

部分梨抗寒性评价及其叶片组织解剖结构差异研究

刘明鹤^{1,2}, 王强², 卢明艳², 闫兴凯², 武春昊², 张茂君^{2*}

(1. 吉林农业大学园艺学院, 长春 130118; 2. 吉林省农业科学院果树研究所, 吉林 公主岭 136100)

摘要:为研究不同抗寒性梨品种的叶片组织解剖结构的差异性,采用石蜡切片法对16个梨品种进行叶片组织解剖结构的观察并测定了栅栏组织等结构参数。大香水、小香水、尖把、花盖属于等级最高的极抗寒类;伏香梨属于高抗寒类;南果、寒雅、苹果梨、早梨18和苹香、寒香、寒酥、寒露、蔗梨、寒红分别为中抗寒和抗寒类。结果表明,栅海比和细胞结构的紧密度越大,梨品种抗寒性越强,初步断定可能作为评价梨抗寒性大小的形态指标,叶片表皮厚度与梨品种抗寒性强弱无关。

关键词:梨;抗寒性;叶片组织解剖结构

中图分类号:S661.2

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2022)05-0093-05

Cold Resistance Evaluation of Some Pears and Study on the Difference of Leaf Tissue and Anatomical Structure

LIU Minghe^{1,2}, WANG Qiang², LU Mingyan², YAN Xingkai², WU Chunhao², ZHANG Maojun^{2*}

(1. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. Institute of Pomology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: In order to study the difference of leaf tissue anatomical structure of different cold resistant pear varieties, the anatomical structure of leaf tissue of 16 pear varieties was observed by paraffin section method, and the structural parameters such as palisade tissue were measured, combined with the results of field freezing injury of 16 pear varieties. Daxiangshui, Xiaoxiangshui, Jianba, Huagai belongs to the highest grade of extreme cold resistance, Fuxiang belongs to the second class of high cold resistance, Nanguo, Hanya, Pingguoli, Zaoli18 are the middle cold and Pingxiang, Hanxiang, Hansu, Hanlu, Zheli, Hanhong are cold resistant categories. The results showed that the closer PTT/STT is to the cell structure, the stronger the cold resistance of pear varieties. It was concluded that it might be used as a morphological index to evaluate the cold resistance of pear, and the thickness of leaf epidermis was not related to the cold resistance of pear varieties.

Key words: Pear; Cold resistance; Anatomical structure of leaf tissue

梨属植物属于蔷薇科、苹果亚科或梨亚科^[1]。梨是我国仅次于苹果、柑橘的第三大水果,栽培面积和产量都居于世界前列^[2],截至2017年底,栽培面积达到96万hm²,总产量达到1653万t^[3]。世界栽培梨主要有白梨、砂梨、秋子梨和西洋梨,其中秋子梨抗寒性最强,广泛种植于我国辽宁、吉林、黑龙江、内蒙古等寒冷地区。因其果实酸甜可口,风味浓郁,香气宜人而深受广大消费者喜爱^[4]。

但由于寒冷地区冬季绝对温度较低,尤其特殊年份极端低温常导致栽培的梨树发生不同程度的冻害,造成梨减产甚至毁园^[5-6],因此,开展梨抗寒性研究对寒冷地区梨产业的健康发展具有重要意义。

国内外有关梨的研究主要集中在品种选育^[7-9]、病虫害防治^[10-11]、分子生物学^[12-13]等方面,抗寒性鉴定方法也有少量报道,但有关梨抗寒生物学表现未见系统研究。李红莲等^[14]通过观察梨休眠枝条皮孔,发现皮孔百分比面积与梨的抗寒性呈负相关。王玮等^[15]对梨枝条进行低温梯度处理,通过比较半致死温度高低对梨进行抗寒性的划分。但有关梨品种资源抗寒生物学表现系统研究未见报道。植物叶片的组织解剖结构是植物长期适应环境而表现出的特征^[16],杨林先等^[17]对苹

