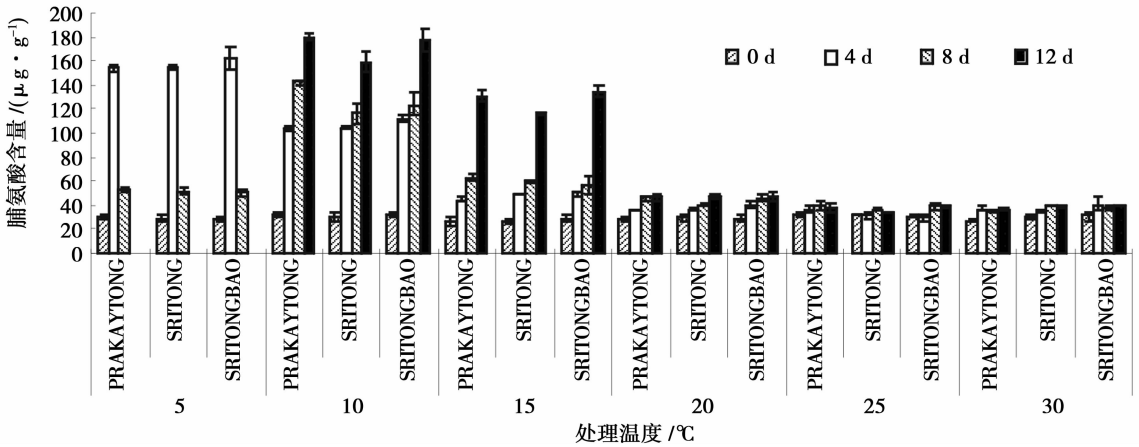


图3 不同温度不同时间处理下甜角鲜叶片的脯氨酸含量

2.4 低温胁迫对甜角幼苗叶片内可溶性糖含量的影响

不同温度处理下,甜角叶片的可溶性糖含量见图4,由图4可知:在15~5 ℃范围,甜角幼苗叶片内的可溶性糖含量随着处理温度的降低而升高;温

度相同下,随着处理时间的延长而增加。温度越低,含量随处理时间的延长而增加的幅度越大。结果说明,温度降低到15 ℃时,甜角幼苗开始受到低温胁迫。甜角叶片内可溶性糖含量的增加,使细胞膜免受降解和破坏,提高了其对低温胁迫的适应性^[20]。

