

## 不同酸枣实生苗抗寒性差异比较

徐 龙, 唐 燕, 王新建\*

(塔里木大学 植物科学学院, 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300)

**摘要:** 为了筛选出抗寒能力强的酸枣类型, 以不同种源、株型和树龄酸枣实生苗为试验材料, 研究了人工设置低温胁迫处理和自然降温对酸枣实生苗离体枝条的脯氨酸、可溶性糖、丙二醛、可溶性蛋白含量的影响。结果表明: 脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量高有利于酸枣抗寒; 丙二醛含量高不利于抗寒。综合分析河北邢台市种源的酸枣抗寒能力最强, 其次是山西太原市、陕西渭南市和辽宁朝阳市。不同株型中, 直立枝弯曲型酸枣抗寒能力最强, 丛生型酸枣抗寒能力最差。2年生酸枣离体枝条抗寒能力强于1年生酸枣。脯氨酸、可溶性糖、丙二醛、可溶性蛋白含量可以作为衡量酸枣抗寒性的关键指标。

**关键词:** 酸枣实生苗; 抗寒性; 脯氨酸; 丙二醛; 可溶性糖; 可溶性蛋白

中图分类号: S665.1 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)10-0136-06

## Comparison on Cold Resistance of Different *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu Seedlings

XU Long, TANG Yan, WANG Xin-jian\*

(College of Plant Science, Tarim University, Key Laboratory of Protection & Utilization of Biological Resources in Tarim Basin of Xinjiang Production Construction Corps, Alar 843300, China)

**Abstract:** One-year *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu seedlings from four provenances with different plant types and different tree ages were used to study the effects of natural cooling in winter and different low-temperature treatment on the dormant branches' physiological and biochemical indicators, proline, soluble sugar, malondialdehyde (MDA) and soluble protein contents. The results showed that higher-level proline, soluble sugar, soluble protein in *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu favoured cold hardiness, with MDA being the opposite. The seedlings from Xingtai, Hebei province had the most cold hardiness, following by Taiyuan of Shanxi, Weinan of Shanxi and Chaoyang of Liaoning. Vertical branches bending seedlings had the strongest cold hardiness; tufted seedlings were the worst ones. Two-year *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu seedlings were more stronger than the 1-year ones based on a comprehensive analysis. Proline, soluble sugar, MDA and soluble protein content can be used as key measure indicators of *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu cold resistance.

**Key words:** *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu seedlings; cold resistance; proline; malondialdehyde (MDA); soluble sugar; soluble protein

酸枣 [*Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu], 原产我国, 古称棘, 又叫“野枣”。常用作绿篱、枣的砧木及枣树选种的原始材料<sup>[1]</sup>。新疆的枣业发展很快, 近年来采用酸枣直播建园, 多以不同种源酸

收稿日期: 2012-05-21

基金项目: 兵团科技攻关计划项目 (2011BA003); “973”计划前期研究专项 (2010CB134406)

作者简介: 徐 龙 (1987-), 男, 重庆彭水人, 在读硕士研究生, 研究方向: 果树遗传育种。E-mail: henry329524@sina.cn

\* 通讯作者: 王新建 (1963-), 男, 河南商丘人, 教授, 研究生导师, 主要从事果树遗传育种研究。E-mail: wxj\_2002@sina.com

枣实生苗作为嫁接砧木。2010 年新疆阿拉尔地区遭受历史罕见冻害,其 1 月份气温维持在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右,是导致该地区枣树遭受冻害的主要因素。笔者对该地区酸枣树冻害情况进行了实地调查,冻害指数高达 34.25%<sup>[2]</sup>。新疆的枣业发展很快,尤其是近年来采用酸枣直播建园的技术,枣树多以酸枣作为嫁接砧木。本研究以酸枣实生苗为试验材料,在人工设置低温处理和冬季自然降温条件下,研究其脯氨酸、可溶性糖、丙二醛、可溶性蛋白含量指标的动态变化,以筛选出抗寒能力强的酸枣类型,为酸枣引种、育种和栽培应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

