

橡胶树优树无性系自然越冬过程生理指标变化研究

毛常丽,张凤良,李小琴*,杨 湑,赵 祺,倪书邦,吴 裕

(云南省热带作物科学研究所,云南 景洪 666100)

摘 要:以橡胶树 5 个人工杂交子代优树无性系苗木为材料,通过自然越冬低温处理,以抗寒品种 GT1 为对照,测定了 5 个时间梯度下 10 个生理指标的变化过程,并利用隶属函数法对各无性系抗寒性进行综合评价。结果表明,整个自然越冬过程中各无性系间相对含水量、相对电导率、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性、超氧阴离子(OFR)、氨基酸(AA)、脯氨酸(Pro)、可溶性糖及可溶性蛋白含量等生理指标差异均达到了极显著($P<0.01$)水平;温度较高时各无性系间丙二醛(MDA)含量差异未达到显著水平。自然越冬过程中,各生理指标呈现不同的变化规律,其中相对含水量和脯氨酸含量呈先降后升变化,SOD、POD 酶活性及可溶性蛋白含量呈“升—降—升”变化,相对电导率、MDA 和可溶性糖含量呈“降—升—降”变化、OFR 含量呈先升后降、AA 含量呈“降—升—降—升”变化。各无性系间抗寒性差异较明显,应用隶属函数法综合评价抗寒性由强到弱依次为 629 号>626 号>182 号>223 号>GT1(对照)>628 号。

关键词:橡胶树;自然越冬;生理指标;抗寒性;隶属函数法

中图分类号:S794.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2020)02-0094-08

Changes of Physiological Indexes of *Hevea brasiliensis* Plus Tree Clones during Natural Overwintering

MAO Chang-li,ZHANG Feng-liang,LI Xiao-qin*,YANG Tian,ZHAO Qi,NI Shu-bang,WU Yu

(Yunnan Institute of Tropical Crops,Jinghong 666100,Yunnan,China)

Abstract: Taking the seedlings 5 artificial hybrid offspring plus tree clones of *Hevea brasiliensis* as materials,through low-temperature treatment of natural overwintering and taking cold-resistant variety GT1 as the control,the change processes of 10 physiological indexes under 5 time gradients were measured,and the cold-resistance abilities of the clones were evaluated comprehensively by membership function method. The results showed that during the whole period of natural overwintering,there existed extremely significant differences ($P<0.01$) in physiological indexes among 6 clones,including relative water content,relative electric conductivity,superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) activity,oxygen free radical (OFR),amino acid (AA),proline (Pro),soluble sugar and soluble protein contents. Malondialdehyde (MDA) content among the clones did not reach a significant level at higher temperature. The physiological indicators presented the different change rules in the natural overwintering process. The relative water content and proline content ascended before descended,SOD and POD activity and soluble protein content all showed an “ascending-descending-ascending” change,relative conductivity,MDA and soluble sugar content showed a “descending-ascending-descending” change,OFR content first increased and then decreased,AA content showed “descending-ascending-descending-descending” change. The cold resistance of the clones

收稿日期:2019-05-08 修回日期:2019-08-21

基金项目:云南省热带作物科技创新体系建设专项资金项目(RF2019-2-1);农业部种质资源保护项目(151721301354052002-01);云南省橡胶产业技术体系(2018KJTX008-02)。

作者简介:毛常丽,女,硕士,助理研究员,研究方向:橡胶树遗传育种。E-mail:282368005@qq.com

*通信作者:李小琴,女,硕士,助理研究员,研究方向:橡胶树种质资源保护及遗传育种。E-mail:512504431@qq.com

was obviously different, and comprehensive evaluation result of cold resistance by membership function method was from strong to weak 629>626>182>223>GT1 (controle)>628.

Key words: *Hevea brasiliensis*; natural overwintering; physiological index; cold resistance; membership function method

橡胶树(*Hevea brasiliensis*)原产于南美洲亚马逊河流域的热带雨林中,是典型的热带乔木树种,不耐低温。我国植胶区地处热带北缘至亚热带地区,属于非传统植胶区,橡胶树常常受低温、干旱、强风、病虫害和高海拔等不利因素的影响^[1],其中,低温的危害最为明显,冬季常有寒潮侵袭,当温度<5℃以下时,橡胶树会遭到不同程度的低温伤害。低温会引起橡胶树细胞结构、原生质体特性、水分状况、细胞渗透压、光合生理特性、物质代谢及保护酶活性等发生变化,从而影响植株的正常生长发育^[2]。因此,我国橡胶树品种选育的主要方向仍然以高产抗寒为主。

前人对橡胶树的抗寒研究工作多集中在自然寒害后对栽培品种的普查与统计^[3-8]及人工低温胁迫对栽培品种的生理与分子相应研究上^[9-13],在无性系品种研究上居多,而对未知种质资源鉴定评价一直是橡胶树育种工作中的重要环节,橡胶树抗寒生理研究又是种质资源评价的重要内容之一。本研究以 5 份橡胶树杂交后代优树无性系苗木为试验材料,选取抗寒品种 GT1 为对照,测定其在 2018—2019 年自然越冬过程中枝条相对含水量、相对电导率、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性、丙二醛(MDA)、超氧阴离子(OFR)、氨基酸(AA)、脯氨酸(Pro)、可溶性糖及可溶性蛋白含量等 10 个生理生化指标,初步探讨橡胶树自然越冬过程中各生理指标的变化规律,利用综合评价方法筛选出抗寒性强的无性系,为橡胶树抗寒育种提供物质材料和理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于云南省热带作物科学研究所“农业部景洪橡胶树种质资源圃”(100°40′—100°50′E,21°

59′—22°01′N),海拔约 550 m;年平均降雨量约 1 200 mm,多集中在 6—9 月;年平均气温 18.6~21.9℃,最热月份平均气温 25.2℃,最冷月份平均气温 15.6℃,最高气温常出现在 5 月,最低出现在 1 月,冬季昼夜温差较大。

