

# ‘寒富’苹果与亲本系品种抗寒生理指标的比较研究

王 贺<sup>1</sup>, 刘国成<sup>1,2</sup>, 吕德国<sup>1,2</sup>, 赵德英<sup>1</sup>, 秦嗣军<sup>1,2</sup>

(1. 沈阳农业大学 园艺学院 辽宁 沈阳 110161; 2. 沈阳农业大学 北方果树育种与生理生态研究所, 辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:**以‘寒富’苹果及其亲本系品种‘东光II号’、‘红将军’为试验材料,通过人工冷冻处理,对枝条相对电导率、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、过氧化物酶(POD)等指标进行了研究。结果表明:这3个品种的抗寒性具有明显差异,其中以母本系品种‘东光’抗寒能力最强,其次为‘寒富’,父本系品种‘红将军’抗寒能力最差,可以看出‘寒富’遗传了其母本系品种‘东光’抗寒这一特性。枝条相对电导率随着温度的降低而上升,SOD、POD含量随着温度的降低而呈现先上升后下降的变化规律。低温下耐寒性强的品种能保持较高的SOD和POD酶活性和较低的MDA含量,因此SOD、POD、MDA在一定程度上能反映‘寒富’苹果及其亲本抗寒性的大小,可作为其抗寒性评价指标。

**关键词:** 冷冻处理; 寒富; 亲本系; 抗寒性; 生理指标

**中图分类号:** S 661.103.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)10-0032-03

‘寒富’苹果是沈阳农业大学选育成功的抗寒优质苹果品种,经区域试栽后,大幅度扩大了我国优质大苹果的经济栽培区域,将传统的经济栽培区域向北推移了200 km,使优质大苹果次适宜区和部分不适宜区也可以实现优质大苹果的产业化栽培<sup>[1]</sup>,创造了巨大的经济效益和社会效益。但有关其抗寒性的机理研究尚未见报道,其能适应的最低温度仍未确定。试验以‘寒富’苹果及其母本‘东光’抗寒芽变品种‘东光II号’、父本‘富士’芽变品种‘红将军’为试材,研究冷冻处理对枝条细胞膜透性、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性以及丙二醛(MDA)含量等主要生理指标的影响,揭示和比较3种品种抗寒能力的大小,以期为‘寒富’苹果扩大栽培区域和使‘寒富’苹果作为苹果抗寒育种核心亲本提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料来自辽宁省果树所资源圃,树龄为8~10 a生,砧木均为山定子。以1 a生枝条为试材,冷冻处理后进行指标测定。供试品种为:‘寒富’、‘东光II号’、‘红将军’。

### 1.2 试验方法

**第一作者简介:**王贺(1982-),男,沈阳农业大学硕士研究生,从事果树生理生态研究。E-mail: wanghe469@shou.com。

**通讯作者:**刘国成(1954-),男,沈阳农业大学园艺学院研究员,从事果树生理生态研究。E-mail: liuguocheng2000@sina.com。

**基金项目:**国家农业部948计划资助项目(2006-G28)。

**收稿日期:**2007-06-19

**1.2.1 材料处理** 于2007年1月中旬(田间气温为0~15℃植株及枝条无冻害)取0.8~1.0 cm粗1 a生外围枝条,先后用自来水和去离子水洗涤晒干后,用塑料袋分装好待处理。每处理设3个重复,处理温度为:-20℃、-25℃、-30℃、-35℃、-40℃及对照(田间取样后直接测定,不做低温处理)冷冻处理时,将分装好的枝条放入低温冰箱,以3℃/h速度降温,降到所设温度后维持12 h,再升温到0℃(升温速率同降温速率),以备测定用。

**1.2.2 指标测定方法** 相对电导率测定:采用王飞等<sup>[2]</sup>的方法;SOD活性测定:采用邹琦<sup>[3]</sup>的方法;POD活性测定:采用愈创木酚氧化法<sup>[4]</sup>;MDA含量测定:采用硫代巴比妥酸(TAB)法<sup>[4]</sup>。所有数据采用Excel 2003及DPS v2.00处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 冷冻处理对细胞膜透性的影响