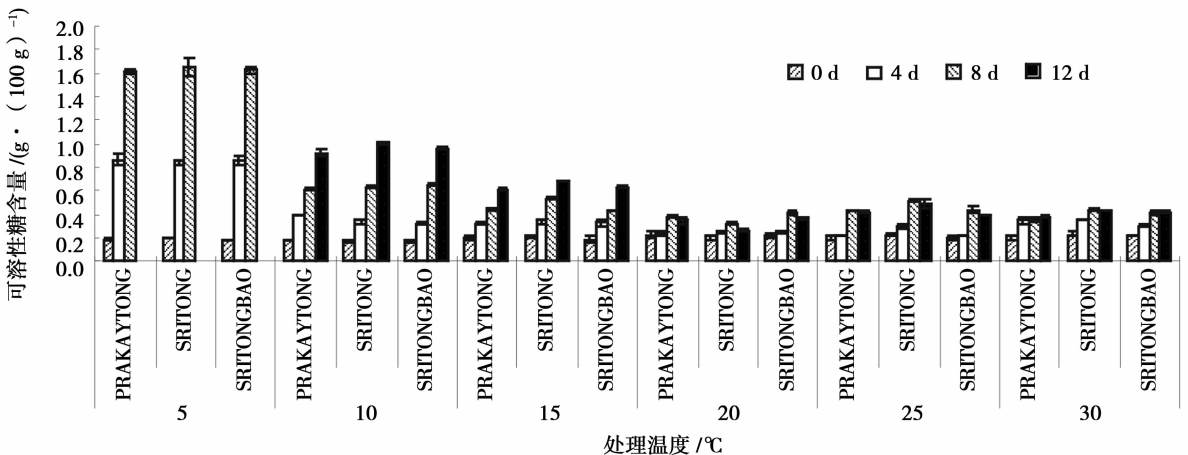


图4 不同温度不同时间处理下甜角鲜叶片的可溶性糖含量

2.5 低温胁迫对甜角幼苗叶片内过氧化物酶(POD)活性的影响

不同温度处理下,甜角叶片的过氧化物酶(POD)活性见图5,由图5可知:在15 ℃条件下处理甜角幼苗4 d,叶片中POD的活性迅速增强,随着处理时间的延长,活性逐渐下降。在10 ℃条件下处理,POD活性表现出类似的变化趋势,但POD活性下降的幅度比15 ℃时的大。5 ℃低温处理,POD活性随着处理

时间的延长迅速降低,处理8 d后POD活性基本丧失。在20~30 ℃范围,POD活性虽然也呈现出随处理时间的延长先升高后下降的变化趋势,但变化幅度不明显,POD活性基本维持在处理前的水平。

