

秋冬季自然降温过程中库尔勒香梨枝条的生理特性变化

白茹^{1,2},孙志红^{3*},位杰³

(1.石河子大学农学院,新疆石河子832003;2.新疆生产建设兵团特色果蔬栽培生理与种质资源利用重点实验室,新疆石河子832000;3.新疆兵团第二师农业科学所,新疆库尔勒841000)

摘要: 为了研究库尔勒香梨枝条在秋冬季节自然降温过程中抵御冻害的能力,以库尔勒地区生长的库尔勒香梨枝条为材料,测定了自然越冬过程中枝条的相对电导率、丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性等生理指标,并利用隶属函数法对库尔勒香梨不同月份枝条抵御冻害的能力进行评价。结果表明,自然降温过程中,香梨枝条相对电导率和丙二醛含量随着天气的变冷而升高,在气温下降到-10℃以下之前(1月1日前),枝条的相对电导率和丙二醛含量上升缓慢,这段时间,香梨枝条的可溶性糖、脯氨酸含量及SOD、POD、CAT活性出现了大量积累,可溶性蛋白在越冬前大量积累。然而,1月1日之后,外界气温快速下降,渗透调节物质含量和保护酶活性开始降低,枝条的相对电导率和丙二醛含量迅速上升。2月15日之后,随着气温的回升,枝条渗透调节物质和保护酶出现累积,相对电导率和丙二醛含量也开始下降。香梨枝条抵御冻害的能力在自然越冬过程中出现了动态的变化,在全年气温最低的2月份,香梨枝条各生理指标的平均隶属度最小,此时香梨枝条抵御冻害的能力最弱。

关键词: 库尔勒香梨;自然越冬;隶属函数法;生理特性

中图分类号: S661.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2018)05-0099-05

Change of Physiological Characteristics of Korla Fragrant Pear Branches Caused by Natural Temperature Drop in Autumn and Winter

BAI Ru^{1,2}, SUN Zhihong^{3*}, WEI Jie³

(1. College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. Key Laboratory of Special fruits & vegetables Cultivation Physiology and Germplasm Resources Utilization Xinjiang Production and Construction Group, Shihezi 832000, China; 3. Xinjiang Corps of the Second Division of Agricultural Sciences, Korla 841000, China)

Abstract: To evaluate the ability of Korla fragrant pear resisting cold damage in different months, branches of Korla fragrant pear were collected as materials, and the relative conductivity, MDA, soluble sugar, soluble protein, proline, SOD, POD, and CAT of the Korla fragrant pear branches were measured. The subordinate function method was used to evaluate the ability of pear resisting cold damage in different months. The results showed that the relative conductivity and MDA content increased gradually as the temperature dropped, and they increased slowly before the temperature dropped below -10℃ (before January 1st). Soluble sugar content, proline content, SOD, POD, and CAT activity accumulated greatly at this time. The soluble protein content accumulated before winter. With the temperature decreased rapidly after January 1st, the levels of osmoregulation substances and protective enzymes decreased and

收稿日期:2017-10-23
基金项目:新疆兵团应用基础研究项目(2015AG007);石河子大学青年骨干教师培养计划项目(020110412)
作者简介:白茹(1979-),女,陕西富平人,副教授,博士,主要从事果树生理生态研究。E-mail:468017539@qq.com
*通讯作者:孙志红(1969-),女,山东诸城人,副研究员,本科,主要从事果树生理研究。E-mail:904478537@qq.com

the relative conductivity and MDA content increased. As the temperature rised after February 15st, the levels of osmoregulation substances and antioxidant enzymes accumulated and the relative conductivity and MDA content decreased. The ability of Korla fragrant pear resisting cold injury has changed dynamically during natural overwintering. February, when the lowest temperature happened, also has the least value of average subordinate function, which showed that, it is when Korla fragrant pear has the weakest cold resistance.

