

贵州野生柑橘的抗寒性测定和综合评价

马文涛^{1,2,3}, 樊卫国^{1,2,3*}

(1 贵州省果树工程技术研究中心, 贵阳 550025; 2 贵州大学 喀斯特山地果树资源研究所, 贵阳 550025; 3 贵州大学 农学院, 贵阳 550025)

摘 要:以贵州 3 个野生柑橘种类宜昌橙、酸橙、白黎檬和栽培品种‘默科特’的一年生枝条为试材, 人工设置 4 ℃ (CK)、0 ℃、-5 ℃、-10 ℃、-15 ℃、-20 ℃、-25 ℃ 低温冷冻处理 24 h, 研究了 4 个柑橘种类枝条膜脂过氧化作用、抗氧化酶活性和有机渗透调节物质的变化, 并应用 Logistic 方程建立回归模型确定其半致死温度 (LT₅₀), 应用隶属函数法综合评价野生柑橘种类的抗寒性。结果表明: (1) 随着温度的降低, 4 个柑橘种类枝条的电解质外渗率均呈“S”型上升, SOD、POD 活性以及可溶性蛋白、可溶性糖含量均先升后降, MDA 含量在宜昌橙枝条中逐渐缓慢上升, 在其余材料枝条中则先升高后下降; 栽培品种‘默科特’枝条的保护酶活性、渗透调节物质含量在 0 ℃ 或者 -5 ℃ 达到峰值, 而宜昌橙则在 -15 ℃ 或者 -20 ℃ 达到最大值, 两者的 MDA 含量则分别在 -15 ℃ 和 -25 ℃ 达到最大值。 (2) 利用电解质外渗率拟合 Logistic 方程推算的宜昌橙、酸橙、白黎檬和‘默科特’的低温半致死温度分别为 -14.86 ℃、-7.28 ℃、-8.45 ℃ 和 -5.88 ℃; 用隶属函数法与 Logistic 方程分析所得各柑橘种类的抗寒性强弱结果基本一致, 4 个柑橘种类的抗寒性强弱顺序为: 宜昌橙 > 酸橙 > 白黎檬 > ‘默科特’。研究认为, 抗寒性强的柑橘枝条的保护酶活性、渗透调节物质和 MDA 含量达到峰值的温度更低, 具有更强的抗氧化胁迫能力和渗透调节能力, 且野生柑橘的抗寒性较栽培种强; 半致死温度和隶属函数法均可有效评价柑橘种类的抗寒性。

关键词: 柑橘; 抗寒能力; 隶属函数法; 半致死温度

中图分类号: Q948.112⁺.2 **文献标志码:** A

Determination and Comprehensive Evaluation on Cold-tolerance of Wild Citrus from Guizhou

MA Wentao^{1,2,3}, FAN Weiguo^{1,2,3*}

(1 Guizhou Fruits Engineering Technology Research Centre, Guiyang 550025, China; 2 Research Institute for Fruit Resources of Karst Mountain Region, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 3 College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Taking one-year-old shoots of three wild species citrus of Guizhou Province as test materials and the shoots of cultivated variety *Citrus reticulata* as the control, we studied the changes of their membrane-lipid peroxidation, antioxidative enzyme activity, and organic osmoregulatory substance content under artificial cooling, aimed to analyze the differences of four kinds of citrus species in cold resistance. Semi-lethal temperature of wild citrus was determined by establishing Logistic regression model on leakage ratio of electrolyte. Finally, cold resistance of different citrus varieties was synthetically evaluated by using membership function method. (1) With the decrease of temperature, the ion leakage percentage of four kinds of cit-

收稿日期: 2014-03-19; 修改稿收到日期: 2014-08-14

基金项目: 贵州省自然科学基金(黔科合 J 字[2011]2136 号); 贵州大学青年教师科技基金(贵大 x082060); 贵州省果树工程技术研究中心建设专项(黔科合农 G 字 2009-4003)

作者简介: 马文涛(1979—), 女, 硕士, 主要从事果树生理生态研究。E-mail: mawentao89@163.com

* 通信作者: 樊卫国, 教授, 主要从事果树生理与生态学研究。E-mail: wgfan@gzu.edu.cn

rus species increased in S-shape, and the SOD and POD activities, soluble protein, and soluble sugar contents decreased after an initial increase. The MDA content of *C. ichangensis* under decreasing temperature had an increasing trend. (2) The semi-lethal temperature (LT_{50}) of *C. ichangensis*, *C. aurantium*, *C. limonnia*, and *C. reticulata* calculated by the Logistic equation of ion leakage percentage was -14.86°C , -7.28°C , -8.45°C , and -5.88°C respectively. The order of cold resistance evaluated by membership function method was basically identical establishing Logistic regression model. Among the four kinds of citrus species, *C. ichangensis* had the strongest cold resistance, followed by *C. aurantium*, *C. limonnia*, and *C. reticulata*, wild citrus has the stronger cold resistance than that of *C. reticulata*.

