

柑橘砧木对酸碱耐性的评价

李青萍¹, 陈 娇¹, 朱世平^{2,*}, 杨翼飞¹, 陆智明¹, 赵晓春²

(¹西南大学园艺园林学院, 重庆 400715; ²西南大学/中国农业科学院柑桔研究所, 国家柑橘工程技术研究中心, 重庆 400712)

摘 要: 中国南方许多地区因土壤 pH 值偏高或偏低, 严重影响柑橘的产量和质量。筛选适合不同 pH 环境的优良砧木对改善柑橘的生产条件具有重要意义。以扁平橘、朱橘、汕头酸橘、枸头橙、卡里佐枳橙、尼 8047、道县野橘和聂都野橘等 8 种柑橘砧木实生苗为试验材料, 在酸性 (pH 3.5) 和碱性 (pH 9.0) 营养液栽培条件下调查叶片症状并测定叶片中与抗逆性紧密相关的丙二醛、可溶性蛋白、脯氨酸含量和超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性等指标, 通过聚类分析和隶属函数分析, 综合评价不同砧木对酸、碱的耐性。分析结果表明: 叶片表型症状的观察结果与生理生化指标分析结果基本一致; 在酸性 (pH 3.5) 条件下, 汕头酸橘、尼 8047 和扁平橘表现出较强的耐性, 聂都野橘和道县野橘较为敏感; 在碱性 (pH 9.0) 条件下, 朱橘、枸头橙和扁平橘表现出较强耐性, 而聂都野橘和道县野橘的耐性较弱。扁平橘在酸、碱环境下均表现出较强的适应性, 是一个具有一定应用潜力的优良砧木。

关键词: 柑橘; 砧木; 耐酸性; 耐碱性; 隶属函数分析

中图分类号: S 666

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 03-0431-10

Evaluation of Citrus Rootstocks for the Tolerance to Acidity/alkaline Stresses

LI Qingping¹, CHEN Jiao¹, ZHU Shiping^{2,*}, YANG Yifei¹, LU Zhiming¹, and ZHAO Xiaochun²

(¹College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715, China; ²Citrus Research Institute, Southwest University/Chinese Academy of Agricultural Sciences, National Citrus Engineering Research Center, Chongqing 400712, China)

Abstract: The acidity or alkaline soil in many areas of south China is the main abiotic stress for citrus plants. Selection of rootstocks tolerant to high or low pH condition is very important for citrus production. In this study, 8 different citrus rootstocks including Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata Blanco), Zhuju (*C. reticulata* Blanco), Shantou Suanju (*C. reticulata* Blanco), 'Goutou' sour orange (*C. aurantium* L.), Carrizo Citrange (*C. sinensis* × *Poncirus trifoliata*), Ni 8047 (*C. junos*), Daoxian Yeju (*C. daoxinensis* Blanco) and Niedu Yeju (*C. reticulata* Blanco) were used as materials to evaluate the acidity and alkaline tolerances and screen for the superior rootstocks with better tolerance. Under acidic and alkaline treatments (pH 3.5 and pH 9.0), the symptoms of plant were observed. Meanwhile, the physiological and biochemical parameters related to the abiotic stresses tolerance such as MDA (malondialdehyde), soluble

收稿日期: 2017-01-13; **修回日期:** 2017-03-14

基金项目: 重庆市青年科技人才项目 (cstc2014kjrc-qnc8002); 中央高校基本业务费项目 (XDJK2016B024); 重庆市应用开发计划项目 (cstc2014yykfb0186); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-27); 重庆市现代特色效益农业晚熟柑橘技术体系项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhushiping@cric.cn)

protein, Pro(proline), SOD(superoxide dismutase), POD(peroxidase)and CAT(catalase)were measured. The clustering and comprehensive subordinate function analysis were performed to evaluate the stresses tolerance. The results indicated that observed symptoms were consistent with the measurements of parameters. The Shantou Suanju, Shiikuwasha and Ni 8047 showed great tolerance to low pH stress (pH 3.5), while Daoxian Yeju and Niedu Yeju were susceptible. Zhuju, 'Goutou' sour orange and Shiikuwasha possessed good adaptability to alkaline condition, while Daoxian Yeju and Niedu Yeju were sensitive. Shiikuwasha demonstrated better tolerance to both high and low pH stresses with great potential to be used as rootstock or breeding material.

Keywords: citrus; rootstock; acidity tolerance; alkaline tolerance; comprehensive subordinate function analysis

土壤的酸碱性影响砧木对营养物质的吸收能力 (Strayer et al., 1981; Jiang et al., 2015)。土壤酸碱度变化是由游离的 H^+ 或 OH^- 的浓度发生改变引起 (Kidd & Proctor, 2001), 对土壤中养分的存在状态和有效性以及生物作用过程都有重要影响 (Turner & Haygarth, 2005; 刘炳君 等, 2011)。