2011 年 3 月引进河北邢台市、山西太原市、陕西渭南市、辽宁朝阳市种源以及新疆阿拉尔市酸枣播种于塔里木大学园艺站内。待酸枣苗长出后,进行正常田间管理。

不同种源酸枣材料:陕西渭南市、河北邢台市、辽宁朝阳市、山西太原市;新疆阿拉尔市不同株型、树龄酸枣材料:直立枝开叉型(1 年生)、直立枝开叉型(2 年生)、丛生型(1 年生)、丛生型(2 年生)、直立枝弯曲型(1 年生)、直立枝弯曲型(2 年生)。

1.2 试验处理

1.2.1 冬季自然降温胁迫处理 2011 年 10 月、11 月、12 月、翌年 1 月、2 月、3 月中旬分别选取生长一致的 1 年生和 2 年生二次枝枝条(避开芽眼),包在湿纱布(捏住纱布后挤不出水为标准)中带回试验室。记录当日和月平均气温。将离体枝条剪成 10~15 cm 枝段,用自来水冲洗除去表面的玷污物,然后用蒸馏水冲洗 3 次,用洁净滤纸吸干水分后,保存在铺有湿纱布或湿滤纸的瓷盘中。

1.2.2 人工设置低温胁迫处理 将枝条末端进行蜡封。将不同种源、株型、树龄酸枣蜡封后的枝条分成相等的 5 份,装入聚乙烯袋中,每份作为一个低温

处理,放于冰箱中( $0\sim4\text{ }^{\circ}\text{C}$ )保存备用。取参试的枝条放于低温试验箱(WD4005)内进行低温处理,设定温度为 $-20$ 、 $-25$ 、 $-30$ 、 $-35$ 、 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,降温速度为 $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{h}$ ,达到目的处理温度后维持 24 h。然后逐步升温至 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,升温速度亦为 $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{h}$ 。每种低温处理 10 株枝条,3 次重复。

1.3 测定指标和方法

脯氨酸含量测定采用茚三酮比色法<sup>[3]</sup>。可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法<sup>[3]</sup>。丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)显色法<sup>[3]</sup>。可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法<sup>[4]</sup>。

1.4 数据处理

数据采用 Excel 预处理,用 DPS 和 SPSS13.0 统计软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 冬季自然降温与人工设置低温处理下酸枣离体枝条脯氨酸含量的变化

脯氨酸是植物体内的一种渗透调节物质,逆境胁迫与脯氨酸含量呈正相关<sup>[5-6]</sup>。在自然降温条件下,随着月份的推进,自然温度先下降后上升,不同处理酸枣离体枝条的脯氨酸含量均先上升后下降,2 月份达到最大值(表 1)。同样,随着人工设置低温胁迫加剧,脯氨酸含量明显增加,温度为 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,脯氨酸含量达最大值(表 2)。总体来说,河北邢台市种源酸枣脯氨酸含量高于其他种源酸枣,说明河北邢台市酸枣抗寒能力较强,4 个种源酸枣实生苗抗寒性由弱到强顺序为辽宁朝阳市<陕西渭南市<山西太原<河北邢台市;不同树龄比较,2 年生酸枣离体枝条脯氨酸含量高于 1 年生酸枣,说明 2 年生酸枣抗寒能力优于 1 年生酸枣;不同株型比较,1 年生直立枝弯曲型的酸枣脯氨酸含量高于 1 年生直立枝开叉型和丛生型,3 种株型抗寒性由弱到强顺序为丛生型<直立枝开叉型<直立枝弯曲型。

