

短枝条红型“红富士”苹果芽变的 叶片解剖结构及其抗旱性研究

张俊苗, 李文胜, 史进

(新疆农业大学 林学与园艺学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘 要:以“长富2号”“新红1号”和“红富士”芽变优系苹果为试材,采用常规的石蜡切片法,比较了3份供试材料叶片的解剖结构,测定3份材料的叶片厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、上表皮组织厚度、下表皮组织厚度、CTR、SR和栅海比等8个与抗旱性相关的生理指标,运用隶属函数法对3份供试材料的抗旱性进行了综合评价。结果表明:3份供试材料的叶片解剖结构存在一定程度的差别,芽变优系和“新红1号”的栅栏组织发达、海绵组织和叶片较厚,极显著大于“长富2号”。由隶属函数法综合评价出3份供试材料抗旱性强弱的顺序依次为“新红1号”>芽变优系>“长富2号”。综合分析表明,芽变优系具有叶片厚、栅栏组织发达、海绵组织厚等短枝型苹果的特征,其抗旱能力强于长枝品种“长富2号”。

关键词:苹果;叶片;解剖结构;抗旱性

中图分类号:S 661.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)18-0022-04

我国是苹果属植物起源中心之一,拥有丰富的苹果抗性种质资源,进行苹果属植物抗逆性研究对苹果生产及推广具有重大的意义。叶片是植物进化过程中对环境变化最为敏感的器官,其形态结构特征最能体现环境因子的影响及其对环境的适应能力^[1],对于评价植物的抗旱性强弱具有不可替代的作用。通过植物叶片解剖结构来评价其抗旱性的研究在苹果^[2-3]、葡萄^[4]、梨^[5]、桃^[6]、核桃^[7]、芒果^[8]和香蕉^[9]等许多果树上都已有报道。陈豫梅等^[9]发现香蕉的抗旱能力与叶片厚度、栅栏组织厚度、CTR的比值呈正相关。基于前人的研究基础,试验选取了新疆阿克苏地区的主要栽培品种“长富2号”和“新红1号”及新发现的芽变品种,对其叶片的抗旱生理指标进行测定和对比,并利用隶属函数法对其抗旱能力进行综合排序,以期为该区域苹果的抗旱栽培和育种提供一定的理论依据和参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为阿克苏红旗坡农场果园中发现的(短枝条红型)“红富士”芽变,经初选定为芽变优系。对照品种为当地主栽品种“长富2号”(长枝条红型)和“新红1号”(短枝片红型);于6月中旬的晴天上午分别在各个树体东南方向选取生长一致,无病虫害的新梢,取其中下部(从基部往上数第5~6个)成熟叶片,在叶面中部,以叶片主脉为中心,用刀片切取1 cm²左右的叶样。叶样用FAA固定液(40%甲醛5 mL、冰醋酸5 mL、70%酒精90 mL)固定。

1.2 试验方法

参照李峰^[10]的石蜡切片法。酒精梯度设70%、85%、95%、100%,依次脱水,二甲苯透明,60~62℃恒温箱中渗蜡,石蜡包埋后,用History-STAT820轮转式切片机切片,横切厚度为10 μm,粘片、烘片,脱蜡及番红-固绿二重染色,中性树胶封片,制成永久切片。

1.3 项目测定

用Motic Type102M显微成像系统、Motic Image Advanced 3.2图像分析软件拍照,观察过程中选取30个视野并分别测量叶片总厚度、(上、下)表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度等指标,叶片的CTR、SR和栅海

第一作者简介:张俊苗(1989-),女,硕士研究生,研究方向为果树种质与资源。E-mail:839141787@qq.com.

责任作者:李文胜(1968-),男,硕士,副教授,硕士生导师,研究方向为果树种质与资源。E-mail:252500755@qq.com.