收稿日期:2019-11-05

基金项目:吉林省创新工程项目(CXGC2017TD006);国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-28-06)

作者简介:刘明鹤(1993-),男,在读硕士,从事梨品种抗寒性研究。

通讯作者:张茂君,男,博士,研究员,E-mail: nkyzmj@sina.com

果梨和山梨的叶片组织解剖结构进行了研究,发现苹果梨叶片具有发达的栅栏组织,山梨叶片具有发达通气组织。本文通过对部分梨品种田间冻害调查及其叶片组织解剖结构观察,研究梨品种抗寒性及相关生物学表现,以期为抗寒梨育种和梨品种资源抗寒性鉴定提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

以 16 个不同抗寒性水平的秋子梨传统地方良种和新育成抗寒梨品种为试材,参试品种及相关信息见表 1。试材全部取自吉林省农业科学院

表 1 参试品种基本信息

编号	品种	种源	来源	编号	品种	种源	来源
1	大香水	秋子梨	地方良种	9	苹果梨	白梨	地方良种
2	小香水	秋子梨	地方良种	10	早梨 18	种间杂交	秋子梨×沙梨
3	尖把	秋子梨	地方良种	11	苹香	种间杂交	白梨×秋子梨
4	花盖	秋子梨	地方良种	12	寒香	种内杂交	秋子梨×秋子梨
5	金香水	种间杂交	白梨×秋子梨	13	寒酥	种间杂交	白梨×秋子梨
6	伏香	种间杂交	秋子梨×白梨	14	寒露	种间杂交	秋子梨×沙梨
7	南果	秋子梨	地方良种	15	蔗梨	种间杂交	白梨×沙梨
8	寒雅	种间杂交	洋梨×白梨	16	寒红	种间杂交	秋子梨×白梨

果树研究所公主岭梨试验园和国家果树种质寒地果树圃,树龄 20 年左右,栽培管理条件基本一致。

1.2 试验方法

1.2.1 抗寒性评价

3 月中下旬进行枝条田间冻害调查。每个参试品种选取外围一年生健壮枝条 60 个,中短截后分别记录冻害程度。根据冻害等级和冻害指数评价参试品种抗寒性水平。冻害调查标准参考《梨种质资源描述规范和数据标准》。根据气象预报,公主岭地区上年冬季绝对低温 $-31\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.2 叶片组织解剖结构观察

(1)采样。于 2018 年 8 月中旬进行。每个品种选择生长势基本一致的单株,每株树冠同一方向、同样高度上选取枝条中部的成熟叶片 5 片,放入塑料保鲜膜,做好标记。带回实验室,蒸馏水清洗叶片,擦拭干净。避开主脉,取片器剪取 $5\text{ mm}\times 5\text{ mm}$ 小块,FAA 液固定,放置在冰箱 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

(2)石蜡切片制作。参照王静等^[18]的方法,应用木材切片机,进行石蜡切片制作。切片厚度 $10\text{ }\mu\text{m}$,番红固绿双重染色,中性树胶封片。

(3)叶片组织解剖结构显微观察。利用 Motic2.0 体式显微镜在 40 倍下显微观察,用测微尺测定相关组织厚度并记录拍照。切片数据取 20 个观察值平均数。观察叶片上表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、下表皮厚度、叶片厚度。根据测定结果计算叶片细胞结构紧密度(CTR)、细胞结构疏松度(SR)、栅海比,计算公式为:

细胞组织结构紧密度($\%$)=(栅栏组织厚度/叶片厚度) $\times 100$

细胞组织结构疏松度($\%$)=(海绵组织厚度/叶片厚度) $\times 100$

栅海比=栅栏组织厚度/海绵组织厚度

1.3 数据分析

利用 Excel 2013 和 SPSS 16.0 数据分析软件处理数据。

2 结果与分析

2.1 参试品种枝条田间冻害调查

由表 2 可知,参试品种的抗寒能力存在明显差异,不同冻害级别枝条所占比值,以及冻害指数差异较大。大香水、小香水、尖把、花盖、金香水调查枝条冻害级别和冻害指数均为 0,没有冻害发生;蔗梨、寒红冻害相对较重,枝条冻害在 3 级以上分别占调查总量的 76.6% 和 91.8%,冻害指数分别达到 72.1% 和 73.8%;其余参试品种相关数值介于两者之间。