柑橘是一种喜酸性植物, 其最适宜 pH 值范围为 5.5 ~ 6.5 (谢志南 等, 1997)。过酸 (pH < 5) 和过碱 (pH > 7.5) 都会影响柑橘的正常生长发育。中国南方柑橘园土壤酸化已经成为影响柑橘品质和产量的主要问题。Li 等 (2015) 研究发现福建平和县琯溪蜜柚 90% 果园的土壤 pH < 5, 平均为 pH 4.34, 最低为 pH 3.26; 梁梅青等 (2010) 研究发现, 赣南脐橙园低于 pH 5 的酸性和强酸性土壤占 82.7%, 其中 pH < 4.5 的强酸性土壤占 45.7%, 土壤最低 pH 值为 3.58。南方大部分柑橘产区出现的不同程度的缺硼、缺镁、缺锌等症状和局部地区出现的锰毒症状都与土壤酸化相关。而在部分 pH 值较高 (pH > 7.5) 的地区柑橘也出现较严重的缺铁、缺锌等黄化症状 (李学柱 等, 1990)。因此开展砧木的耐酸、耐碱研究, 对不同 pH 值土壤条件下砧木的选择, 保证柑橘的正常生长发育具有重要意义。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与处理

试验材料为来源于国家果树种质 (重庆) 柑橘圃的 8 种砧木 (表 1)。2013 年 9 月至 12 月收集成熟的砧木种子, 于当年 12 月播种于 96 孔育苗盘中。6 个月后选取长势较为一致的植株移栽于营养膜法 (丁朝华, 1986) 的无土栽培系统中, 即将幼苗栽植于装有珍珠岩与蛭石 (1:1) 的塑料盆中, 利用水泵保持贮液箱营养液在塑料盆底部循环流动, 调节贮液箱中营养液 pH 以及离子浓度。

幼苗先在 pH 6.5 营养液的条件预培养 60 d, 待植株长势较好时进行酸和碱处理。处理期间每天利用 H_2SO_4 和 $NaOH$ 溶液分别将营养液调整至 pH 3.5 和 pH 9.0。以 pH 6.5 下生长的植株为生理生化指标测定时的对照, 材料分别处理 40 d, 每个处理设置 5 ~ 6 株重复, 在处理之前将植株所有出现衰老变黄症状的叶片全部去除。

1.2 症状观察及酸/碱害率和酸/碱害指数统计

处理开始后每 3 d 观察和记录 1 次叶片的变化, 叶片变化的分级参照方治军等 (2011) 的 5 级评价法: 0 级为无明显受害症状; 1 级为叶尖或叶缘黄化; 2 级为叶尖或叶缘褐化或呈水渍状; 3 级为

少数叶片整叶干枯或褐化; 4 级为多数叶片整叶干枯或褐化, 嫩梢或者部分茎褐化; 5 级为茎或整株死亡。受害指数 (%) = Σ (受害级值 \times 同级株数) / (最高级值 \times 处理总株数) \times 100。受害率 (%) = (受害株数/处理的总株数) \times 100。

1.3 生理生化指标测定

在 pH 3.5 和 pH 9.0 条件下处理 40 d 时, 采样位于植株上数第 3 ~ 15 片完全展开的叶片, 液氮速冻并放置到 -80 °C 超低温冰箱保存。丙二醛 (MDA) 采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法, 可溶性蛋白采用考马斯亮蓝染色法, 脯氨酸 (Pro) 含量采用酸性茚三酮法测定, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测采用氮蓝四唑法 (李合生, 2000), 过氧化物酶 (POD) 活性利用愈创木酚法, 过氧化氢酶 (CAT) 活性利用紫外吸收法 (宗学风和王三根, 2011) 测定。

1.4 数据处理及酸、碱耐性评价

对酸/碱处理下的耐酸/碱系数进行相关性分析获得相关性矩阵; 通过主成分分析, 分析各个生理指标的影响分值; 通过模糊隶属函数和权重的综合分析获得砧木的综合评价值 (许桂芳 等, 2009)。耐酸/碱系数 = 处理测定值/对照测定值 \times 100。

2 结果与分析

2.1 症状观察结果

砧木叶片的症状表现是砧木对酸/碱不同耐性的直观反应 (图 1)。不同砧木在不同 pH 条件下的受害程度差异明显 (表 1)。酸碱处理受害率和受害指数之间的相关系数分别高达 96.68% 和 99.55%, 说明受害率和受害指数之间呈显著正相关。