Key words:Korla pear; Natural overwintering; Subordinate function; Physiological characteristics

温度是影响植物生长发育的重要生态因子,低温是植物常遇到的一种逆境,不仅影响植物的生长发育,严重时可导致植物死亡。库尔勒香梨作为新疆传统的地方果树品种,栽培历史悠久,是当地果农重要的经济收入来源之一。但是,2000 年以来,低温冻害造成许多香梨树大面积死亡,给广大果农造成了严重的经济损失^[1],保障香梨安全越冬成为目前栽培管理的重要任务之一。因此,研究库尔勒香梨越冬期的生理生化特征变化具有重要的理论和实践价值。

植物体内的渗透调节物质、保护酶、相对电导率及丙二醛等与植物抵御冻害的能力密切相关^[2-3]。植物在越冬过程中生理指标会出现不同的变化。赵树亮^[4]研究发现,越橘在自然越冬过程中,可溶性糖含量积累主要发生在越冬前期,脯氨酸含量最大值出现在温度回升初期。何西风^[5]在花椒的自然越冬抗寒性研究中发现,脯氨酸对抗寒性的提高有滞后性。自然条件下库尔勒香梨经历由秋季到冬季的寒冷适应后进入休眠状态,在此过程中,枝条在生理上如何适应这样的低温变化,香梨在何时最容易受到冻害威胁,是需要关注的主要问题。鉴于此,针对库尔勒香梨枝条的细胞膜透性、渗透调节物质含量、抗氧化酶活性等生理指标在秋冬季的变化,研究香梨在自然降温过程中的生理特点,探明库尔勒香梨枝条对低温变化的生理适应性,并利用隶属函数法对库尔勒香梨不同月份抵御冻害的能力进行评价,旨在为香梨冻害机制研究和香梨安全越冬管理提供科学依据和指导。

1 材料和方法

1.1 材料

选择库尔勒地区生长势均衡的 30 株初果期的库尔勒香梨树,于 2015 年 11 月 1 日到 2016 年 3 月 1 日期间,每隔 15 d 采样 1 次,每次采集 120 个枝条,保留枝条中部 4 节。采样时,随机从树体外围东、南、西、北 4 个方向,选取无病虫害、充分成熟、粗度 0.5 cm 左右的 1 年生枝条,立即蜡封剪口,带回实验室用于生理指标的测定。在采样期间利用高低

温度计测定和记录采样地每日最高、最低气温,并计算出半月平均最高、最低气温。

1.2 方法

1.2.1 生理指标的测定 参照撒俊逸等^[6]的方法测定相对电导率;参考孙群等^[7]的方法测定可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸含量,参考 Bai 等^[8]的方法测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性;采用硫代巴比妥酸显色法测定丙二醛(MDA)含量^[9],每个指标测定均重复 3 次。

1.2.2 枝条抵御冻害能力的综合评价 采用隶属函数值法^[10]对库尔勒香梨越冬期不同月份枝条抵御冻害的能力进行评价。对各项指标测定值采用模糊数学隶属度公式进行转换,对所测的生理指标用下式求出各个时期被测指标的隶属度。

(1)与抗寒性呈正相关的渗透调节物质含量、保护酶活性按以下公式计算:

$$U(X_i) = (X_i - X_{i\min}) / (X_{i\max} - X_{i\min}), \Delta = 1/n \sum U(X_i)$$

(2)与抗寒性呈负相关的相对电导率、丙二醛含量按以下公式计算:

$$U(X_i) = 1 - (X_i - X_{i\min}) / (X_{i\max} - X_{i\min}), \Delta = 1/n \sum U(X_i)$$

其中, n 为测定的指标总数; U_i 为第*i*个测定指标; $U(X_i) \in [0,1]$; Δ 为不同采样期各项指标测定的综合评定结果。 $X_{i\max}$ 、 $X_{i\min}$ 为不同采样期第*i*项指标的最大值和最小值。

1.3 数据处理

采用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 软件进行数据统计和分析。

2 结果与分析

2.1 采样地环境温度变化

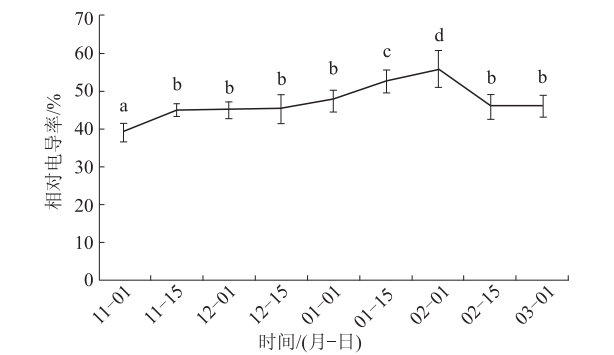
采样地 2015 年 11 月 1 日到 2016 年 3 月 1 日半月平均最低、最高温度见表 1。由表 1 可以看出,采样地温度从 2015 年 11 月 1 日开始逐渐降低,到 2016 年 2 月 1 日温度降到最低,半月平均最低温度