表 1 冬季自然降温对酸枣离体枝条脯氨酸含量的影响  $\mu\text{g}/\text{g}$

项目	试验材料	月份					
		10	11	12	1	2	3
种源	陕西渭南市	2 056.96cD	2 354.10eDE	3 233.46deD	3 485.15gG	6 433.38hF	1 613.74cdAB
	河北邢台市	2 269.39abABC	2 639.89cB	3 879.25aA	4 472.96dD	7 722.78eC	1 654.50abcAB
	辽宁朝阳市	2 203.93bBC	2 522.26dC	3 315.48dD	4 182.84eE	7 567.58fD	1 638.28bcdAB
	山西太原市	2 246.78abABC	2 447.69dCD	3 266.35deD	4 035.69fF	7 440.40gE	1 612.46cdAB

续表 1 冬季自然降温对酸枣离体枝条脯氨酸含量的影响

 $\mu\text{g/g}$ 

项目	试验材料	月份					
		10	11	12	1	2	3
株型(树龄)	直立枝开叉型(1年生)	2 187.82bC	2 663.23bcB	3 209.46eD	4 682.46cC	7 836.06dC	1 627.26bcdAB
	直立枝开叉型(2年生)	2 314.85aAB	2 853.76aA	3 676.05bB	4 836.88abAB	8 676.76aA	1 712.41abA
	丛生型(1年生)	1 950.56dD	2 287.39eE	3 092.27fE	3 215.74hH	6 157.18iG	1 564.71dB
	丛生型(2年生)	2 228.84bABC	2 689.89bcB	3 222.41eD	4 451.68dD	7 821.91dC	1 683.78abcA
	直立枝弯曲型(1年生)	2 201.07bBC	2 639.02cB	3 448.22cC	4 782.72bBC	7 971.17cB	1 674.75abcAB
	直立枝弯曲型(2年生)	2 323.65aA	2 728.94bB	3 652.77bB	4 915.03aA	8 565.49bA	1 726.77aA

注:同列不同大小写字母分别表示差异达极显著( $P<0.01$ )、显著( $P<0.05$ )水平。

表 2 人工设置低温处理对酸枣离体枝条脯氨酸含量的影响

 $\mu\text{g/g}$ 

项目	试验材料	-20 °C	-25 °C	-30 °C	-35 °C	-40 °C
种源	陕西渭南市	2 212.25dD	3 747.24cD	4 188.51eD	6 949.65eE	9 357.35gF
	河北邢台市	2 288.60cdCD	3 859.25bBC	4 424.95bB	7 093.24dD	9 988.31dD
	辽宁朝阳市	2 221.03dD	3 765.72cD	4 208.91deD	6 188.21gF	9 052.54hG
	山西太原市	2 355.12cC	3 714.42cD	4 229.18deCD	6 211.37gF	9 505.03fE
株型(树龄)	直立枝开叉型(1年生)	2 279.45cdCD	3 759.64cD	4 339.07cBC	7 675.16cC	10 136.56cC
	直立枝开叉型(2年生)	3 233.65bB	4 240.45aA	4 587.79aA	7 814.89bB	11 318.99aA
	丛生型(1年生)	2 211.10dD	3 549.23dE	3 639.80fE	5 420.40hG	6 302.94iH
	丛生型(2年生)	2 354.31cC	3 887.16bB	4 591.98aA	6 298.25fF	10 853.79bB
	直立枝弯曲型(1年生)	2 287.21cdCD	3 914.14bB	4 273.99cdCD	7 768.95bBC	9 604.19eE
	直立枝弯曲型(2年生)	3 746.32aA	4 232.14aA	4 453.47bB	8 405.13aA	1 1305.54aA

## 2.2 冬季自然降温与人工设置低温处理下酸枣离体枝条可溶性糖含量的变化

可溶性糖含量的增加能提高作物对逆境环境的适应性<sup>[7-9]</sup>。从图 1、图 2 可以看出,随着自然降温和低温胁迫处理加剧,离体枝条可溶性糖含量随之增加,但变化幅度不明显,其趋势近乎直线。在冬季自然降温中,

