

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

令 凡¹, 焦 健^{1*}, 李朝周^{2,3}, 金庆轩¹, 赵曼利¹

(1 甘肃农业大学 林学院, 兰州 730070; 2 甘肃农业大学 生命科学与技术学院, 兰州 730070; 3 甘肃省干旱生境作物学重点实验室, 兰州 730070)

摘 要:为了明确油橄榄的抗寒机理,对甘肃陇南地区主栽的6个油橄榄品种离体叶片进行低温胁迫(5℃、0℃、-5℃、-10℃)处理,并以18℃常温培养为对照,测定与抗寒性相关的生理生化指标,并采用隶属函数法对不同品种抗寒性进行综合评价。结果显示:(1)各油橄榄品种离体叶片相对电导率随处理温度的降低而呈“S”型曲线变化,结合 Logistic 方程得出不同品种油橄榄半致死温度介于-6.687℃~-3.706℃之间,且各品种的半致死温度顺序为‘皮肖利’<‘配多灵’<‘莱星’<‘阿斯’<‘鄂植8号’<‘佛奥’,其抗寒性大小依次为‘皮肖利’>‘配多灵’>‘莱星’>‘阿斯’>‘鄂植8号’>‘佛奥’。(2)随着胁迫温度降低,各油橄榄品种离体叶片叶绿素含量逐渐降低,可溶性糖含量基本呈逐渐增加趋势,而可溶性蛋白质含量、脯氨酸含量、丙二醛含量、SOD活性、POD活性和CAT活性则呈先升后降的趋势。(3)在-10℃低温胁迫下,油橄榄品种‘皮肖利’和‘配多灵’的叶片叶绿素含量比常温对照降幅较小,渗透调节物质含量和保护酶活性相对增幅较大,丙二醛含量增幅较小,而此时品种‘佛奥’和‘鄂植8号’各指标的变化趋势与之相反。(4)根据不同油橄榄品种的平均隶属度(抗寒性综合评价值)确定的品种抗寒能力大小顺序(‘皮肖利’>‘配多灵’>‘莱星’>‘阿斯’>‘鄂植8号’>‘佛奥’)与品种半致死温度的抗寒性表现顺序完全一致。研究表明,在低温胁迫条件下,‘皮肖利’和‘配多灵’等油橄榄品种能通过提高渗透调节物质含量和增强保护酶活性来缓解胁迫造成的过氧化伤害,从而表现出较强的抗寒能力;基于相对电导率的半致死温度和隶属函数法的综合评价均能准确鉴定油橄榄的抗寒性。

关键词:油橄榄;低温胁迫;半致死温度;生理响应;隶属函数分析

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Physiological Response and Comprehensive Evaluation of Cold Resistance under Cold Stress for Different Varieties of *Olea europaea*

LING Fan¹, JIAO Jian^{1*}, LI Chaozhou^{2,3}, JIN Qingxuan¹, ZHAO Manli¹

(1 College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2 College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3 Gansu Provincial Key Laboratory of Aridland Crop Science, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to understand the adaptation mechanism of olive to cold stress, we investigated cold stress (5℃, 0℃, -5℃, -10℃) and ordinary temperature culture (18℃, control) with *in vitro* leaves of 6 olive varieties which planted at Longnan District, Gansu Province. The physiological and biochemical index related with cold hardiness were measured. By the method of subordinate function, comprehensive eval-

收稿日期: 2014-08-15; 修改稿收到日期: 2014-12-16

基金项目: 国家国际科技合作专项(2012DFR30830); 甘肃省农牧厅农业科技创新项目(GNCX-2012-47)

作者简介: 令 凡(1988—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事植物生理生态研究。E-mail: ndlingfan2007@163.com

* 通信作者: 焦 健, 硕士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事植物生态学教学与科研工作。E-mail: jiaoj@gsau.edu.cn

uation on the cold resistance of different varieties was made. The results indicated that: (1) The *in vitro* leaf relative conductivity of different varieties increased as temperature decreased, presenting “S” type curve change pattern. By using the logistic equation, the half lethal temperatures of the 6 olive varieties were obtained. The values were between $-6.687^{\circ}\text{C} \sim -3.706^{\circ}\text{C}$, and increased according to ‘Picholine’ < ‘Pendolino’ < ‘Leccino’ < ‘Ascolana Tenera’ < ‘Ezhi 8’ < ‘Frantoio’ sequence. (2) The *in vitro* leaf chlorophyll contents of olive varieties decreased gradually as stress temperature decreased gradually, while the soluble sugar content generally increased, meanwhile the contents of soluble protein, proline, malondialdehyde (MDA) and the activities of SOD, POD, CAT generally increased first and then decreased. (3) Under -10°C cold stress, compared with normal temperature control, the leaf chlorophyll contents of ‘Picholine’ and ‘Pendolino’ declined slightly, the osmoregulation substance contents and protective enzyme activities increased greatly, and MDA contents increased slightly, meanwhile ‘Frantoio’ and ‘Ezhi 8’ were reversely varied. (4) The 6 olive varieties cold resistance order (‘Picholine’ > ‘Pendolino’ > ‘Leccino’ > ‘Ascolana Tenera’ > ‘Ezhi 8’ > ‘Frantoio’) was identified by the average degree of membership hardiness (cold resistance comprehensive evaluation value) was in contrast with that of the half lethal temperature order. The results indicated that, under cold stress, ‘Picholine’ and ‘Pendolino’ could relieve the stress of peroxide damage by increasing the osmoregulation substance contents and protective enzyme activities, showed stronger cold resistance ability. Both the half lethal temperature based on relative conductivity and the comprehensive evaluation based on subordinate function analysis could accurately appraise cold resistance of olive varieties.