为 -14.75 ℃,之后温度开始逐渐上升。

表 1 采样地采样期间半月平均温度 ℃			
采样时间	半月平均最低温度	半月平均最高温度	半月平均温度
2015-11-01	5.50	18.19	11.85
2015-11-15	1.80	11.47	6.64
2015-12-01	-1.87	7.93	3.03
2015-12-15	-4.00	4.13	0.07
2016-01-01	-11.63	-4.73	-8.18
2016-01-15	-14.00	-3.53	-8.77
2016-02-01	-14.75	-3.60	-9.18
2016-02-15	-11.47	-0.20	-5.84
2016-03-01	-5.07	7.21	1.07

2.2 越冬期库尔勒香梨枝条相对电导率的变化

由图 1 可以看出,从 11 月到翌年 3 月,自然越冬香梨枝条的相对电导率由 38.93% 上升到最高点 55.82% (2 月 1 日),之后,随着温度的回升,电解质渗出率开始降低,相对电导率下降。



不同小写字母表示不同采样时间间差异显著 ($P < 0.05$),下同
图 1 越冬过程中库尔勒香梨枝条相对电导率的变化

2.3 越冬期库尔勒香梨枝条 MDA 含量的变化

由图 2 所示,从 11 月至翌年 3 月,香梨枝条的 MDA 含量总体呈现逐渐升高的趋势,11 月初到 12 月底上升缓慢,翌年 1 月后随着温度的急剧下降,MDA 含量上升幅度加大,最寒冷的 2 月初,其含量较越冬初期的 11 月上升了 52.93%。

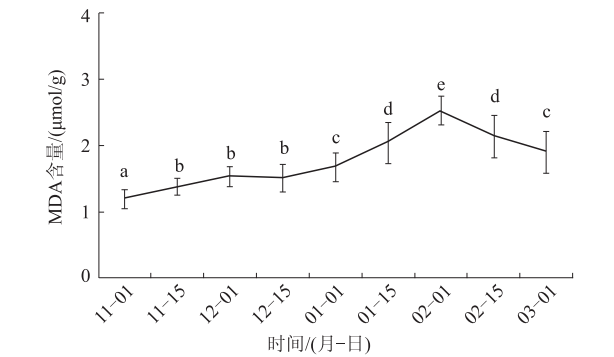
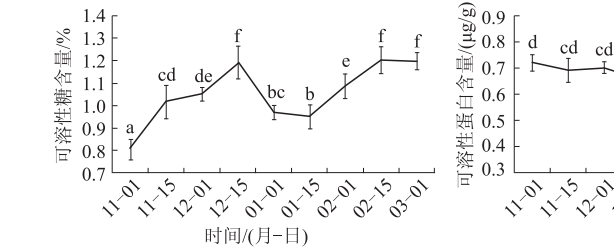


图 2 越冬过程中库尔勒香梨枝条 MDA 含量的变化

2.4 越冬期库尔勒香梨枝条渗透调节物质含量的变化

从图 3 可以看出,2015 年 11 月 1 日至 2015 年 12 月 15 日,越冬期香梨枝条可溶性糖含量随着气温的降低而升高,之后的 12 月 15 日到翌年 1 月 1 日,随着温度的下降,可溶性糖含量虽然出现了下降,但较越冬初期,其含量仍高于越冬初期 0.15%,之后随着温度的降低其含量又开始上升,在 2 月 15 日含量达到最大,为 1.2%。在整个越冬期间,香梨枝条可溶性蛋白含量总体呈现先下降后上升的变化趋势,在 2016 年温度最低的 1 月 1 日到 2 月 1 日,可溶性蛋白含量降到了整个越冬期最低,达到 0.48 μg/g 左右,与其他时期差异显著,越冬后期,可溶性蛋白含量出现增加,到 3 月 1 日含量达到最高,为 0.77 μg/g,与越冬初期(2015 年 11 月 1 日)差异显著。在整个越冬期,香梨枝条脯氨酸含量的变化趋势是先升高后降低。从 2015 年 11 月 1 日开始香梨枝条脯氨酸含量随着外界环境温度的降低而渐渐升高,到 12 月 1 日,达到全年最高 28.04 μg/g;之后,随着环境温度的降低,脯氨酸含量开始降低,2016 年 2 月 15 日,含量最低到 14.04 μg/g,虽然之后又出现了小幅上升,但含量仍低于越冬初期。