1.2 材料

选取 5 个橡胶树优树无性系,种质编号(母本×父本)分别为:182(IAN873×RRIM803)、223(Tjiri×GI1)、629(GT1×新 561)、626(GT1×云研 73-477)、628(GT1×新 292),对照为品种 GT1(初生代)。以其 1 年生苗木为试验材料,具体为 2017 年采集芽条,以 GT1 开放授粉实生苗为砧木繁殖成无性系,芽接成活后,于 2018 年 3 月锯杆,株行距 1 m×1 m,按照常规育苗管理,苗木生长良好。

1.3 方法

1.3.1 采样方法 自 2018 年 11 月 21 日至 2019 年 2 月 13 日期间,每 3 周测定 1 次,每个无性系选取长势均匀的 3 株进行混合采样,采集部位为苗木自上而下第 3 蓬叶所在枝条,采后立即用湿纱布包裹,装入冷藏箱带回,依次用自来水和蒸馏水冲洗干净后吸干水分,随即进行各种生理指标的测定。同时根据景洪市气象局提供的当日最高气温、最低气温、日平均温度及平均湿度,计算取样前 21 d 的平均最高温、平均最低温、平均温度及平均湿度(表 1)。

1.3.2 指标测定方法 相对含水量的测定:避开芽眼,每根枝条随机截取大小约 3 cm² 的枝条韧皮部 1 块,称取其鲜重,用 70℃烘箱烘干至恒重,称取其干重,计算其相对含水量=(鲜重-干重)/鲜重×100%。

相对电导率的测定:避开芽眼,准确裁取 0.5 cm×0.5 cm 的小方块枝条韧皮部,同一无性系对 3 段枝条混合取样共裁取 6 块,每 2 块放入一个试管中,加入双重蒸馏水 20 mL,混合均匀,设 3 次重复,

表 1 自然越冬过程中各气象因子变化情况
Table 1 Changes of meteorological factors during natural overwintering

指标	日期/年-月-日				
	2018-11-01— 2018-11-21	2018-11-22— 2018-12-12	2018-12-13— 2019-01-02	2019-01-03— 2019-01-23	2019-01-24— 2019-02-13
平均最高温/℃	28.77	27.02	24.29	25.50	29.23
平均最低温/℃	17.42	15.59	15.48	14.03	11.95
平均温度/℃	21.29	18.79	18.36	18.08	18.87
平均湿度/%	80.93	81.01	83.50	81.59	68.33

室温放置 24 h,期间摇匀数次。用 SG3-ELK 型便携式电导率仪先测出初始电导值(C_1),盖上试管塞,沸水浴 30 min,取出冷却至室温后,再测出终电导值(C_2)。以相对电导率表示细胞膜透性大小,计算相对电导率 $REC=(C_1/C_2)\times 100\%$ 。

生理生化指标测定方法^[14]:超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法;超氧阴离子(OFR)含量采用盐酸羟胺法;氨基酸(AA)含量采用水合茚三酮法;脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮染色法;可溶性糖含量采用蒽酮比色法;可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法。各指标均采用枝条韧皮部进行测定,使用苏州科铭生物技术有限公司生产的试剂盒进行测定及相关含量计算。

1.4 数据处理

采用 Excel 2003 对数据进行汇总整理,用 SPSS23.0 对数据进行方差及相关性统计分析。抗寒性的综合评价采用模糊数学中的隶属函数方法进行计算,隶属函数值的计算方法如下^[15]:

$$Z_{ij}=(X_{ij}-X_{imin})/(X_{imax}-X_{imin})$$

(1)

表 2 自然越冬过程中橡胶树优树无性系枝条相对含水量及相对电导率统计

Table 2 The statistical table of relative water content and relative electrical conductivity of the branches of *H. brasiliensis* plus tree clones during natural overwintering

指标	无性系	日期/年-月-日				
		2018-11-21	2018-12-12	2019-01-02	2019-01-23	2019-02-13
相对含水量/%	GT1(CK)	75.43±1.35 ^{bc}	74.19±2.43 ^D	72.58±2.38 ^{CD}	72.79±3.58 ^B	75.83±5.03 ^A
	182	76.14±5.40 ^{ab}	76.00±3.45 ^B	73.68±2.35 ^{BC}	75.08±3.62 ^A	75.58±3.69 ^A
	223	73.51±4.43 ^c	73.27±4.23 ^E	72.48±4.20 ^D	73.23±4.52 ^B	73.55±2.98 ^D
	629	77.68±2.42 ^a	76.61±5.12 ^A	76.97±3.75 ^A	74.89±1.50 ^A	74.57±5.33 ^C
	626	75.15±1.99 ^{bc}	74.95±4.32 ^C	72.07±4.06 ^D	73.23±2.54 ^B	74.80±4.56 ^{BC}
	628	75.35±2.82 ^{bc}	74.90±2.78 ^C	73.33±3.45 ^B	74.45±3.69 ^B	75.45±2.75 ^{AB}
相对电导率/%	GT1(CK)	39.83±2.12 ^B	35.30±2.18 ^B	44.34±1.42 ^{AB}	38.16±2.34 ^B	36.01±2.33 ^{AB}
	182	43.02±2.58 ^A	41.76±1.68 ^A	44.79±3.12 ^{AB}	45.25±2.36 ^A	38.20±1.02 ^A
	223	44.84±2.35 ^A	36.49±2.66 ^B	37.50±2.10 ^C	44.17±1.58 ^A	31.28±1.53 ^D
	629	39.14±3.02 ^{BC}	32.22±2.30 ^C	42.61±1.65 ^B	39.60±1.79 ^B	38.42±2.56 ^A
	626	37.32±1.99 ^C	32.49±1.52 ^C	36.58±1.80 ^C	44.11±1.05 ^A	34.45±3.02 ^{BC}
	628	37.82±2.03 ^{BC}	42.31±1.35 ^A	46.76±2.04 ^A	44.76±2.35 ^A	33.17±2.13 ^{CD}