1 年生丛生型酸枣可溶性糖含量最低,其抗寒性最差,而 1 年生直立枝开叉型和弯曲型离体枝条可溶性糖含量差异并不显著( $P>0.05$ )。2 年生酸枣离体枝条可溶性糖含量积累大于 1 年生酸枣离体枝条,说明 2 年生酸枣在遇到逆境胁迫时,能积累更多的可溶性糖来抵御外来胁迫,从而保护自身不受或少受伤害。

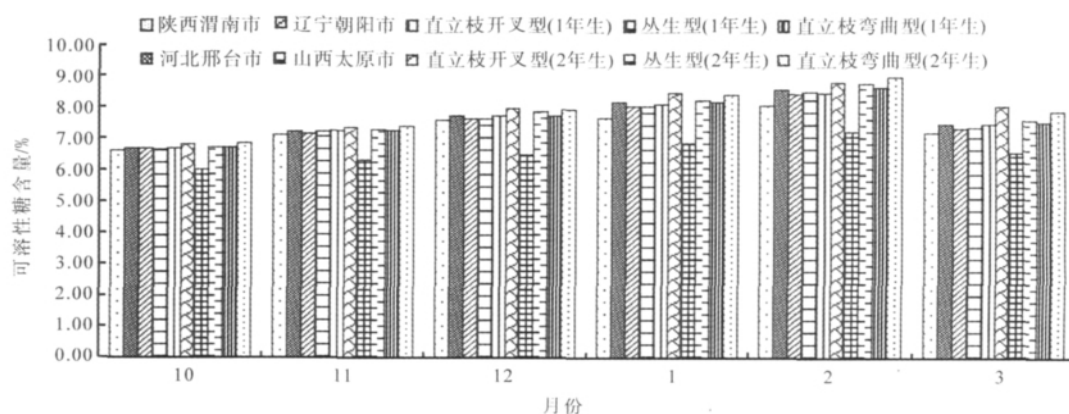


图 1 冬季自然降温对酸枣离体枝条可溶性糖含量的影响

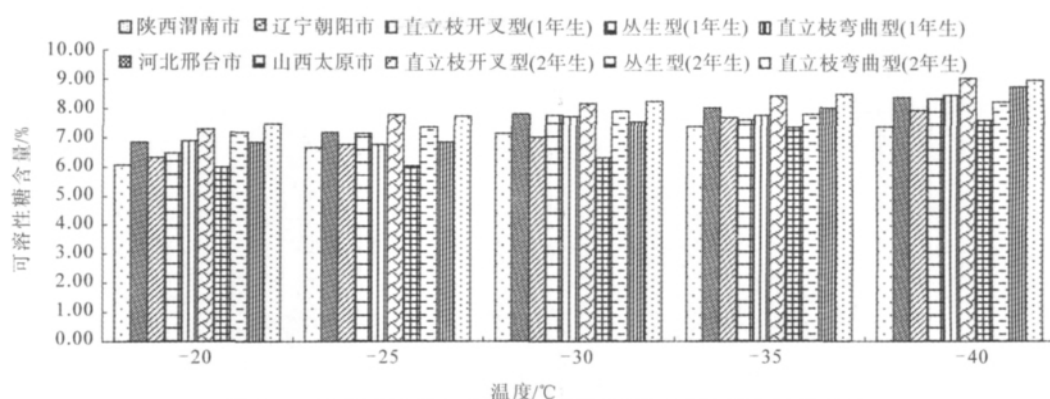


图 2 人工设置低温处理对酸枣离体枝条可溶性糖含量的影响

### 2.3 冬季自然降温与人工设置低温处理下酸枣离体枝条 MDA 含量的变化

植物器官在逆境情况下引起膜脂过氧化,并积累膜脂过氧化物的最终分解产物 MDA,MDA 含量的高低反映了质膜过氧化的程度,抗旱性强的品种质膜过氧化程度小于抗旱性弱的品种<sup>[10]</sup>。