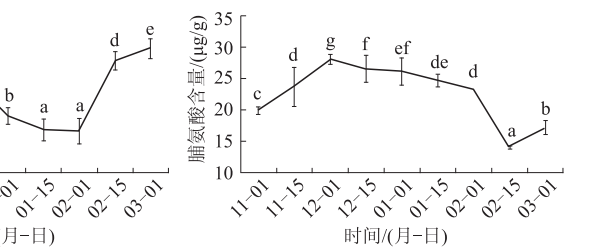


图 3 越冬过程中库尔勒香梨枝条可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量的变化

2.5 越冬过程中库尔勒香梨枝条保护酶活性的变化

由图 4 可以看出,在越冬期,香梨枝条 SOD 活性变化趋势是先升高后降低。从 2015 年 11 月 1 日开始香梨枝条 SOD 活性随着外界环境温度的降低而渐

渐升高,到 12 月 1 日,达到全年最高(392.32 U/g);之后,随着环境温度的降低,SOD 活性开始下降,到 2016 年 3 月 1 日,含量降到全年最低(86.6 U/g)。越冬期,香梨枝条 POD 活性呈现不规则小幅上升或下降趋势,虽然在温度最低的 1 月和 2 月,其活性最

低,但与其他时期相比,差异并不显著。在越冬期,香梨枝条 CAT 活性变化趋势是先升高后降低。2015 年 11 月 1 日至 12 月 1 日,香梨枝条 CAT 活性随着外界环境温度的降低而渐渐升高,12 月 1 日达

到全年最高[4.58 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$];之后,随着环境温度的降低,CAT 活性开始下降,到2016年2月15日,含量降到全年最低[2.46 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$]。

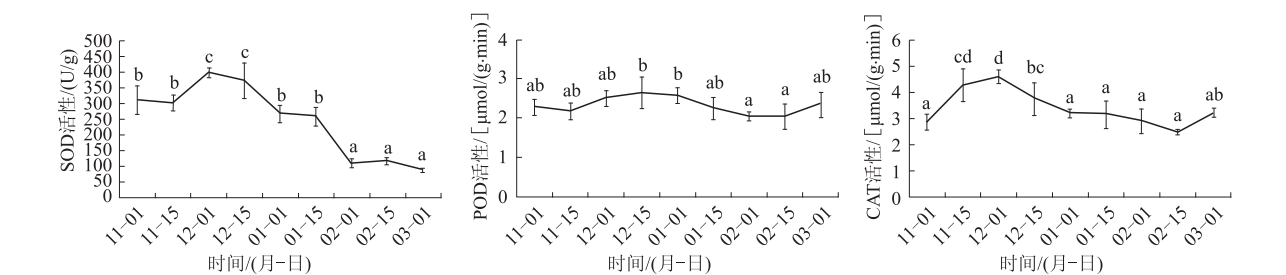


图 4 越冬过程中库尔勒香梨枝条 SOD、POD、CAT 活性的变化

2.6 越冬期库尔勒香梨不同月份枝条抵御冻害的能力评价

由表 2 可知,库尔勒香梨在自然越冬期,不同时期枝条抵御冻害的能力有很大的差异。在气温开始下降的 11 月到 12 月,平均隶属度出现上升,枝条抵御冻害的能力开始加强,12 月 15 日达到最大,为

0.800 7。之后的 1 月到 2 月中旬随着气温的急剧下降,香梨生理指标平均隶属度也开始下降,2 月 1 日达到最小,为 0.205 5,枝条抵御冻害的能力降到最低。之后随着气温的回升,平均隶属度开始上升,枝条开始逐渐恢复对冻害的抵御能力。

表 2 库尔勒香梨各生理指标的隶属度及枝条抵御冻害能力的综合评定

时间/ (年-月-日)	生理指标的隶属度								平均隶属度	抵御冻害能力排序
	相对电导率	丙二醛含量	可溶性糖含量	可溶性蛋白含量	脯氨酸含量	SOD 活性	POD 活性	CAT 活性		
2015-11-01	1.000 0	1.000 0	0	0.825 5	0.418 6	0.718 2	0.388 9	0.176 4	0.565 9	4
2015-11-15	0.644 4	0.631 8	0.539 9	0.741 2	0.683 8	0.695 1	0.222 2	0.842 5	0.625 1	3
2015-12-01	0.642 9	0.552 1	0.628 2	0.773 7	1.000 0	1.000 0	0.777 8	1.000 0	0.796 8	2
2015-12-15	0.627 4	0.751 1	0.988 7	0.634 5	0.888 7	0.918 5	1.000 0	0.596 9	0.800 7	1
2016-01-01	0.496 9	0.458 4	0.418 1	0.182 4	0.859 1	0.577 7	0.888 9	0.344 9	0.528 3	5
2016-01-15	0.193 4	0.323 1	0.372 1	0.014 0	0.760 2	0.550 8	0.333 3	0.316 4	0.357 9	7
2016-02-01	0	0	0.718 9	0	0.658 4	0.069 8	0	0.196 9	0.205 5	9
2016-02-15	0.595 3	0.260 2	1.018 0	0.853 1	0	0.091 6	0	0	0.352 3	8
2016-03-01	0.587 7	0.414 6	1.000 0	1.000 0	0.222 6	0	0.500 0	0.344 9	0.508 7	6