Key words: *Olea europaea*; cold stress; LT_{50} ; physiological response; subordinate function analysis

油橄榄(*Olea europaea* L.)属木犀科木犀榄属植物,常绿阔叶乔木树种,原产于地中海国家,是世界著名的木本油料兼果用树种,喜夏季高温、冬季温暖气候,比较耐干旱,鲜果榨取的橄榄油为高级食用油,享有“植物油皇后”的美誉。陇南位于甘肃东南部,以其独特的气候资源和环境条件成为中国三个一级油橄榄适生区之一。截止到2010年,甘肃陇南的油橄榄种植面积达1.03万 hm^2 ,占全国油橄榄种植面积的1/3以上,油橄榄果产量达到268.2万kg,更是占到全国产量的七成以上,而温度特别是冬季低温是当地油橄榄引种和生产的重要限制因素之一^[1]。

本研究选用的6个油橄榄品种,分别为‘皮肖利’、‘莱星’、‘配多灵’、‘阿斯’、‘佛奥’和鄂植8号’,均为引种多年的适生、早产、丰产品种,在甘肃武都半干旱区的白龙江河谷地带表现出适应性强、耐旱、喜光、喜高温的特性,适合生长在土壤深厚、排水良好的钙质土上,生长良好,叶寿命长,无生理落叶现象发生,开花结果早,产量高^[2]。由于每个品种耐寒性有所不同,生产中应根据园地的立地条件和各品种的生物学特性选择适宜的品种栽植。

低温影响油橄榄生长,特别是在开花结果期,是影响油橄榄品质与产量的重要限制因素。经过人们长期引种驯化,油橄榄的栽植已由原产地地中海沿岸地区,扩展到 $\text{N}45^{\circ}$ 到 $\text{S}37^{\circ}$ 之间,但当低温超过

油橄榄能忍受的温度极限,或虽未超过最低的温度极限,但持续时间较长,也会造成严重伤害或枯死^[2]。据报道在地中海沿岸地区,油橄榄种植区冬季最低气温为 $-5.5^{\circ}\text{C} \sim -1.4^{\circ}\text{C}$,低于 -6°C 一般不宜种植^[3]。中国关于油橄榄引种品种抗冻性及引种区的温度条件有少量报道,只限于冻害的形态解剖构造与临界温度的研究^[4-5]。目前国内尚缺乏关于油橄榄引种品种对低温胁迫的生理响应研究,而油橄榄品种抗寒性综合评价未见报道。

在植物的抗寒性研究中,常利用电导法测定相对电导率并配合 Logistic 方程回归分析求得拐点温度,以确定植物对低温的半致死温度(LT_{50}),更为准确地判定植物抗寒性^[6-8]。本研究以陇南引种的6种主要油橄榄品种为材料,分析低温胁迫下油橄榄离体叶片电导率变化,配合以 Logistic 方程确定半致死温度(LT_{50}),并通过测定与植物抗寒性相关的生理生化指标,研究不同油橄榄品种对低温胁迫的生理响应,再依据低温胁迫下各油橄榄品种抗性生理指标的变化,采用隶属函数法对其抗寒性进行综合评价,以期油橄榄抗寒品种引种选育及合理安排生产布局提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 试验材料及低温胁迫处理

本试验于2013年7月到8月进行,材料选用1

年生发育良好的 6 个油橄榄品种扦插幼苗,苗木来自甘肃省陇南市武都区富江油橄榄种植园,品种分别为‘皮肖利’、‘莱星’、‘配多灵’、‘阿斯’、‘佛奥’和‘鄂植 8 号’。2013 年 7 月 10 日摘取油橄榄植株中部且大小一致的油橄榄叶片,分别置于 5℃、0℃、-5℃ 和 -10℃ 的冰箱低温胁迫处理 12 h,以 18℃ 室温培养的油橄榄离体叶片为对照(CK)。处理温度误差为 ±0.5℃,冷冻和解冻速度为 1℃/h,处理后的样品于室内静置 12 h 后进行各生理指标测定,所有指标重复测定 3 次。

1.2 相对电导率的测定和半致死温度(LT₅₀)计算

1.2.1 电导率的测定 叶片样品先用自来水冲洗干净,再用蒸馏水洗 3 次,最后用去离子水冲洗 1 次,用滤纸吸干表面水分,将叶片剪成适宜程度的长条(避开主脉),快速称取 3 份,每份 0.1 g,分别置于 10 mL 去离子水的刻度试管中,室温下浸泡处理 12 h。用 DDS-11A 型电导率仪测定叶片浸提液电导率,记为 R₁,然后将具塞刻度试管放入水浴锅沸水浴 30 min,冷却至室温后摇匀,再次测定浸提液电导率,记为 R₂,计算叶片相对电导率(REC)=(R₁/R₂)×100%。

