

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201507029

蒋景龙,李丽,赵桦,等. 低温胁迫对三种柑橘叶片抗性生理特性影响[J]. 广西植物, 2016, 36(2):208-215

JIANG JL, LI L, ZHAO H, et al. Low temperature stress affected physiological characters in three varieties of *Citrus* leaves[J]. Guihaia, 2016, 36(2):208-215

低温胁迫对三种柑橘叶片抗性生理特性影响

蒋景龙¹, 李 丽², 赵 桦¹, 李新生³, 沈季雪¹, 徐卫平¹(1. 陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723001; 2. 陕西理工学院 化学与环境科学学院
陕西 汉中 723001; 3. 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723001)

摘 要: 以陕南地区的 3 种主栽柑橘离体叶片为材料, 分别以 5、0、-5 和 -10 ℃ 进行低温处理, 分析与耐寒性相关的生理响应, 并采用隶属函数法分析 3 种柑橘的抗寒能力以及通过主成分分析评价各个测定指标的贡献率。结果表明: 随着处理温度的降低, 3 种柑橘离体叶片均依次出现叶片卷曲、叶片细胞内的水分外渗, 细胞内结冰导致叶片僵硬和最终的叶片内外结冰情况, 叶片形态变化结果显示 3 种柑橘抗寒能力强弱依次为日南 1 号>兴津>泛亚特早。随处理温度的降低, 3 种柑橘离体叶片的相对电导率(REC)和丙二醛(MDA)均从 0 ℃ 处理时呈显著升高趋势, -10 ℃ 处理时达到最高值, 同一低温处理条件下 REC 和 MDA 值的大小顺序均为泛亚特早>兴津>日南 1 号。O₂^{·-}、H₂O₂ 和可溶性糖含量总体保持升高的趋势, 而脯氨酸含量呈先显著升高后降低的趋势。抗氧化酶 SOD、CAT 和 APX 的活性及抗氧化物质 ASC 含量均呈现先升高后下降的趋势。REC 和 MDA 综合指标的累积贡献率高于 85%, 具有较强的代表性, 可作为柑橘抗寒性分析的重要指标, 平均隶属度分析结果表明 3 种柑橘抗寒能力依次为日南 1 号>兴津>泛亚特早。

关键词: 柑橘, 低温, 相对电导率, 隶属函数, 脯氨酸

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)02-0208-08

Low temperature stress affected physiological characters in three varieties of *Citrus* leaves

JIANG Jing-Long¹, LI Li², ZHAO Hua¹, LI Xin-Sheng³, SHEN Ji-Xue¹, XU Wei-Ping¹

(1. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China;

2. Chemical and Environmental Sciences, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001,

China; 3. Shaanxi Key Laboratory of Bio-resources, Hanzhong 723001, China)

Abstract: Three cultivars of *Citrus* planted in the southern area of Shaanxi Province were used as experimental materials, and their detached leaves were treated at 5 ℃, 0 ℃, -5 ℃ and -10 ℃ to analyze the physiological responses related with cold hardiness of *Citrus* under low temperature stress. Meanwhile the method of subordinate function was used to compare the cold resistance abilities of *Citrus* and measure parameter and their contribution rate were analyzed by using principal components analysis. The results showed that three varieties of *Citrus* leaves *in vitro* were successively appear leaf curl, water leakage inside the leaf cells, intracellular freezing and eventually lead to stiff blades and external icing with the processing temperature decreases. Changes results of leaf morphology showed that the order of cold tolerance in three varieties of *Citrus* was Nichinan 1>Okitsu>Fanyatezao. The relative electric conductivity (REC) and malondialde-

收稿日期: 2015-07-27 修回日期: 2015-12-07

基金项目: 陕西省自然科学基金(2014JQ3113); 陕西省教育厅自然科学基金(14JK1158); 陕西理工学院科研基金(SLGKY15-41) [Supported by the Natural Science Foundation Research Project of Shaanxi Province (2014JQ3113); Natural Science Research Project in Shaanxi Province Department of Education(14JK1158); Scientific Research Fund from Shaanxi University of Technology (SLGKY15-41)]。

作者简介: 蒋景龙(1980-), 男, 山东枣庄人, 博士, 讲师, 硕士生导师, 主要从事逆境植物学研究, (E-mail)jiangjinglong511@163.com。

hyde (MDA) of detached leaf all increased obviously under the temperature of 0 °C and reached the max value upon the temperature of -10 °C in three varieties of *Citrus* as temperature decreased. REC and MDA value at the same low temperature conditions was the order of Fanyatezao>Okitsu>Nichinan 1. The content of O_2^- , H_2O_2 and soluble sugar all kept the overall rising trend and proline significantly increased after the first decreased. The activities of SOD, CAT and APX as well as the content of ASC generally increased first and then decreased. The results showed that the cumulative contribution of REC and MDA composite indicator was higher than 85% and had strong representation as *citrus* cold analysis of key indicators. The results identified by the average degree of membership hardness indicated that the order of cold tolerance in three varieties of *Citrus* was Nichinan 1>Okitsu>Fanyatezao.