注:同列中不同大写字母和小写字母表示同一指标同一测定时间不同品种间差异极显著($P<0.01$)和显著($P<0.05$)。下同。

参试的优树无性系相对电导率在整个越冬过程中整体呈“降—升—降”的趋势,总体均值在 35.25%~42.67%,其中 182 号最高,在 38.20%~45.25%,均值为 42.60%,比对照 GT1(38.73%)高出近 10%;626 号值最低,在 32.49%~44.11%,均值为 36.99%,仅低于对照约 5%。根据气象信息平均温度最低出现在 1 月,多数无性系的相对电导率最大值出现在 1 月下旬或 2 月上旬,各无性系间在越冬过程中差异均达到了极显著($P<0.01$)水平。

如果某一指标与抗寒性为负相关,用反隶属函数计算器抗寒隶属函数值,计算方法为:

$$Z_{ij}=1-(X_{ij}-X_{imin})/(X_{imax}-X_{imin})$$

(2)

式中, Z_{ij} 为第 i 个无性系第 j 个测定指标的抗寒隶属函数值; X_{ij} 为第 i 个无性系第 j 个指标的测定值; X_{imax} 和 X_{imin} 分别为全部无性系第 j 项指标的最大值和最小值。

2 结果与分析

2.1 自然越冬过程中橡胶树无性系枝条相对含水量及相对电导率的变化

表 2 统计了 5 个橡胶树优树无性系(含对照)自然越冬过程中枝条相对含水量及相对电导率的变化过程(含对照),参试的优树无性系(含对照)相对含水量随时间的变化均呈“降—升”的趋势(629 号除外),且最小值都出现在 2019 年 1 月 2 日。结合表 1 可知,此时的平均湿度最大,气温较低,植株可能通过降低含水量来抵御低温。但在整个越冬过程中所有无性系的相对含水量变化均未超过 5%,变化极小,各无性系间在越冬过程中相对含水量差异均达到了显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)水平。

2.2 自然越冬过程中橡胶树无性系枝条抗氧化酶活性的变化

由表 3 可知,自然越冬过程中橡胶树枝条 SOD 活性呈“升—降—升”的趋势,受低温刺激,多数无性系在 1 月 2 日时 SOD 活性达最大峰值,其中上升幅度最大的是 629 号,高达 306.43 $U\cdot g^{-1}$,为初始的 1.86 倍;之后出现不同程度的下降,在 2 月 13 日又开始上升;SOD 活性最高的为对照 GT1,均值为 241.56 $U\cdot g^{-1}$,其次是 629 号 239.12 $U\cdot g^{-1}$,最

低的是 628 号,仅 179.30 U · g⁻¹,比对照低 25.77%。POD 活性也呈“升—降—升”趋势,但最大峰值与 SOD 活性有差异,在 12 月 12 日时就达到极大值,说明 POD 越冬时比 SOD 反应更提前;626 号在整个越冬过程中 POD 活性一直处于最大,在

56.23~82.62 U · min⁻¹ · g⁻¹,均值 66.53 U · min⁻¹ · g⁻¹,高于 GT1(对照)27.89%,而 223 号值最小,均值 36.40 U · min⁻¹ · g⁻¹,低于对照 30.03%。各无性系在自然越冬过程中 SOD 和 POD 活性差异均达到极显著($P<0.01$)水平。

表 3 自然越冬过程中橡胶树优树无性系枝条抗氧化酶活性统计

指标		日期/年-月-日				
		2018-11-21	2018-12-12	2019-01-02	2019-01-23	2019-02-13
SOD 活性/(U · g ⁻¹)	GT1(CK)	188.22±5.34 ^A	250.80±12.33 ^B	281.90±16.00 ^B	244.98±15.21 ^A	241.45±16.87 ^B
	182	191.85±4.38 ^A	277.04±15.72 ^A	240.86±12.57 ^D	237.06±15.68 ^B	230.43±16.55 ^C
	223	187.83±6.07 ^A	241.19±10.25 ^C	247.92±11.55 ^C	175.34±13.58 ^D	225.86±18.36 ^C
	629	144.84±4.72 ^C	229.49±10.28 ^D	306.43±15.36 ^A	209.44±12.54 ^C	282.72±20.56 ^A
	626	171.45±6.52 ^B	213.61±9.27 ^E	219.31±15.49 ^E	235.25±11.89 ^B	205.66±18.61 ^D
	628	142.64±7.56 ^C	193.08±8.37 ^F	201.35±16.36 ^F	174.11±12.55 ^D	183.68±18.69 ^E
POD 活性 (U · min ⁻¹ · g ⁻¹)	GT1(CK)	37.16±2.59 ^B	66.24±1.75 ^B	49.32±1.86 ^B	47.16±3.64 ^B	60.12±3.45 ^B
	182	53.70±4.52 ^A	55.38±3.26 ^{CD}	38.88±1.58 ^C	39.24±1.54 ^C	52.69±1.95 ^C
	223	38.09±3.12 ^B	38.74±1.78 ^E	29.92±1.11 ^D	34.02±2.36 ^C	41.62±2.07 ^D
	629	50.22±1.85 ^A	61.04±3.47 ^{BC}	46.62±1.95 ^B	49.74±2.44 ^{AB}	57.77±2.88 ^B
	626	56.23±4.36 ^A	82.62±4.52 ^A	61.86±1.61 ^A	56.80±2.38 ^A	74.06±6.11 ^A
	628	34.28±2.66 ^B	49.68±2.35 ^D	36.34±1.90 ^C	33.54±2.56 ^C	44.59±2.98 ^D