从图 3、图 4 可以看出,随着低温胁迫程度的加重,MDA 含量上升。说明温度越低,对膜脂的

伤害程度越严重。丛生型酸枣枝条 MDA 含量最高,说明丛生型酸枣抗寒能力最差。直立枝弯曲型酸枣 MDA 含量最低,其抗寒能力最强。2 年生酸枣 MDA 含量小于同株型 1 年生酸枣,说明 2 年生酸枣抗寒能力优于 1 年生酸枣。在不同种源中,河北邢台市酸枣 MDA 积累小于其他种源酸枣,说明河北邢台市酸枣抗寒能力略优于其他种源酸枣。

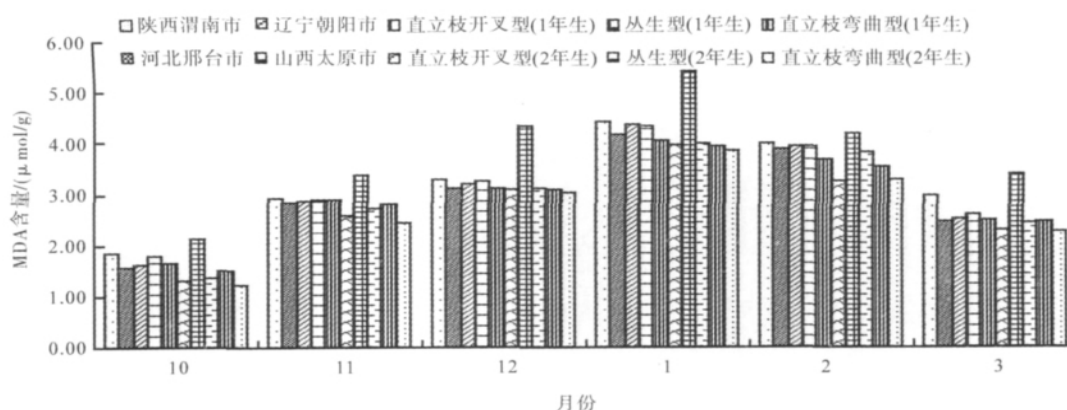


图 3 冬季自然降温对酸枣离体枝条 MDA 含量的影响

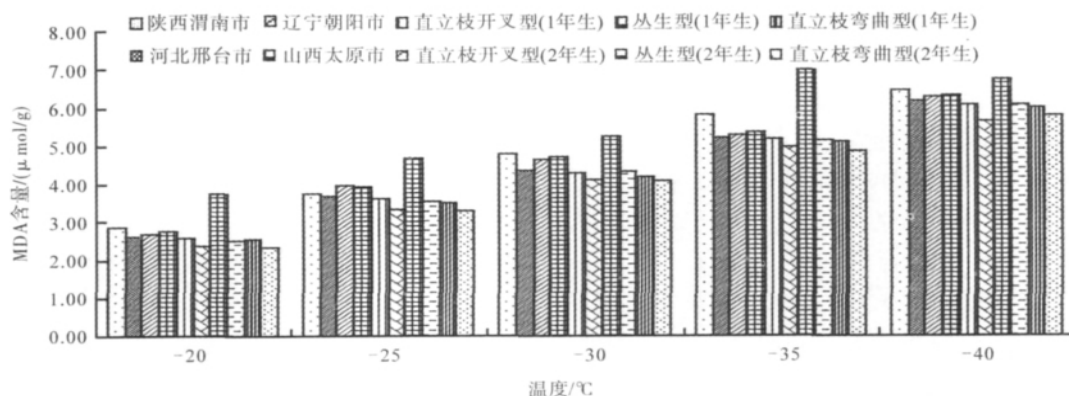


图 4 人工设置低温处理对酸枣离体枝条 MDA 含量的影响

### 2.4 冬季自然降温与人工设置低温处理下酸枣离体枝条可溶性蛋白含量的变化

冬季自然降温条件下,随着自然温度先下降

后上升,可溶性蛋白含量先上升后下降(图 5)。人工设置低温处理下,随着低温胁迫加剧,酸枣离体枝条的可溶性蛋白含量增加(图 6)。河北邢台市

酸枣可溶性蛋白含量比其他种源高,说明此种源酸枣在遇到逆境胁迫时能产生更多的可溶性蛋白<sup>[11]</sup>,从而增强对自身的保护,抗寒力较强。2年生酸枣的可溶性蛋白含量明显高于1年生酸枣,