冻害指数作为果树抗寒性强弱重要检验指标,一定程度上能客观反映梨品种资源的抗寒能力。在相同立地条件下,冻害指数值越小,梨品种抗寒能力越强。据此,得出参试品种抗寒性排序依次为:大香水>小香水>尖把>花盖>金香水>伏香>南果>寒雅>苹果梨>早梨 18>苹香>寒香>寒酥>寒露>蔗梨>寒红。

结合多年科研生产实践和本实验调查结果,依据冻害指数大小将寒冷地区梨品种抗寒性分为“极抗寒”“高抗”“中抗”“抗寒”和“不抗寒”五个等级,每个级别对应的冻害指数极差分别为 0、0~25%、25%~50%、50%~75%、75%~100%,参试品种抗寒性等级见表 3。

表2 参试梨品种田间冻害调查结果

%

品种	冻害级别占比					冻害指数
	0	1	2	3	4	
大香水	100	0	0	0	0	0.0
小香水	100	0	0	0	0	0.0
尖把	100	0	0	0	0	0.0
花盖	100	0	0	0	0	0.0
金香水	100	0	0	0	0	0.0
伏香	25	75	0	0	0	18.8
南果	20	53.3	23.4	3.4	0	27.5
寒雅	13.3	43.1	17.0	23.2	3.4	40.0
苹果梨	1.7	46.6	43.2	5.1	3.4	40.4
早梨 18	0	36.7	38.3	23.3	1.7	47.5
苹香	1.7	17.0	26.5	53.1	1.7	59.2
寒香	5.0	10.0	26.7	58.3	0	59.6
寒酥	3.4	18.7	30.0	31.6	17.0	60.0
寒露	6.7	18.5	10.0	41.5	23.3	64.2
蔗梨	0	3.4	20.0	61.6	15.0	72.1
寒红	0	1.7	6.8	86.7	5.1	73.8

表3 抗寒等级划分及对应参试品种

%

等级	极抗寒	高抗	中抗	抗寒	不抗寒
冻害指数	0	0~25	25~50	50~75	75~100
品种	大香水、小香水、尖把、花盖、金香水	伏香	南果、寒雅、苹果梨、早梨 18	苹香、寒香、寒酥、寒露、蔗梨、寒红	

2.2 参试品种叶片组织解剖结构显微观察

参试梨品种叶片组织解剖结构显微观察结果见表4。利用叶片厚度和叶肉栅栏组织、海绵组

织厚度测定值,计算获得参试品种的CTR、SR、栅海比(表5)。

16个参试品种梨叶片上、下表皮均由单层细

表4 参试梨品种叶片组织解剖结构显微观察结果

μm

品种	上表皮厚度	栅栏组织厚度	海绵组织厚度	下表皮厚度	叶片厚度
大香水	15.35c	93.28b	73.63bcd	13.54ab	195.02abc
小香水	12.57ef	91.09b	70.64bcde	12.12abc	186.48abcd
尖把	12.13ef	94.54b	69.99cde	11.71abc	190.02abc
花盖	15.39c	101.62a	74.41bcd	13.32ab	203.05a
金香水	13.92d	79.73c	64.82efg	14.66ab	173.19bcde
伏香	16.28bc	87.70b	75.40abc	15.83a	197.82ab
南果	12.01ef	79.13cd	67.63cdef	11.66abc	170.43cdef
寒雅	9.45hi	68.60ef	59.65g	8.59cd	146.30f
苹果梨	12.42ef	71.46e	63.51efg	13.35ab	161.40ef
早梨 18	17.38ab	78.43cd	73.29bcd	14.43ab	183.15abcde
苹香	10.41gh	63.36f	61.51fg	10.85bc	146.13f
寒香	12.94de	66.32ef	69.06cdef	11.74abc	160.28ef
寒酥	18.27a	63.00f	68.47cdef	15.08ab	164.82def
寒露	8.35i	72.70de	82.27a	6.20d	170.86cdef
蔗梨	15.69c	66.96ef	77.86ab	15.53a	176.04bcde
寒红	11.36fg	55.61g	67.06defg	12.60abc	146.68f