1.2.2 LT₅₀ 的计算 用 SPSS 统计分析软件对不同处理温度与叶片相对电导率之间的关系进行非线性回归分析,用 Logistic 方程 $y=k/(1+ae^{-bx})$ 来拟合,其中 y 为相对电导率, x 为处理温度, k 为细胞伤害率饱和容量即 y 的最大极限值, a 、 b 为方程参数。为了确定 a 、 b 的值,将方程线性化处理得到 $\ln[(k-y)/y]=\ln a-bx$,令 $y_1=\ln[(k-y)/y]$,则转化为细胞伤害率 y_1 与处理温度 x 的直线方程。通过回归求得 a 、 b 值及决定系数 R^2 ,用曲线的拐点作为油橄榄的半致死温度,即 $LT_{50}=-\ln a/b$,确定不同油橄榄品种的抗寒性。

1.3 生理生化指标的测定

油橄榄离体叶片叶绿素含量、可溶性蛋白质含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性根据李玲等^[9]的方法测定。

1.4 油橄榄品种抗寒性综合评价

不同油橄榄品种抗寒性综合评价应用隶属函数法^[10-11];采用模糊数学的隶属函数法计算每个品种各抗性相关指标的隶属度。其中,与抗寒性呈正相关的可溶性蛋白质、脯氨酸、叶绿素、可溶性糖含量和抗氧化酶(SOD、POD 和 CAT)活性用公式(1)

计算:

$$U(X_{ijk})=(X_{ijk}-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min}) \quad (1)$$

与抗寒性呈负相关的相对电导率、MDA 含量用式(2)计算:

$$U(X_{ijk})=1-(X_{ijk}-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min}) \quad (2)$$

式(1)、(2)中: $U(X_{ijk})$ 为第 i 个品种第 j 个温度梯度第 k 项指标的隶属度,且 $U(X_{ijk}) \in [0,1]$; X_{ijk} 表示第 i 个品种第 j 个温度梯度第 k 个指标测定值; $X_{\max}$ 、 $X_{\min}$ 为所有参试种中第 k 项指标的最大值和最小值。用每个品种各项指标隶属度的平均值作为各品种抗寒能力综合评判标准进行比较。

1.5 数据处理

采用 Excel 2003、SPSS 19.0 和 STATISTICA 7 软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种油橄榄在低温胁迫下的相对电导率及其半致死温度

2.1.1 叶片相对电导率 图 1 显示,6 个品种的油橄榄离体叶片经过不同低温处理后,其叶片相对电导率随着处理温度的降低而逐渐升高,大体呈“S”型曲线变化。当温度从 18℃(CK)降到 5℃时,叶片细胞膜透性缓慢增大,说明其中电解质缓慢渗出,并以品种‘配多灵’叶片相对电导率(42.1%)升高幅度最大(19.8%),‘阿斯’叶片相对电导率(26.6%)升高幅度最小(1.8%)。当温度降至 0℃时,‘佛奥’、‘鄂植 8 号’叶片相对电导率分别升高至 47.9%、49.1%,表明‘佛奥’和‘鄂植 8 号’的叶片细胞膜已受到明显伤害,而其余 4 个品种油橄榄叶片细胞膜受害不明显。当温度降至 -5℃时,‘佛奥’和‘鄂植 8 号’叶片细胞膜受到严重伤害,相对电导率分别为 81.6%和 58.0%,相对电导率超过 50%;而此时‘配多灵’、‘阿斯’、‘莱星’细胞膜透性均受到轻度伤害,相对电导率未超过 50%。然而当温度继续下降到 -10℃时,除了‘配多灵’相对电导率为 87.0%外,‘皮肖利’、‘佛奥’、‘鄂植 8 号’、‘阿斯’、‘莱星’相对电导率均超过 90%(图 1)。结果表明,重度低温胁迫(-10℃)下,6 个油橄榄品种均受到严重伤害;中度低温胁迫(-5℃)下,不同品种油橄榄叶片膜伤害差异最大,‘佛奥’和‘鄂植 8 号’膜伤害较为严重,说明其对低温的耐受性较差,其它品种对低温的耐受性较强。

2.1.2 半致死温度 通过 Logistic 方程对处理温度和相对电导率进行拟合,能够较好地反映出两者

之间的关系,并确定半致死温度(LT_{50})。Logistic方程拟合结果(表1)显示,6个油橄榄品种叶片相对电导率与油橄榄半致死温度呈较强的线性关系,且 R^2 介于0.821~0.881之间,表明拟合结果较精确可靠,可作为油橄榄抗寒性判定的重要指标。其中,‘皮肖利’、‘配多灵’、‘莱星’、‘阿斯’、‘鄂植8号’、

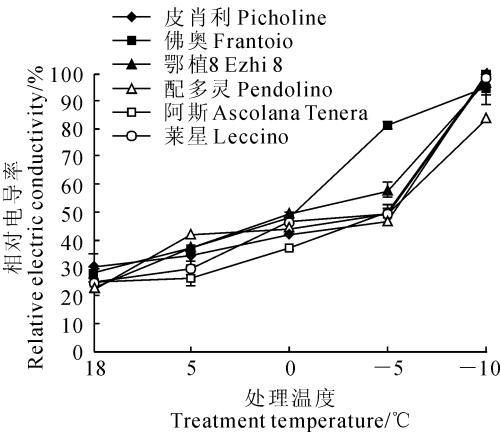


图1 低温胁迫下6个油橄榄品种叶片相对电导率的变化
Fig. 1 Changes of the leaf relative electric conductivity of 6 olive varieties under cold stress