说明2年生酸枣抗寒性强于1年生酸枣。3种株型中,丛生型酸枣积累可溶性蛋白最少,说明丛生型酸枣抵御低温胁迫能力最弱。植物体内可溶性蛋白质含量可以作为一个重要抗寒指标<sup>[12]</sup>。

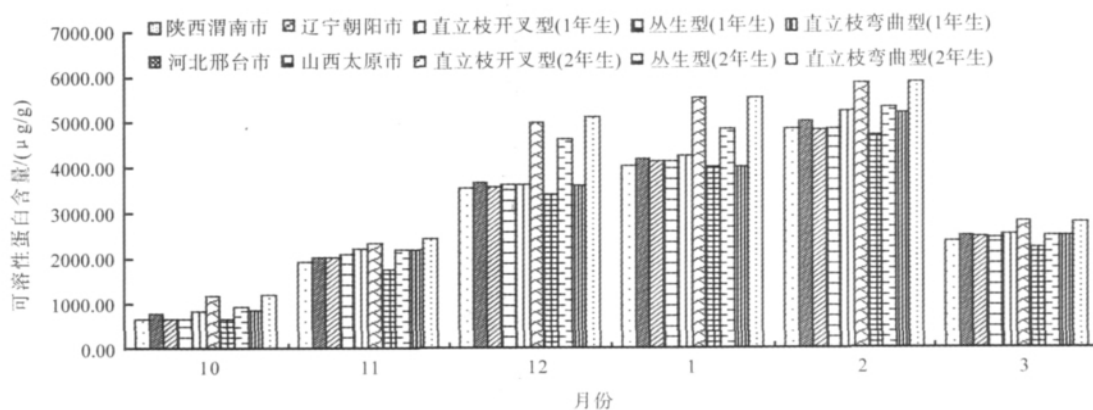


图5 冬季自然降温对酸枣离体枝条可溶性蛋白含量的影响

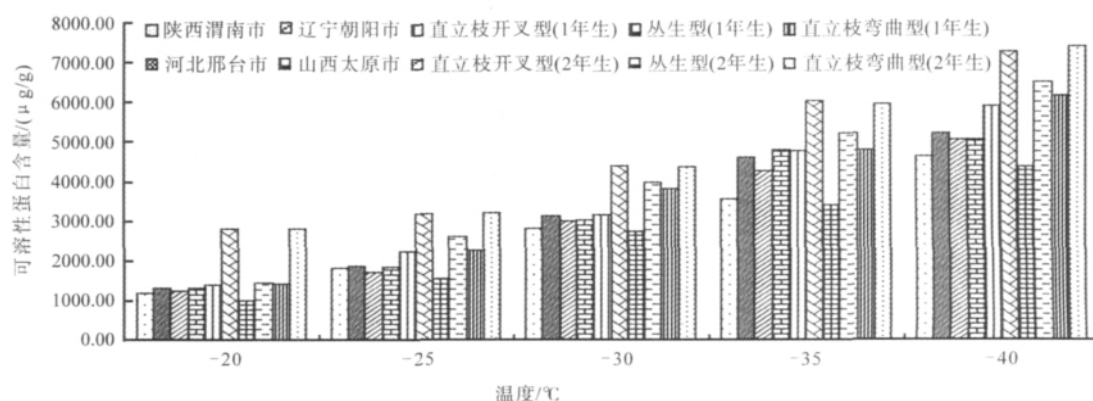


图6 人工设置低温处理对酸枣离体枝条可溶性蛋白含量的影响

### 3 结论与讨论

#### 3.1 脯氨酸含量与酸枣实生苗离体枝条的抗寒性关系

作物在受到逆境后,脯氨酸含量呈倍数增长,从而保护自身膜系统不受伤害。脯氨酸具有较强的水合能力,可结合较多的水,从而减少水分的散失;也可能作为受逆期间植物生成氨的解毒剂<sup>[13]</sup>。但是,不同试验材料脯氨酸含量的变化差异不完全一致<sup>[14]</sup>。本试验结果表明,抗寒性强的酸枣在遇到逆境胁迫时积累的脯氨酸含量多于抗寒性弱的酸枣。河北邢台市种源酸枣脯氨酸含量高于其他种源酸枣。2年生酸枣脯氨酸含量高于1年生酸枣。

#### 3.2 可溶性糖含量与酸枣实生苗离体枝条的抗寒性关系

可溶性糖和游离脯氨酸被认为是低温胁迫下的

重要渗透调节物质。当植物在逆境条件下,植物体内可以通过增加可溶性糖和游离脯氨酸含量来调节渗透压,以抵御不良的环境<sup>[15]</sup>。糖类是植物体内的一类主要有机物,它既是能量的贮存者,也是植物合成其他有机物的起始物质。植物体内含糖量高,可以提高细胞液浓度,降低冰点,缓和细胞过度脱水,保护细胞不致遇冷而凝固<sup>[16]</sup>。说明可溶性糖含量与酸枣离体枝条抗寒性呈正相关关系。