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同

表5 参试梨品种CTR、SR、栅海比

品种	CTR(%)	SR(%)	栅海比
大香水	47.48ab	37.65b	1.26abc
小香水	48.51ab	37.94ab	1.29ab
尖把	49.60a	37.48b	1.33a
花盖	49.86a	36.41b	1.36a
金香水	46.43ab	37.45b	1.23abc
伏香	44.60abc	38.59ab	1.16abcd
南果	45.94ab	39.63ab	1.17abcd
寒雅	46.41ab	40.64ab	1.15abcd
苹果梨	44.05abc	39.42ab	1.13abcd
早梨18	42.54abc	39.92ab	1.07abcd
苹香	43.25abc	42.27ab	1.03abcd
寒香	41.30bc	43.02ab	0.96bcd
寒酥	38.53c	41.51ab	0.92cd
寒露	38.30c	41.37ab	0.88d
蔗梨	38.02c	44.32ab	0.86d
寒红	37.91c	45.74a	0.83d

胞构成,上、下表皮细胞为不规则的扁长方形,排列紧密。叶肉组织结构基本一致,均由栅栏组织和海绵组织构成,栅栏组织细胞为长柱状,分为两层,细胞间隙小;海绵组织细胞位于栅栏组织和下表皮之间,多为短柱状或球形,相互连接成网,细胞间隙大。显微观察还发现抗寒性极强的尖把、花盖、大香水、小香水的海绵组织空隙相对较小,栅栏组织厚度较大且细胞排列紧密;而位列抗寒的寒酥、寒红、蔗梨海绵组织空隙相对较大、细胞排列比较疏松。

表4、表5结果显示:参试梨品种间叶片组织结构的上下表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片厚度及CTR、SR、栅海比均存在显著差异($P<0.05$)。上表皮最厚的是寒酥、最薄的是寒露,平均厚度分别为 $18.27\ \mu\text{m}$ 和 $8.35\ \mu\text{m}$,品种间大小顺序是寒酥>早梨18>伏香>蔗梨>花盖>大香水>金香水>寒香>小香水>苹果梨>尖把>南果>寒红>苹香>寒雅>寒露。下表皮最厚的是伏香、最薄的是寒露,平均厚度分别为 $15.83\ \mu\text{m}$ 和 $6.20\ \mu\text{m}$,品种间大小顺序是伏香>蔗梨>寒酥>金香水>早梨18>大香水>苹果梨>花盖>寒红>小香水>寒香>尖把>南果>苹香>寒雅>寒露。叶片厚度最大的是花盖、最小的是苹香,平均厚度分别为 $203.05\ \mu\text{m}$ 和 $146.13\ \mu\text{m}$,品种间大小顺序是花盖>伏香>大香水>尖把>小香水>早梨18>蔗梨>金香水>寒露>南果>寒酥>苹果梨>寒香>寒红>寒雅>苹香。栅栏组织最厚的是花盖、最薄的是寒红,平均厚度

