

柚叶片与抗旱性相关的解剖结构指标研究

刘冰浩, 陈国平, 牛 英, 廖贤军, 罗世杏, 陈贵峰

(广西柑桔研究所, 广西柑桔种质改良重点实验室培育基地, 广西 桂林 541004)

摘 要:以柚为试材,测定了 10 个品种柚的叶片厚度、上表皮厚度、下表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片组织结构紧密度、气孔纵径、气孔横径、气孔大小、气孔密度和气孔相对面积,采用隶属函数分析法进行柚不同品种的抗旱性分析。结果表明:10 个品种在各项叶片解剖结构指标上差异极显著。对 11 个抗旱指标进行了主成分分析和隶属函数分析,10 个品种的抗旱性大小排序为:左氏柚>矮文柚>东风早柚>虎蜜柚>脐柚>华蓥山柚>通贤柚>梁平柚>早熟柚>强德勒。

关键词:柚;叶片解剖结构;抗旱性

中图分类号:Q 944.56 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)13-0009-04

柚[*Citrus grandis* (L.) Osbeck]原产于中国,其营养丰富、清香爽口、风味独特,被誉为天然罐头,倍受消费者青睐。在我国云南、贵州、四川、重庆、湖北、湖南、浙江、江西、福建、广东、广西和长江流域诸多省份广有栽培^[1]。柚属木本植物,其抗旱性相对较强,有关柚类抗旱性的研究较少,但由于气候变化、设施成本和劳动力成本的增加以及极端灾害天气的日渐常见(如西南旱情等局部地区长时间干旱)等原因,干旱已经影响到柚类等经济作物的生长和产业的发展,因此加强柚类等经济作物的抗旱性研究对于作物的引种和产业的发展日渐重要。抗旱性是植物对于干旱环境长期适应过程

中积累形成的一种遗传特性,不仅与植物内部的生理生化活动有关,还取决于其自身形态结构特征。在长期外界生态因素的影响下,叶在形态结构上的变异性和可塑性最大,即叶对生态条件的反映最为明显^[2]。一般认为气孔密度大、栅栏组织较厚、叶片组织紧密度大、疏松度小、栅栏组织与海绵组织厚度比较高、上表皮细胞较小者抗旱性较强^[3-5]。该研究以叶片解剖结构作为抗旱性依据,观测、分析了 10 个柚类品种的 10 项与抗旱性有关的叶片解剖结构指标,以期为柚抗旱性品种的引种和选育等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料取自中国农业科学院柑橘研究所柑橘种质资源圃(重庆)和广西柑桔研究所柑橘品种资源圃(桂林),有左氏柚、矮文柚、东风早柚、虎蜜柚、脐柚、华蓥山柚、通贤柚、梁平柚、早熟柚、强德勒,共 10 个品种。

第一作者简介:刘冰浩(1982-),男,山东临沂人,硕士,研究方向果树学。E-mail:liubh-311@126.com。

基金项目:广西公益性科研院所基本业务资助项目(基本业务 2009002);广西科学研究与技术开发计划资助项目。

收稿日期:2011-04-19

farmer's stochastic questionnaire investigations about orchard fertilization conditions. In order to improve the efficiency and achieve integrated management of nutrient resources further more guide farmers scientific fertilization in grape main planting ares of Hebei Province-Huailai, Changli and Zhuolu-an investigations was carry through in 2009. The results showed that there was great difference in organic fertilizer with 74% farmers less than 1 000 kg/667m² in Huailai instead of 88% farmers by 4 000~5 000 kg/667m² in Zhuolu. The average application rate of nitrogen, P₂O₅ and K₂O was 53.7~138.8 kg/667m², 27.8~45.7 kg/667m², 23.8~71.3 kg/667m² respectively, lack of coordination of nitrogen, phosphorus and potassium ratio and application time was inappropriate. The nitrogen fertilizer was excessive in the growth. Phosphorus and potassium can not be timely supplied. It can be proposed that achieve integrated management of nutrient resources and improve the utilization of fertilizer, strengthen science and technology in fertilization of grape and produce grape specialty fertilizer.