#### 3.3 丙二醛含量与酸枣实生苗离体枝条的抗寒性关系

当植物遭遇低温胁迫后,往往会发生膜脂的过氧化作用,打破膜系统平衡,产生二烯轭合物。丙二醛就是膜脂过氧化最重要的产物之一,代表着膜损伤程度的大小。丙二醛可以扩散到其他部位,破坏体内多种反应的正常进行,膜脂氧化的结果,使膜结构和膜功能受到损伤,严重时导致细胞死亡<sup>[17]</sup>。

在相同逆境胁迫下,丙二醛含量增幅小的植物较抗寒,增幅越大,抗寒性越小<sup>[18]</sup>。本试验结果表明,1 年生丛生型酸枣丙二醛含量最高,2 年生酸枣丙二醛含量小于 1 年生酸枣。

### 3.4 可溶性蛋白含量与酸枣实生苗离体枝条的抗寒性关系

脯氨酸含量的多少直接影响可溶性蛋白质含量的多少,因为游离脯氨酸能促进蛋白质的水合作用,蛋白质胶体亲水面积增大,能使可溶性蛋白质增多,因此,植物处于低温胁迫时,它使植物具有一定的抗寒性和保护作用<sup>[19]</sup>。可溶性蛋白质和一些低分子糖聚集于叶绿体及其他细胞器周围,降低冰点温度,使细胞免遭寒害<sup>[20]</sup>。可溶性蛋白质的亲水胶体性质强,其含量的增加可显著增强细胞的保水力,蛋白质可能还在抗寒锻炼过程中调节基因表达导致抗寒性提高<sup>[21]</sup>。一是它们溶质浓度大,可以降低冰点,防止细胞内结冰,避免冰冻死亡;二是对蛋白质在细胞外结冰脱水后的可能变性起着防护作用<sup>[22]</sup>,低温胁迫期间可溶性蛋白发生量变的同时,还可能发生质的变化,即合成新的蛋白质<sup>[23]</sup>。可溶性蛋白含量多少与酸枣抗寒能力强弱呈正相关。本试验结果表明,低温胁迫越严重,酸枣的可溶性蛋白含量就越大。