2.6 低温胁迫对甜角幼苗叶片含水量的影响

不同温度处理下,甜角叶片的含水量见图6,由图6可知:在15 ℃条件下,随着处理时间的延长,叶片含水量略有下降。在10~5 ℃范围,叶片含水量

随着处理温度的降低和处理时间的延长而下降,温度越低,含水量下降越明显。这一结果表明,甜角受

到低温逆境胁迫时,往往伴随有水分胁迫的产生,影响根系对水分的吸收,导致叶片含水量下降^[8-9]。

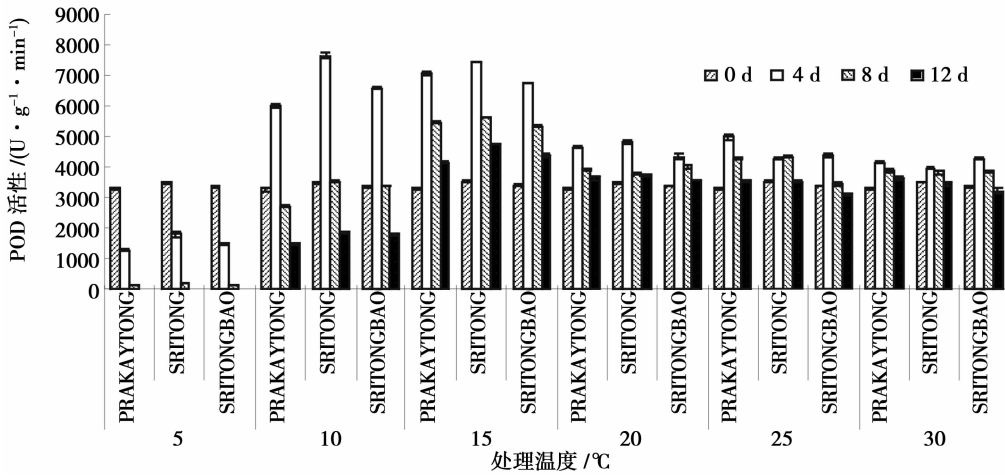


图5 不同温度不同时间处理下甜角叶片的POD活性

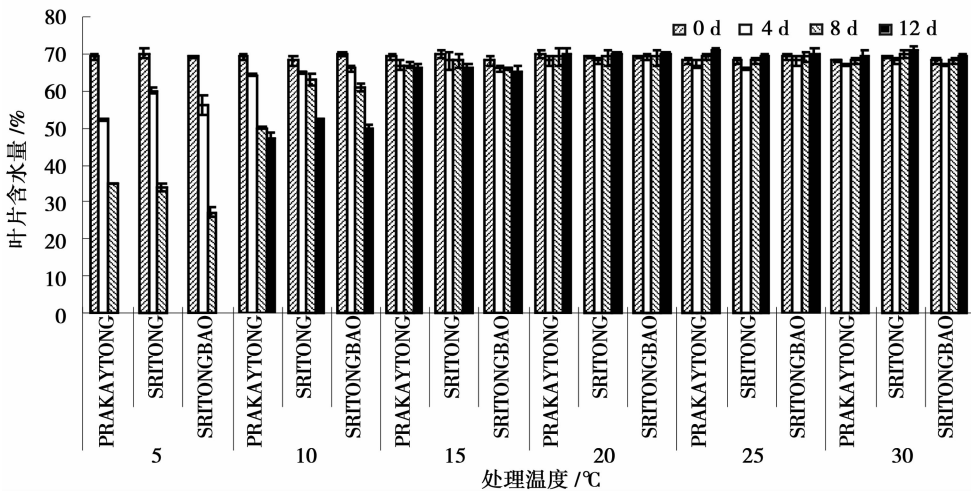


图6 不同温度不同时间处理下甜角叶片的含水量

2.7 甜角品种抗寒性综合评价

上述分析结果表明:甜角幼苗生长发育的适宜温度是20~30 °C,当外界环境温度低于15 °C时,甜角幼苗开始受到低温胁迫,叶片内的相对电导率、MDA含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、POD活性和含水量等生化指标发生明显变化。当温度下降到10 °C时,上述指标的变化显著增强。对3个甜角品种在10 °C处理下的实验测定结果进行方差分析,结果表明:

即使低温处理12 d,甜角叶片的相对电导率、MDA含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、POD活性和含水量等各项指标,在3个品种之间的差异均不显著,无法从一个或几个指标的测定结果直接判断哪一品种的抗寒性更好。因此,根据隶属函数计算公式先分别计算出各品种以上6项指标的隶属度,然后取同品种6项指标隶属度的算术平均数作为平均隶属度,对3个品种的抗寒性进行综合评价(表2)。

表2 3个甜角品种抗寒性综合分析

品种	相对电导率 / %	MDA / (μmol · g ⁻¹)	脯氨酸 / (μg · g ⁻¹)	可溶性糖 / (g · (100 g) ⁻¹)	POD活性 / (μ · g ⁻¹ · min ⁻¹)	含水量 / %	平均隶属度	位次
PRAKAYTONG	69.60	112.50	179.60	0.62	1 476.00	47.00	0.04	3
SRITONG	63.20	108.90	259.30	0.71	1 860.00	52.00	0.91	1
SRITONGBAO	66.20	104.30	177.20	0.60	1 786.00	50.00	0.49	2

从表2看出:各品种间的抗寒性顺序是 SRI-TONG > SRITONGBAO > PRAKAYTONG, 其中 SRI-TONG 具有相对较强的抗寒性,PRAKAYTONG 的耐

寒性弱。为进一步研究6个抗寒性指标间的协同变异程度,对6个指标及平均隶属度进行了相关性分析(表3、4)。

表3 甜角抗寒指标间的相关系数

指标	电导率	MDA	脯氨酸	可溶性糖	POD 活性	含水量	平均隶属度
电导率	1.000						
MDA	0.470	1.000					
脯氨酸	-0.834	0.096	1.000				
可溶性糖	-0.744	0.239	0.989	1.000			
POD 活性	-0.954	-0.713	0.629	0.510	1.000		
含水量	-0.997	-0.538	0.787	0.689	0.975	1.000	
平均隶属度	-1.000	-0.460	0.840	0.752	0.951	0.996	1.000

表4 甜角抗寒指标间的决定系数

指标	电导率	MDA	脯氨酸	可溶性糖	POD 活性	含水量	平均隶属度
电导率	1.000						
MDA	0.221	1.000					
脯氨酸	0.695	0.009	1.000				
可溶性糖	0.554	0.057	0.979	1.000			
POD 活性	0.910	0.509	0.396	0.260	1.000		
含水量	0.994	0.290	0.620	0.475	0.950	1.000	
平均隶属度	1.000	0.212	0.705	0.565	0.903	0.992	1.000