表1 不同品种油橄榄的 Logistic 方程及半致死温度
Table 1 Logistic equation and LT_{50} of different olive varieties

品种 Variety	Logistic 方程 Logistic equation	R^2	$LT_{50}/^{\circ}C$
皮肖利 Picholine	$y=99.931/(1+9.398e^{-0.335x})$	0.821	-6.687
配多灵 Pendolino	$y=83.293/(1+6.093e^{-0.287x})$	0.845	-6.303
莱星 Leccino	$y=98.630/(1+9.276e^{-0.375x})$	0.868	-5.940
阿斯 Ascolana Tenera	$y=99.061/(1+9.316e^{-0.383x})$	0.866	-5.824
鄂植 8 Ezhi 8	$y=96.477/(1+6.049e^{-0.430x})$	0.837	-4.187
佛奥 Frantoio	$y=94.588/(1+4.942e^{-0.431x})$	0.881	-3.706

‘佛奥’的半致死温度(LT_{50})介于-6.687℃和-3.706℃之间且依次升高,说明‘皮肖利’和‘配多灵’抗寒性较强,‘莱星’和‘阿斯’次之,‘鄂植8号’和‘佛奥’抗寒性最弱(表1)。

2.2 不同油橄榄品种对低温胁迫的生理响应特征

2.2.1 叶片叶绿素和丙二醛含量 测定结果显示,系列低温胁迫下6个油橄榄品种叶片叶绿素含量随着胁迫加剧总体呈下降趋势(图2,A);与室温对照(CK,18℃)相比,-10℃低温胁迫条件下,品种‘皮肖利’、‘佛奥’、‘鄂植8号’、‘配多灵’、‘阿斯’和‘莱星’叶片叶绿素含量相对降幅分别为21.370%、42.234%、46.325%、24.815%、33.236%和33.673%。即品种‘佛奥’和‘鄂植8号’的叶绿素在低温胁迫后降解最明显,其受到低温胁迫的伤害相对较重,而品种‘皮肖利’和‘配多灵’降解较少,叶绿素含量相对稳定,受到的伤害较轻。

同时,6个油橄榄品种离体叶片丙二醛含量随低温胁迫的加剧呈先升后降的趋势,且同一品种在不同低温胁迫下的丙二醛含量存在极显著差异($P<0.01$);所有油橄榄品种叶片丙二醛含量均在-5℃低温时达到峰值,而-5℃到-10℃低温条件下丙二醛含量又降低。其中,与室温对照(18℃)相比,在-10℃低温胁迫下,‘皮肖利’和‘配多灵’叶片的丙二醛含量增幅较小,分别为4.3%、5.4%,而‘佛奥’和‘鄂植8号’增幅较大,分别为10.5%、11.2%(图2,B)。同样说明‘佛奥’和‘鄂植8号’叶片受到低温伤害较重,而‘皮肖利’和‘配多灵’受到伤害较轻。

2.2.2 叶片可溶性糖、脯氨酸和可溶性蛋白含量
可溶性糖含量在6个油橄榄品种中随低温胁迫的加

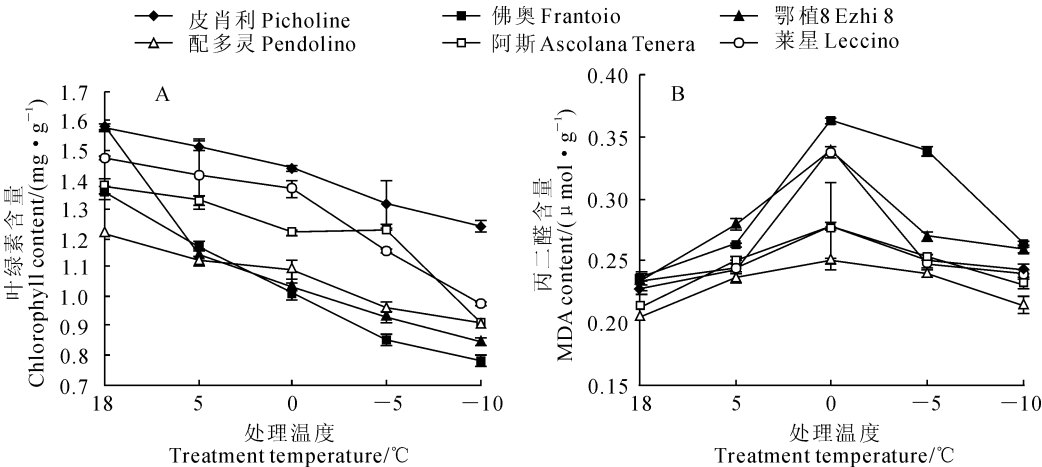


图2 低温胁迫下6个油橄榄品种叶片叶绿素和丙二醛含量的变化
Fig. 2 Changes of the contents of chlorophyll and MDA in leaves of 6 olive varieties under cold stress