Key words: *Citrus*, low temperature, relative electric conductivity, subordinate function, proline

冻害是影响柑橘生长发育的常发性自然灾害, 极端地区甚至年年发生 (Pietrini et al, 2005)。陕西省柑橘种植主要分布在陕西南部的汉中、安康和商洛地区, 栽培历史悠久, 是陕南地区农业的主导产业之一。然而, 陕南地区地处亚热带的北缘, 也是中国柑橘种植的最北缘, 冻害的多发地带。近几年陕南柑橘连续遭受周期性大面积冻害。2012–2013 年陕南地区发生三十年一遇的持续低温天气, 柑橘受冻面积占全省柑橘总种植面积的 1/4, 汉中主产区柑橘受灾尤为严重 (李新生等, 2014)。影响柑橘冻害发生的因素有很多方面, 如地理纬度、海拔高度、气候变化等外界环境因素和柑橘品种、砧木、嫁接方式等自身因素 (李新生等, 2014)。低温冻害与低温强度呈指数关系, 随低温强度的增大, 冻害率呈增加趋势 (朱海涛等, 2012)。低温胁迫影响柑橘正常的生长发育及生理生化指标, 同时启动低温驯化相关的基因表达和信号传导途径 (陈志远等, 2014)。李卫等 (1998) 的研究表明离体原生质体抗寒性与田间植株的春梢中部的正常叶片抗寒性之间有显著的正相关。周晓音等 (2010) 选择 6 个柑橘品种的完整植株进行低温处理, 表明宫川和温州蜜柑较其它柑橘品种对低温的耐性较强。马文涛和樊卫国 (2014) 对贵州 3 个野生柑橘种类宜昌橙、酸橙、白黎檬和栽培品种默科特, 进行一系列低温冷冻处理 24 h 后检测 MDA 含量、可溶性糖、可溶性蛋白和 POD 和 SOD 活性等生理指标, 认为抗寒性强的柑橘枝条有更强的抗氧化胁迫能力和渗透调节能力。

柑橘叶片的原生质体、新梢、整个植株和枝条均被用作试验材料进行相关研究, 而利用柑橘离体叶片进行低温胁迫相关研究则尚未见报道。叶片是植物进行光合作用和呼吸的主要器官, 同时也是冻害最容易侵袭的部位。重冻时, 柑橘叶片呈桶状卷曲, 很快萎凋干枯, 落叶严重, 光合作用停止, 轻冻时可使柑橘叶片表皮细胞受害, 蒸腾作用加强, 叶片慢慢

卷缩或部分落叶, 光合作用减弱。本研究以陕南地区引种的抗冻性较强品种日南 1 号和兴津及本地培育并推广种植的抗冻性相对较差品种泛亚特早的离体叶片为材料, 分析 5、0、-5、-10 °C 低温胁迫下柑橘离体叶片中与抗寒性相关的生理指标, 并采用隶属函数法对其抗寒性进行综合评价, 结果表明 3 种柑橘抗寒能力依次为日南 1 号>兴津>泛亚特早与生产实践中抗寒能力相一致。

1 材料与方法

1.1 材料培养与低温胁迫处理

本研究用兴津 (Okitsu)、日南 1 号 (Nichinan 1) 和泛亚特早 (Fanyatezao) 3 个品种均由汉中泛亚绿色食品有限公司苗圃基地提供, 3 种柑橘苗均为 1 年生发育良好的嫁接苗 (砧木为枸橘, 穗木为 3 种多年生的穗条)。将 3 种盆栽橘苗在人工气候培养箱内预培养 2 周, 温度为 25 °C/18 °C (昼/夜), 空气相对湿度为 80%, 光照时间为 16 h/8 h (昼/夜), 光照强度为 4 000 lx。2 周后选取生长一致橘苗, 摘取植株中部健康且大小一致的柑橘叶片, 分别置于 5、0、-5、-10 °C 的冰箱低温胁迫 12 h, 以 25 °C/18 °C (昼/夜) 人工气候培养箱培养的柑橘离体叶片为对照 (CK), 处理温度误差为 ± 0.5 °C。处理后的样品分别进行各种生理指标的测定, 所有指标均设置 3 个重复。将 3 种柑橘对照组和 5、0、-5、-10 °C 低温处理的离体叶片进行拍照, 比较低温胁迫下叶片的形态变化。

1.2 生理指标测定

相对电导率 (REC) 测定参照令凡等 (2015) 的方法; 可溶性糖、脯氨酸、抗坏血酸 (ASC) 含量测定均参照李玲等 (2009) 的方法; 丙二醛 (MDA) 含量测定参照 Farooq et al (2009) 的方法; 过氧化氢 (H_2O_2) 和超氧阴离子 (O_2^-) 含量测定均参照 Jiang et al

(2012,2013)的方法;SOD、CAT 和 APX 活性的检测均参照蒋景龙等(2014)的方法。

1.3 隶属函数与各单项指标的主成分分析

各指标的隶属函数分析参照孟艳琼等(2009)和司剑华和卢素锦(2010)的方法。参考廖景容(2005)的方法,隶属度按 5 级制划分标准:隶属度 ≥ 0.7 为强抗(I级);隶属度 ≥ 0.6 为抗(II级);隶属度 ≥ 0.4 为中抗(III级);隶属度 ≥ 0.3 为弱抗(IV级);隶属度 < 0.3 为不抗(V级)。抗寒系数(%)=低温胁迫后指标测定值/对照组指标测定值 $\times 100\%$,各单项指标的主成分分析参照刘杜玲等(2015)的方法。

1.4 数据分析

用 Excel 2007、Origin7.5 SR1 和 SPSS16.0 软件进行制图和统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同低温胁迫下 3 种柑橘离体叶片的形态变化