Key words: citrus; cold-resistance; membership function method; semi-lethal temperature

低温限制了植物的分布和生长^[1]。低温胁迫下,随温度降低,植物细胞膜透性增大,细胞内电解质外渗量增加,外渗液的电导率值增大^[2],细胞的酶保护系统^[3]、渗透调节物质^[4-5]等均会产生一系列变化来适应低温环境,而这种变化往往与植物的抗寒性紧密相连,但用单一生理指标很难准确反映植物抗寒性的强弱。因此,目前的抗寒性研究一般多采用隶属函数法将多个抗寒性指标综合起来分析,以便能更全面地比较不同种类材料之间的抗性差异^[6]。此外,采用电解质渗出率的变化来进行 Logistic 方程拟合,其拐点温度被认为是植物低温半致死温度 (LT_{50}),这种方法在扁桃^[7]和葡萄^[8]等多种植物的抗寒性评价中取得了良好的效果。

柑橘是亚热带果树,喜温、抗寒性差,在柑橘产区常有冻害发生,给生产带来很大损失,选育并推广抗寒性强的品种是避免或减轻柑橘冻害的有效途径之一。目前关于柑橘的抗寒性研究多集中在低温对叶片的伤害上^[9-10],而对低温胁迫下柑橘枝条的抗寒性研究很少。在生产实际中将柑橘的冻害分为 5 级,轻度冻害(1 级冻害)时冻伤的是叶片,而随温度降低和冻害级别的升高,在轻中度冻害(2 级冻害)情况下冻伤的是柑橘枝条^[11],而这种枝条的伤害相对于叶片而言则不可恢复,对柑橘生长的影响至关重要。另外,当前柑橘的抗寒性研究多集中栽培品种上,如郭卫东等^[10]研究结果表明‘青皮佛手’、‘矮化佛手’的 LT_{50} 分别为 -4.10°C 和 -4.49°C ,而宿文斌^[12]研究认为柑类 LT_{50} 平均为 -7.83°C ,所以中国主栽柑橘品种的抗寒性较差,这也是限制中国柑橘产业的发展主要原因之一。中国是柑橘的原产国,有着许多优良的野生柑橘种植资源,贵州省也有许多野生柑橘资源的分布,特别是在黔西北高原寒冷地区仍有野生柑橘的分布^[13],而对于这些野生资源的抗寒性研究迄今未见报道。所以,本研究针对低温胁迫下贵州野生柑橘的抗寒性进行评价,考察其枝条在低温条件下的质膜透性、保护酶活性及渗

透调节物质的含量变化特征,结合各野生柑橘种类的半致死温度和隶属函数值对其抗寒性强弱进行综合评价,以期获得柑橘抗寒性鉴定的有效方法,为进一步对其抗寒机理的阐明和这些野生种质的挖掘利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

以贵州野生的宜昌橙(*Citrus ichangensis*)、白黎檬(*C. limonnia*)和酸橙(*C. aurantium*)为试验材料,以生产上广泛使用的栽培品种‘默科特’(*C. reticulata*)为对照。其中,宜昌橙的枝条取自贵州省遵义县三岔镇李梓村,白黎檬的枝条取自贵州省册亨县冗渡村,酸橙的枝条取自贵州省铜仁市德江县平原乡明溪水库,‘默科特’的枝条取自贵州省果树工程技术研究中心的种质资源圃。

1.2 试验设计与处理

试验于 2012 年 11 月上旬在贵州省果树工程技术研究中心实验室进行。采集长势一致的当年生枝条,先用自来水洗净,再以去离子水冲洗 4~5 次后用滤纸吸干水分,剪成 15~20 cm 长的枝段,两端封蜡后分 7 组装入聚乙烯膜中,然后置于低温冰柜进行冷冻处理;分别以每 1 h 降低 2.5°C 的速度降温到设定温度(0°C 、 -5°C 、 -10°C 、 -15°C 、 -20°C 、 -25°C)后冷冻处理 24 h;低温处理结束后,将样品放置于 4°C 的冰箱内解冻 12 h 后取出,于室温下(10°C ~ 12°C)恢复 12 h 后进行生理指标测定。以 4°C 冰箱中保存的枝条为对照(CK)。每个低温处理枝条 15 段,3 次重复。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 相对电导率(REC)的测定 将冷冻后的枝条剪成 0.1 cm 左右小段(避开芽眼),称取 1 g 材料加 10 mL 去离子水于三角瓶中,室温下静置 12 h 后,期间不断摇晃,测定其初始电导值;之后将三角瓶封口煮沸 30 min,取出静置冷却至室温后测定总