剧总体呈显著上升趋势;‘皮肖利’和‘佛奥’随温度降低呈稳步上升,‘鄂植8号’在 -10°C 时降低,‘配多灵’、‘阿斯’和‘莱星’在 -5°C 时有所下降。与常温对照(18°C)相比, -10°C 时‘皮肖利’和‘配多灵’的可溶性糖含量相对增幅较大,分别为61.4%、66.6%,‘佛奥’和‘鄂植8号’相对增幅较小,分别为10.3%、23.3%(图3,A)。

同时,6个油橄榄品种叶片中脯氨酸含量随胁迫温度的降低呈先升后降的趋势,且相同品种在不同低温胁迫下存在极显著差异($P<0.01$),并均在 -5°C 时达到峰值,在 -5°C 到 -10°C 之间有所降低。与室温对照(18°C)相比,‘皮肖利’、‘配多灵’、

‘莱星’的叶片中脯氨酸含量在 -10°C 时相对增幅较大,分别为113.8%、912.0%、136.2%,而此时‘佛奥’、‘阿斯’相对增幅较小,分别为61.3%、6.1%(图3,B)。

另外,6个油橄榄品种叶片可溶性蛋白质含量随低温胁迫的加剧呈先升后降的趋势,相同品种在不同低温胁迫下可溶性蛋白质含量也存在极显著差异($P<0.01$),且‘皮肖利’的可溶性蛋白质含量基数明显高于其它品种;除‘阿斯’可溶性蛋白质含量基本呈直线上升趋势外,其余5个品种均在 -5°C 达到峰值后有所降低;与室温对照相比,‘莱星’、‘皮肖利’叶片可溶性蛋白质含量在 -10°C 时相对增幅较大,分别为63.4%、43.5%,而此时的‘佛奥’和‘鄂植8号’相对增幅较小,分别为17.1%、2.2%

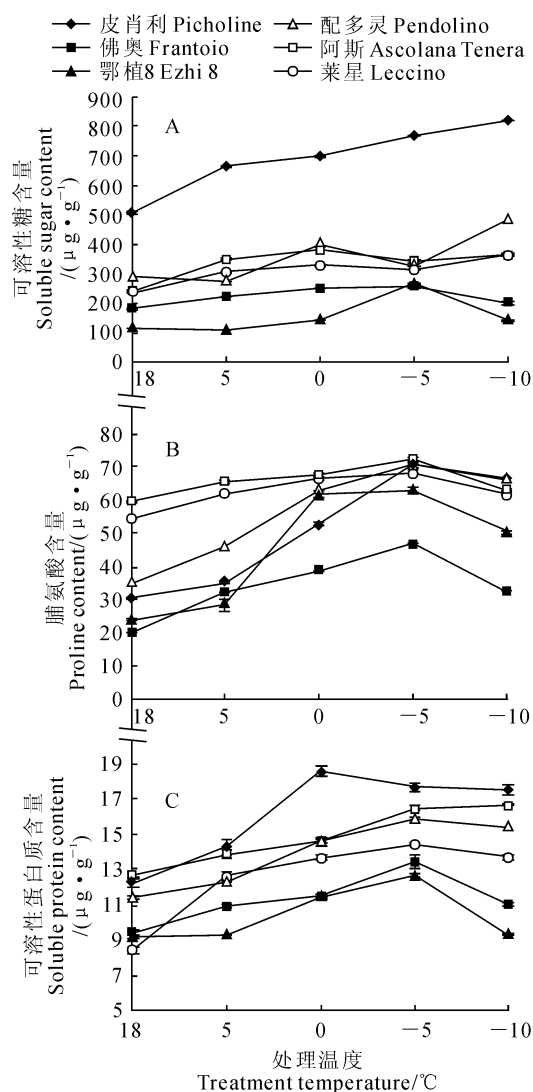


图3 低温胁迫下6个油橄榄品种叶片可溶性糖、脯氨酸及可溶性蛋白含量的变化

Fig. 3 Changes of the contents of soluble sugar, proline and soluble protein in leaves of 6 olive varieties under cold stress