注:决定系数是相关系数的平方,可以防止对相关系数所表示的相关做夸张的解释,其数值愈接近1表示两变量具有愈密切的相关性。

表3、4中的相关性分析结果表明:除丙二醛(MDA)含量外,平均隶属度与其它5个指标之间的相关系数均达到了极显著水平,决定系数均在0.5以上,说明可以用平均隶属度来代表其它5个指标表示甜角抗寒性的大小。丙二醛含量直接表现膜的受损程度,在体现品种的抗寒性差异方面敏感度不够。

3 结论与讨论

甜角属于热带果树,低温逆境对甜角幼苗的损害相当明显。本实验结果表明,甜角幼苗的生长发育受温度影响比较大,在20~30℃范围内,甜角幼苗生长发育良好,随着温度的升高,甜角叶片中相对电导率、MDA含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量和POD活性等均无明显变化,幼苗叶色深绿,长势强,生长旺盛,说明20~30℃是甜角生长发育的最适温度范围。当温度下降到15℃,甜角幼苗开始受到低温胁迫,叶片相对电导率、MDA含量、脯氨酸含量和可溶性糖含量增加,POD活性增强,含水量下降;降到10℃时,幼苗叶片上述指标变化加剧,幼苗生长发育受到抑制,植株表现出顶端幼叶萎焉,老叶收缩变黄并脱落等低温危害症状。

植物在逆境条件下,叶片各项生理生化指标会发生明显变化,这是植物对不良环境的一种适应,许多研究表明,植物受到低温胁迫时,电导率值变大,MDA、脯氨酸和可溶性糖含量增加,POD活性增强^[10,17-21]。甜角幼苗在10℃条件下处理4d,植株生长发育停止,顶端幼叶萎焉,老叶收缩;处理8d后,叶片的相对电导率、MDA含量、脯氨酸含量和可溶性糖含量大幅度增加,含水量和POD活性快速下降,PRAKAYTONG品种生长停止,叶片开始变黄脱落,说明其抗寒性较SRITONG和SRITONGBAO品种差。在5℃条件下处理4d,甜角幼苗植株开始表现冻害症状,叶片脯氨酸含量和POD活性下降,叶片由绿色变成黑色水渍状;处理8d后,POD活性丧失,50%叶片失去绿色变枯;处理10d后,叶片全部枯萎脱落,植株死亡。甜角幼苗遇到低温初期,作为植物的正常抗逆反应,脯氨酸、可溶性糖的积累可增加细胞的渗透调节能力,不仅可以保持原生质体与环境的渗透平衡,还可以增加蛋白质的水合作用,有利于保持细胞膜结构的完整性,使细胞膜免受降解和破坏。POD活性上升,能在逆境中清除植物体内的活性氧,减少氧自由基的形成,减轻有毒物质对活细胞的毒害,延迟和阻止细胞结构的破坏,从而使植

物在一定程度上忍耐抵抗逆境胁迫。含水量下降,细胞的代谢活动减弱,防止低温对细胞结构的破坏。但是随着低温处理时间的延长,或者是温度的快速下降,MDA 的积累对生物膜和细胞造成伤害,POD 本身因低温逆境而受损伤,活性下降,甜角叶片脯氨酸含量和 POD 活性下降。

植物的抗性受多种因素影响,用单一指标很难反映植物的抗寒性,也不能揭示植物抗寒性的生理生化机理,隶属函数分析提供了在多项生理生化指标测定的基础上对材料进行综合评价的方法,将它应用于抗性品种的选择,更具科学性和可靠性^[15-16,23]。通过平均隶属度评价结果,3 个甜角品种中,SRITONG 的抗寒性最强,PRAKAYTONG 的耐寒性最弱。