Key words: Hebei province; grape; present situation of fertilizer application

1.2 试验方法

每个品种随机选取树冠外部当年发育成熟的春梢叶片 50 枚,洗净后擦干。选取其中 10 枚叶片,以主脉中部为中心,切取 1.0 cm×0.5 cm 组织小块,用 FAA 固定液固定 48 h,然后保存于 70%的酒精中备用。常规方法制作切片,切片厚度 12 μm。制片后,在 OLYMPUS 光学显微镜下观察、拍照,利用 Image-Pro Plus 6.0 测量与抗旱性相关的指标:叶片厚度、上表皮厚度、下表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度,并计算叶片组织结构紧密度。从采回的成熟春梢叶片中随机选取 10 枚叶片,以叶脉中部为中心,切取 1.0 cm×0.5 cm 组织小块。用煮沸的 5%KOH 解离 10 min,然后用镊子撕下叶片的下表皮,龙胆紫染色,在 Olympus 光学显微镜下观察、拍照,利用 Image-Pro Plus 6.0 测量与抗旱性相关的指标:气孔纵径、气孔横径、视野面积,并计算气孔大小、气孔密度、相对面积。数据处理采用 Excel 和 DPS 进行方差分析、主成分分析,根据分析结果采用隶属函数分析法进行柚不同品种的抗旱性评价。计算公式为:(1)叶片组织结构紧密度(CTR)=栅栏组织厚度/叶片厚度;(2)气孔大小=1/4π(纵径×横径);(3)气孔密度=视野内气孔个数/视野面积;(4)气孔相对面积=气孔大小×气孔密度×100%;

(5)隶属函数值计算公式: $U(x_i)=(x_i-x_{min})/(x_{max}-x_{min})$; (6)反隶属函数值计算公式: $U(x_i)=1-(x_i-x_{min})/(x_{max}-x_{min})$ 。(5)、(6)式中 $U(x_i)$ 为隶属函数值, x_i 为指标测定值, x_{max} 、 x_{min} 为所有参试品种叶片某一指标的最大值和最小值^[6-7]。

2 结果与分析

2.1 叶片解剖结构特征

由表 1 可看出,柚 10 个品种的叶片总体厚度为 304.96~381.43 μm;叶片横切面上下表皮细胞为单层,体积较小,排列紧密,且均被有角质层,上表皮厚度为 11.91~21.42 μm,下表皮厚度 10.16~19.01 μm;栅栏组织较紧密,厚度为 47.52~64.91 μm,排列几近规则,多为 1~2 层,细胞长柱形,与海绵组织界限不明显。海绵组织细胞排列相对疏松,细胞多为不规则状,厚度为 193.15~262.74 μm。气孔只分布于下表皮,为无规则型,气孔纵径在 8.61~12.01 μm,气孔横径在 6.91~8.58 μm,气孔密度 411.21~590.42 个/mm²,不同品种间差异显著。方差分析结果表明(表 1),叶片解剖结构指标在 10 个柚品种的总体差异显著。

2.2 主成分分析

主成分的特征根和贡献率是选择主成分的依据,根据主成分的累积方差贡献率大于 80%的原则,其余

表 1 柚 10 个品种叶片的 10 项与抗旱性相关的叶片解剖结构指标

Table 1 Values of 10 anatomical leaf structure index related to drought resistance of 10 pummelo cultivars

品 种	叶片厚度	上表皮厚度	下表皮厚度	栅栏组织厚度	海绵组织厚度	叶片组织紧密度	气孔密度	气孔大小	气孔纵径	气孔横径
Cultivar	Leaf thickness /μm	Top epidermis thickness/μm	Lower epidermis thickness/μm	Thickness of palisade tissue/μm	Thickness of sponge tissue/μm	CTR	Stoma density /No·mm ⁻²	Stoma size	Longitudinal diameter of stoma/μm	Horizontal diameter of stoma/μm
左氏柚 Zuoshiyou	381.43a	17.48c	14.19c	64.91a	262.74a	17.05ab	590.42ab	58.50c	10.75cd	6.91cd
早熟柚 Zaoshuyou	304.96e	14.66d	13.35c	49.73c	193.15f	16.38abc	533.46abcd	71.03b	11.29abc	7.95ab
通贤柚 Tongxianyou	352.08abc	18.16bc	13.73c	62.61ab	239.33bcd	17.73a	494.56bcde	81.26a	12.01a	8.58a
强德勒 Chandler Pummelo	344.34cd	13.73de	13.37c	39.76d	240.92abc	11.57e	427.88e	56.05cd	10.36de	6.83d
脐柚 Qiyou	347.51bcd	13.69de	15.18bc	61.47ab	258.62ab	17.69a	616.81a	79.01ab	11.58ab	8.65a
梁平柚 Liangpingyou	343.82cd	14.52d	13.18c	52.07c	243.36ab	15.12cd	411.21e	52.48cd	9.61e	6.97cd
华盖山柚 Huayingshanyou	321.53de	11.91e	10.16d	47.52c	220.23cde	14.51d	534.85abcd	48.50d	8.64f	7.08cd
虎蜜柚 Humiyou	343.71cd	20.64ab	19.01a	58.75ab	218.45de	17.22ab	562.63abc	74.64ab	11.04bcd	8.56a
东风早柚 Dongfengzaoyou	352.12abc	21.16b	15.28bc	58.54ab	213.13ef	16.62abc	470.94cde	60.63c	9.96e	7.56bc
矮文柚 Aiwenyou	374.29ab	21.42a	17.31ab	58.15b	253.36ab	15.71bcd	451.498de	55.43cd	9.98e	7.04cd

注:表中数字后小写字母表示 P=0.05 显著水平。Note:The small letters after figures in the table express the significance at 5% level.