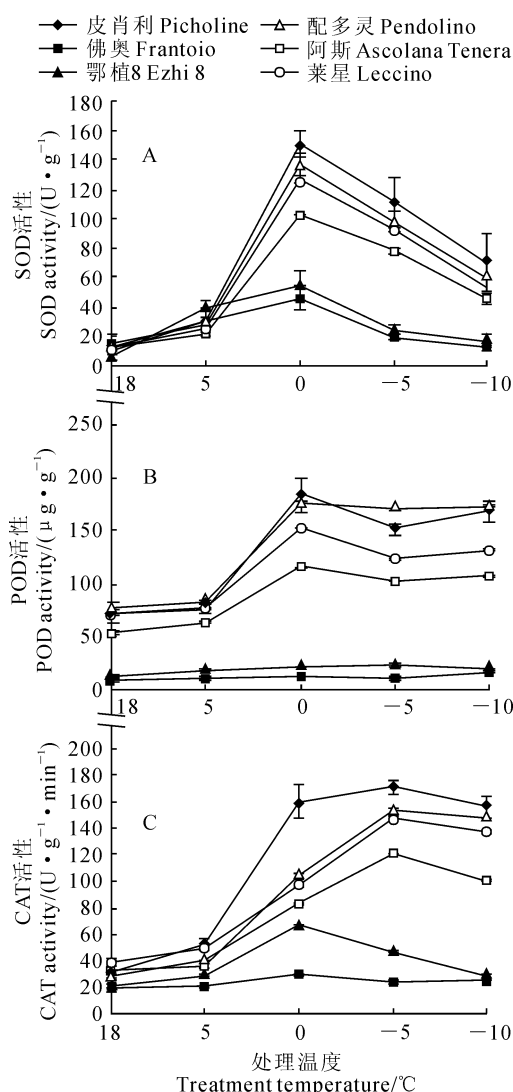


图4 低温胁迫下6个油橄榄品种叶片抗氧化酶活性的变化
Fig. 4 Changes of the antioxidant enzymes activities in leaves of 6 olive varieties under cold stress

表 2 低温胁迫下 6 个油橄榄品种各指标隶属函数值及抗寒性综合评价值

Table 2 Subordinate function values and integrate evaluation values under cold stress of 6 olive varieties

	品种 Variety					
	皮肖利 Picholine	佛奥 Frantoio	鄂植 8 Ezhi 8	配多灵 Pendolino	阿斯 Ascolano Tenera	莱星 Leccino
相对电导率 Relative electric conductivity	0.635	0.544	0.608	0.668	0.675	0.647
叶绿素含量 Chlorophyll content	0.201	0.683	0.592	0.647	0.458	0.388
可溶性糖含量 Soluble sugar content	0.824	0.155	0.064	0.345	0.322	0.282
可溶性蛋白质含量 Soluble protein content	0.751	0.280	0.191	0.540	0.532	0.410
脯氨酸含量 Proline content	0.591	0.267	0.484	0.689	0.801	0.809
丙二醛含量 MDA content	0.709	0.437	0.544	0.842	0.641	0.646
SOD 活性 SOD activity	0.474	0.116	0.148	0.421	0.313	0.385
POD 活性 POD activity	0.705	0.022	0.058	0.727	0.458	0.587
CAT 活性 CAT activity	0.625	0.029	0.126	0.496	0.362	0.491
平均隶属度 Average degree of membership	0.613	0.281	0.313	0.597	0.507	0.516
抗寒排序 Order of cold resistance	1	6	5	2	4	3

(图 3,C)。以上结果说明作为重要渗透调节物质的可溶性糖、脯氨酸和可溶性蛋白质在低温胁迫下表现出一定的渗透调节作用。对比所选用的 6 个油橄榄品种,渗透调节能力以‘皮肖利’和‘配多灵’相对较强,‘鄂植 8 号’和‘佛奥’较弱,而‘莱星’和‘阿斯’居中。

2.2.3 叶片抗氧化酶活性 油橄榄各品种叶片 SOD、POD 和 CAT 活性整体上皆表现为随低温胁迫加剧而先升后降的变化,且同一品种在不同低温胁迫下存在显著差异($P<0.05$);在品种间比较而言,品种‘佛奥’和‘鄂植 8 号’的各保护酶活性在不同低温胁迫下大多低于其余品种,尤其在温度低于 5℃以后表现得更明显(图 4,A~C)。其中,在 0℃到-10℃间,各品种叶片 SOD 活性均呈逐渐降低趋势;与室温(18℃)相比,‘皮肖利’和‘莱星’SOD 活性在-10℃时增幅较大,分别为 462.6%、314.3%,而此时‘佛奥’和‘鄂植 8 号’增幅较小,分别为 41.9%、142.8%(图 4,A)。同时,叶片 POD 活性除‘鄂植 8 号’在-5℃时达到峰值外,其余品种均在 0℃达到峰值,随后在 0℃到-5℃有所降低,之后在-5℃到-10℃又有所升高。与室温 CK 相比,-10℃时‘皮肖利’和‘配多灵’POD 活性相对增幅较大,分别为 135.7%、121.8%,而‘佛奥’和‘鄂植 8 号’增幅相对较小,分别为 54.8%、59.2%(图 4,B)。另外,品种‘皮肖利’、‘配多灵’、‘阿斯’、‘莱星’叶片的 CAT 活性均在-5℃达到峰值,后在-5℃到-10℃有所降低,而‘佛奥’和‘鄂植 8 号’在 0℃时达到峰值。与室温对照相比,-10℃时同样以‘皮肖利’和‘配多灵’的 CAT 活性增幅

较大,分别为 398.0%、357.3%,而以‘佛奥’和‘鄂植 8 号’增幅较小,分别为 30.7%、31.5%(图 4,C)。研究结果表明,不同油橄榄品种的 3 种抗氧化酶活性存在显著差异,总体上表现为随着低温胁迫程度的加剧,品种‘皮肖利’、‘配多灵’抗氧化酶活性居高,抗氧化能力较强,‘佛奥’和‘鄂植 8 号’较低,抗氧化能力较弱,而‘莱星’和‘阿斯’居中。