参考文献:

- [1] Siddig K, Ebert G, Ludders P. Tamarind (*Tamarindus indica* L.): A review on a multipurpose tree with promising future in the Sudan [J]. *Angewandte Botanik*, 1999, 73(5-6): 202-205
- [2] 中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1988, 39: 216-217
- [3] 赵 静, 冯叙桥, 吴永娴. 酸角的营养成分分析[J]. *营养学报*, 2011, 23(4): 378-379
- [4] Chindaprasert T S. Tamarind (*Tamarindus indica* L.) plant genetic resources in Thailand [J]. *Thai Journal of Agricultural Science*, 1996 (1): 1-11
- [5] 赵一鹤, 杨时宇, 王兵益, 等. 泰国甜角嫁接繁殖技术研究[J]. *云南大学学报: 自然科学版*, 2006, 28(6): 547-553
- [6] 赵一鹤, 杨时宇, 李 昆. 泰国甜角不同栽培品种果实营养成分分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2005, 14(3): 57-58
- [7] Tomasz A, Orville M L. Seasonal changes in cold hardening on sensitivity of *Rhododendron* L. [J]. *Amer Soc Hort Sci*, 1996, 121: 301-306
- [8] 邱乾栋, 吕晓贞, 臧德奎, 等. 植物抗寒生理研究进展[J]. *山东农业科学*, 2009(8): 53-57
- [9] 曹慧明, 史作民, 周晓波, 等. 植物对低温环境的响应及其抗寒性研究综述[J]. *中国农业气象*, 2010, 31(2): 310-314
- [10] 贺 磊, 游 凯, 李远芳, 等. 5 种典型热带引种园林植物幼苗抗寒性研究[J]. *中南林业科技大学学报*, 2011, 31(2): 65-71
- [11] 谢晓全, 李映雪, 张耀鸿. 园林植物抗寒性测定技术研究[J]. *福建林业科技*, 2009, 35(3): 244-249
- [12] 赵一鹤, 杨时宇, 李 昆. 世界酸角研究现状及进展[J]. *云南农业大学学报*, 2005, 20(1): 65-72
- [13] 段 旭, 谢应齐, 龙卫红. 云南近百年春季气温变化层次结构和突变特征以及低温冷害天气(I) [J]. *云南大学学报*, 1999, 21(1): 48-51
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000
- [15] 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
- [16] 方小平, 李昌艳, 胡光平. 贵州 4 种木兰科植物幼苗的抗寒性研究[J]. *林业科学研究*, 2010, 23(6): 862-865
- [17] 刘云鹏, 徐福元, 朱兴俊, 等. 杨树黄化苗木叶部氧化酶及 MDA 响应特征[J]. *林业科学研究*, 2010, 23(3): 355-361
- [18] 张保青, 杨丽涛, 李杨瑞. 自然条件下甘蔗品种抗寒生理生化特性的比较[J]. *作物学报*, 2011, 37(3): 496-505
- [19] Artus N N, Uemura M. Constitutive expression of the cold regulated *Arabidopsis thaliana* COR15, a gene affects both chloroplast and protoplast freezing tolerance [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 13404-13409
- [20] 阙生全, 胡 丹, 张 燕. 低温胁迫对彩色马蹄莲生理生化特性的影响[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(2): 486-487
- [21] 罗焕亮, 徐位力, 李建忠, 等. 马占相思对低温胁迫适应性的研究[J]. *华南农业大学学报: 自然科学版*, 2002, 23(2): 51-53
- [22] 司剑华, 卢素锦. 低温胁迫对 5 种桉柳抗寒性生理指标的影响[J]. *中南林业科技大学学报*, 2010, 30(8): 78-81
- [23] 许东新, 庄柄莉, 薛建辉, 等. 南京地区 5 个常绿阔叶树种的抗寒性评价[J]. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2010, 34(3): 72-76