基金项目:国家林业公益性行业科研专项资助项目(201304701-1);自治区特色林果发展专项林木遗传育种资助项目(2014年)。

收稿日期:2016-04-27

比的计算参考闫娟娟等^[11]方法。

1.4 数据分析

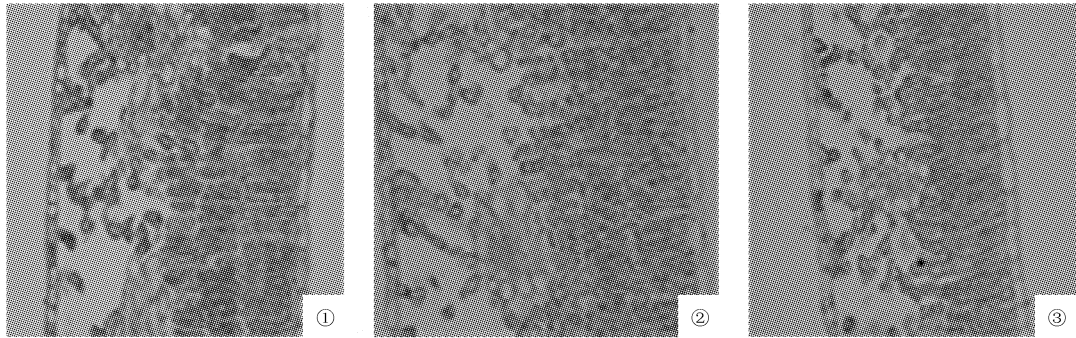
采用隶属函数法和灰色系统理论进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 3 份供试材料叶片解剖学结构

从 3 个测试材料的叶片解剖结构图 1 和表 1 可以看出,芽变优系和“新红 1 号”叶片的厚度、海绵组织厚度和栅栏组织厚度均显著高于“长富 2 号”;芽变优系和“新

红 1 号”的栅栏组织厚度相比无明显差异,与“长富 2 号”呈极显著差异。芽变优系及“新红 1 号”的上表皮厚度和下表皮厚度均大于“长富 2 号”,但差异不明显;三者之间的叶片组织结构紧密度和叶片组织疏松度无差异;“长富 2 号”栅海比极显著高于芽变优系和“新红 1 号”。芽变优系叶片厚度的增加主要表现在栅栏组织和海绵组织厚度的增加,分别较“长富 2 号”增加 11.31%和 10.39%。



注:①芽变优系;②“新红 1 号”;③“长富 2 号”。

Note:①Bud mutation;②‘Xinhong 1 #’;③‘Nagafu 2 #’.

图 1 3 份供试材料叶片解剖结构

Fig. 1 Leaf anatomical structure of three tested materials

表 1

叶片解剖结构各指标值的比较

Table 1

Comparison of leaf anatomical structure of each index

品种 Cultivar	叶片厚度 Leaf thickness / μm	栅栏组织厚度 Palisade tissue thickness/ μm	上表皮厚度 Upper epidermis thickness/ μm	海绵组织厚度 Spongy tissue thickness/ μm	下表皮厚度 Lower epidermis thickness/ μm	栅海比 P/S	叶组织结构紧密度 CTR /%	叶组织结构疏松度 SR /%
芽变优系 Bud mutation	225.50 \pm 11.37bB	103.64 \pm 18.30bA	12.64 \pm 1.23abA	91.81 \pm 11.16bB	9.53 \pm 0.54aA	1.15 \pm 0.18bB	46.01 \pm 0.04aA	40.70 \pm 0.04aA
“新红 1 号”‘Xinhong1 #’	242.47 \pm 13.72aA	109.32 \pm 9.59aA	13.19 \pm 1.40aA	99.99 \pm 12.84aA	9.55 \pm 0.70aA	1.10 \pm 0.11bB	45.12 \pm 0.02aA	41.12 \pm 0.03aA
“长富 2 号”‘Nagafu2 #’	204.19 \pm 10.45cC	93.11 \pm 7.05cB	12.43 \pm 0.91bA	83.17 \pm 7.12cC	9.16 \pm 0.80bA	1.32 \pm 0.15aA	45.69 \pm 0.04aA	40.83 \pm 0.04aA

注:同栏不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

Note: The same column with different lowercase letters indicate significant difference data at $P<0.05$ and different uppercase letters indicate significantly different at $P<0.01$.

2.2 3 份供试材料抗旱性的综合评价

采用模糊数学的隶属函数法^[12]对 3 份材料叶片各项指标测定值为评价依据,计算各指标的隶属函数值并进行综合评。

若某一指标与抗旱性呈正相关:

$$U(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}),$$

若某一指标与抗旱性呈负相关,则利用反隶属函数法进行转换计算,公式为:

$$U(X_i) = 1 - [(X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})].$$

式中, $U(X_i)$ 为隶属函数值, X_i 为指标测定值, X_{\max} 和 X_{\min} 为所测参试材料叶片中某一指标的最大值和最小值。将每个供试材料各指标的抗旱隶属函数值累加起来求其平均值,平均数越大,其抗旱能力就越强,则由表 2 可得,3 份材料的抗旱性强弱顺序依次为“新红 1 号”>芽变优系>“长富 2 号”。