冷冻处理条件下各品种相对电导率的变化表明(见图1),低温对各品种电导率影响的变化模式基本相同,枝条相对电导率随温度降低而提高。但冷冻处理对细胞膜产生的伤害不同。在-20~-30℃的冷冻过程中,不同品种的相对电导率虽然都有升高,但趋势较平缓;-30~-40℃的处理过程中,随着处理温度的下降,各品种的相对电导率明显增大。-20℃时‘东光II号’、‘寒富’、‘红将军’的电导率分别为34.23%、35.20%、40.86%;-35℃时各品种的相对电导率分别增大到45.32%、48.35%、56.96%。

从图1可以明显看出,‘红将军’每个处理温度的相对电导率均高于其他2个品种,‘寒富’略高于‘东光II号’。试验对-35℃时各品种相对电导率的方差分析表

明 ‘红将军’ 与其他品种间存在显著的差异 3 个品种

的抗寒性顺序为: ‘东光 II 号’ > ‘寒富’ > ‘红将军’。

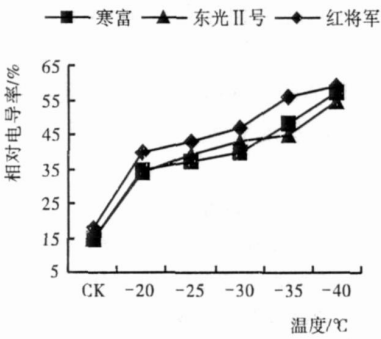


图1 低温处理后枝条相对电导率的变化

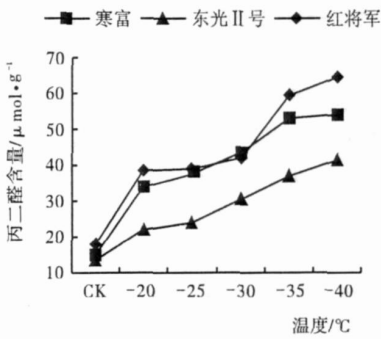


图2 低温处理后枝条 MDA 含量的变化

2.2 冷冻处理对 MDA 含量的影响

从图 2 的结果可以看出, 各品种不同低温处理后 MDA 含量呈现明显的增加趋势。在冷冻处理前(对照), ‘东光 II 号’、‘寒富’、‘红将军’的 MDA 含量分别为 13.25、15.14、18.24  $\mu\text{mol/g}$ 。但在  $-40^\circ\text{C}$  处理条件下, ‘东光 II 号’、‘寒富’、‘红将军’的 MDA 含量分别为 41.55、54.19、64.58  $\mu\text{mol/g}$ 。分别是对照处理的 3.13、3.57、3.54 倍。各品种 MDA 含量增加幅度的不同, 说明各品种的抗寒性存在着较大的差异。试验中, 各品种的 MDA 含量虽均随着处理温度的降低呈现增加的趋势, 但 ‘东光 II 号’ 在各处理温度下 MDA 含量最低, 增加幅度最小, 说明其抗寒性相对较强, 其次为 ‘寒富’, ‘红将军’ 最差。

2.3 冷冻处理对细胞保护酶活性的影响

2.3.1 SOD 酶活性的变化 冷冻处理后各品种枝条 SOD 酶活性的变化(图 3)。在整个冷冻处理过程中 3

个品种的 SOD 酶活性呈现先上升后下降的趋势。在  $-20 \sim -30^\circ\text{C}$  的冷冻过程中, 3 个品种的 SOD 酶活性均明显上升, 在  $-30^\circ\text{C}$  时 ‘寒富’、‘红将军’ 的 SOD 酶活性达到最大, 分别为 268.6 U、和 178.2 U, 在  $-35^\circ\text{C}$  时 ‘东光 II 号’ 的 SOD 酶活性达到最大, 为 318.7 U。在  $-30^\circ\text{C}$  以后冷冻过程中, ‘寒富’、‘红将军’ 的 SOD 酶活性均明显下降,  $-40^\circ\text{C}$  时 SOD 酶活性分别为 162.4 U、142.2 U。而 ‘东光’ 到  $-35^\circ\text{C}$  以后 SOD 酶活性开始下降,  $-40^\circ\text{C}$  时 SOD 酶活性为 252.1 U。低温处理条件下, SOD 酶活性与品种抗寒性呈正相关, 即抗寒性强的品种 SOD 酶活性较高, 抗寒性弱的品种 SOD 酶活性较低。试验结果表明, 在不同低温处理下, ‘东光 II 号’ 的 SOD 酶活性均高于其他 2 个品种, 且 SOD 酶活性下降的温度低于其他 2 个品种, 说明其抗寒性最强, 其次为 ‘寒富’, 而 ‘红将军’ 的 SOD 酶活性最低, 抗寒性最差。