如图 1 所示,与对照组相比,在 5℃处理时,3 种柑橘叶片均有些卷曲,但卷曲程度有差别,日南 1 号卷曲较轻,兴津其次,泛亚特早卷曲严重(图 1:A, B, C)。当处理温度降为 0℃处理时,3 种柑橘叶片均有少量水分析出,其中泛亚特早水分析出最多,日南 1 号最少,兴津居中(图 1:G, H, I)。随着温度继续下降至-5℃,叶片中细胞开始结冰导致叶片僵硬,其中泛亚特早最为明显,而兴津其次,日南 1 号较轻(图 1:G, K, L)。在-10℃处理时 3 种柑橘叶片表现出了细胞内外结冰情况,其中泛亚特早叶片不仅表现出僵硬而且叶片外面结冰严重,兴津叶片虽然僵硬加剧但细胞外结冰相对泛亚特早较少,日南 1 号叶片细胞内也严重结冰,但未发现细胞外结冰情况(图 1:M, N, O)。以上 3 种柑橘叶片在不同低温胁迫下的形态变化表明,日南 1 号抗冻性较强,兴津其次,泛亚特早最弱。

2.2 叶片 REC 和 MDA 含量的变化

由图 2 可知,与对照组相比 0℃处理时 3 种柑橘 REC 均显著性升高,表明叶片细胞膜系统开始受到破坏。-5℃处理时,泛亚特早、兴津和日南 1 号 REC 分别较对照组显著增加 58.14%、39.98%和 19.27%,表明此时膜系统伤害较重。-10℃处理时,3 种柑橘 REC 达到最高值,表明膜系统受到严重破坏。泛亚特早 REC 增幅较同温度处理的兴津

和日南 1 号高,表明泛亚特早膜系统破坏程度较其他 2 个品种严重。3 种柑橘离体叶片的 MDA 含量随着温度降低均呈逐渐增加的趋势,其中泛亚特早和兴津 MDA 含量在 0℃处理时开始较对照组显著增加,而日南 1 号 MDA 含量在-5℃处理时开始较对照组显著增加,均在-10℃处理时达最大值。从总体趋势看,随着处理温度降低,3 种柑橘离体叶片的 REC 和 MDA 含量均呈现逐渐升高的趋势。

2.3 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 含量的变化

图 3 显示,与对照组相比,泛亚特早的 H_2O_2 含量在 5℃处理时开始显著升高,兴津和日南 1 号的 H_2O_2 含量则在-5℃处理时开始显著升高,而且泛亚特早的 H_2O_2 含量均较同期其他 2 个品种 H_2O_2 含量的增加幅度大。兴津和泛亚特早的 $O_2^{\cdot-}$ 含量在 0℃处理时开始显著升高,并随处理温度的降低呈逐渐增加的趋势;而日南 1 号的 $O_2^{\cdot-}$ 含量在-5℃处理时开始显著升高,-10℃处理时较-5℃处理时 $O_2^{\cdot-}$ 含量有显著下降,但和对照组无显著性差异。从总体趋势看,随着处理温度的降低,3 种柑橘离体叶片的 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 含量均呈现逐渐升高的趋势。

2.4 渗透调节物质的变化

图 4 显示,5℃处理时,3 种柑橘离体叶片脯氨酸含量与对照组相比无显著变化;0℃处理时日南 1 号和兴津的脯氨酸含量明显升高,而泛亚特早则无显著变化;-5℃处理时,3 种柑橘脯氨酸含量较对照组均显著增加,且均达到最大值。-10℃处理时,日南 1 号和兴津的脯氨酸含量较对照组显著升高,但兴津的脯氨酸较-5℃处理时显著降低,而日南 1 号的脯氨酸含量较-5℃处理时无显著差异;泛亚特早脯氨酸含量较-5℃处理时显著降低。3 种柑橘离体叶片的可溶性糖含量均在处理温度为 0℃时与对照组相比开始显著性升高,-10℃处理时其含量达到最高值。总体分析显示,随着处理温度的降低,3 种柑橘离体叶片的脯氨酸含量均呈现先升高后降低的趋势,而可溶性糖则呈现逐渐升高的趋势。

2.5 抗氧化系统的变化

图 5 显示,与对照组相比,兴津和日南 1 号 SOD 活性在 5℃处理时开始显著升高,泛亚特早 SOD 活性在 0℃处理时开始显著升高;兴津和泛亚特早 SOD 活性在 0℃处理时达到峰值,在-5℃和-10℃处理时 SOD 活性较 0℃处理时显著下降,但兴津 SOD 活性较对照组差异不显著,而泛亚特早 SOD 活性较对照组显著降低;日南 1 号 SOD 活性在-10℃