2.3 自然越冬过程中橡胶树无性系枝条 MDA 及 OFR 含量的变化

由表 4 可知,自然越冬过程中橡胶树无性系(含对照)枝条 MDA 含量均呈“降—升—降”的趋势,除 2018 年 11 月 21 日和 2019 年 2 月 13 日各无性系间差异不显著,其余 3 次测定差异均到极显著($P<0.01$)水平;所有无性系 MDA 含量的最大峰值均出现在 1 月 23 日,此时值最大的是 629 号,达 11.66 nmol · g⁻¹,比初始值增加 40%;整个越冬过程 MDA 含量最高 629 号,均值 8.07 nmol · g⁻¹,仅比对照高 7.03%;182 号最低,为 7.50 nmol · g⁻¹,比对照仅低 0.04 nmol · g⁻¹。OFR 含量的变化呈先

升后降,同样在 1 月 23 日达到极大值,629 号 OFR 含量也是最大的,在 4.02~5.45 μmol · g⁻¹,均值 4.71 μmol · g⁻¹,高于对照 8.03%;最低的是 223 号,均值 3.53 μmol · g⁻¹,低于对照 19.04%。1 月 23 日平均温度达年度最低,植物对低温的抵御能力最弱,细胞膜过氧化程度较高,导致 MDA 含量和 OFR 含量等有毒物质的过多积累。

2.4 自然越冬过程中橡胶树优树无性系枝条渗透调节物质含量的变化

表 5 统计了自然越冬过程中,橡胶树优树无性系(含对照)枝条氨基酸、脯氨酸、可溶性糖及可溶性蛋白等渗透调节物质含量的变化情况。

表 4 自然越冬过程中橡胶树优树无性系枝条 MDA 含量及 OFR 含量统计

指标		日期/年-月-日				
		2018-11-21	2018-12-12	2019-01-02	2019-01-23	2019-02-13
MDA 含量/(nmol · g ⁻¹)	GT1(CK)	7.95±0.26	6.66±0.38 ^{BC}	7.12±0.55 ^C	9.83±0.55 ^C	6.17±0.18
	182	8.13±0.40	6.81±0.52 ^B	6.66±0.56 ^D	9.75±0.46 ^C	6.14±0.32
	223	8.49±0.11	7.15±0.44 ^A	7.61±0.36 ^{AB}	10.58±0.66 ^B	6.30±0.29
	629	8.33±0.36	6.73±0.33 ^B	7.38±0.67 ^{BC}	11.66±0.76 ^A	6.24±0.25
	626	8.00±0.41	6.63±0.45 ^{BC}	7.87±0.45 ^A	10.63±0.44 ^B	6.45±0.33
	628	8.05±0.50	6.45±0.46 ^C	7.33±0.53 ^{BC}	10.73±0.50 ^B	5.86±0.45
OFR 含量/(μmol · g ⁻¹)	GT1(CK)	3.81±0.11 ^C	4.02±0.25 ^C	4.32±0.19 ^C	4.99±0.28 ^D	4.11±0.35 ^C
	182	3.90±0.23 ^{BC}	3.51±0.15 ^F	4.76±0.25 ^A	5.14±0.38 ^C	4.51±0.18 ^A
	223	3.32±0.28 ^D	3.59±0.10 ^E	3.45±0.33 ^D	3.96±0.25 ^F	3.14±0.22 ^D
	629	4.02±0.25 ^A	4.31±0.11 ^A	4.64±0.18 ^B	5.45±0.30 ^A	4.46±0.25 ^A
	626	3.97±0.24 ^{AB}	3.85±0.29 ^D	4.68±0.22 ^B	4.82±0.21 ^E	4.14±0.29 ^C
	628	3.93±0.21 ^{AB}	4.22±0.16 ^B	4.83±0.39 ^A	5.36±0.15 ^B	4.28±0.34 ^B

氨基酸含量呈现出“降—升—降—升”的趋势；多数无性系在 1 月下旬达最小值，此时低温可能是造成影响氨基酸合成主要因素，到 2 月上旬，气温回升，所有无性系都呈上升趋势，尤其是 182 号和 629 号分别上升了 5.00 倍和 4.14 倍；AA 含量最高是 182 号，均值为 $28.61\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ，为对照的 142.98%；最低的是 628 号，均值为 $19.03\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ，为对照的 95.10%。脯氨酸含量整体变化呈先下降后上升趋势，不同无性系间除在 2018 年 12 月 12 日所测值的差异显著 ($P<0.05$) 以外，其余时期均为极显著 ($P<0.01$)；但整个越冬过程中多数无性系脯氨酸含量波动并不大，多在 1 月下旬达最小值，2 月上旬出现显著上升，此趋势与氨基酸含量相符；脯氨酸含量最高的为 629 号，在 $63.88\sim95.84\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，均值 $81.01\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，仅比对照多 4.11%；

表 5 自然越冬过程中橡胶树优树无性系枝条渗透调节物质含量

Table 5 The statistical table of osmotic adjustment substances of branches of *H. brasiliensis* plus tree clones during natural overwintering