电导值,并以此作为终电导值计算相对电导率^[5]。

相对电导率(%)=初电导率/终电导率×100%

1.3.2 生理生化指标的测定 酶液制备时,取经冷冻处理后的枝条,用刀片刮下皮,剪碎并混匀进行测定。其中,超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定,过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚显色法测定,丙二醛(MDA)含量测定采用巴比妥酸法,可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝染色法,可溶性糖含量的测定采用蒽酮法^[14]。

1.4 统计分析

本试验中每个样品都重复测定 3 次,取平均值,所用数据均为平均值±标准差。数据采用 SPSS 软件进行统计分析,在 Excel 软件上作图。

1.4.1 半致死温度的确定 用处理温度和对应的相对电导率拟合 Logistic 方程: $y=k/(1+ae^{-bt})$, y 为低温胁迫下的相对电导率(%), t 为低温处理温度(℃), k 为细胞伤害率的饱和容量,通过直线回归的方法求得待定系数 a 、 b 的值及组织半致死温度(LT₅₀)^[15],其中 $LT_{50}=(\ln a)/b$ 。

1.4.2 用隶属函数法综合各项指标进行抗寒性评价 隶属函数公式为: $T_{ij}=(X_{ij}-X_{j\min})/(X_{j\max}-X_{j\min})$,式中: i 为某个柑橘种类; j 为某项指标; T_{ij} 为 i 种类 j 指标抗寒隶属函数值; X_{ij} 为 i 种类 j 指标测定值; $X_{j\min}$ 为所有品种所有温度梯度下 j 指标最小值; $X_{j\max}$ 为所有种类所有温度梯度下 j 指标最大值。假如某项指标与抗寒性呈负相关,则用 1 减去正相关的隶属函数值即为它的隶属函数值^[7]。

2 结果与分析

2.1 低温处理下柑橘枝条的相对电导率的变化及 Logistic 方程建立

图 1 显示,随着温度的降低,枝条细胞膜受到的伤害越大,质膜透性增加,各柑橘种类枝条的电解质

外渗率逐渐升高,呈现“S”型曲线变化。其中,在 0℃条件下,白黎檬、宜昌橙和酸橙枝条的电解质外渗率差异不大。在-5℃条件下,‘默科特’枝条的电解质外渗率迅速升高为 47.41%,较对照增加了 1 倍多;此时白黎檬和酸橙的电解质外渗率分别为 32.43% 和 36.34%;而同期宜昌橙枝条的电解质外渗率缓慢升高,明显低于其他柑橘种类,在-5℃时电解质外渗率仅为 20.52%。另外,进一步通过不同低温条件下的电解质外渗率和其对应的温度拟合了不同柑橘的 Logistic 方程,推算出各柑橘种类的半致死温度(表 1)。从中可以看出,野生柑橘宜昌橙、白黎檬和酸橙的半致死温度分别为-14.86℃、-7.28℃和-8.45℃,而栽培品种‘默科特’半致死温度为-5.88℃。因此,3 个野生柑橘的抗寒性均较栽培品种‘默科特’强,4 个柑橘种类抗寒性强弱顺序为:宜昌橙>酸橙>白黎檬>‘默科特’。

2.2 低温处理下柑橘枝条的 MDA 含量变化

丙二醛(MDA)是膜脂氧化的最终产物,也是

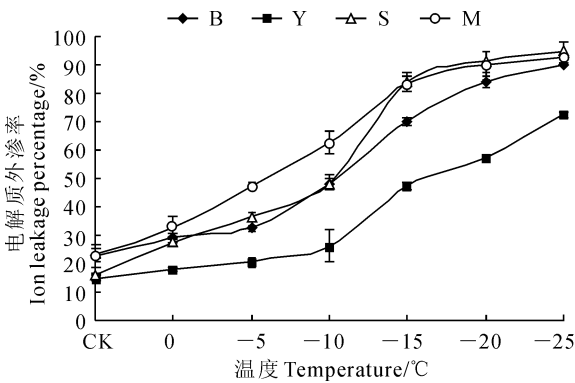


图 1 低温处理下枝条电解质外渗率的变化

B. 白黎檬;Y. 宜昌橙;S. 酸橙;M. 默科特;下同

Fig. 1 Variations of ion leakage percentage of twigs under low temperature treatments