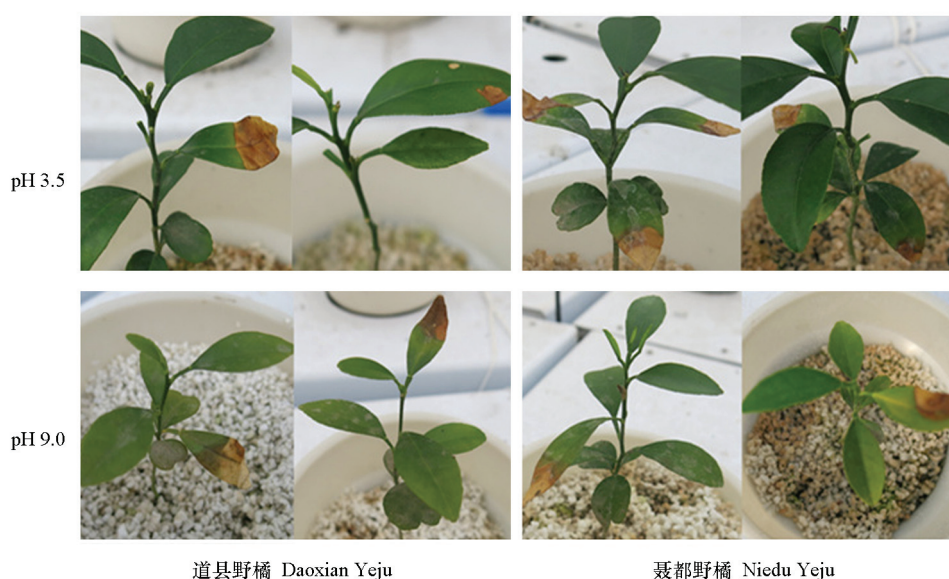


图 1 酸 (pH 3.5) 和碱 (pH 9.0) 处理 40 d 时道县野橘和聂都野橘的受害症状

Fig. 1 The symptoms of Daoxian Yeju and Niedu Yeju 40 days after treatment at pH 3.5 and pH 9.0

不同砧木在 pH 3.5 强酸条件下出现受害症状的时间也有差异。处理 12 d 时, 道县野橘最先出现症状, 到 30 d 时, 聂都野橘, 枸头橙, 卡里佐枳橙和朱橘的叶片均出现了酸害症状, 到 40 d 时症状进一步加重, 其中道县野橘和聂都野橘的受害率和受害指数均较高, 症状最为严重 (图 1), 而汕头酸橘、尼 8047、扁平橘没有出现明显的症状 (表 1)。以上结果说明, 不同砧木的耐酸性不同。

不同砧木在 pH 9.0 强碱条件下出现症状的时间也有不同。处理 12 d 时, 尼 8047 和卡里佐枳橙开始出现伤害症状, 随着处理时间的延长, 其他砧木也出现受害症状。处理 20 d 时, 道县野橘和聂都野橘也开始出现明显的症状, 到 40 d 时, 汕头酸橘出现受害症状, 而朱橘、扁平橘和枸头橙则没有表现出的受害症状 (表 1)。以上结果说明不同砧木的耐碱性有差异。

表 1 酸碱处理柑橘砧木 40 d 内受害率及受害指数的变化

Table 1 Changes of hazard rate and index for the 8 citrus rootstocks under acidic and alkaline conditions within 40 days

pH	砧木 Rootstock	受害率 (指数) /% Rate (Index) of acidity/alkalinity injury						
		3 d	6 d	9 d	12 d	20 d	30 d	40 d
3.5	尼 8047 <i>C. junos</i> Tanaka 'Ni8047'	0	0	0	0	0	0	0 b
	卡里佐枳橙 <i>C. sinensis</i> × <i>P. trifoliata</i> 'Carrizo'	0	0	0	0	0	16.7 (3.3)	33.3 (13.3) ab
	聂都野橘 <i>C. reticulata</i> Blanco 'Niedu Yeju'	0	0	0	0	0	40.0 (8.0)	80.0 (20.0) a
	汕头酸橘 <i>C. reticulata</i> Blanco 'Shantou Suanju'	0	0	0	0	0	0	0 b
	道县野橘 <i>C. daoxinensis</i> 'Daoxian Yeju'	0	0	0	16.7 (6.7)	33.3 (13.3)	33.3 (13.3)	66.7 (20.0) a
	扁平橘 <i>C. depressa</i> Hayata 'Shiikuwasha'	0	0	0	0	0	0	0 b
	朱橘 <i>C. reticulata</i> Blanco 'Zhuju'	0	0	0	0	0	16.7 (6.7)	33.3 (10.0) ab
	枸头橙 <i>C. aurantium</i> L. 'Goutou'	0	0	0	0	0	20.0 (4.0)	40.0 (8.0) ab
9.0	尼 8047 <i>C. junos</i> Tanaka 'Ni8047'	0	0	0	20.0 (4.0)	20.0 (4.0)	40.0 (12.0)	40.0 (16.0) a
	卡里佐枳橙 <i>C. sinensis</i> × <i>P. trifoliata</i> 'Carrizo'	0	0	0	16.7 (3.3)	16.7 (3.3)	33.3 (6.7)	33.3 (6.7) ab
	聂都野橘 <i>C. reticulata</i> Blanco 'Niedu Yeju'	0	0	0	0	20.0 (8.0)	40.0 (12.0)	60.0 (24.0) a
	汕头酸橘 <i>C. reticulata</i> Blanco 'Shantou Suanju'	0	0	0	0	0	0	20.0 (8.0) bc
	道县野橘 <i>C. daoxinensis</i> 'Daoxian Yeju'	0	0	0	0	16.7 (3.3)	33.3 (10.0)	66.7 (23.3) a
	扁平橘 <i>C. depressa</i> Hayata 'Shiikuwasha'	0	0	0	0	0	0	0 c
	朱橘 <i>C. reticulata</i> Blanco 'Zhuju'	0	0	0	0	0	0	0 c
	枸头橙 <i>C. aurantium</i> L. 'Goutou'	0	0	0	0	0	0	0 c

注: 不同小写字母表示不同品种在相同处理下差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercased letters indicate significant difference at $P < 0.05$ compared to the control.