指标	无性系	日期/年-月-日				
		2018-11-21	2018-12-12	2019-01-02	2019-01-23	2019-02-13
AA 含量/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	GT1(CK)	18.73±2.05 ^D	14.88±1.32 ^E	17.86±0.99 ^F	12.67±0.69 ^D	35.93±2.63 ^D
	182	26.06±1.42 ^A	19.79±1.58 ^C	21.58±1.68 ^D	12.61±1.02 ^D	62.99±4.36 ^A
	223	25.20±1.65 ^B	21.94±1.85 ^A	26.69±1.22 ^B	12.11±1.32 ^E	40.73±3.56 ^C
	629	21.72±1.04 ^C	20.46±1.56 ^B	24.96±1.25 ^C	14.43±0.78 ^C	59.76±2.48 ^B
	626	18.77±1.35 ^D	18.28±1.31 ^D	18.76±1.29 ^E	24.90±0.66 ^A	40.26±3.51 ^C
	628	16.98±1.65 ^E	14.32±1.22 ^F	28.70±1.37 ^A	15.29±0.77 ^B	19.86±2.13 ^E
脯氨酸含量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$	GT1(CK)	66.89±5.38 ^C	72.24±5.41 ^{cd}	82.77±6.42 ^A	70.82±3.88 ^{AB}	96.34±5.57 ^A
	182	73.70±3.63 ^B	77.69±4.26 ^a	69.92±2.36 ^{BC}	70.64±2.62 ^{AB}	75.21±4.10 ^B
	223	85.84±4.29 ^A	76.30±4.35 ^{abc}	67.71±2.84 ^C	73.20±4.65 ^A	81.17±3.56 ^B
	629	86.48±3.19 ^A	76.61±3.28 ^{ab}	82.22±3.51 ^A	63.88±4.50 ^C	95.84±3.73 ^A
	626	72.78±6.44 ^B	71.53±5.11 ^d	69.29±2.86 ^{BC}	65.80±2.69 ^{BC}	79.03±4.85 ^B
	628	88.98±4.13 ^A	72.77±5.34 ^{bcd}	76.12±3.56 ^{AB}	72.69±1.35 ^A	77.00±3.45 ^B
可溶性糖含量/ $(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	GT1(CK)	21.05±2.01 ^C	19.53±1.53 ^F	24.07±1.03 ^D	19.23±0.95 ^D	10.95±1.02 ^E
	182	24.57±1.04 ^B	23.86±1.25 ^C	27.79±1.82 ^B	21.80±1.52 ^A	17.33±1.45 ^B
	223	25.04±1.62 ^B	21.80±1.91 ^E	16.78±1.49 ^F	20.57±1.38 ^B	17.03±1.26 ^C
	629	19.98±1.14 ^D	25.08±1.68 ^B	23.00±1.46 ^E	13.03±0.85 ^E	15.81±1.32 ^D
	626	29.71±1.74 ^A	28.75±1.78 ^A	27.36±0.98 ^C	20.55±0.79 ^B	22.19±1.05 ^A
	628	29.36±0.93 ^A	23.35±1.22 ^D	29.34±1.34 ^A	19.50±1.46 ^C	22.20±0.96 ^A
可溶性蛋白含量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	GT1(CK)	66.71±2.99 ^{CD}	90.28±5.21 ^B	69.14±3.21 ^D	55.06±4.89 ^F	52.34±2.84 ^E
	182	70.17±3.54 ^C	73.39±2.98 ^C	75.50±1.24 ^D	65.36±2.78 ^D	60.61±2.65 ^D
	223	83.76±6.47 ^B	97.84±4.56 ^A	117.03±5.69 ^A	100.06±5.02 ^A	109.28±2.36 ^A
	629	61.41±3.96 ^D	95.59±6.82 ^{AB}	89.17±2.85 ^C	60.72±3.54 ^E	69.75±1.95 ^C
	626	112.72±7.54 ^A	90.95±3.85 ^B	97.00±4.77 ^C	77.45±1.56 ^B	61.89±2.88 ^D
	628	85.71±2.99 ^B	101.64±2.32 ^A	106.67±3.98 ^B	70.03±2.51 ^C	85.28±3.58 ^B

2.5 自然越冬过程中橡胶树无性系各生理指标与气象因子的相关性

由表 6 可知，所测定的 10 个指标上，相对含水量与多数指标间相关性都不显著；相对电导率与 POD 酶活性、MDA 含量及 OFR 含量指标间呈显著或极显著相关，而与大多数渗透调节物质间相关性

626 号含量最小，均值为 $71.69\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，低于对照 7.87%。

可溶性糖含量整体呈“降—升—降”趋势，182 号和 628 号及对照 GT1 在 2019 年 1 月 2 日均出现了最大峰值，629、626 号及 628 号在 2 月 13 日呈缓慢上升；626 号的可溶性糖含量值最大，均值为 $25.71\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，最小值为对照 GT1，为 $18.97\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，626 号高于对照 35.53%。多数橡胶树无性系可溶性蛋白含量呈“升—降—升”的趋势，大多在 1 月 2 日达到最大峰值，之后在 1 月 23 日时所有无性系(含对照)都出现明显下降，低温对可溶性蛋白合成造成一定的影响；223 号可溶性蛋白含量最高，在 $83.76\sim117.03\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，均值为 $101.59\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ；最低为对照 GT1，均值为 $66.70\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ；223 号可溶性蛋白含量是对照的 1.52 倍。

不显著；MDA 含量与相对电导率、OFR、AA 及脯氨酸含量等呈显著或极显著相关；SOD 和 POD 酶活性与大多数指标间相关性均不显著。平均最高温与相对含水量、相对电导率、SOD、OFR、AA 及脯氨酸含量呈显著或极显著相关；平均最低温与 SOD 酶活性、AA 及可溶性糖含量呈显著或极显著相关；平均

湿度与相对电导率、MDA、AA、脯氨酸及可溶性糖含量呈显著或极显著相关。以上说明各生理指标的变化与气象因子的改变密不可分,不同的生理指标受不同的气象因子影响差异较大。

表 6 自然越冬过程中橡胶树优树无性系各生理指标与气象因子的相关性分析

Table 6 Correlation analysis between physiological indexes and meteorological factors of *H. brasiliensis* plus tree clones during natural overwintering