B. *Citrus limonnia*; Y. *Citrus ichangensis*; S. *Citrus aurantium*; M. *Citrus reticulata*. The same as below

表 1 不同柑橘种类枝条电导率的 Logistic 方程参数和半致死温度

Table 1 Parameters of Logistic function and the tissue median lethal temperature for ion leakage percentage of different kinds of citrus twigs under low temperature treatments

种类 Species	Logistic 方程 Logistic equation	半致死温度 Semi-lethal temperature/℃	拟合度 R ²	排序 Order
白黎檬 <i>C. limonnia</i>	$y=96.7304/(1+2.6841e^{-0.1356t})$	-7.28	0.9809**	3
宜昌橙 <i>C. ichangensis</i>	$y=90.4283/(1+5.8098e^{-0.1184t})$	-14.86	0.9892**	1
酸橙 <i>C. aurantium</i>	$y=96.2325/(1+2.3802e^{-0.1026t})$	-8.45	0.9788**	2
默科特 <i>C. reticulata</i>	$y=94.4300/(1+3.3415e^{-0.2052t})$	-5.88	0.9876**	4

注: ** 表示拟合度呈极显著水平。
Note: ** indicate the significance at the 0.01 level.

反映膜系统受伤害程度的重要指标之一。由图 2 可以看出,随着温度的降低,白黎檬、酸橙和‘默科特’的 MDA 含量表现出先升高后下降的趋势,其中酸橙和‘默科特’的 MDA 含量在 -15°C 时达到最大值,分别较对照增加 42.30% 和 108.36%,白黎檬的 MDA 含量在 -20°C 时达到最大值,较对照增加了 67.76%;而宜昌橙的 MDA 含量呈现出逐渐缓慢增加的趋势,在 -25°C 时仅较对照增加了 36.24%。可见,在低温胁迫处理过程中,抗寒性较强的宜昌橙枝条的 MDA 含量增加缓慢且水平最低,而抗寒性较弱的‘默科特’枝条的 MDA 含量增加迅速且远高于其余 3 个柑橘种类。

2.3 低温处理下柑橘枝条的抗氧化酶活性变化

在低温逆境中,植物体内抗氧化酶活性会发生显著变化,以调控 ROS 水平,维持体内活性氧代谢的动态平衡。如图 3, A 所示,在低温处理下各柑橘枝条中的 SOD 活性呈现先升高后降低的趋势,但它们达到峰值的温度不同。其中,‘默科特’SOD 活性在 0°C 时就达最大值($66.91 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$),酸橙和白黎檬在 -10°C 时达最大值(分别为 101.82 和 $87.70 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$),而宜昌橙在 -15°C 时 SOD 酶活性达最大值($54.56 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$)。4 个柑橘种类枝条中 SOD 活性在低温处理下的涨幅表现为:宜昌橙>酸橙>白黎檬>‘默科特’,说明抗寒性强的柑橘 SOD 活性对低温胁迫不敏感,但能通过大幅提高体内的 SOD 活性来清除在低温条件下产生 ROS,从而表现出更强的抗寒性。

图 3, B 显示,4 个柑橘种类枝条中 POD 活性变化趋势具有一致性,都是先升高后降低的趋势,与 SOD 活性变化趋势基本一致。其中,抗寒性较弱的‘默科特’POD 活性峰值($90.68 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$)出现在 -5°C ,较对照增加了 56.19%,后逐渐降低;而抗寒性

较强的宜昌橙 POD 活性峰值($338.73 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$)出现在 -15°C ,为对照温度下的 1.6 倍;酸橙和白黎檬的峰值 POD 活性均出现在 -10°C ,变化幅度居中,它们分别较对照增加 77.00% 和 70.45%。可见,4 个柑橘种类枝条中 POD 活性在各处理中均以抗寒性较强的宜昌橙最高,酸橙和白黎檬居中,而抗寒性最弱的‘默科特’POD 相对较低;同时,抗寒性强的柑橘 POD 活性的峰值高,达到峰值时的温度更低,而抗寒性弱的柑橘峰值低,达到峰值的温度较高。

2.4 低温处理下柑橘枝条的渗透调节物质含量的变化

各柑橘种类枝条中可溶性糖含量随温度降低呈现先升高再降低的变化趋势(图 4, A),但它们达到峰值的温度不一致。其中,抗寒性较弱的‘默科特’的可溶性糖含量在 -5°C 最先达到峰值,含量为 $5.34 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,较对照增加了 2.69%;其次为白黎檬和酸橙;而抗寒性较强的宜昌橙枝条中可溶性糖含量在 -20°C 到达峰值,含量为 $7.53 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,较对照增加了 51.94%。