表 2 3 份供试材料抗旱性综合评价

Table 2 Comprehensive evaluation of drought resistance of three tested materials

指标 Index	芽变优系 Bud mutation	“新红 1 号” ‘Xinhong 1 #’	“长富 2 号” ‘Nagafu 2 #’
叶片厚度 Leaf thickness	0.556 7	1	0
栅栏组织厚度 Palisade tissue thickness	0.649 6	1	0
上表皮厚度 Upper epidermis thickness	0.276 3	1	0
海绵组织厚度 Spongy tissue thickness	0.486 3	1	0
下表皮厚度 Lower epidermis thickness	0.948 7	1	0
栅海比 P/S	0.227 3	0	1
叶组织结构紧密度 CTR	1	0	0.640 4
叶组织结构疏松度 SR	0	1	0.309 5
$\sum X_{ij}$	4.144 9	6	1.949 9
平均 X_{ij}	0.518 1	0.75	0.243 7
抗旱性顺序 Order of drought resistance	2	1	3

2.3 3 份供试材料抗旱指标的选取-灰色关联分析

按照灰色系统理论要求,将 3 份材料的抗旱隶属函

数均值及所测 8 项叶片解剖结构指标视为一个整体,即灰色系统。原始数据经标准化处理后(表 3),根据关联分析四公理^[12],计算各指标与抗旱隶属函数均值的关联系数,然后分别求出各指标与抗旱隶属函数均值的关联度,并按关联度大小依次排序。将各品种抗旱指标的平均隶属函数值作为参考数据列(母序列),记为 X_0 、 $X_0 = (0.518\ 1, 0.75, 0.243\ 7)$; 分别将叶片厚度、栅栏组织厚度等 8 项抗旱指标作为比较数列据(子数列据),记为 X_i ($i=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$)。 $X_1 = (225.50, 242.47, 204.19)$;

表 3

原始数据标准化处理

Table 3

Standardization of original data processing

参考数据 (X_0)	叶片厚度 Leaf thickness (X_1)	栅栏组织厚度 Palisade tissue thickness(X_2)	上表皮厚度 Upper epidermis thickness(X_3)	海绵组织厚度 Spongy tissue thickness(X_4)	下表皮厚度 Lower epidermis thickness(X_5)	栅海比 P/S (X_6)	叶组织结构紧密度 CTR (X_7)	叶组织结构疏松度 SR (X_8)
0.055 9	0.960 1	0.886 8	1.114 4	0.990 6	0.614 9	-0.757 5	-0.670 0	1.095 7
0.970 9	-1.035 6	-1.083 3	-0.819 0	-1.009 1	-1.153 8	1.133 5	1.149 4	-0.232 2
-1.026 8	0.075 5	0.197 0	-0.295 5	0.018 5	0.538 9	-0.376 0	-0.479 4	-0.863 5

表 4

8 项抗旱指标的关联系数

Table 4

Correlation coefficient of 8 drought resistance indexes

叶片厚度 Leaf thickness (ϵ_1)	栅栏组织厚度 Palisade tissue thickness (ϵ_2)	上表皮厚度 Upper epidermis thickness (ϵ_3)	海绵组织厚度 Spongy tissue thickness (ϵ_4)	下表皮厚度 Lower epidermis thickness (ϵ_5)	栅海比 P/S (ϵ_6)	叶组织结构紧密度 CTR (ϵ_7)	叶组织结构疏松度 SR (ϵ_8)
0.998 2	0.935 4	0.889 9	0.990 1	0.758 3	0.387 7	0.347 8	0.903 8
1.000 0	0.957 6	0.845 5	0.992 0	0.902 0	0.336 1	0.474 9	0.580 8
0.990 2	0.891 7	0.760 7	0.974 4	0.696 6	0.720 2	0.567 8	0.544 6

表 5

8 项抗旱指标的关联度及排序

Table 5

Correlation degree and ranking of 8 drought resistance indexes

指标 Index	叶片厚度 Leaf thickness (ϵ_1)	栅栏组织厚度 Palisade tissue thickness(ϵ_2)	上表皮厚度 Upper epidermis thickness(ϵ_3)	海绵组织厚度 Spongy tissue thickness(ϵ_4)	下表皮厚度 Lower epidermis thickness (ϵ_5)	栅海比 P/S (ϵ_6)	叶组织结构紧密度 CTR (ϵ_7)	叶组织结构疏松度 SR (ϵ_8)
关联度 Correlation degree	0.996 2	0.928 2	0.832 0	0.985 5	0.785 7	0.481 3	0.463 5	0.676 4
各指标排序 Ranking of each index	1	3	4	2	5	7	8	6