指标	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13
X2	-0.142												
X3	-0.163	-0.004											
X4	0.245	-0.492**	0.186										
X5	-0.180	0.382*	-0.331*	-0.244									
X6	-0.057	0.371*	0.069	-0.008	0.422*								
X7	0.127	-0.223	0.273	0.201	-0.516**	-0.139							
X8	0.323*	-0.134	0.073	0.066	-0.458*	-0.302	0.464**						
X9	0.006	0.168	-0.253	0.046	-0.149	-0.099	-0.356*	-0.145					
X10	-0.273	-0.162	-0.056	-0.192	-0.198	-0.408*	-0.171	-0.192	0.416*				
X11	0.474**	-0.484**	-0.362*	0.255	-0.285	-0.491**	0.462*	0.491**	-0.174	-0.209			
X12	0.136	0.288	-0.326*	-0.180	0.164	-0.262	-0.542**	-0.167	0.604**	0.262	-0.138		
X13	0.420*	-0.061	-0.567**	-0.055	-0.078	-0.503**	0.012	0.285	0.295	-0.021	0.641**	0.618**	
X14	-0.200	0.516**	-0.048	-0.278	0.451*	0.175	-0.743**	-0.487**	0.479**	0.264	-0.710**	0.766**	0.003

注: X1-相对含水量、X2-相对电导率、X3-SOD 活性、X4-POD 活性、X5-MDA 含量、X6-OFR 含量、X7-AA 含量、X8-脯氨酸含量、X9-可溶性糖含量、X10-可溶性蛋白含量、X11-平均最高温、X12-平均最低温、X13-平均温度、X14-平均湿度。下同。

2.6 自然越冬过程中橡胶树各优树无性系抗寒性综合评价

利用隶属函数对抗寒性进行综合评价, 值在0~1, 值越接近 1 表示抗寒性越强, 反之抗寒性越弱^[16]。表 7 列出了各无性系的隶属函数综合得分值, 可以得出, 629 号的综合得分最高(0.547), 抗寒

性最强, 628 号的最低(0.370), 抗寒性最弱, 抗寒性从强到弱依次为 629 号>626 号>182 号>223 号>GT1(对照)>628 号, 所测无性系除 628 号外抗寒性均高于对照品种 GT1, 这些优树无性系都是较好的抗寒育种材料。

表 7 利用隶属函数法对橡胶树各优树无性系抗寒性进行综合评价

Table 7 Comprehensive evaluation of cold-resistance of *H. brasiliensis* plus tree clones by the subordinate function method

无性系	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	平均隶属度	综合排序
GT1(CK)	0.326	0.691	1.000	0.520	0.923	0.302	0.103	0.578	0.000	0.000	0.444	5
182	0.713	0.000	0.904	0.385	1.000	0.197	1.000	0.000	0.608	0.066	0.488	3
223	0.000	0.668	0.586	0.000	0.081	1.000	0.658	0.450	0.189	1.000	0.463	4
629	1.000	0.749	0.890	0.556	0.000	0.004	0.964	0.999	0.061	0.247	0.547	1
626	0.283	1.000	0.481	1.000	0.271	0.263	0.539	0.230	1.000	0.610	0.522	2
628	0.507	0.292	0.000	0.107	0.679	0.052	0.000	0.539	0.857	0.664	0.370	6

3 结论与讨论

低温影响我国大部分植胶区橡胶树的生长发育, 抗寒育种一直作为我国橡胶树选育种研究的重点内容之一。经过几代橡胶科研工作者的努力, 我国已自主培育出一批适宜中国植胶区的抗寒高产品种无性系, 并取得了重大进展, 如云研 73-46、云研 77-4、云研 77-2、湛试 327-13^[8,17-18]。虽前人得到一批相对优良的抗寒高产品种, 但群体数量仍然较少, 主要由于我国不是橡胶树的野生分布区, 只能通过引进资源或杂交培育后代, 橡胶树资源缺乏, 在此基础上想要得到抗寒高产基因资源更加困难。因此,

不断进行种质创新深入挖掘抗寒新资源是促进我国橡胶树抗寒高产品种选育的重要手段。

本研究测定了橡胶树 5 份杂交后代优树无性系在自然越冬过程中 10 个生理生化指标, 结果表明, 自然越冬过程中各无性系间相对含水量、相对电导率、SOD 和 POD 酶活性、OFR 含量、AA 含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量及可溶性蛋白含量等指标差异均达到了极显著($P<0.01$)水平, 温度较高时各无性系间 MDA 差异未达到显著水平。各生理生化指标在自然越冬过程中, 随着温度的下降后上升呈现出了不同的变化趋势, 其中, 相对含水量和脯氨酸呈“降—升”变化趋势, SOD 和 POD 酶活性呈“升—

降—升”变化趋势,相对电导率、MDA 和可溶性糖呈“降—升—降”变化趋势,可溶性蛋白呈“升—降—升”变化趋势,OFR 含量呈“升—降”变化趋势,氨基酸含量呈“降—升—降—升”变化趋势。

一般地,相对电导率越大说明植物体细胞破坏越重要,抗寒性就越弱,而 MDA 含量高则说明低温胁迫下植物受伤害的程度高,相对电导率和 MDA 随着温度的降低呈上升趋势,部分材料也会出现先下降后上升的趋势^[19-22]。从相对电导率结果看,各无性系对低温变化表现出相似的变化特点,但各无性系对低温环境的适应性在相对电导率变化上略有不同。各无性系(除 628 外)11 月的较高含量的相对电导率可能是气温由热转冷所致,随着温度进一步下降各无性系(除 628 外)表现出对温度下降的适应性(即相对电导率略有下降);随着温度继续缓慢下降(越冬中前期),各无性系受低温影响进一步加剧(相对电导率均有不同程度增加);随着温度缓慢下降(越冬中期),6 个无性系出现 2 种不同的变化,CK、629 号和 628 号均下降,而 223 号和 626 号呈大幅增加,182 号缓慢增加,说明低温对 223 号和 626 号有较大影响,而相对电导率下降的 3 个无性系对低温的适应性相对较强;随着温度进一步下降,223 号、626 号和 628 号的相对电导率均呈大幅度下降,其对低温的适应性相对较强。就 MDA 而言,越冬中前期,随温度的不断降低,因植物体内各种保护物质含量的增加,所有无性系 MDA 含量先出现小幅下降后略微上升;直到 1 月 23 日平均温度达年度最低,植物对低温的抵御能力最弱,细胞代谢能力最弱,保护物质减少,细胞膜过氧化程度较高,导致 MDA 含量大幅度增加,此时 629 号积累的 MDA 含量最多,182 号最少;因最低温持续时间并不长,随温度的慢慢上升,植物代谢逐渐恢复正常,MDA 含量就显著降低。