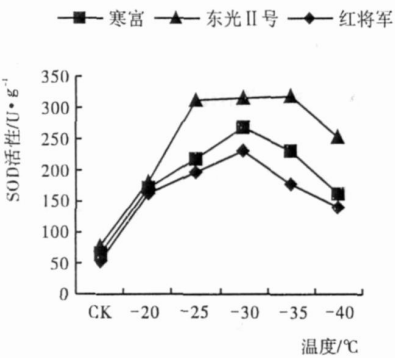


图3 低温处理后枝条 SOD 酶活性的变化

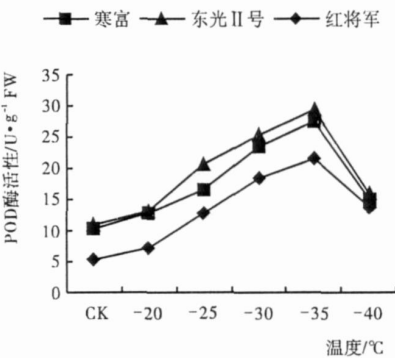


图4 低温处理后枝条 POD 酶活性的变化

2.3.2 POD 酶活性的变化 冷冻处理后各品种枝条 POD 酶活性的变化如图 4 所示。结果表明, 各品种枝条 POD 酶活性变化趋势与 SOD 酶活性变化趋势相同, 也呈先上升后下降的变化规律, 其最大值出现在  $-35^\circ\text{C}$ ,

‘东光 II 号’、‘寒富’、‘红将军’ 的 POD 酶活性分别为 29.52、27.38、21.52  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。从常温到  $-35^\circ\text{C}$  冷冻处理过程中, POD 的活性明显增加; 但在  $-40^\circ\text{C}$  处理条件下, 3 个品种 POD 酶活性又开始大幅度降低。

### 3 讨论与结论

相对电导率是反映植物组织受冻后细胞原生质膜透性大小的重要指标,以相对电导率来表示植物在低温伤害下细胞质膜透性变化是鉴定植物抗寒性较常用的方法,已被广泛应用<sup>[5,9]</sup>。试验对冷冻胁迫条件下不同苹果品种的相对电导率测定结果表明,3个品种间的相对电导率存在明显差异,‘东光Ⅱ号’的相对电导率最小,其次为‘寒富’,最大的为‘红将军’。其抗寒性顺序由强到弱为‘东光Ⅱ号’>‘寒富’>‘红将军’。

过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)共同组成保护酶系统,对清除自由基,避免细胞膜的伤害有重要作用。低温胁迫可增加植物体内 $O_2^-$ 等自由基含量,降低POD和SOD酶活性,使细胞膜脂过氧化作用加剧。以往对香蕉、苹果、黄瓜等作物的研究表明,低温胁迫可导致POD酶活性的增加<sup>[7-9]</sup>。试验结论与此基本一致,在 $-20^{\circ}\text{C} \sim -30^{\circ}\text{C}$ 的冷冻过程中,3个品种的SOD酶活性均明显上升,但在 $-30^{\circ}\text{C} \sim -40^{\circ}\text{C}$ 的冷冻过程中,其SOD酶活性又表现为下降的趋势。其中,抗寒性最强的品种‘东光Ⅱ号’SOD酶活性直到 $-35^{\circ}\text{C}$ 处理时仍在升高。 $-20^{\circ}\text{C} \sim -30^{\circ}\text{C}$ 冷冻过程中,SOD酶活性的上升可能是组织细胞对低温胁迫的一种保护性应激反应,但 $-30^{\circ}\text{C} \sim -40^{\circ}\text{C}$ 冷冻过程中SOD酶的活性下降,说明可能达到其临界致死温度,还有待于进一步研究。