2.2 聚类分析

将处理 40 d 时不同砧木的受害率和受害指数采用 SPSS 软件层次聚类分析法中的组间联接法进行聚类分析。

根据对酸/碱耐性的强弱, 砧木可以分为耐性较强、耐性中等和耐性较弱 3 类。

在 pH 3.5 酸处理条件下的聚类结果表明: 汕头酸橘、尼 8047、扁平橘的耐性较强, 朱橘、枸头橙和卡里佐枳橙的耐性中等, 而聂都野橘和道县野橘的耐性较弱 (图 2)。

在 pH 9.0 碱处理条件下的聚类结果显示: 朱橘、枸头橙和扁平橘的耐性较强, 汕头酸橘、卡里佐枳橙和尼 8047 的耐性中等, 聂都野橘和道县野橘的耐性较弱 (图 2)。

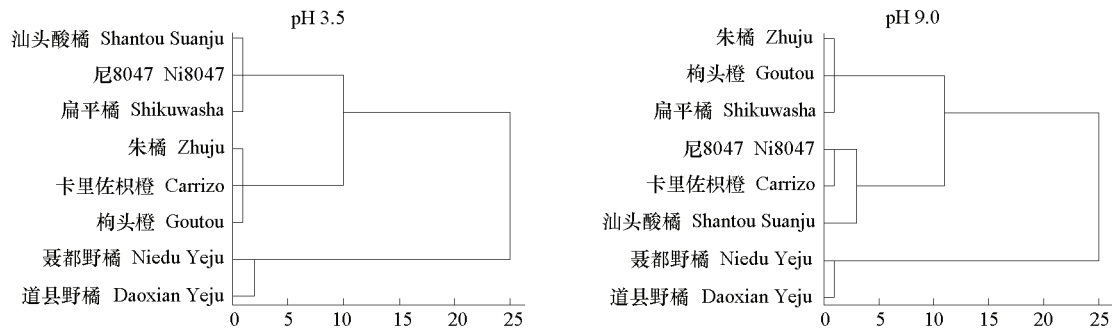


图 2 酸 (pH 3.5) 和碱 (pH 9.0) 处理条件下柑橘砧木的聚类分析
Fig. 2 Cluster analysis of 8 citrus rootstocks based on the rate and indexes of acidity-damage (pH 3.5) and alkalinity-damage (pH 9.0)

2.3 生理生化指标

如表 2 所示, 在酸/碱处理下, MDA 含量在汕头酸橘、尼 8047、聂都野橘和道县野橘中较对照显著增加, 朱橘与对照相比无显著差异; 枸头橙、扁平橘和卡里佐枳橙在酸处理下比对照显著增加。

8 个品种的 Pro 含量在酸/碱处理下与对照相比显著增加 (表 2), 其中朱橘、汕头酸橘、尼 8047、枸头橙、聂都野橘和道县野橘的酸和碱处理之间差异不显著; 扁平橘和卡里佐枳橙在碱处理下显著高于酸处理。

表 2 酸/碱处理下 8 种柑橘砧木生理指标
Table 2 Physiological index of 8 citrus rootstocks under acidity and alkaline stresses