有研究表明,短期的低温胁迫或温度未降至零界点时的胁迫会使植物体内的保护酶活性和渗透调节物质升高,有助于植株防御一定的低温胁迫,但随着胁迫的加剧,从而破坏了活性氧代谢平衡,细胞膜系统受损,则会导致植株体内这一系列物质显著降低^[23-25]。前人在茶树和库尔勒香梨等植物上研究表明,越冬中期渗透调节物质含量和保护酶活性均高于越冬前期和后期,当温度快速下降时这些物质的含量及酶活性开始降低,但各无性系对温度的适应性略有差异^[26-27],本研究与之相似。从 SOD 和 POD 活性结果分析来看,在越冬中期各无性系(除 182 号外)SOD 活性均表现大幅增加,且除 182 号和 626 号外的 4 个无性系均在 1 月 2 日达到最大值,

182 号的最大值出现得最早,说明其对低温更敏感,但对低温的耐受能力相对较弱,在 1 月 2 日已开始下降,随着最低温度的继续下降到 1 月 23 日,仅 626 号呈继续上升趋势且达到最大值,表现出较强的耐低温能力;越冬前期,温度下降较慢,182 号和 223 号的 POD 活性呈略微增加,其余 4 个无性系均大幅上升,在 12 月 12 日,除 223 号外,各无性系均达最大峰值,说明橡胶树在刚遇低温时就通过增加 POD 活性来提高耐寒性。脯氨酸含量在整个自然越冬过程波动较小,越冬前期(12 月中旬以前),GT1 和 182 脯氨酸含量出现小幅上升,其余 4 个无性系均呈下降趋势;到 1 月 2 日(越冬中期),GT1、629 号和 628 号脯氨酸含量显著增加,而 182 号、223 号及 626 号呈下降趋势,对低温的响应并不一致;可溶性糖含量整个越冬过程变化趋势差异较大,越冬中前期,仅 629 号呈大幅上升,并达最大值,说明其对低温响应快,其余无性系都呈不同程度的下降,越冬中期 CK、182 号和 628 号均大幅增加至最大峰值,通过积累较多的可溶性糖含量来抵御低温,增强抗寒性,223 号、629 号和 626 号呈下降趋势,表现出各无性系对温度的响应差异较大;就可溶性蛋白含量而言,越冬中期,除 CK 和 629 号无性系外,其余 4 个达到峰值,表现出了对低温的响应较强。从参试无性系各生理指标随环境温度变化特点看,各无性系的适应性有差异,这一序列的复杂的差异性可能是该植物自身调控机制导致的,下一步研究工作中充分与耐寒基因、分子调控等结合研究以期揭示其相关机理。

基于以上可以看出,单一指标间评价抗寒性的结果虽有部分重合,但也出现了多数无性系排序上不统一的现象,如参试的 5 个无性系相对电导率 626 号较低,MDA 含量 182 号和 628 号较低;水分含量、游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白等是重要的渗透调节物质,植物积累越多这些物质,低温伤害的程度往往越低,本研究中相对含水量 629 号和 182 号无性系较高;游离脯氨酸含量 626 号和 629 号无性系较高;可溶性糖含量 626 号和 628 号无性系较高;可溶性蛋白含量 223 号无性系较高;SOD 酶活性 629 号 and 对照 GT1 较高,POD 酶活性 626 号、629 号和对照较高。故单一指标选择会存在明显的误选、漏选,本研究应用隶属函数法综合评价各参试材料的抗寒性,抗寒性由强到弱依次为 629 号>626 号>182 号>223 号>GT1(对照)>628 号,其中 629 号和 626 号均为 GT1 的子代;从各指标统计分析种证实 182 号遗传了 IAN873 抗寒特性,其表现出较 GT1 更强的抗寒性。以上说明通过杂交

手段,选育出子代比亲本更抗寒的可能性比较大,也是目前橡胶树种质创新的主要手段。

参考文献:

[1] PRIYADARSHAN P M, GONCALVES P D S. *Hevea* gene pool for breeding[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2003,50(1):101-114.

[2] 王祥军,李维国,高新生,等.巴西橡胶树响应低温逆境的生理特征及其调控机制[J].植物生理学报,2012,48(4):318-324. WANG X J, LI W G, GAO X S, *et al.* Physiological characteristics of *Hevea brasiliensis* in response to low temperature stress and its regulation mechanisms[J]. Plant Physiology Communications, 2012,48(4):318-324. (in Chinese)

[3] 王树明,胡卓勇,李芹.2010/2011 年冬春滇东南河口、文山植胶区橡胶树寒害调查报告[J].热带农业科技,2012,35(2):1-8,15.

[4] 邱志荣,刘霞,王光琼,等.海南岛天然橡胶寒害空间分布特征研究[J].热带农业科学,2013,33(11):67-69.

[5] 张勇,李芹,王树明,等.滇东南植胶区 2013/2014 年冬春橡胶树寒害调研报告[J].热带农业科学,2015,35(2):36-41.

[6] 安锋,王立丰,王纪坤,等.海南西部 2015/2016 年度橡胶树寒害情况及处理建议[J].中国热带农业,2016(6):28-32.