贡献率较小可以忽略不计,由表 2 看出,前 3 个主成分的累积方差贡献率为 86%。故选留前 3 个主成分作为抗旱性评价的综合指标。表明前 3 个主成分已经把 10 个柚品种与抗旱性有关的 86%的信息反映出来。对 11 个抗旱指标进行主成分分析,结果见表 3。

表 2 主成分分析结果

Table 2 The result of principal components analysis			
主成分	特征值	贡献率	累计贡献率
Principal component	Given value	Percentage/%	Accumulative percentage/%
1	5.4681	49.7104	49.71
2	2.6202	23.8196	73.53
3	1.372	12.4728	86

2.3 隶属函数分析

根据主成分分析,特征根的大小代表各综合指标对总遗传方差贡献的大小,特征向量表示各性状对综合指标贡献的大小。选取前 3 个主成分中绝对值在 0.3~0.6 之间的负荷系数的指标进行隶属函数分析,以评价其抗旱顺序。气孔纵径、气孔横径、气孔大小、相对面积采用反隶属函数公式计算其函数值。应用隶属函数值法,以筛选出来的 11 项叶片抗旱性解剖结构指标对柚 10 个品种的抗旱性进行了综合评价(表 4),10 个品种的抗旱能力依次为:左氏柚>矮文柚>东风早柚>虎蜜柚>脐柚>华蓥山柚>通贤柚>梁平柚>早熟柚>强德勒。

表 3 各因子载荷矩阵

Table 3 Component matrix				
指标		因子 1	因子 2	因子 3
Indexes		Component 1	Component 2	Component 3
气孔纵径 Longitudinal diameter of stoma/ μm		0.3535	-0.1024	0.025
气孔横径 Horizontal diameter of stoma/ μm		0.367	-0.2455	-0.128
气孔密度 Stoma density/个 $\cdot\text{mm}^{-2}$		0.2819	-0.157	0.387
气孔大小 Stoma size		0.3839	-0.1938	-0.062
相对面积 Relative area		0.3917	-0.2041	0.15
叶片厚度 Leaf thickness/ μm		0.0876	0.5793	0.192
栅栏组织厚度 Thickness of palisade tissue/ μm		0.3393	0.2843	0.129
海绵组织厚度 Thickness of sponge tissue/ μm		0.0397	0.401	0.568
上表皮厚度 Top epidermis thickness/ μm		0.1804	0.3999	-0.516
下表皮厚度 Lower epidermis thickness/ μm		0.2488	0.2939	-0.405
叶片组织紧密度 CTR		0.376	0.044	0.013

注:相对面积为各品种叶片气孔密度和气孔大小指标平均值计算所得。
Note:The relative area of each species the size of stomatal density and stomatal index calculated from the average.

表 4 柚 10 个品种隶属函数值及抗旱性综合评价结果

Table 4 Subordinate function values of 10 cultivars and comprehensive appraisal on drought resistance													
品种	气孔纵径	气孔横径	气孔密度	气孔大小	相对面积	叶片厚度	栅栏组织厚度	海绵组织厚度	上表皮厚度	下表皮厚度	叶片组织紧密度	均值	排序
Cultivar	Longitudinal diameter of stoma/ μm	Horizontal diameter of stoma/ μm	Stoma density/个 $\cdot\text{mm}^{-2}$	Stoma size	Relative area	Leaf thickness/ μm	Thickness of palisade tissue/ μm	Thickness of sponge tissue/ μm	Top epidermis thickness/ μm	lower epidermis thickness/ μm	CTR	Mean	Order
左氏柚 Zuoshiyou	0.3731	0.9594	0.8716	0.6949	0.4773	1.0000	1.0000	0.0000	0.5854	0.4552	0.8886	0.6641	1
早熟柚 Zaoshuyou	0.2113	0.3840	0.5946	0.3123	0.6008	0.0000	0.3963	1.0000	0.2895	0.3606	0.7799	0.4481	9
通贤柚 Tongxianyou	0.0000	0.0415	0.4054	0.0000	0.6854	0.6162	0.9086	0.3365	0.6571	0.4038	1.0000	0.4595	7
强德勒 Chandler Pummelo	0.4881	1.0000	0.0811	0.7696	0.0885	0.5150	0.0000	0.3136	0.1910	0.3629	0.0000	0.3463	10
脐柚 Qiyou	0.1247	0.0000	1.0000	0.0689	1.0000	0.5564	0.8632	0.0593	0.1875	0.5672	0.9925	0.4927	5
梁平柚 Liangpingyou	0.7124	0.9257	0.0000	0.8786	0.0000	0.5082	0.4895	0.2785	0.2744	0.3410	0.5764	0.4532	8
华蓥山柚 Huayingshanyou	1.0000	0.8614	0.6014	1.0000	0.1606	0.2167	0.3085	0.6109	0.0000	0.0000	0.4777	0.4761	6
虎蜜柚 Humiyou	0.2862	0.0491	0.7365	0.2021	0.7519	0.5068	0.7551	0.6365	0.9181	1.0000	0.9159	0.6144	4
东风早柚 Dongfengzaoyou	0.6061	0.6012	0.2905	0.6298	0.2568	0.6167	0.7466	0.7130	0.9731	0.5790	0.8201	0.6212	3
矮文柚 Aiwenyou	0.6003	0.8859	0.1959	0.7884	0.1270	0.9067	0.7311	0.1348	1.0000	0.8085	0.6726	0.6229	2