3 结论与讨论

3.1 自然越冬过程中库尔勒香梨抗寒性生理指标的动态变化

用电解质渗出率反映植物在低温胁迫下细胞膜透性的变化是鉴定植物抗寒性较直观的办法,已经被广泛应用^[11]。果树在低温逆境中过多的活性氧易诱发膜脂过氧化,引发过氧化产物如 MDA 等的大量积累,因而 MDA 的产生量亦成为了鉴别逆境伤害的指标之一^[12],通过测定 MDA 含量的变化能够反映植物细胞发生膜脂过氧化的剧烈程度和植物对逆境条件反应的强弱^[13]。本研究结果表明,自然越冬过程中,随着气温的降低,香梨枝条电解质渗出率和 MDA 含量逐渐增加,表明外界气温越低,细胞膜透性程度越高,枝条所受的伤害越重,这与撒俊逸等^[6]的研究结果一致。

低温会增加渗透调节物质的含量,提高细胞内溶质浓度,降低水势,从而保持植物的正常生长^[14]。

本研究发现,在越冬初期,随着外界环境温度的降低,香梨枝条可溶性糖和脯氨酸含量逐渐升高,之后随着气温的急剧下降,二者的含量出现了降低,但均比越冬初期高,在越冬后期,气温回升,二者的含量又开始升高,由此可以看出,虽然香梨枝条在越冬期细胞膜受到了低温的伤害,但自身可以通过可溶性糖和脯氨酸的积累来降低冰点,增强细胞的保水能力,并对细胞膜起保护作用,避免了枝条死亡。

有关研究表明,植物在抗冷过程中形成了大量新的蛋白质,直接参与植物的抗寒过程,尤其是可溶性蛋白与抗寒性的关系更为密切^[15]。本研究发现,在越冬期开始时,香梨枝条可溶性蛋白含量很高,说明越冬前香梨枝条已积累了大量的蛋白质来抵御寒冷胁迫。随着外界气温的下降,可溶性蛋白含量比越冬初期降低,在温度最低的月份,其含量降到了整个越冬期最低,可能是因为香梨枝条可溶性蛋白累积速率小于分解速率,导致在温度降低时可溶性蛋白含量逐渐下降。

在生物进化过程中,细胞形成了SOD、POD、CAT等清除自由基和活性氧的保护系统,它们在植物体内协同发挥作用,清除过多的自由基,使生物自由基维持在一个较低的水平,从而防止自由基的毒害,以保护细胞膜不受到伤害。这些保护酶系统虽不能直接判断植物的抗寒性强弱,但都与抗寒性有密切的关系^[16-17]。本研究结果发现,越冬期香梨枝条SOD、POD、CAT活性随着气温的降低变化相似,较强冷空气来袭前都出现了大量的积累,之后随着气温的继续下降,其活性开始降低,这可能是由于温度的降低加重了细胞膜的受害程度,高浓度的自由基导致了酶蛋白分子的破坏,从而降低了其活性^[18]。

2015年11月到2016年3月的自然降温过程中,香梨枝条相对电导率和MDA含量随着天气的变冷而升高,它们在一定程度上反映了枝条细胞膜系统的受损程度。在气温下降到-10℃以下之前(1月1日前),枝条的相对电导率和MDA含量上升缓慢,这可能是由于在较强冷空气来袭前的这段时间,香梨枝条的可溶性糖、脯氨酸SOD、POD、CAT出现了大量积累,可溶性蛋白在越冬前大量积累,从而降低了细胞膜系统的受损程度。然而,1月1日之后,外界气温快速下降,渗透调节物质含量和保护酶活性开始降低,致使枝条的相对电导率和MDA含量开始迅速上升。在整个越冬期,3种渗透调节物质、3种保护酶之间通过相互协调配合,保持了细胞的渗透平衡,并通过调整各自的含量和活性的变化来适应低温变化,从而保护香梨枝条安全越冬。