砧木 Rootstocks	pH	MDA/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)	脯氨酸/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$) Pro	可溶性蛋白/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$) Soluble protein	SOD/ ($\mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)	POD/ ($\mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)	CAT/ ($\mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)
朱橘 Zhuju	3.5	4.05 ± 0.75 a	300.32 ± 14.30 a	2.15 ± 0.24 a	543.18 ± 7.08 b	9 733.80 ± 476.23 a	69.74 ± 5.20 b
	对照 Control	2.75 ± 0.47 a	48.27 ± 2.06 b	1.11 ± 0.27 b	427.03 ± 17.77 c	6 576.00 ± 186.95 b	88.00 ± 1.63 a
汕头酸橘 Shantou Suanju	9.0	3.58 ± 0.50 a	308.27 ± 34.78 a	1.68 ± 0.05 ab	604.62 ± 22.50 a	8 593.33 ± 264.70 a	83.20 ± 6.93 ab
	对照 Control	9.37 ± 0.69 a	221.16 ± 24.04 a	2.64 ± 0.28 a	525.53 ± 15.32 a	8 067.67 ± 425.15 a	198.40 ± 5.63 a
尼 8047 Ni8047	9.0	5.26 ± 0.12 b	35.16 ± 1.87 b	1.30 ± 0.21 b	250.51 ± 19.94 c	5 918.67 ± 237.62 b	203.20 ± 9.45 a
	对照 Control	10.64 ± 1.34 a	168.20 ± 16.58 a	1.21 ± 0.10 b	357.93 ± 14.96 b	8 014.67 ± 124.38 a	116.80 ± 7.05 b
扁平橘 Shikuwasha	3.5	8.47 ± 1.16 a	178.21 ± 33.20 a	1.76 ± 0.21 a	385.37 ± 34.31 a	8 216.82 ± 184.75 a	164.80 ± 2.31 a
	对照 Control	4.95 ± 0.67 b	41.10 ± 1.07 b	0.96 ± 0.15 b	263.74 ± 19.06 b	7 653.33 ± 145.24 a	187.20 ± 17.57 a
枸头橙 Goutou	9.0	10.57 ± 1.14 a	143.47 ± 16.77 a	1.07 ± 0.04 a	250.89 ± 16.58 b	7 852.00 ± 173.59 a	78.40 ± 8.50 b
	对照 Control	4.07 ± 0.18 b	45.55 ± 2.01 c	0.98 ± 0.16 c	391.72 ± 28.78 b	5 304.00 ± 240.50 b	84.80 ± 7.86 a
卡里佐枳橙 Carrizo	9.0	4.94 ± 0.28 b	182.92 ± 6.09 a	2.31 ± 0.14 a	495.87 ± 14.19 a	13 892.00 ± 653.26 a	81.60 ± 7.86 a
	对照 Control	6.18 ± 0.10 a	207.39 ± 34.96 a	1.01 ± 0.13 b	408.32 ± 23.68 b	8 016.00 ± 107.92 ab	131.20 ± 8.47 a
聂都野橘 Niedu Yeju	9.0	3.96 ± 0.14 b	51.48 ± 2.34 b	1.09 ± 0.10 b	342.88 ± 26.54 b	5 994.67 ± 233.66 b	161.60 ± 4.44 a
	对照 Control	5.00 ± 0.69 ab	252.74 ± 23.60 a	2.72 ± 0.19 a	528.58 ± 18.57 a	9 188.00 ± 273.32 a	134.40 ± 3.58 a
道县野橘 Daoxian Yeju	3.5	9.41 ± 0.91 a	122.41 ± 20.24 b	1.76 ± 0.13 a	250.17 ± 12.89 a	10 629.33 ± 779.99 a	136.00 ± 3.36 b
	对照 Control	4.86 ± 1.08 b	34.88 ± 0.66 c	1.11 ± 0.27 b	259.67 ± 27.70 a	8 634.67 ± 432.94 b	187.20 ± 20.88 a
朱橘 Zhuju	9.0	7.61 ± 0.75 ab	179.70 ± 22.78 a	1.03 ± 0.11 b	241.98 ± 27.41 a	8 284.00 ± 132.73 b	129.60 ± 1.81 b
	对照 Control	10.87 ± 0.99 a	147.64 ± 32.44 a	0.97 ± 0.04 a	219.85 ± 16.67 b	7 578.67 ± 384.26 a	172.12 ± 14.76 a
汕头酸橘 Shantou Suanju	9.0	4.22 ± 0.49 b	80.18 ± 4.49 b	1.07 ± 0.16 a	312.09 ± 18.78 a	7 210.67 ± 393.67 a	216.00 ± 16.86 a
	对照 Control	11.48 ± 0.37 a	143.12 ± 14.06 a	1.15 ± 0.05 a	172.14 ± 11.68 b	6 404.00 ± 151.52 a	97.60 ± 2.95 b
尼 8047 Ni8047	3.5	11.81 ± 0.60 b	192.87 ± 12.04 a	1.26 ± 0.08 a	186.39 ± 14.65 b	6 949.33 ± 320.98 a	96.00 ± 10.03 b
	对照 Control	5.21 ± 1.05 c	63.50 ± 1.98 b	1.13 ± 0.04 ab	288.30 ± 25.59 a	6 917.33 ± 237.17 a	198.40 ± 6.92 a
扁平橘 Shikuwasha	9.0	16.13 ± 0.72 a	166.35 ± 26.55 a	0.82 ± 0.16 b	216.03 ± 23.36 ab	7 264.00 ± 284.18 a	70.40 ± 2.69 c
	对照 Control						

注: 同品种间的不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平下显著差异。

Note: Different letters indicate significant difference at $P < 0.05$.

不同砧木在酸/碱处理下可溶性蛋白的含量变化趋势不同。与对照相比，聂都野橘的可溶性蛋白含量差异不显著；酸处理下，朱橘、汕头酸橘、尼 8047、卡里佐枳橙和扁平橘比对照显著增加，而枸头橙和道县野橘与对照差异不显著；碱处理下，尼 8047、扁平橘和枸头橙的显著增加，朱橘、汕头酸橘、卡里佐枳橙和道县野橘与对照差异不显著（表 2）。

不同砧木在酸/碱逆境下的 SOD 活性变化不同（表 2），卡里佐枳橙与对照无明显差异；在聂都野橘中均降低，道县野橘在酸处理下显著降低；扁平橘和枸头橙在碱处理下显著增加；尼 8047 的 SOD 活性在酸处理下显著增加；朱橘和汕头酸橘在酸/碱处理下均显著增加。

与对照相比，尼 8047、聂都野橘和道县野橘的 POD 活性在酸/碱逆境下均没有显著变化；朱橘和汕头酸橘在酸/碱处理下显著增加；扁平橘在碱处理下显著增加；卡里佐枳橙在酸处理下的增加显著高于碱处理，但均与对照差异不显著；枸头橘在碱处理下比对照显著增加，而与酸性条件下相比差异不显著。

在酸性条件下朱橘、卡里佐枳橙和道县野橘的 CAT 活性下降；汕头酸橘、尼 8047、聂都野橘和道县野橘在碱性处理下显著降低；而扁平橘和枸头橙酸碱条件下均与对照差异不显著（表 2）。