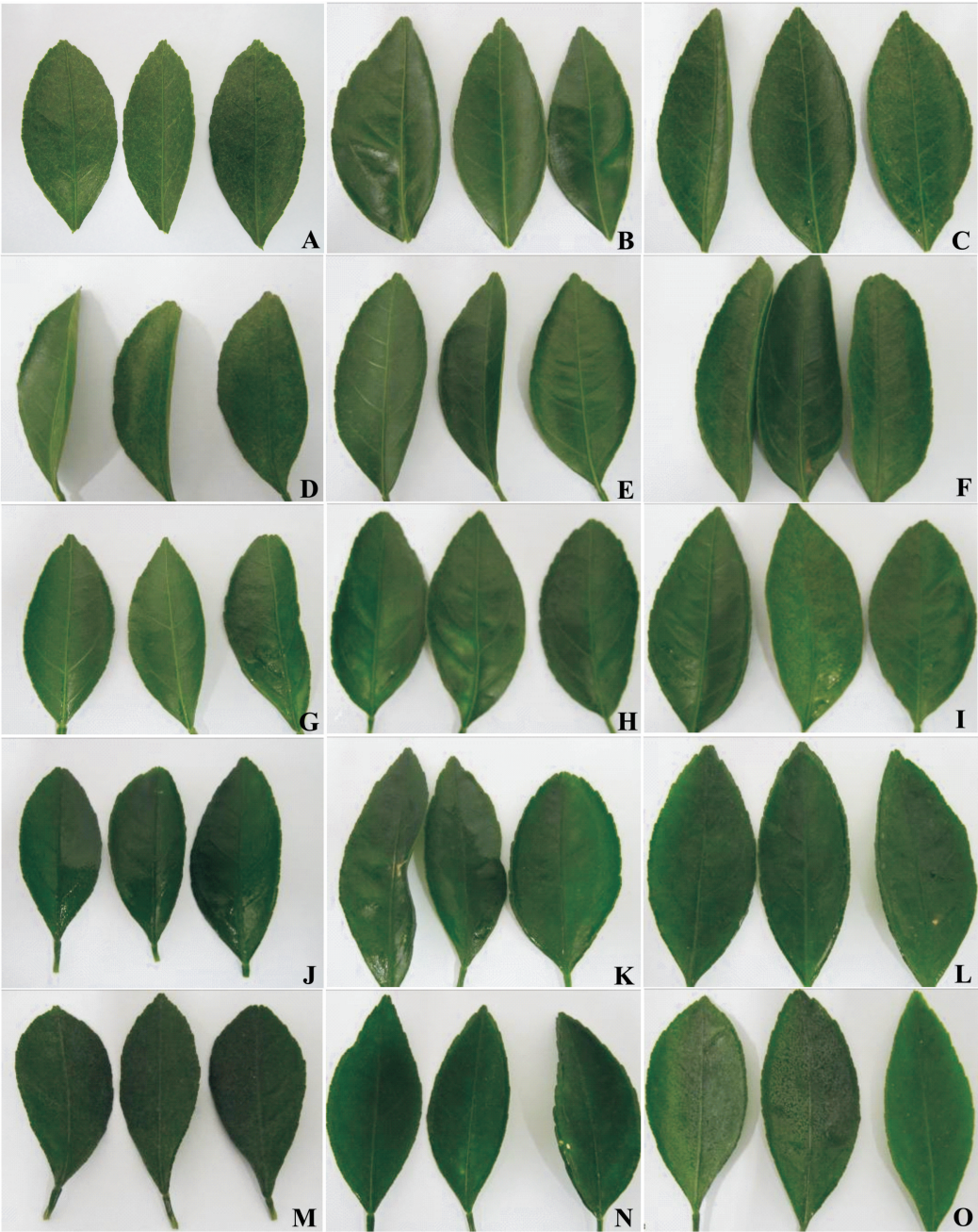


图 1 不同低温胁迫下 3 种柑橘叶片形态变化 A、D、G、J、M. 兴津品种叶片；B、E、H、K、N. 日南 1 号品种叶片；C、F、I、L、O. 泛亚品种叶片；A、B、C. 对照组叶片；D、E、F. 5 ℃ 处理叶片；G、H、I. 0 ℃ 处理叶片；J、K、L. -5 ℃ 处理叶片；M、N、O. -10 ℃ 处理叶片。
Fig. 1 Changes of morphology in detached leaves of three cultured varieties of *Citrus* under different low temperature stresses A、D、G、J、M. Leaves of Okitsu；B、E、H、K、N. Leaves of Nichinan 1；C、F、I、L、O. Leaves of Fanyatezao；A、B、C. Leaves of control group；D、E、F. Leaves of 5 ℃ treated group；G、H、I. Leaves of 0 ℃ treated group；J、K、L. Leaves of -5 ℃ treated group；M、N、O. Leaves of -10 ℃ treated group.

处理时较-5 ℃ 处理时显著下降,但仍显著高于对照
组。随处理温度的降低,5 ℃ 处理时叶片的 CAT 活
性均较对照组显著升高;0 ℃ 处理时 CAT 活性均达
到峰值;-5 ℃ 和-10 ℃ 处理时 CAT 活性均较 0 ℃
处理时显著下降,但兴津和泛亚特早 CAT 活性和对
照组无显著性差异,而日南 1 号 CAT 活性仍显著高
于对照组。APX 活性在 0 ℃ 处理时达到峰值,-5
℃ 和-10 ℃ 处理时较 0 ℃ 处理时显著下降。与对照
组相比,兴津和日南 1 号 APX 活性在 5 ℃ 处理时开
始显著升高,而泛亚特早 APX 活性在 0 ℃ 处理时开

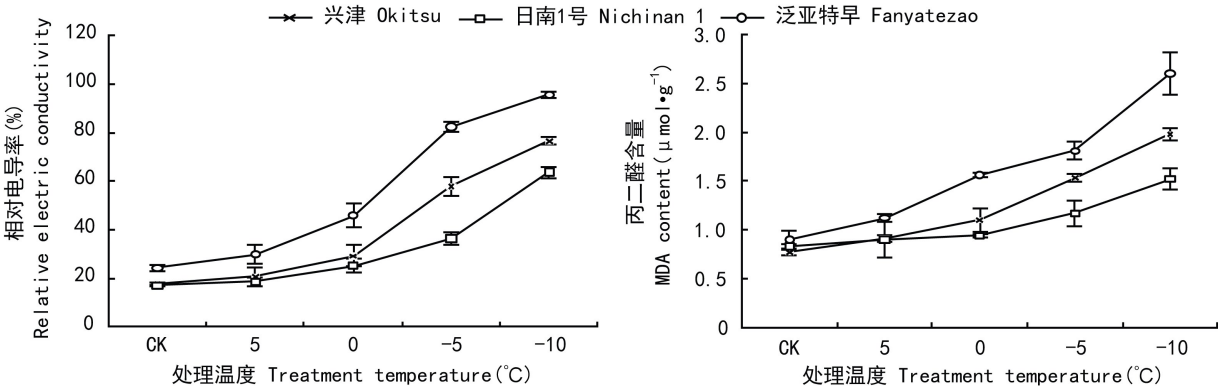


图 2 不同低温胁迫下柑橘离体叶片 REC 和 MDA 含量的变化

Fig. 2 Changes of REC and MDA contents in detached leaves of *Citrus* under different low temperature stresses