2.3 6 个油橄榄品种抗寒性的综合评价

应用隶属函数法对 6 个油橄榄品种各抗寒性生理指标进行综合分析表明,‘皮肖利’、‘配多灵’、‘莱星’和‘阿斯’抗寒性总体优于‘鄂植 8 号’和‘佛奥’(表 2)。其中,‘皮肖利’、‘佛奥’、‘鄂植 8 号’、‘配多灵’、‘阿斯’、‘莱星’的平均隶属度分别为 0.613、0.281、0.313、0.597、0.507、0.516。平均隶属度综合反映了品种抗寒能力的大小,其值越大则表明抗寒性越强。因此,低温胁迫下 6 个油橄榄品种的抗寒性由强到弱依次为:‘皮肖利’>‘配多灵’>‘莱星’>‘阿斯’>‘鄂植 8 号’>‘佛奥’。

3 讨 论

植物膜系统稳定性是评价植物抗性强弱的重要指标。低温胁迫下抗寒性弱的植物膜系统稳定性较差,细胞内容物外渗量大,相对电导率大^[12-13]。本研究中所选用 6 个油橄榄品种叶片的相对电导率随处理温度的降低呈上升趋势,表明胁迫温度越低,油橄榄叶片细胞受伤害越严重。王华等研究发现,植物的抗寒性与 MDA 含量呈负相关,即抗寒性越强,MDA 含量越小^[14]。实验结果表明,油橄榄叶片 MDA 含量随处理温度降低而呈先增后降的趋势,

且相对增幅由小到大为‘皮肖利’<‘配多灵’<‘莱星’<‘阿斯’<‘鄂植 8 号’<‘佛奥’,表明‘皮肖利’和‘配多灵’抗寒性较强,‘莱星’和‘阿斯’中等,‘鄂植 8 号’和‘佛奥’较弱。低温胁迫下油橄榄的渗透调节物质脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量均逐渐增加,且抗寒性强的品种‘皮肖利’叶片的渗透调节物质累积显著高于其它品种,一定程度上降低了细胞液渗透势,从而降低了细胞液冰点,从而提高其抗寒能力^[13]。另外,本研究中油橄榄叶片 SOD、POD、CAT 活性随胁迫温度的降低总体上呈先升高后下降的趋势,说明低温胁迫起初诱发抗氧化酶活性上升,但随着胁迫加剧,这些抗氧化酶活性下降,表明严重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^[15-16]。其中,本研究中品种‘皮肖利’和‘配多灵’的抗氧化酶活性均始终显著高于同期‘鄂植 8 号’和‘佛奥’,表明前两者的抗寒性明显较强。

尽管大多生理指标与植物的抗寒性有一定的相关性,但植物的抗寒性受多种生理因素的影响,因此不能用单一指标评价植物的抗寒性^[17-19]。本研究表明,6 个油橄榄品种各单项指标的变化值与综合抗寒性评价结果并不完全一致,这进一步说明在用生理指标进行抗寒性评价时结合统计分析方法,才能保证评价结果的可靠性。

陇南地区自 1975 年进行油橄榄引种试验以来,分别在白龙江、白水江、犀牛江两岸海拔 550~1 200 m 范围内的文县、康县、武都等县的 20 多个乡镇进行种植^[20]。陇南 1 月份极端最低温可达 -8.6°C ,本研究认为,6 个油橄榄品种的半致死温度在 -6.6°C 到 -3.7°C 之间,因此各品种橄榄均容易受到冻害。其中,品种‘佛奥’和‘鄂植 8 号’的抗寒性较差,栽培管理中要注意加强这两个品种的防寒措施,尤

其注意防治晚霜危害。‘皮肖利’和‘配多灵’的抗寒能力较强,可选做杂交亲本,用于油橄榄抗寒品种的改良和筛选,提高后代的抗寒能力。陇南地处秦岭山地,山大沟深,油橄榄种植区主要以山坡地为主,因此在生产上应根据种植园的海拔高度和油橄榄本身的抗冻性强弱,合理布局油橄榄生产。在油橄榄发展规划中,确定的海拔幅度为 500~1 200 m。低海拔山区可以安排种植耐寒性较差的‘佛奥’和‘鄂植 8 号’,高海拔山区应考虑种植耐寒强的‘皮肖利’和‘配多灵’品种。此外,橄榄各个生长发育阶段所需的最低温度、最适宜温度以及花芽生理分化要求的低温对油橄榄的正常生长发育极为重要。世界各地研究普遍认为, $-3^{\circ}\text{C} \sim -4^{\circ}\text{C}$ 的最低温度对油橄榄的花芽生理分化最适宜,有的研究认为不能低于 $-7^{\circ}\text{C} \sim -12^{\circ}\text{C}$ 。各橄榄品种要求花芽分化的低温也有所不同,今后应加强相关研究。

综上所述,本研究探讨了不同油橄榄品种 9 个相关生理指标在低温胁迫下的变化特征,并采用 Logistic 方程和隶属函数法对其抗寒性进行了综合评价,较为准确地比较了所选 6 个油橄榄品种抗寒能力的大小。结果表明,随着处理温度的不断降低,各品种油橄榄离体叶片相对电导率呈“S”型曲线变化,叶片叶绿素含量逐渐降低,可溶性糖含量逐渐增加,而可溶性蛋白质含量、丙二醛含量、脯氨酸含量呈先升后降的趋势,SOD、POD、CAT 活性基本呈先升后降趋势。采用隶属函数法对各抗寒性各相关生理指标进行综合分析发现,6 个油橄榄品种抗寒能力大小依次为:‘皮肖利’(0.613)>‘配多灵’(0.597)>‘莱星’(0.516)>‘阿斯’(0.507)>‘鄂植 8 号’(0.313)>‘佛奥’(0.281)。在生产上应根据种植园的海拔高度和油橄榄本身的抗冻性强弱,合理布局油橄榄生产。