2.4 砧木耐酸碱性的综合评价

为了综合反映不同砧木的酸/碱耐性，消除单一指标的片面性，将各生理生化指标转化为耐酸/碱系数，利用耐酸/碱系数进行相关性分析以获得各相关系数之间的相关系数矩阵；然后通过主成分分析方法得到影响酸/碱耐性的贡献因子，并计算贡献因子的权重，最后计算得出综合评价。

在酸性（pH 3.5）条件下，6 个生理生化指标转化的耐酸系数统计见表 3。通过对 6 个生理生化指标的相关性分析，获得不同指标间的相关系数（表 4），MDA 与 Pro 呈显著负相关；SOD 与 Pro、CAT 显著正相关。

根据耐酸系数进行主成分分析以及隶属函数分析所得的结果如表 5。通过主成分分析，将 6 个单一指标转换成特征值大于 1 的 2 个综合评价因子，其累计贡献率达到 82.989% (> 80%)；同时根据隶属函数以及主成分贡献率，获得 2 个主成分因子的权重分别为 0.555 和 0.445。在根据隶属函数

表 3 柑橘砧木生理生化指标的耐酸/碱系数

Table 3 Coefficiency of physiological and biochemical indexes of 8 citrus rootstocks at pH 3.5 and pH 9.0								%
pH	砧木 Rootstock	MDA	脯氨酸 Pro	可溶性蛋白 Soluble protein	SOD	POD	CAT	
3.5	朱橘 Zhuju	147.42	622.16	194.08	127.20	148.42	79.25	
	汕头酸橘 Shantou Suanju	178.15	629.02	202.95	209.79	135.57	97.64	
	尼 8047 Ni8047	171.11	433.60	183.38	146.12	107.36	88.03	
	扁平橘 Shiikuwasha	224.36	302.79	220.85	97.29	94.57	74.38	
	枸头橙 Goutou	156.06	402.85	92.81	119.09	133.72	81.19	
	卡里佐枳橙 Carrizo	193.62	350.94	158.28	96.34	123.10	72.65	
	聂都野橘 Niedu Yeju	257.58	180.40	90.57	70.45	105.10	79.69	
	道县野橘 Daoxian Yeju	226.68	303.73	110.88	64.65	100.46	48.39	
9.0	朱橘 Zhuju	121.38	401.58	235.62	126.59	261.92	96.23	
	汕头酸橘 Shantou Suanju	202.28	478.40	93.02	142.88	133.53	57.48	
	尼 8047 Ni8047	213.54	349.07	111.49	95.13	102.60	41.88	
	扁平橘 Shiikuwasha	130.18	638.63	151.44	141.59	125.61	94.55	
	枸头橙 Goutou	126.26	490.95	249.94	154.16	153.27	83.17	
	卡里佐枳橙 Carrizo	156.58	515.20	92.63	93.19	95.94	69.23	
	聂都野橘 Niedu Yeju	272.04	178.49	107.37	55.16	88.81	45.19	
	道县野橘 Daoxian Yeju	309.60	261.97	72.29	74.93	105.01	35.48	

和权重计算获得各砧木的耐酸性综合评价价值(表5), 分析结果表明, 汕头酸橘综合评价价值虽大, 达到0.868, 表明其耐酸性最强, 其次是尼8047和扁平橘, 再次是朱橘、枸头橙、卡里佐枳橙, 耐性最弱的是聂都野橘和道县野橘, 分别为0.232和0.132。

在碱性(pH 9.0)处理下, 通过6个生理指标的耐碱系数(表3), 6个生理指标的相关性(表4)以及对耐碱系数进行主成分分析和隶属函数分析, 获得各砧木的耐碱性综合评价价值(表5), 结果显示扁平橘的综合评价价值最大, 达到0.682, 说明其耐碱性最强, 其次是枸头橙和朱橘, 分别为0.652和0.619, 再次是汕头酸橘、卡里佐枳橙和尼8047, 耐碱性最弱的聂都野橘和道县野橘分别为0.094和0.085。

通过酸/碱耐性的综合比较可知, 酸性处理下, 汕头酸橘、尼8047和扁平橘综合评价价值比较高, 耐酸性较强; 碱性处理下, 扁平橘、枸头橙和朱橘综合评价价值比较高, 耐碱性较强; 无论酸还是碱处理, 聂都野橘和道县野橘的耐性均较差, 而扁平橘的耐酸性和耐碱性较强, 这与朱世平等(2014)报道的结果一致。对生理生化的综合评价结果与叶片的表型观察结果一致。

表4 柑橘砧木生理生化指标耐酸系数的相关系数矩阵

Table 4 Acid-tolerance correlation matrix based on physiological and biochemical indexes of 8 citrus rootstocks at pH 3.5 and pH 9.0

pH	指标 Index	MDA	脯氨酸 Pro	可溶性蛋白 Soluble protein	SOD	POD
3.5	脯氨酸 Pro	-0.824*				
	可溶性蛋白 Soluble protein	-0.315	0.565			
	SOD	-0.630	0.832*	0.558		
	POD	-0.792	0.797	0.116	0.557	
	CAT	-0.439	0.526	0.391	0.813*	0.456
9.0	脯氨酸 Pro	-0.801				
	可溶性蛋白 Soluble protein	-0.733	0.310			
	SOD	-0.781	0.802	0.623		
	POD	-0.579	0.192	0.764	0.516	
	CAT	-0.922**	0.731	0.768	0.727	0.678