3 讨论与结论

从叶片解剖结构的分析可得,芽变优系和“新红 1 号”的栅栏组织高度发达、海绵组织和叶片较厚,极显著高于“长富 2 号”。据研究短枝型苹果与普通型苹果相比,具有叶片大且厚、栅栏组织发达、叶片浓绿等典型特征^[13]。结果表明该芽变优系具有叶片厚、栅栏组织发达、海绵组织厚等短枝型苹果的特征。闫忠业^[14]的研究结果表明,短枝型品种的栅海比与长枝型品种相比有变大的趋势,但该研究的结果表明,长枝型品种“长富 2 号”的栅海比极显著高于短枝型品种芽变优系和“新红 1 号”,与闫忠业的结果存在不一致的结论,可能原因是叶片的解剖结构的某个生理指标(如栅栏组织、海绵组织厚度或栅海比)会随着样所处的生态条件和生理状态的不同而发生变化^[15]。

植物在干旱的环境长期生长时,不仅外部形态会受到外界环境的影响,而且其内部结构也会产生相应的适应性变化,这构成了植物的旱性特征。植物的旱生结构

$X_2 = (103.64, 109.32, 93.11)$; $X_3 = (12.64, 13.19, 12.43)$; $X_4 = (91.81, 99.99, 83.17)$; $X_5 = (9.53, 9.55, 9.16)$; $X_6 = (1.15, 1.10, 1.32)$; $X_7 = (46.01, 45.12, 45.69)$; $X_8 = (40.7, 41.12, 40.83)$ 。

通过 Excel 数据分析处理后,得到子序列和母序列的关联系数(表 4),然后计算关联度。从表 5 可以看出,3 份供试材料 8 项抗旱指标的灵敏度由强到弱依次为叶片厚度>海绵组织厚度>栅栏组织厚度>上表皮厚度>下表皮厚度>SR>P/S>CTR。

是对于干旱环境的长期适应和自身的遗传基因共同作用下经过自然选择形成的,同时不同植物器官对于干旱环境有着不同的适应方式,因此形成了不同的判断抗旱性高低的指标。吴亚维等^[2]通过对叶片解剖结构中叶面积、叶片厚度等、栅栏组织厚度等 12 项指标,利用隶属函数法综合评价出抗旱能力强弱排序为“王林”>“天红 2 号”>“红富士”短枝型芽变材料>“红富士”。试验通过运用模糊评价法对 3 份供试材料叶片解剖结构的 8 项指标进行测定,并对其抗旱性进行分析;得到 3 份材料抗旱性强弱排序为“新红 1 号”>芽变优系>“长富 2 号”。进一步说明短枝型品种芽变材料的抗旱能力强于长枝型品种“长富 2 号”。并且运用灰色关联度分析法对 3 份材料的抗旱性与 8 项指标进行相关性分析,得出各指标的抗旱性顺序,对抗旱性影响相对较大的指标有叶片厚度、海绵组织厚度和栅栏组织厚度。该试验通过前人的相关研究报道^[2-9],选择了与苹果抗旱性关系较紧密的叶片形态和生理指标,客观地反映出供试材料的

抗旱能力。隶属函数的应用提供了一条在多指标测定基础上对材料特性进行综合评价的途径,可以克服利用少数指标对 1~2 个品种进行评价的不足^[7,16]。

干旱对苹果属植物的影响既有直观的形态解剖学变化,又有生理生化反应,还有基因表达的差异^[17-20]。植物的抗旱性评价指标有很多,该研究仅对叶片解剖结构及抗旱性的关系进行了比较分析,有其局限性。因此将生理生化和形态解剖结构二者结合起来去研究其抗旱性会更全面。此外应结合最新的分子生物学手段,从分子水平上阐明植物抗旱性的物质基础及生理功能和认识植物的抗旱机理,从而通过基因工程手段进行基因重组,以创造抗旱新类型的品种。

通过叶片解剖结构可以看出,短枝型品种芽变优系和“新红 1 号”的栅栏组织厚度、叶片厚度和海绵组织厚度极显著高于“长富 2 号”;且利用隶属函数法综合评价出 3 份供试材料的抗旱性强弱顺序为“新红 1 号”>芽变优系>“长富 2 号”,因此栅栏组织相对发达、叶片和海绵组织厚的芽变优系较“长富 2 号”具有更大的潜在优势。