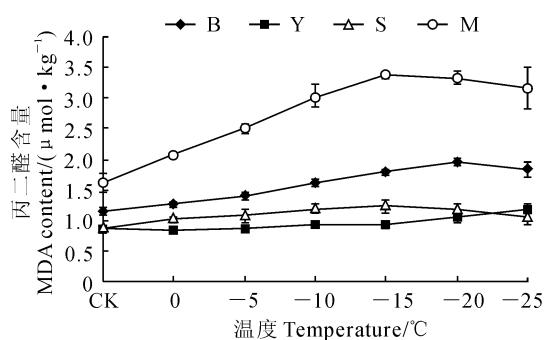


图 2 低温处理下柑橘枝条 MDA 含量变化

Fig. 2 Variations of MDA content of citrus twigs under low temperature treatments

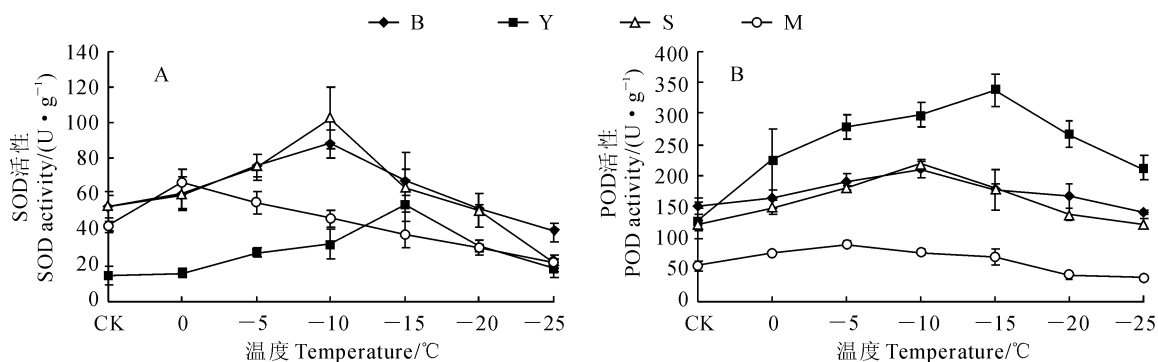


图 3 低温处理下柑橘枝条 SOD(A)和 POD(B)活性变化

Fig. 3 Variations of SOD(A) and POD(B) activities of citrus twigs under low temperature treatments

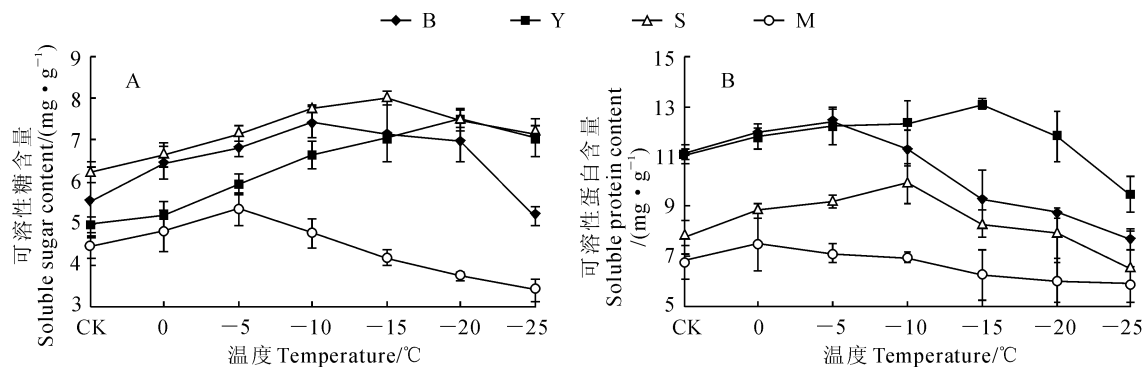


图4 低温处理下柑橘枝条可溶性糖(A)和可溶性蛋白(B)含量变化
Fig. 4 Variations of soluble sugar(A) and soluble protein(B) contents
of citrus twigs under low temperature treatments

表2 不同柑橘种类的抗寒隶属函数分析结果

Table 2 The analysis result of membership function values of cold resistance among different kinds of citrus