3 讨论

抗旱性是植物在长期复杂的生态环境中形成的适应性机制,是植物从形态解剖构造、水分生理生态特征及生理生化反应到组织细胞、光合器官乃至原生质结构特点的综合反映,关于作物抗旱性鉴定与评价的方法和指标很多^[8-9]。但由于涉及到植物旱生及耐旱形态特征、抗旱生理特征、植株的生长状况等多个方面,单一或少数性状指标无法准确评价作物的抗旱性,目前在作物抗旱性鉴定中也尚未有统一的鉴定方法和指标^[10-11]。该研究仅以叶片解剖结构作为抗旱性依据进行了初步观察与分析,有关柚类抗旱性的综合因素评价有待深入研究。

参考文献

- [1] 张太平,彭少麟,王峥峰,等.柚类种质资源研究与保护概况[J].生态科学,2001,20(3):8-13.
[2] 王艳慧.胶质苜蓿抗旱性综合评价及抗旱机理的研究[D].兰州:

兰州大学,2009.

- [3] 吴林,霍焰,聂小兰,等.沙棘叶片组织结构观察及其与抗旱性关系的研究[J].吉林农业大学学报,2003,25(4):390-393.
[4] 燕玲,李红,贺晓,等.阿拉善地区9种珍稀濒危植物营养器官生态解剖观察[J].内蒙古农业大学学报,2000,21(3):65-71.
[5] 李正理.旱生植物的形态和结构[J].生物学通报,1981(4):9-12.
[6] 张明生,刘志,戚金亮,等.甘薯品种抗旱适应性综合评价的方法研究[J].热带亚热带植物学报,2005,13(6):469-47.
[7] 苏秀红,强胜,宋小玲.不同地理种群紫茎泽兰耐热性差异的比较分析[J].西北植物学报,2005,25(9):1766-1771.
[8] 李吉跃.植物耐旱性及其机理[J].北京林业大学学报,1991,13(13):92-100.
[9] 黎裕.作物抗旱性鉴定方法与指标[J].干旱地区农业研究,1993,11(1):91-99.
[10] 王跃进,杨亚州,张剑侠,等.中国葡萄属野生种及其种间F1代抗旱性鉴定初探[J].园艺学报,2004,31(6):711-714.
[11] 张德巧,徐增莱,褚晓芳,等.蓝莓叶片与抗旱性相关的解剖结构指标研究[J].果树学报,2008,25(6):864-867.

Study on Leaf Anatomical Structure Indexes Related to Drought Resistance of Pummelo

LIU Bing-hao, CHEN Guo-ping, NIU Ying, LIAO Xian-jun, LUO Shi-xing, CHEN Gui-feng

(Guangxi Citrus Research Institute, Guangxi Citrus Cultivation Base of Improvement Key Laboratory, Guilin, Guangxi 541004)

Abstract: Ten cultivars pummelo were used as test material, the drought resistance indexes of leaf thickness, top epidermis thickness, lower epidermis thickness, thickness of palisade tissue, leaf tissue structure tense ratio(CTR), longitudinal diameter of stoma, horizontal diameter of stoma, stoma density, stoma size and relative area of different cultivars pummelo were measured, by the method of membership function on drought resistance indexes were analyzed. The results showed that differences of each anatomical leaf structure index among the 10 cultivars were extremely significant. Then the principal component analysis of 10 leaf anatomical structure indexes were calculated. According to the result, an order of drought resistance of the 10 cultivars was given by using subordinate function values analysis: Zuoshiyou > Aiwenyou > Dongfengzaoyou > Humiyou > Qiyou > Huayingshanyou > Tongxianyou > Liangpingyou > Zaoshuyou > Chandler Pummelo.

Key words: pummelo; anatomical leaf structure; drought resistance