[7] 李士荣,贺军军,吴青松,等.橡胶树新品系湛试 327-13 抗寒性和产胶能力调查[J].热带农业科学,2016,36(6):6-9.

[8] 段保停,殷山山,张孝云,等.云南德宏地区橡胶树品种区域性试种初报[J].热带农业科学,2017,37(3):1-6.

[9] 刘世红,田耀华,魏丽萍,等.西双版纳 30 个橡胶树品种的低温半致死温度及低温对抗氧化系统的影响[J].植物生理学报,2011,47(5):505-511. LIU S H, TIAN Y H, WEI L P, *et al.* Semi-lethal low temperatures and impact of low temperature on antioxidant system of 30 varieties of rubber trees in Xishuangbanna[J]. Plant Physiology Communications, 2011,47(5):505-511. (in Chinese)

[10] 贺军军,姚艳丽,李士荣,等.低温胁迫对橡胶湛试 327-13 幼苗叶片生理特性的影响[J].热带农业科学,2013,33(1):1-4.

[11] 张盈盈,王纪坤,杨川,等.低温处理对橡胶袋装苗和籽苗芽接苗生理活性的影响[J].西南农业学报,2013,26(2):559-564. ZHANG Y Y, WANG J K, YANG C, *et al.* Effect of chilling stress on physiological characteristics of two kinds of rubber seedlings[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2013,26(2):559-564. (in Chinese)

[12] 程汉,张燕燕,蔡海滨,等.利用 cDNA 阵列初步发掘橡胶树抗寒相关基因[J].热带作物学报,2016,37(6):1092-1097. CHENG H, ZHANG Y Y, CAI H B, *et al.* A preliminary identification of cold resistant genes using cDNA arrays in *Hevea brasiliensis*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(6):1092-1097. (in Chinese)

[13] 原慧芳,谢江,周会平,等.不同橡胶树品种耐寒性指标比较及综合评价[J].植物资源与环境学报,2018,27(4):72-80. YUAN H F, XIE J, ZHOU H P, *et al.* Comparison on cold tolerance indexes of different cultivars of *Hevea brasiliensis* and comprehensive evaluation[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2018,27(4):72-80. (in Chinese)

[14] 李合生.植物生理生化实验原理和技术 [M].北京:高等教育出版社,2006.

[15] 刘华,王峰,李娜,等.隶属函数值法对 12 个树种抗旱性的综合评价[J].中国农村小康科技,2010(10):39-41.

[16] 李轶冰,杨顺强,任广鑫,等.低温处理下不同禾本科牧草的生理变化及其抗寒性比较[J].生态学报,2009,29(3):1341-1347. LI Y B, YANG S Q, REN G X, *et al.* Changes analysis in physiological properties of several gramineous grass species and cold-resistance comparison on under cold stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009,29(3):1341-1347. (in Chinese)

[17] 李明谦.橡胶树新品种云研 77-4、云研 77-2 的抗寒性生理鉴定[J].热带农业科技,2005,28(2):4-6,3.

[18] 李士荣,贺军军,吴青松,等.橡胶树新品系湛试 327-13 抗寒性和产胶能力调查[J].热带农业科学,2016,36(6):6-9.

[19] 池春玉,连永权,李文君,等.低温胁迫下三种冷季型草坪草的抗寒性变化[J].安徽农学通报,2007,13(7):41-43.

[20] 周瑞莲,赵哈林.高寒山区草本植物的保护酶系统及其在低温生长中的作用[J].西北植物学报,2002,22(3):566-573. ZHOU R L, ZHAO H L. Protecting enzyme system of herb-age and its functions in the cold growing process in alpine and cold region [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2002,22(3):566-573. (in Chinese)

[21] 李长慧,李淑娟,刘艳霞,等.低温胁迫对 10 份鹅观草属野生种质抗寒生理指标的影响[J].草业科学,2018,35(1):123-132.

[22] 曹佳乐,延娜,樊军锋,等.4 个白杨派新无性系抗寒性鉴定和综合评价[J].西北林学院学报,2016,31(2):130-134,139. CAO J L, YAN N, FAN J F, *et al.* Determination and comprehensive evaluation on cold-tolerance of four new *Populus* clones[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2016,31(2):130-134,139. (in Chinese)

[23] BAEK K H, SKINNER D Z. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines[J]. Plant Science (Oxford), 2003,165(6):1221-1227.

[24] 张晓红,冯梁杰,杨特武,等.冬季低温胁迫对油菜抗寒生理特性的影响[J].植物生理学报,2015,51(5):737-746. ZHANG X H, FENG L J, YANG T W, *et al.* Effects of chilling stress on physiological characteristics of rapeseed seedlings in winter[J]. Plant Physiology Communications, 2015, 51(5):737-746. (in Chinese)

[25] 李小琴,彭明俊,段安安,等.低温胁迫对 8 个核桃无性系抗寒生理指标的影响[J].西北林学院学报,2012,27(6):12-15. LI X Q, PENG M J, DUAN A A, *et al.* Effects of low temperature stress on physiological indices of eight cold resistance *Juglans sigillata* clones[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2012,27(6):12-15. (in Chinese)

[26] 李叶云,舒锡婷,周月琴,等.自然越冬过程中 3 个茶树品种的生理特性变化及抗寒性评价[J].植物资源与环境学报,2014,24(3):52-58. LI Y Y, SHU X T, ZHOU Y Q, *et al.* Change in physiological characteristics and cold resistance evaluation of three cultivars of *Camellia sinensis* during natural overwintering period[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2014,24(3):52-58. (in Chinese)

[27] 白茹,孙志红,位杰.秋冬季自然降温过程中库尔勒香梨枝条的生理特性变化[J].河南农业科学,2018,47(5):99-103.