分别为 $101.62\ \mu\text{m}$ 和 $55.61\ \mu\text{m}$,品种间大小顺序是花盖>尖把>大香水>小香水>伏香>金香水>南果>早梨18>寒露>苹果梨>寒雅>蔗梨>寒香>苹香>寒酥>寒红。海绵组织最厚的是寒露、最薄的是寒雅,平均厚度分别为 $82.27\ \mu\text{m}$ 和 $59.65\ \mu\text{m}$,品种间大小顺序是寒露>蔗梨>伏香>花盖>大香水>早梨18>小香水>尖把>寒香>寒酥>南果>寒红>金香水>苹果梨>苹香>寒雅。CTR值最大的是花盖、最小的是寒红,分别为49.86%和37.91%,品种间大小顺序是花盖>尖把>小香水>大香水>金香水>寒雅>南果>伏香>苹果梨>苹香>早梨18>寒香>寒酥>寒露>蔗梨>寒红。SR值最大的是寒红、最小的是花盖,分别为45.74%和36.41%,品种间大小顺序是寒红>蔗梨>寒香>苹香>寒酥>寒露>寒雅>早梨18>南果>苹果梨>伏香>小香水>大香水>尖把>金香水>花盖。栅海比最大的是花盖、最小的是寒红,分别为1.36和0.83,品种间大小顺序是花盖>尖把>小香水>大香水>金香水>南果>伏香>寒雅>苹果梨>早梨18>苹香>寒香>寒酥>寒露>蔗梨>寒红。

3 结论与讨论

梨作为多年生植物,与其他果树种类一样,根、茎、叶等器官植物学及其内在组织结构的生物学表现主要是由其自身遗传物质组成决定的特性,反映了不同梨种、品种基本特征。物竞天择、适者生存的自然法则与人类定向选择,造就了不同地域梨自然野生种群、生态类型和栽培品种及其相应的生物学特点。

为了适应我国寒冷地区漫长和绝对温度较低的冬季,在长期进化与选择中形成了抗寒性强的秋子梨野生种和不同抗寒性水平的栽培类型。本研究中,根据16个参试梨品种经历 $-31\ ^\circ\text{C}$ 冬季绝对低温后枝条田间冻害调查结果,将其抗寒性分为极抗寒、高抗、中抗、抗寒和不抗寒五个等级。其中:大香水、小香水、尖把、花盖属于等级最高的极抗寒类;伏香梨属于等级次之的高抗寒类;南果、寒雅、苹果梨、早梨18和苹香、寒香、寒酥、寒露、蔗梨、寒红则分别归为第三、第四等级中抗寒和抗寒类。尽管同类别品种间冻害程度有一定差异,但该归类结果基本上与其多年抗寒性表现相符。由于这些参试材料是我国寒冷地区不同时期梨主要栽培推广优良品种,所以有关抗寒性评价结果对梨抗寒生物学进一步研究和未来抗寒育种具有重要意义。

叶片是植物光合作用主要场所,由表皮和叶肉组织构成,其中栅栏组织含大量叶绿体,负责光能吸收转化和营养物质合成,海绵组织细胞间隙与气孔器的孔下室一起形成曲折而连盘的通气系统,有利于光合作用及气体交换,因而叶片作为重要营养器官对梨等果树生长发育、优质丰产、安全越冬极其重要。在相同的生态环境、栽培管理条件下,叶片组织生物学特点及其解剖结构形态特征与品种基因型密切相关,是品种遗传物质差异的外在表现。尽管叶片在梨等落叶果树年生长发育周期中只存在于生长季,但作为有机整体叶片组织结构与其抗寒水平应该有关联的。CTR值和SR值已在其他果树上用来作为评价品种抗寒性大小的一个指标^[19-21],认为CTR值与抗寒性呈正相关,SR与抗寒性呈负相关^[22],能够反映叶片的紧密程度,具有遗传的稳定性。本研究发现,叶片组织解剖结构相关性状在参试品种间存在显著差异,但不同性状表现各异,各性状品种间大小排序不同。对比参试品种枝条田间冻害调查结果,抗寒水平高的梨品种叶片及其栅栏组织较厚、CTR值和栅海比值较大,说明这2项指标与抗寒性的关系比较密切。这与靳哲等^[23]、吴林等^[24]研究结果相一致,由此推断栅海比值和CTR值越大、SR值越小,梨品种抗寒性越强。其余性状表现与参试品种抗寒性等级排列不相符合,表明梨品种叶片厚度、叶肉栅栏组织厚度及CTR值和栅海比值等生物学表现与其抗寒性存在一定正相关,可以作为寒冷地区梨品种资源抗寒性强弱评价的辅助指标。