注: *和**分别表示在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平下显著差异。

Note: *and ** indicate significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

表5 柑橘8种砧木的因子得分值、隶属函数值及综合评价价值

Table 5 Values of principal component factor score, index weight, subordinate function value and comprehensive evaluation of 8 citrus rootstocks at pH 3.5 and pH 9.0

pH	砧木 Rootstock	主成分因子值		隶属函数值		综合评价价值 Comprehensive evaluation	排序 Order
		Principal component factor score		Subordinate function value			
		C1	C2	U1	U2		
3.5	朱橘 Zhuju	2.152	-0.808	0.861	0.222	0.576	4
	汕头酸橘 Shantou Suanju	2.913	0.718	1.000	0.704	0.868	1
	尼8047 Ni8047	0.832	0.770	0.620	0.721	0.665	2
	扁平橘 Shiikuwasha	-1.045	1.655	0.277	1.000	0.599	3
	枸头橙 Goutou	0.497	-1.513	0.559	0.000	0.310	6
	卡里佐枳橙 Carrizo	-0.376	-0.284	0.399	0.388	0.394	5
	聂都野橘 Niedu Yeju	-2.413	0.034	0.027	0.488	0.232	7
	道县野橘 Daoxian Yeju	-2.560	-0.572	0.000	0.297	0.132	8
	贡献率(%)权重	46.020/0.555	36.969/0.445				
9.0	朱橘 Zhuju	3.088	-0.319	1.000	0.176	0.619	3
	汕头酸橘 Shantou Suanju	1.061	-0.555	0.669	0.098	0.405	4
	尼8047 Ni8047	-0.825	-0.489	0.360	0.120	0.249	6
	扁平橘 Shiikuwasha	-0.527	2.184	0.409	1.000	0.682	1
	枸头橙 Goutou	1.371	0.886	0.719	0.573	0.652	2
	卡里佐枳橙 Carrizo	1.323	-0.853	0.711	0.000	0.383	5
	聂都野橘 Niedu Yeju	-3.028	-0.235	0.000	0.204	0.094	7
	道县野橘 Daoxian Yeju	-2.463	-0.619	0.092	0.077	0.085	8
	贡献率(%)权重	48.483/0.538	41.644/0.462				

3 讨论

前人的研究表明,植物在盐胁迫下叶片会失绿黄化,产生水渍状的受害症状(Storey & Walker, 1999),在逆境胁迫下植株的细胞膜、保护酶系统等多项生理生化指标均发生变化(Zhu, 2001; Bian et al., 2013; 靳娟 等, 2014; van Loon, 2015),因此植物在逆境条件下的生理生化指标变化可以揭示植物对逆境的耐受性(李雅男 等, 2016; Zhang & Zwiazek, 2016)。

丙二醛(MDA)是细胞膜脂过氧化分解的产物之一,其含量高低一定程度上可以表示植物受逆境伤害的程度(李合生, 2001)。本研究中在酸/碱逆境下,7种砧木中的MDA含量以耐性较弱的聂都野橘和道县野橘中MDA增加最多,而在耐碱性较强的扁平橘、枸头橙、朱橘中变化幅度较小,这与方治军等(2011)的结果相似。脯氨酸为植物体内的一种渗透调节物质,逆境下植物通过脯氨酸积累调节细胞膨压以减少逆境对植株的伤害(王三根, 2009)。在酸/碱逆境下,除耐性较差的聂都野橘外,其他7个砧木品种比对照显著增加,这与李合生(2002)、Li和Fukuda(2010)和Kostopoulou等(2014)的结果相似,但与李英丽等(2014)在燕麦耐碱性筛选中的结果相佐,脯氨酸含量在逆境下的变化与品种及组织、器官等的关系和变化规律还有待进一步深入研究;可溶性蛋白也是植物体内参与渗透调节的重要物质,逆境胁迫可诱导植物合成新蛋白或者抑制某些蛋白的合成,不同植物在逆境下的可溶性蛋白的变化情况不同,张永锋等(2009)对紫花苜蓿,李雅男等(2016)对百合的观察中总结出耐性较强的品种其可溶性蛋白相对较高,本试验中耐酸性强的汕头酸橘、尼8047、朱橘和扁平橘的可溶性蛋白含量较高的观测结果与之相似。