3.2 越冬期库尔勒香梨不同月份枝条抵御冻害能力的综合评价

隶属函数法在植物抗寒性评价中是较为常用的一种综合评价方法^[19-20],可以在多个指标测定的基础上,对植物的抗寒性进行较为综合和全面的评价,评价的结果较为科学、可靠。因此,本研究通过分析越冬期香梨枝条中抗寒性相关生理指标的变化,利用隶属函数法对不同月份香梨枝条抵御冻害的能力进行综合评价,结果表明:香梨枝条抵御冻害的能力在自然越冬过程中出现了动态的变化,在全年气温最低的2月,香梨枝条各生理指标的平均隶属度最小,此时香梨枝条抵御冻害的能力最弱,这与撒俊逸等^[6]分析的2014—2015年越冬期香梨枝条抵御冻害的能力结论一致。

综上,在自然越冬期间,气温降低导致的细胞膜破坏是香梨枝条受伤的重要原因之一,而可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量及SOD、POD、CAT活性的动态变化在一定程度上可以降低细胞膜系统的受损程度。运用隶属函数法综合评价香梨不同月份枝条抵御冻害的能力,结果显示,在整个越冬过程中,全

年气温最低的2月香梨枝条抵御冻害的能力最弱,因此,应重点在此期间积极采取防寒措施,防止降温给香梨带来冻害。

参考文献:

- [1] 张峰,李世强,何子顺. 库尔勒香梨产业发展现状与存在问题[J]. 山西果树, 2014(5): 40-42.
- [2] 高登涛,白茹,鲁晓燕,等. 引入石河子地区的5个葡萄砧木抗寒性比较[J]. 果树学报, 2015, 32(2): 232-237.
- [3] 魏秀清,许玲,章希娟,等. 莲雾对低温胁迫的生理响应及抗寒性分析[J]. 果树学报, 2016, 33(1): 73-80.
- [4] 赵树亮. 越橘越冬期枝条生理特性研究[D]. 沈阳: 东北农业大学, 2014.
- [5] 何西风. 自然越冬过程中花椒抗寒性的发育与机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2009.
- [6] 撒俊逸,白茹,孙志红,等. 自然越冬过程中库尔勒香梨抗寒性生理指标的变化[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2016, 34(2): 170-175.
- [7] 孙群,张景群. 植物生理学研究技术[M]. 西安: 西北农林科技大学出版社, 2006: 165-176.
- [8] Bai R, Ma F W, Liang D, et al. Phthalic acid induces oxidative stress and alters the activity of some antioxidant enzymes in roots of *Malus prunifolia* [J]. Journal of Chemical Ecology, 2009, 35(4): 488-494.
- [9] 郝再彬,苍晶,徐忠. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 101-115.
- [10] 张凤良,毛常丽,李小琴,等. 橡胶树优树无性系对于干旱胁迫的生理响应[J]. 西北林学院学报, 2016, 31(4): 67-72.
- [11] 白茹,高登涛,刘怀锋,等. 电导法协同 Logistic 方程比较12个葡萄砧木的抗寒性[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2014, 32(5): 657-660.
- [12] 李支成. 果树生理生化状况与抗寒性的关系研究进展[J]. 安徽农学通报, 2012, 18(11): 90-91.
- [13] 刘杜玲,彭少兵,张博勇,等. 超敏蛋白对低温胁迫下核桃生理特性的影响[J]. 果树学报, 2017, 34(6): 698-705.
- [14] 田景花,王红霞,高仪,等. 核桃树植物休眠期的抗寒性鉴定[J]. 园艺学报, 2013, 40(6): 1051-1060.
- [15] 孟庆瑞,杨建民,樊英利. 果树抗寒机制研究进展[J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(增刊): 87-90.
- [16] 张婷,车凤斌,潘俨,等. 低温胁迫对核桃枝条几个抗寒生理指标的影响[J]. 新疆农业科学, 2011, 48(8): 1428-1433.
- [17] 严寒静,谈锋. 自然降温过程中椴子叶片膜保护系统的变化与低温半致死温度的关系[J]. 植物生态学报, 2000, 24(1): 91-95.
- [18] 沈洪波. 杏品种抗寒性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2002.
- [19] 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.
- [20] 蒋景龙. 汉中主栽柑橘品种对低温胁迫的生理响应[J]. 河南农业科学, 2016, 45(3): 106-111, 115.