MDA是自由基引导的膜脂过氧化产物,其含量与SOD酶活性的高低密切相关<sup>[10,11]</sup>。试验中,在 $-35^{\circ}\text{C}$ 和 $-40^{\circ}\text{C}$ 处理条件下随着SOD酶活性的显著下降,MDA含量增加,与上述研究结果基本相符,说明冷冻处理增加自由基含量,抑制了SOD酶活性,植物体内发生了自由基诱导的膜脂过氧化作用。

通过对‘寒富’苹果及亲本系品种‘东光Ⅱ号’和‘红将军’的几种生理指标的研究可以初步得出,‘寒富’苹果有较强的抗寒能力但未超过其母本系品种‘东光Ⅱ号’。现仅对‘寒富’苹果及其亲本系品种的抗寒性做了初步研究,其具体的抗寒能力,还与降温幅度、低温持续时间和树体发育状况有关<sup>[12,13]</sup>,有待于进一步的深入研究。

### 参考文献

- [1] 王德生. 抗寒优质新品种‘寒富’[J]. 中国农村科技, 2003(3): 19-21.
- [2] 王飞, 陈登文, 李嘉瑞等. 应用Logistic方程确定杏枝条低温半致死温度的研究[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1998(4): 30-35.
- [3] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [4] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 世界图书出版公司, 2000.
- [5] 高爱农, 姜淑荣. 苹果品种抗寒性测定方法的研究[J]. 果树科学, 2000, 17(1): 17-21.
- [6] 曲柏宏, 朴红全. 利用电导法测定苹果新品种的抗寒性[J]. 北方果树, 1998(1): 5-7.
- [7] 刘友良, 朱根海, 刘祖祺. 植物抗寒性测定技术的原理和比较[J]. 植物生理学通讯, 1985(1): 40-43.
- [8] 李荣富, 梁莉. 低温对杏花丙二醛含量及过氧化物酶与超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 内蒙古农业科学, 2005(6): 29-30.
- [9] 罗军武. 茶树不同抗寒性品种间保护酶类活性的差异[J]. 湖南农业大学学报, 2004, 27(2): 94-96.
- [10] 王荣富. 植物抗寒指标的种类及其应用[J]. 植物生理学通讯, 1987(3): 49-56.
- [11] 杨建民, 孟庆瑞, 彭伟秀等. 冰核细菌对杏花器官抗寒性的影响[J]. 园艺学报, 2002, 29(1): 20-24.
- [12] 李怀玉, 刘国成, 吕德国. ‘寒富’苹果的冻害调查[J]. 北方果树, 2001(6): 34-37.
- [13] 刘国成, 吕德国, 李怀玉. ‘寒富’苹果开发推广现状及生产建议[J]. 北方果树, 2004(6): 42-45.

## Studies on the Physiological Index Related to Cold Resistance in ‘Hanfu’ and its Parents Plant

WANG He<sup>1</sup>, LIU Guo-cheng<sup>1,2</sup>, Lü De-guo<sup>1,2</sup>, ZHAO De-ying<sup>1</sup>, QIN Si-jun<sup>1,2</sup>

(1. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Liaoning 110161, China; 2. Research Laboratory for Breeding and Physiology-Ecology of Northern Fruit Tree, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

**Abstract:** By freezing treatment, the relative electric conductivity, activities of Superoxide dimutase (SOD) and Peroxidase (POD) and the content of Malondialde (MDA) of shoots were studied in this paper with ‘Hanfu’ apple, ‘TokoⅡ’ apple and ‘Hongjiangjun’ apple as materials. The result showed that cold resistance of three varieties had significant difference. The cold resistance of ‘TokoⅡ’ apple was the strongest, following by ‘Hanfu’ apple and that of ‘Hongjiangjun’ apple was the weakest. The high cold resistant apple variety showed higher activities of SOD and POD, lower MDA content. So, the activities of SOD, POD and the content of MDA can be used as indexes to judge the ability of cold resistant in ‘Hanfu’ apple and its parents plant.

**Key words:** Freezing treatment; Hanfu; Parents plant; Cold resistance; Physiological index