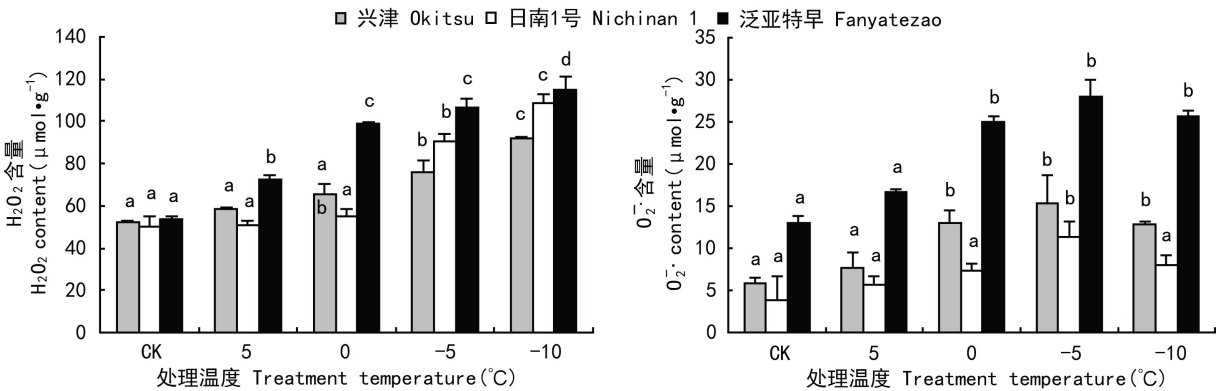


图 3 不同低温胁迫下柑橘离体叶片 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量的变化 不同字母表示处理温度间在 0.05 水平存在显著性差异。下同。

Fig. 3 Changes of H_2O_2 and $\text{O}_2^{\cdot-}$ contents in detached leaves of *Citrus* under different low temperature stresses

Different normal letters indicate significant differences among treatments with different temperatures at 0.05 level. The same below.

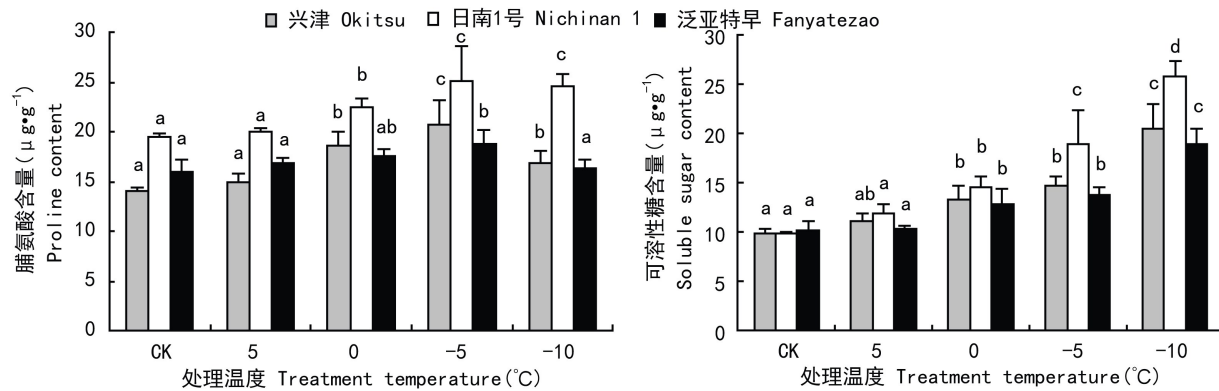


图 4 不同低温胁迫下柑橘离体叶片脯氨酸和可溶性糖含量的变化

Fig. 4 Changes of proline and soluble sugar contents in detached leaves of *Citrus* under different low temperature stresses

始显著升高;-5 °C 和-10 °C 处理时,兴津 APX 活性无显著性差异,而日南 1 号 APX 活性仍显著高于对照组;泛亚特早 APX 活性在-5 °C 处理时和对照组无显著性差异,但在-10 °C 处理时较对照组显著降低。

随处理温度降低,ASC 含量在-5 °C 处理时达到峰值,-10 °C 处理时显著下降,但均显著高于对照组。兴津和泛亚特早 ASC 含量在 0 °C 处理时开始显著升高,而日南 1 号 ASC 含量在 5 °C 处理时开始显著