通过对酸枣离体枝条脯氨酸含量等指标的测定,综合比较分析,脯氨酸含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量与酸枣抗寒能力呈正相关;丙二醛含量与酸枣抗寒性呈负相关。2 年生酸枣抗寒能力强于 1 年生酸枣。河北邢台市酸枣抗寒性较强,其次为山西太原市、陕西渭南市、辽宁朝阳市酸枣。在不同树型中,直立枝弯曲型酸枣抗寒能力最强,丛生型酸枣抵御低温胁迫能力最差。

脯氨酸、可溶性糖、丙二醛、可溶性蛋白含量可以作为衡量酸枣抗寒性的指标。但生理指标结果具有偶然性、误差性、误导性,想达到理论和试验结果的“一致性”很难。抗寒指标只能作为快速、简单衡量不同作物抗寒能力差异大小。抗寒机制复杂,受多种因素影响,亟待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 曲泽洲,王永蕙. 中国果树志·枣卷[M]. 北京:中国林业出版社,1993:24-25.
- [2] 徐龙,王新建,唐燕. 2010 年阿拉尔地区酸枣实生苗冻害调查[J]. 北方园艺,2011(24):38-40.
- [3] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006:100-215.
- [4] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [5] Delauney A J, Verma D P. Proline biosynthesis and osmoregulation in plant[J]. The Plant Journal, 1993, 4(2):215-223.
- [6] 汤绍虎,周启贵,孙敏,等. 外源 NO 对渗透胁迫下黄瓜种子萌发、幼苗生长和生理特性的影响[J]. 中国农业科学,2007,40(2):419-425.
- [7] 郑元,杨途熙,魏安智,等. 低温胁迫对仁用杏几个抗寒生理指标的影响[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(1):163-167.
- [8] 高志红,章镇,韩振海,等. 果梅种质枝条抗寒性鉴定[J]. 果树学报,2005,22(6):709-711.
- [9] 元白岩,周冬琴,於朝广,等. 8 种含笑属植物的抗寒性研究[J]. 江苏农业科学,2010(5):258-263.
- [10] Ye C J, Zhao K F. Effects of adaptation to elevated salinity on some enzymes' salt-tolerance *in vitro* and physiological changes of eelgrass[J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(3):788-794.
- [11] 武雁军,刘建辉. 低温胁迫对厚皮甜瓜幼苗抗寒性生理生化指标的影响[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(3):139-143.
- [12] 杨向娜,魏安智,杨途熙,等. 仁用杏 3 个生理生化指标与抗寒性的关系研究[J]. 西北林学院学报,2006,21(3):30-33.
- [13] 李捷. 8 个杏树品种的抗寒性研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2008.
- [14] 李云霞,张建生,吴永华,等. 5 种景天科地被植物抗旱性比较研究[J]. 干旱区资源与环境,2010,24(2):183-186.
- [15] 龚鹏,李秀霞,李增萍,等. 低温胁迫对扁桃枝条细胞膜系统和渗透调节物质的影响[J]. 新疆农业科学,2007,44(5):561-566.
- [16] 颜范悦,姜楠,裴新辉,等. 百合种球抗寒性的研究[J]. 北方园艺,2009(9):154-157.
- [17] 张俊龙. 低温胁迫对兰州地区五个杏品种的影响[D]. 甘肃:甘肃农业大学,2005.
- [18] 杨玉珍. 不同种源香椿抗性机理及综合评价[D]. 南京:南京林业大学,2008.
- [19] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2002.
- [20] 党伟. 葡萄枝条营养水平及内源激素变化对越冬抗寒性的影响[D]. 保定:河北农业大学,2011.
- [21] 贺普超,晁无疾. 我国葡萄属野生种质资源抗寒性分析[J]. 园艺学报,1982,9(3):17-21.
- [22] 黄希莲,罗充,宋丽莎. 低温胁迫对贵阳市 9 种绿篱植物抗寒性生理生化指标的影响[J]. 广东农业科学,2012(2):47-50.
- [23] 张昕欣. 蜡梅品种抗寒性研究[D]. 南京:南京林业大学,2008.