参考文献

- [1] 梁美霞,戴洪义,葛红娟. 组培和大田条件下苹果叶片结构和表皮特征的比较[J]. 果树学报,2009(6):781-785.
- [2] 吴亚维,郑伟,杨华,等. 4 个苹果新品种(材料)叶片形态解剖结构与抗旱性综合评价[J]. 贵州农业科学,2014(11):217-221.
- [3] 赵秀明,王飞,韩明玉,等. 新引进苹果矮化砧木的叶片解剖结构及抗旱性[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2012(5):136-142.
- [4] 潘学军,张文娥,杨秀永,等. 喀斯特山区野生葡萄实生苗叶片解剖结构与抗旱性的关系[J]. 贵州农业科学,2010,38(9):176-178.
- [5] 樊卫国,李迎春. 部分梨砧木的叶片组织结构与抗旱性的关系[J]. 果树学报,2008(1):17-21.
- [6] 孟庆杰,王光全,董绍锋,等. 桃叶片组织解剖结构特征与其抗旱性关系的研究[J]. 干旱地区农业研究,2004(3):123-126.
- [7] 白重炎,高尚风,张颖,等. 12 个核桃品种叶片解剖结构及其抗旱性研究[J]. 西北农业学报,2010(7):125-128.
- [8] 金龙飞,范飞,罗轩,等. 芒果叶片解剖结构与抗旱性的关系[J]. 西南农业学报,2012(1):232-235.
- [9] 陈豫梅,陈厚彬,陈国菊,等. 香蕉叶片形态结构与抗旱性关系的研究[J]. 热带农业科学,2001(4):14-16.
- [10] 李峰. 植物石蜡切片制作(paraffin section)的试验流程探讨[J]. 科技信息,2012(5):104-105.
- [11] 闫娟娟,秦伟,肖运强,等. 新疆野苹果 28 个种下类型叶片解剖结构对比研究[J]. 新疆农业大学学报,2014(4):298-305.
- [12] 潘存娥,田丽萍,李贞贞,等. 5 种杨树无性系叶片解剖结构的抗旱性研究[J]. 中国农学通报,2011(2):21-25.
- [13] 汪景彦,杨有龙,译. 苹果短枝型研究[M]. 北京:中国农业科技出版社,1987.
- [14] 闫忠业. 富士系苹果芽变性状多样性研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2006.
- [15] 简令成,孙德兰,施国雄,等. 不同柑桔种类叶片组织的细胞结构与抗寒性的关系[J]. 园艺学报,1986(3):163-168.
- [16] 李芳兰,包维楷. 植物叶片形态解剖结构对环境变化的响应与适应[J]. 植物学通报,2005(S1):118-127.
- [17] JENSEN P J, MAKALOWSKA I, ALTMAN N, et al. Rootstock-regulated gene expression patterns in apple tree scions[J]. Tree Genetics and Genomes, 2010,6(1):57-72.
- [18] WANG S C, LIANG D, LI C, et al. Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2012, 51:81-89.
- [19] PENG L X, GU L K, ZHANG C C, et al. Expression of *MaMAPK* gene in seedlings of *Malus* L. under water stress[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2006, 38(4):281-286.
- [20] 谭冬梅. 干旱胁迫对新疆野苹果及平邑甜茶生理生化特性的影响[J]. 中国农业科学,2007,40(5):980-986.

Comprehensive Evaluation on Leaf Morphological Anatomy Structure and Drought Resistance of New Spur and Stripe ‘Red Fuji’ Apple

ZHANG Junmiao, LI Wensheng, SHI Jin

(College of Forestry and Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052)

Abstract: Using conventional paraffin method to compare the bud mutation, ‘Nagafu 2 #’ and ‘Xinhong 1 #’ of leaf anatomical structure. And through the determination of the three apple cultivars of the leaf thickness, palisade tissue thickness, spongy tissue thickness, upper epidermis thickness, lower epidermis thickness, CTR, SR, P/S, eight physiological indexes related to drought resistance. A comprehensive evaluation by subordinate function of three varieties of drought resistance was conducted. The results showed that it was different in the leaf anatomical structures of them. The bud mutation and ‘Xinhong 1 #’ of the palisade tissue thickness, spongy tissue thickness and leaf thickness significantly higher than ‘Nagafu 2 #’. The drought tolerance of three tested materials was in the following order: ‘Xinhong 1 #’, bud mutation, ‘Nagafu 2 #’. Comprehensive analysis showed that the bud mutation had the characteristics of leaf thickness, palisade tissue thickness and spongy tissue thickness of spur type apple. At the same time the drought-resistant ability stronger than the long branch varieties of ‘Nagafu 2 #’.

Keywords: apple; leaf; anatomical structure; drought resistance