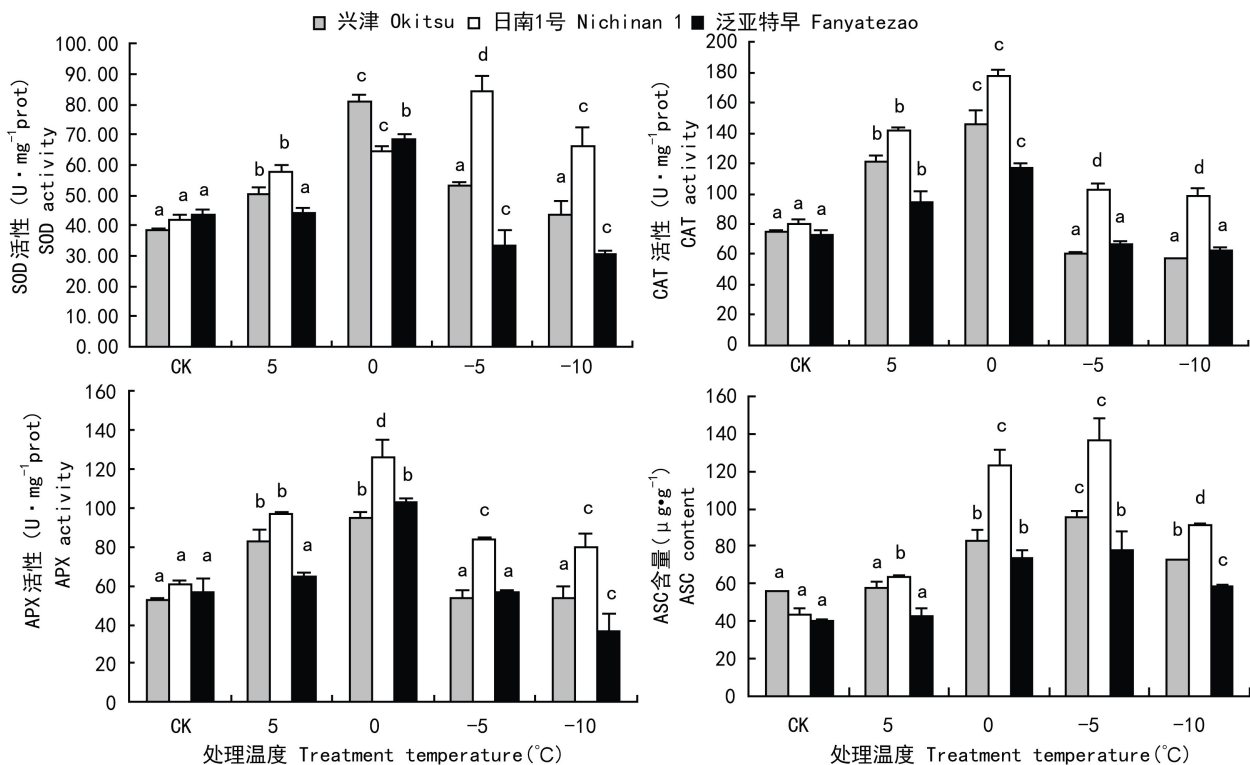


图5 不同低温胁迫下柑橘离体叶片抗氧化系统的变化

Fig. 5 Effects of different low temperature stresses on proline and soluble sugar contents in detached leaves of *Citrus*

升高。从总体趋势看,随着处理温度的降低,3种柑橘离体叶片的3种酶SOD、CAT、APX活性和ASC均呈现先升高后降低的趋势。

2.6 隶属函数与各单项指标的主成分分析

3种柑橘抗寒性生理指标隶属函数值及综合分析见表1。平均隶属度反映了品种抗寒能力的大小,其值越大则抗寒性越强,3种柑橘的抗寒性表现为日南1号>兴津>泛亚特早。根据廖景容等(2005)的隶属度5级制划分标准,3种柑橘抗寒性生理指标平均隶属度均在0.4~0.6之间,抗寒性属于中抗等级。对3种柑橘的10项生理指标的抗寒系数进行主成分分析,相对电导率和丙二醛的综合指标的贡献率分别为74.882%和22.032%,一般累积贡献率大于85%具有较强的代表性,这两个指标基本上包括了10个生理指标所代表的全部信息,可以用这两个指标进行柑橘的抗寒性分析。

3 讨论

以离体材料(如离体叶片、枝条、新梢、原生质体等)和实验模型开展逆境胁迫研究的报道很多,

尤其在研究多年生木本植物逆境条件下的生理生化变化方面。离体叶片与活体或连体叶片生理生化变化是否具有一致性方面的研究较少。曾小美等(2002)通过检测拟南芥连体和离体叶片光合作用发现测得的光响应结果是一致的。张颖等(2011)经过反复实验,发现在人工控制条件下生长部位一致、年龄相同的离体叶片叶绿素含量、膜透性和细胞生长状况等生理特性在同一基因型内的变化很小,可以准确鉴定杨树的耐盐潜力。而李自龙等(2014)和令凡等(2015)仅采用不同品种油橄榄的离体叶片分别研究渗透胁迫和低温胁迫下的生理响应,但未检测活体叶片生理变化规律。关于低温胁迫下柑橘离体叶片与活体叶片之间生理生化变化是否具有一致性尚未见相关研究报道。该研究选择抗冻性较强的日南1号和兴津作为材料与本地早熟品种泛亚特早进行低温胁迫下生理生化比较。随处理温度的降低,3种柑橘离体叶片均依次出现叶片卷曲,叶片细胞内的水分外渗,细胞内结冰导致叶片僵硬和最终的叶片内外结冰情况。一般5℃和0℃处理的柑橘处于寒害阶段,此时生长受到抑制,代谢减弱,叶片会发生轻微卷曲,严重者出现轻微水分外

表 1 低温胁迫下柑橘各指标隶属函数值及各综合指标的系数及贡献率
Table 1 Subordinate function values and coefficient of comprehensive indexes and their contribution rates of *Citrus* under low temperature stress