参考文献:

- [1] 陈学森,王楠,张宗营,等.仁果类果树资源育种研究进展 I:我国梨种质资源、品质发育及遗传育种研究进展[J].植物遗传资源学报,2019,20(4):791-800.
- [2] 张绍铃,谢智华.我国梨产业发展现状趋势、存在问题与对策建议[J].果树学报,2019(10):1-10.
- [3] 联合国粮农组织数据库[DB/OL].[2019-10-05]. <https://www.fao.org>.
- [4] 杜国栋.秋子梨栽培现状、问题及对策[J].北方果树,2014(2):44-45.
- [5] 张茂君,张冰冰,刘东华.吉林省果树冻害调查报告[J].吉林农业科学,2002(3):47-51.
- [6] 杨涛.梨树冻害的发生及预防[J].绿色科技,2019(7):229-230.
- [7] 张茂君,刘玉芬,王强,等.我国近十年选育的抗寒梨新品种[J].北方园艺,2012(20):187-190.
- [8] 冯章丽,刘畅,程显敏,等.黑龙江省梨主栽品种的选育系谱及植物学特性分析[J].中国林副特产,2018(1):15-18.
- [9] 王苏珂,李秀根,杨健,等.我国梨品种选育研究近20年来的回顾与展望[J].果树学报,2016,33(S1):10-23.
- [10] 严金娥.冀南地区梨树主要病虫害防治[J].河北果树,2019(2):20-21.
- [11] 杨晓芳.梨树虫害发生规律及防治技术研究[J].华中昆虫研究,2017,13(1):204-207.
- [12] 谭慧.梨S基因cDNA芯片杂交条件优化及对梨品种S基因鉴定[D].长沙:中南林业科技大学,2017.
- [13] 段敏杰,伊洪伟,王进,等.梨黑斑病抗病相关基因*PpEMS1*的克隆与分析[J].生物技术通报,2019,35(11):16-21.
- [14] 李红莲,王强,闫兴凯,等.梨枝条皮孔与抗寒能力相关性的研究[J].吉林农业科学,2015,40(6):94-97.
- [15] 王玮,李红旭,赵明新,等.7个梨品种的低温半致死温度及耐寒性评价[J].果树学报,2015,32(5):860-865.
- [16] 王奎玲,黄鑫,刘庆超,等.耐冬山茶茶叶结构与耐寒性关系研究[J].青岛农业大学学报(自然科学版),2007(3):189-192.
- [17] 杨林先,姜云天,曲柏宏.苹果梨和山梨叶片的组织解剖结构研究[J].湖南农业科学,2010(1):107-108,112.
- [18] 王静,左幸,黄正文.常规植物石蜡制片技术的改进及应用[J].安徽农学通报,2011,17(11):36-39.
- [19] 刘世彪,陈菁,胡正海.7种番荔枝果树的叶片结构及其与抗寒性关系研究[J].果树学报,2004,21(3):241-246.
- [20] 吕庆芳,丰锋,张秀枝.香蕉叶片组织细胞结构特性与耐寒性的关系[J].湛江海洋大学学报,2000(2):48-51.
- [21] 冯美利.芒果叶片组织的细胞结构与耐寒性的初步研究[J].热带农业科技,2003(1):5-7.
- [22] 刘冰浩,徐宁,朱建华,等.广西龙眼种质耐寒性的CTR值鉴定[J].西南农业学报,2006(4):668-671.
- [23] 靳哲.甘蓝耐寒材料叶片结构、生理特征及其*BoCBF*基因标记的研究[D].北京:中国农业科学院,2012.
- [24] 吴林,刘海广,刘雅娟,等.越橘叶片组织结构及其与抗寒性的关系[J].吉林农业大学学报,2005,27(1):48-50.

(责任编辑:王丝语)