参考文献:

- [1] ZHANG ZH W(张正武),DENG Y(邓煜),WANG G D(王贵德). Longnan olive industry development present situation and the counter measures[J]. *Forestry of China* (中国林业),2011,(20):41(in Chinese).
- [2] 邓明全,俞宁. 油橄榄引种栽培技术[M]. 北京:中国农业出版社,2011.
- [3] 徐纬英. 中国油橄榄——种质资源与利用[M]. 长春:长春出版社,2001.
- [4] CHEN B L(陈炳林),YANG J T(杨俊陶). A preliminary study on olive freezing resistance[J]. *Economic Forest Researches* (经济林研究),1986,4(2):66—68(in Chinese).
- [5] CHEN X CH(陈宪初). A preliminary study on the thermal adaptability of olive in the olive planting regions in China[J]. *Forest Science* (林业科学),1988,24(3):325—331(in Chinese).

- [6] LIU B(刘 冰),WANG Y K(王有科). Application of Logistic equation on determination of lethal dose-50 temperature of *Zanthoxylum bungeanum* shoots[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*(甘肃农业大学学报),2005,**40**(4):475—479(in Chinese).
- [7] LIANG L(梁 莉),TAN F(谈 锋). The effect of postharvest treatment of different calcium in concentration on storage behaviour of honey peach fruit[J]. *Journal of Southwest China Normal University*(西南师范大学学报),1997,(4):463—465(in Chinese).
- [8] ZHOU H P(周会萍),CAI Z G(蔡祖国). Measurement of cold tolerance by electrical conductivity method in associated with the logistic equation on golden *Prunus mume*[J]. *Northern Hort.* (北方园艺),2011,(18):39—41(in Chinese).
- [9] 李 玲,李娘辉,蒋素梅,等. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京:科学出版社,2009.
- [10] MENG Y Q(孟艳琼),ZHANG L F(张令峰),WANG L H(王雷宏),*et al.* Effects of low temperature stress on the cold-resistance physiological indexes of six leaf-colored climbing shrub species[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*(安徽农业大学学报),2009,**36**(2):172—177(in Chinese).
- [11] SI J H(司剑华),LU S J(卢素锦). Effects of low temperature stress on cold-resistance physiological indexes of five *Tamarix* L. in Qinghai[J]. *Journal of Central South Forestry Technology University*(中南林业科技大学学报),2010,**30**(8):78—81(in Chinese).
- [12] PAN X Y(潘晓云),WANG G X(王根轩),CAO Q D(曹琴东). Winter injury index and lethal low temperature for introduced American almond in Lanzhou,China[J]. *Acta Hort. Sinica*(园艺学报),2002,**29**(1):63—65(in Chinese).
- [13] HE L S(何丽斯),WANG R(汪 仁),MENG X J(孟祥静),*et al.* Physiological responses of *Jasminum sambac* cuttings under artificial low temperature[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报),2010,**30**(12):2 451—2 458(in Chinese).
- [14] WANG H(王 华),WANG F(王 飞). Effects of low temperature stress on SOD activity and membrane deroxidization of apricot flowers[J]. *Journal of Fruit Science*(果树科学),2000,**17**(3):197—201(in Chinese).
- [15] LU X H(陆新华),SUN D Q(孙德权),YE CH H(叶春海),*et al.* Growth,physiological characteristics and evaluation of cold tolerance of pineapple seedlings under low temperature stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报),2010,**30**(10):2 054—2 060(in Chinese).
- [16] LI N(李 娜),FANG W M(房伟民),CHEN F T(陈发棣),*et al.* Physiological indexes in florets of two winter cut chrysanthemum cultivars under low temperature and their cold tolerance[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报),2010,**30**(4):741—746(in Chinese).
- [17] LI Y B(李铁冰),YANG SH Q(杨顺强),REN G X(任广鑫),*et al.* Changes analysis in physiological properties of several gramineous grass species and cold-resistance comparison on under cold stress[J]. *Acta Ecological Sinica*(生态学报),2009,**29**(3):1 341—1 347(in Chinese).
- [18] NAN L L(南丽丽),SHI SH L(师尚礼),CHEN J G(陈建纲),*et al.* Field evaluation of the response and resistance to low temperature of alfalfa root with different root types during over-wintering[J]. *Chinese Journal of Eco-Agricultural*(中国生态农业学报),2011,**19**(3):619—625(in Chinese).
- [19] LÜ Y W(吕优伟),HE J Y(贺佳圆),BAI X M(白小明),*et al.* Evaluation of physiological responses and resistances of nine wild poa to low temperature[J]. *Acta Agrestia Sinica*(草地学报),2014,**22**(2):326—333(in Chinese).
- [20] YAN X Q(闫西清),WANG SH J(汪淑筠). Olive cultivation techniques in Longnan Region[J]. *Journal of Gansu Forestry Science and Technology*(甘肃林业科技),2005,**30**(1):50—53(in Chinese).

(编辑:裴阿卫)