项目 Item	白黎檬 <i>C. limonnia</i>	宜昌橙 <i>C. ichangensis</i>	酸橙 <i>C. aurantium</i>	默科特 <i>C. reticulata</i>
可溶性蛋白含量 Soluble protein content	0.34	0.81	0.62	0.11
POD 活性 POD activity	0.41	0.71	0.45	0.09
SOD 活性 SOD activity	0.53	0.15	0.54	0.32
可溶性糖含量 Soluble sugar content	0.82	0.64	0.67	0.21
丙二醛含量 MDA content	0.90	0.95	0.71	0.26
电解质渗出率 Electrolyte leakage rate	0.48	0.73	0.51	0.41
$\sum T_{ij}$	3.48	3.98	3.51	1.41
$\overline{T_{ij}}$	0.58	0.66	0.59	0.23
抗寒能力顺序 Cold resistance ability order	3	1	2	4

同时,各柑橘种类枝条中的可溶性蛋白含量均随温度降低表现出先升后降的趋势,但含量高低存在差异(图4,B)。其中,白黎檬含量最高(11.05 mg·g⁻¹),而‘默科特’最低(6.76 mg·g⁻¹),宜昌橙和酸橙居中分别为 11.02 mg·g⁻¹和 7.75 mg·g⁻¹;在低温处理开始后,抗寒性较弱的‘默科特’在 0℃时率先达到最大值(7.45 mg·g⁻¹),其次为白黎檬和酸橙,分别在-5℃和-10℃时达到峰值,最后为抗寒性较强宜昌橙在-15℃时达到最大值(13.02 mg·g⁻¹);各柑橘种类在低温胁迫下的可溶性蛋白含量变化幅度由高到低依次为:酸橙、宜昌橙、白黎檬、‘默科特’。以上结果说明抗寒能力强的柑橘种类可以通过增加自身有机渗透调节物质的含量抵御低温条件带来的伤害,而抗寒能力较弱的柑橘种类这种自身调节能力则较差。

2.5 野生柑橘的抗寒性综合评价

隶属函数法通常用来评价植物的抗寒性,其隶属函数值越大抗寒性越强,反之抗性越弱。通过对 4 个柑橘种类的可溶性蛋白含量、可溶性糖含量、

MDA 含量、SOD 活性、POD 活性及电解质渗出率的综合分析发现,枝条的丙二醛含量和电解质渗出率与各柑橘的抗寒性呈负相关,其它的呈正相关;同时,4 个柑橘种类的隶属函数值(表 2)以宜昌橙的最大(0.66),其次为酸橙和白黎檬(分别为 0.59 和 0.58),‘默科特’的隶属函数值最小(0.23)。所以,4 个柑橘种类的抗寒性强弱顺序为:宜昌橙>酸橙>白黎檬>‘默科特’,该结果与通过建立 Logistic 方程而推算出的抗寒性强弱顺序一致。

3 讨论

通过低温处理下电解质的渗出率与温度的关系拟合 Logistic 方程,推算出植物的半致死温度(LT₅₀),进而对其抗寒性进行评价,这种方法在许多植物^[16-18]的抗寒性研究上都得到了印证。本试验通过电解质渗出率法计算出了 3 个野生柑橘种类和 1 个栽培品种的 LT₅₀,其中抗寒性最强的宜昌橙为-14.86℃,其次是酸橙和白黎檬,分别为-8.45℃和-7.28℃,而栽培品种‘默科特’为-5.88℃。

即野生柑橘的抗寒性较栽培品种强,这是野生柑橘生长于野外,长期受到外界恶劣环境的胁迫而产生的一种适应机制。2014年2月,贵阳地区最低气温达 -6.8°C ,‘默科特’的叶片、枝条均出现大量冻害症状,温度回升后冻害症状未能恢复,而3种野生柑橘中仅白黎檬的叶片表现出轻微的冻害症状,温度回升后冻害症状能自行解除,其余2种野生柑橘未表现出任何冻害症状,这说明采用半致死温度进行抗寒性鉴定结果与实际田间追踪结果一致,野生柑橘的抗寒性较栽培品种强。

低温条件下对植物伤害主要表现在由于质膜的功能受损或结构破坏,使其透性增大电解质外渗^[5]。本试验结果表明,随着温度的降低各柑橘种类枝条的电解质外渗率呈“S”型曲线的变化,这与前人在葡萄^[8]、菊花^[19]和灯台树^[20]等植物上的研究结果一致,具体表现为抗寒性强的柑橘种类到达波峰的温度低,而抗寒性弱的种类到达波峰的温度相对较高,抗寒性强的种类在低温条件下细胞质膜透性增加幅度较小,电解质外渗率较低。同时,膜脂过氧化的产物MDA一直是作为生物膜的损伤程度的标志,低温胁迫下植物体内活性氧代谢平衡被打破,具有高度氧化活性的ROS会对细胞膜系统造成强烈的破坏作用,引发不饱和脂肪酸过氧化产生MDA^[21]。在许多植物的抗寒性研究中发现,一般情况下MDA含量越高细胞膜受损伤越严重,低温胁迫下植物中的MDA含量可以用来判断其对低温条件的适应能力的强弱^[22]。在本研究中抗寒性强的宜昌橙MDA含量一直较其他3个柑橘种类的低,且在不同低温处理下的变化值也较其他种类的小,这与在葡萄^[18]和木兰^[23]等植物上的研究结果一致。