测定指标 Measure parameter	品种 Variety			综合指标 Comprehensive index	
	兴津 Okitsu	日南 1 号 Nichinan 1	泛亚特早 Fanyatezao	相对电导率 REC	丙二醛 MDA
相对电导率 Relative electric conductivity	0.604	0.653	0.562	-0.117	0.192
丙二醛含量 MDA content	0.575	0.645	0.562	-0.127	0.096
脯氨酸含量 Proline content	0.436	0.498	0.396	0.066	0.372
可溶性糖含量 Soluble sugar content	0.371	0.392	0.334	0.128	-0.081
SOD 活性 SOD activity	0.343	0.487	0.350	0.123	0.136
O ₂ ⁻ 含量 O ₂ ⁻ content	0.456	0.542	0.415	0.118	0.184
CAT 活性 CAT activity	0.385	0.405	0.354	0.126	-0.111
H ₂ O ₂ 含量 H ₂ O ₂ content	0.553	0.606	0.411	-0.091	-0.310
APX 活性 APX activity	0.343	0.438	0.399	0.130	-0.036
ASC 含量 ASC content	0.475	0.510	0.424	0.099	-0.282
平均隶属度 Average degree of membership	0.454	0.518	0.420		
抗寒排序 Order of cold resistance	2	1	3		
贡献率 (%) Contribution				74.882	22.032
累计贡献率 (%) Cumulative contribution				74.882	96.914

渗,这与该研究中的结果相一致,当温度降低为-5℃和-10℃时,柑橘则分别受到2级冻害和5级冻害,此时叶片将出现细胞结冰,长时间冻害将导致叶片变黄枯萎脱落。该研究在-5℃和-10℃处理时均出现了叶片僵硬,叶片外结冰的情况符合冻害的特征。但在低温处理过程中3种柑橘从叶片形态变化上表现明显的差异性,泛亚特早在受到冻害时细胞内外均出现严重结冰状况,表现出相对较弱的抗冻能力,而日南1号仅表现为细胞内结冰。根据REC增幅超过50%来确定半致死温度分析,3种柑橘REC增幅超过50%时的温度分别为泛亚特早-5℃,兴津在-10℃,而日南1号虽显著升高但均没有超过50%,表明日南1号的抗寒性较其他2个品种强。随着温度降低,3种柑橘叶片中MDA的相对增幅表现为日南1号<兴津<泛亚特早,表明日南1号遭受低温伤害的程度小。REC和MDA均与植物的抗寒性呈负相关,大多数植物在低温胁迫下REC和MDA含量升高(徐维杰等,2013;吴广霞等,2008;李冬花等,2014)。低温胁迫破坏了ROS代谢平衡导

致ROS大量积累,较高浓度则会对植物体造成伤害(张梦如等,2014)。随温度的降低,3种柑橘离体叶片的O₂⁻和H₂O₂含量一直呈逐渐增加趋势,在0℃处理时叶片细胞内开始积累O₂⁻和H₂O₂,当温度降至-5℃和-10℃时积累了过量的活性氧,加剧了膜脂过氧化作用。日南1号和兴津的H₂O₂含量在-5℃处理时开始显著升高而泛亚特早在5℃处理时就开始显著升高且泛亚特早的H₂O₂含量均较同期日南1号和兴津的增加幅度大,O₂⁻和H₂O₂的变化趋势相似,这些表明低温胁迫下日南1号和兴津叶片受到的伤害较泛亚特早轻。

脯氨酸和可溶性糖作为渗透调节物质对维持膜的完整性及提高植物的抗逆性具有重要的意义(马正华等,2009)。结果表明随温度的降低,3种柑橘离体叶片中脯氨酸积累均呈先升后降的趋势,而可溶性糖含量则呈现一直升高的趋势。这些表明,这两种渗透调节物质在抵抗柑橘的低温胁迫过程中可能存在不同的机制。在低温胁迫过程中,尽管3种柑橘渗透调节物质的变化趋势一致,但日南1号叶

片中的两种渗透调节物质的积累均明显高于泛亚特早和兴津。SOD、CAT 和 APX 是植物体内清除自由基的重要保护酶,能清除植物体内的 O_2^- 和 H_2O_2 (Matysik et al, 2002)。3 种柑橘离体叶片中 SOD、CAT 和 APX 活性以及 ASC 含量变化显示,5 ℃ 和 0 ℃ 处理导致了抗氧化酶活性上升,表明轻度的低温胁迫提高了柑橘的 ROS 清除能力,增强了抗氧化酶的活性,但当温度降至 -5 ℃ 和 -10 ℃ 时,严重的低温胁迫超出了抗氧化系统自我调节的范围,抗氧化系统又表现出了明显的下降趋势。由图 4 可以看出,日南 1 号和兴津的抗氧化酶活性和抗氧化物质含量始终高于泛亚特早,这表明活性氧的清除能力也是抗寒能力的重要参数。

平均隶属度分析结果表明日南 1 号抗寒能力较泛亚特早和兴津强,可作为陕南地区柑橘种植的主栽品种,这也与生产实践中这两个品种具有较强抗冻性一致。对 3 种柑橘的 10 项生理指标的抗寒系数进行主成分分析,相对电导率和丙二醛的综合指标的累积贡献率大于 85%,具有较强的代表性,可以作为柑橘的抗寒性分析的重要指标。

参考文献:

- CHEN ZY, DI LJ, WANG GD, et al, 2014. Review of molecular mechanism of cold resistance in *Citrus* [J]. *Nor Hortic*, 38(1): 188-191. [陈志远, 邸丽俊, 王国栋, 等, 2014. 柑橘冻害抵抗分子机理研究进展 [J]. *北方园艺*, 38(1): 188-191.]
- FAROOQ M, BASRA SMA, WAHID A, et al, 2009. Improving the drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid [J]. *J Agron Crop Sci*, 195(4): 237-246.
- JIANG JL, LI L, XUH, et al, 2014. Physiological responses of grass pea root to oxidative stress induced by H_2O_2 [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 34(9): 1 995-1 800. [蒋景龙, 李丽, 徐皓, 等, 2014. 山豆根根系对 H_2O_2 诱导氧化胁迫的生理应答 [J]. *西北植物学报*, 34(9): 1 995-1 800.]
- JIANG JL, SUM, CHEN YR, et al, 2013. Correlation of drought resistance in grass pea (*Lathyrus sativus* L.) with reactive oxygen species scavenging and osmotic adjustment [J]. *Biologia*, 68(2): 231-240.
- JIANG JL, SUM, WANG LY, et al, 2012. Exogenous hydrogen peroxide reversibly inhibits root gravitropism and induces horizontal curvature of primary root during grass pea germination [J]. *Plant Physiol Biochem*, 53: 84-93.
- LI DH, CHEN YP, BAO ME, et al, 2014. Effect of exogenous salicylic acid on physiological characteristics of *Sabina seedlings* under low temperature stress [J]. *Guihaia*, 34(2): 220-226. [李冬花, 陈银萍, 鲍美娥, 等, 2014. 外源水杨酸对低温胁迫下圆柏属植物幼苗生理特性的影响 [J]. *广西植物*, 34(2): 220-226.]
- LI L, LI NH, JIANG SM, et al, 2009. Experimental guidance of plant physiology module [M]. Beijing: Science Press: 48-50. [李玲, 李娘辉, 蒋素梅, 等, 2009. 植物生理学模块实验指导 [M]. 北京: 科学出版社: 48-50.]
- LI W, SUN ZH, ZHANG WC, et al, 1998. Establishment of an index to appraise cold resistant breeding for citrus in early stage [J]. *Acta Bot Sin*, 40(9): 827-830. [李卫, 孙中海, 章文才, 等, 1998. 柑橘抗寒育种早期鉴定的一种指标 [J]. *植物学报*, 40(9): 827-830.]
- LI XS, JIANG H, GUO NW, 2014. Shaanxi *Citrus* resources development and industrialization [M]. Beijing: Science Press: 120-133. [李新生, 江海, 郭念文, 2014. 陕西柑橘资源与产业化开发研究 [M]. 北京: 科学出版社: 120-133.]
- LI ZL, XU XF, JIAO J, et al, 2014. Physiological responses and mechanism of drought resistance in leaves of different *Olive* varieties under osmotic stress [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 34(9): 1 808-1 814. [李自龙, 徐雪凤, 焦健, 等, 2014. 不同品种油橄榄离体叶片对渗透胁迫的生理响应及其抗旱机制 [J]. *西北植物学报*, 34(9): 1 808-1 814.]
- LIAO JR, ZHENG ZY, ZHANG WX, et al, 2005. Comparing analysis of drought resistance and yield potential in different hybrid maize varieties [J]. *J Anhui Agric Sci*, 33(1): 7-10. [廖景容, 郑中阳, 张卫星, 等, 2005. 玉米不同杂交组合抗旱性、丰产性的研究 [J]. *安徽农业科学*, 33(1): 7-10.]
- LIU DL, ZHANG BY, SUN HM, et al, 2015. Comprehensive evaluation on cold resistance of early fruiting walnut cultivars [J]. *Acta Hortie Sin*, 42(3): 545-553. [刘杜玲, 张博勇, 孙红梅, 等, 2015. 早实核桃不同品种抗寒性综合评价 [J]. *园艺学报*, 42(3): 545-553.]
- LING F, JIAO J, LI CZ, et al, 2015. Physiological response and comprehensive evaluation of cold resistance under cold stress for different varieties of *Olea europaea* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 35(3): 508-515. [令凡, 焦健, 李朝周, 等, 2015. 不同油橄榄品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性综合评价 [J]. *西北植物学报*, 35(3): 508-515.]
- MA WT, FAN WG, 2014. Determination and comprehensive evaluation on cold-tolerance of wild *Citrus* from Guizhou [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 34(10): 2 063-2 069. [马文涛, 樊卫国, 2014. 贵州野生柑橘的抗寒性测定和综合评价 [J]. *西北植物学报*, 34(10): 2 063-2 069.]
- MA ZH, WANG LY, SONG WX, 2009. Physiological response of *Astragalus fenzelianus* and *Vicia amoena* to low temperature stress [J]. *Guihaia*, 29(4): 533-536. [马正华, 王柳英, 宋维秀, 2009. 西北黄芪和山野豌豆对低温胁迫的生理响应研究 [J]. *广西植物*, 29(4): 533-536.]
- MATYSIK J, BHALLU B, MOHANTY P, 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants [J]. *Curr Sci*, 82(5): 525-532.
- MENG YQ, ZHANG LF, WANG LH, et al, 2009. Effects of low temperature stress on the cold-resistance physiological indexes of six leaf-colored climbing shrub species [J]. *J Anhui Agric Univ*, 36(2): 172-177. [孟艳琼, 张令峰, 王雷宏, 等, 2009. 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*, 36(2): 172-177.]
- PIETRINIF, CHAUDHURI D, THAPLIYAL AP, et al, 2005. Analysis of chlorophyll fluorescence transients in mandarin leaves during a photo-oxidative cold shock and recovery [J]. *Agric Ecosyst Environ*, 106(2-3): 189-198.
- SI JH, LU SJ, 2010. Effects of low temperature stress on the cold-resistance physiological indexes of five *Tamarix* L. in Qinghai [J]. *J Cent S For Technol Univ*, 30(8): 78-81. [司剑华, 卢