另外,超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)是植物膜脂过氧化的酶促防御系统的重要保护酶^[24]。低温胁迫条件下,植物借助于这些保护酶系统来清除不断产生的有害的活性氧,保护光合器官、膜及生物功能分子等^[25]。在本试验中降温初期枝条对低温具有一定的防御反应,SOD和POD活性逐渐上升来减缓细胞内多余的自由基对细胞伤害的速度与程度,是4个柑橘种类对低温胁迫的适

应性反应;随着温度的逐渐降低,枝条中SOD和POD活性逐渐下降,表明高的低温胁迫积累了过量的活性氧,使活性氧和防御系统的动态平衡遭到了破坏,从而加剧了膜脂过氧化作用,但抗寒性强的柑橘种类的SOD和POD活性达到峰值的处理温度较其他种类的低,而且与对照相比SOD和POD活性降低的幅度也低于其他柑橘种类。这些结果与在黄连木^[5]、草莓^[26]和西瓜^[21]等植物的抗寒性研究中得到的结论相似。

渗透调节物质在植物的抗寒生理中可以提高植物细胞的渗透浓度,降低水势,增加植株的保水能力,从而使其冰点下降,缓和细胞质过度脱水,保持细胞不致遇冷凝固,从而提高植物抗寒性^[18]。可溶性糖和可溶性蛋白是重要的渗透调节物质,许多植物在遭遇低温时植物体内的可溶性糖和可溶性蛋白会逐渐增加,从而降低细胞水势提高植物的抗寒性。在本试验中随着处理温度的降低,抗寒性强的宜昌橙的可溶性糖和可溶性蛋白含量都较对照有明显增加,且增加的幅度都较其余3个柑橘种类的高;随着温度的持续降低各柑橘种类枝条中的可溶性糖和可溶性蛋白含量呈先升高后降低的趋势,这可能是由于柑橘在初期遭受低温时能进行营养物质积累来抵御胁迫,在达到极限后累积的营养物质开始消耗所导致。

植物的抗寒性不仅与植物的本身的遗传基因有关,而且还与植物的生长环境有关。从不同树种抗寒性各指标的测定结果中发现,有些树种的某一指标显示其抗寒能力强,但另一指标表明其抗寒能力弱,所以通过单一指标很难准确评价某一树种的抗寒能力。运用隶属函数法对低温条件下各柑橘种类枝条的6个相关生理指标参数分析结果表明,4个柑橘种类的抗寒性强弱顺序为:宜昌橙>酸橙>白黎檬>‘默科特’,与通过Logistic方程推算出的抗寒性结果相吻合,这个结果也与前人用Logistic方程和相关生理指标对植物进行抗寒性评定的结果^[7]相一致,说明采用Logistic方程和隶属函数法对植物抗寒性的评价有一定的可靠性,可以根据实际情况采取其中任何一种方法进行柑橘的抗寒性评价。

参考文献:

- [1] PETER L S. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1984, 35: 543-584.

- [2] SHI Q H(史清华),GAO J SH(高建社),WANG J(王 军). Determination and evaluation of cold resistance of 5 poplar clones[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报),2003,**23**(11):1 937—1 941(in Chinese).
- [3] SHAO Y R(邵怡若),XU J X(许建新),XUE L(薛 立). Effects of low temperature stress on physiological-biochemical indexes and photosynthetic characteristics of seedlings of four plant species[J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报),2013,**33**(14):4 237—4 247(in Chinese).
- [4] FRY J D,LANG N S,CLIFTON G P. Freezing tolerance and carbohydrate content of low temperature acclimated and non-acclimated centipedegrass[J]. *Crop Science*,1993,33:1 051—1 055.
- [5] FENG X B(冯献宾),DONG Q(董 倩),LI X X(李旭新). Cold resistance of *Pistacia chinensis* and *Koelreuteria integrifoliola* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报),2011,**22**(5):1 141—1 146(in Chinese).
- [6] LI Y B(李铁冰),YANG SH Q(杨顺强),REN G X(任广鑫). Changes analysis in physiological properties of several gram ineous grass species and cold-resistance comparison under cold stress[J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报),2009,**29**(3):1 341—1 347(in Chinese).
- [7] LI B(李 斌),LIU L Q(刘立强),LUO SH P(罗淑萍). Determination and comprehensive evaluation on cold resistance of flower bud in almond[J]. *Nonwood Forest Research* (经济林研究),2012,**30**(3):16—22(in Chinese).
- [8] FU X W(付晓伟),ZHANG Q(张 倩),LIU C H(刘崇怀). Index for the evaluation of grape root cold-resistance[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报),2014,**31**(1):52—59(in Chinese).
- [9] ZOU Y CH(邹迎春),QIN D J(覃大吉),YIN H Q(殷红清). Comparative study on cold-resistance of *Citrus grandis* germplasms[J]. *Hubei Agricultural Sciences*(湖北农业科学),2013,**52**(2):342—344(in Chinese).
- [10] GUO W D(郭卫东),ZHANG ZH ZH(张真真),JIANG X W(蒋小韦). Semilethal temperature of fingered citron under low temperature stress and evaluation on their cold resistance[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报),2009,**36**(1):81—86(in Chinese).
- [11] MA D L(马德栗),LI L(李 兰),JU Y Q(鞠英芹). Grade and feature analysis on freeze injury of citrus in Hubei Province from 1961 to 2009[J]. *Hubei Agricultural Sciences*(湖北农业科学),2013,**52**(14):3 313—3 324(in Chinese).
- [12] 宿文斌. 柑橘不同品种抗寒力比较研究[D]. 武汉:华中农业大学,2009.
- [13] FAN W G(樊卫国),ZHU W F(朱维藩),FAN E P(范恩普). Germplasm resources of wild fruit tree in Guizhou Province[J]. *Journal of Guizhou University* (贵州大学学报),2002,**21**(1):32—38(in Chinese).
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:中国农业科技出版社,2002:167—270.
- [15] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京:中国农业出版社,2000:56—59.
- [16] XIONG X(熊 曦),WU Y Q(吴彦奇),LI X(李 西). Preliminary research of determination technology on bermudagrass in relation to cold tolerance[J]. *Pratacultural Science* (草业科学),2001,**18**(2):32—35(in Chinese).
- [17] ZHANG J(张 捷),YANG SH M(杨淑梅),WANG L(王 玲). Cold resistance of two ‘Zhuliu’ varieties under low temperature stress [J]. *Scientia Silvae Sinicae*(林业科学),2013,**49**(9):159—164(in Chinese).
- [18] JIN M L(金明丽),XU J ZH(徐继忠),ZHANG G(张 钢). Relation between electrical impedance spectroscopy parameters and frost hardiness in shoots of apple rootstocks[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报),2011,**38**(6):1 045—1 051(in Chinese).
- [19] XU Y(许 瑛),CHEN Y(陈 煜),CHEN F D(陈发棣). Analysis of cold-tolerance and determination of cold-tolerance evaluation indicators in chrysanthemum[J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学),2009,**42**(3):974—981(in Chinese).
- [20] JIAO L L(缴丽莉),LU B SH(路丙社),BAI ZH Y(白志英). The comparison of cold resistance of four garden ing young trees[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报),2006,**33**(3):667—670(in Chinese).
- [21] LIU H Y(刘慧英),ZHU ZH J(朱祝军),LÜ G H(吕国华). Effect of low temperature stress on chilling tolerance and protective system against active oxygen of grafted watermelon[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报),2004,**15**(4):659—662(in Chinese).
- [22] FAROOQ M,AZIZ T,WAHID A. Chilling tolerance in maize: agronomic and physiological approaches[J]. *Crop and Pasture Science*,2009,**60**(6):501—516.
- [23] LI G(李 刚),JIANG W B(姜卫兵),WENG M L(翁忙玲). A preliminary study on cold resistance of six magnolia species seedlings[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报),2007,**34**(3):783—786(in Chinese).
- [24] ZHOU SH J(周书娟),WANG F(王 飞),TIAN ZH G(田治国). Screening cold hardy genotype of Xinjiang local apricot variety ‘Shushanggan’ in China[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报),2011,**38**(10):1 976—1 982(in Chinese).
- [25] WU H(武 辉),ZHANG J S(张巨松),SHI J Y(石俊毅). Physiological responses of cotton seedlings under low temperature stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报),2013,**33**(1):74—82(in Chinese).
- [26] YANG F X(杨凤翔),JIN F(金 芳),YAN X(颜 霞). Comprehensive evaluation of different strawberry varieties’ tolerance to coldness[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报),2010,**27**(3):368—372(in Chinese).