植物在逆境下体内积累大量的活性氧,SOD、POD和CAT为逆境下的植物保护酶系统中的主要酶类,植物通过SOD与活性氧结合,再由POD和CAT共同作用进行清除,从而增强对逆境的抗性(Gueta-Dahan, 1997; Blokhina et al., 2000; 王三根, 2009)。在本研究中耐酸性强的汕头酸橘、尼8047和朱橘的SOD活性相对于对照显著提高,而耐酸性弱的聂都野橘和道县野橘的SOD活性却显著降低,这与Abedi和Pakniyat(2010)关于逆境下SOD活性升高以抵御逆境的结论一致;汕头酸橘、朱橘和枸头橙的POD活性较对照增加显著,聂都野橘和道县野橘活性增加不显著,与Kostopoulou等(2014)叶片中POD活性增强帮助植物在逆境下生长的结论吻合;本试验中CAT活性均出现降低的趋势,耐性强的汕头酸橘、尼8047和扁平橘CAT活性降低幅度比耐性弱的道县野橘和聂都野橘小,而Campos等(2011)研究发现耐性强的转基因植株CAT活性相对低,阮松林和薛庆中(2002)认为在水稻上CAT活性在逆境下有变化,但没有规律性的变化趋势。酸/碱逆境下抗氧化酶的活性变化趋势还有待探究。

柑橘砧木叶片在逆境下的症状表现是植物对逆境的直观反应,也是植株体内多种生理生化代谢响应逆境的综合表现。本研究中对不同砧木在酸性和碱性条件下的受害率/受害指数的形态指标观察结果和生理生化指标的综合评价结果进行了对比及分析,验证了二者之间的评价结果基本一致,与文献报道的结果(方治军 等, 2001, 2002)也相符合。本结果说明,植株在逆境下的形态变化可直接用于对植物抗逆性的评价。

4 结论

通过对形态症状表现与生理生化指标进行综合分析对柑橘砧木的耐酸/碱性进行评价,发现8种柑橘砧木品种在强酸条件下的耐性强弱为:汕头酸橘 > 尼8047 > 扁平橘 > 朱橘 > 卡里佐枳橙 >

枸头橙 > 聂都野橘 > 道县野橘; 8 种砧木在强碱条件下的耐性强弱排列顺序为: 扁平橘 > 枸头橙 > 朱橘 > 汕头酸橘 > 卡里佐枳橙 > 尼 8047 > 聂都野橘 > 道县野橘。聂都野橘和道县野橘对酸和碱都比较敏感, 而扁平橘是一个既耐酸又耐碱的具有一定潜在利用价值的砧木。

References

- Abedi T S U, Pakniyat H S U. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.) . Czech Journal of Genetics and Plant Breeding-UZEI (Czech Republic), 46 (1): 27 - 34.
- Bian M, Zhou M X, Sun D F, Li C D. 2013. Molecular approaches unravel the mechanism of acid soil tolerance in plants. Crop Journal, 1 (2): 91 - 104.
- Blokhina O B, Virolainen E, Fagerstedt K V, Hoikkala A, Wähälä K, Chirkova T V. 2000. Antioxidant status of anoxia-tolerant and -intolerant plant species under anoxia and reoxygenation. Physiologia Plantarum, 109 (4): 396 - 403.
- Campos M K F D, Carvalho K D, Souza F S D, Marur C J, Pereira L F P, Filho J C B, Vieira L G E. 2011. Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over-accumulating proline. Environmental and Experimental Botany, 72 (2): 242 - 250.
- Ding Zhaohua. 1986. Nutrient film technique. Plant Science Journal, 4 (3): 285 - 292. (in Chinese)
丁朝华. 1986. 营养膜无土栽培技术. 植物科学学报, 4 (3): 285 - 292.
- Fang Zhijun, Yang Yiling, Huang Chunhui, Gu Qing-qing, Liu Shanjun, Xu Xiaobiao. 2012. The change of physiological parameters and acid-resistance analysis of citrus rootstocks with high acidity. South China Fruits, 41 (4): 59 - 61. (in Chinese)
方治军, 杨义伶, 黄春辉, 辜青青, 刘善军, 徐小彪. 2012. 强酸胁迫下柑橘砧木若干生理指标的变化及耐酸性分析. 中国南方果树, 41 (4): 59 - 61.
- Fang Zhijun, Yang Yiling, Huang Chunhui, Gu Qingqing, Xu Xiaobiao. 2011. Analysis on acid tolerance of several citrus rootstock seedlings. South China Fruits, 40 (5): 8 - 11. (in Chinese)
方治军, 杨义伶, 黄春辉, 辜青青, 徐小彪. 2011. 几种柑桔砧木幼苗的耐酸性分析. 中国南方果树, 40 (5): 8 - 11.
- Gueta-Dahan Y, Yaniv Z, Zilinskas B A, Gozal B H. 1997. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus. Planta, 203 (4): 460 - 469.
- Jiang X J, Hou X Y, Zhou X, Xin X P, Wright A, Jia Z J. 2015. pH regulates key players of nitrification in paddy soils. Soil Biology & Biochemistry, 81: 9 - 16.
- Jin Juan, Lu Xiaoyan, Wang Yi. 2014. Advances in the studies on salt tolerance of fruit trees. Acta Horticulturae Sinica, 41 (9): 1761 - 1776. (in Chinese)
靳 娟, 鲁晓燕, 王 依. 2014. 果树耐盐性研究进展. 园艺学报, 41 (9): 1761 - 1776.
- Kidd P S, Proctor J. 2001. Why plants grow poorly on very acid soils: are ecologists missing the obvious? Journal of Experimental Botany, 52 (357): 791 - 799.
- Kostopoulou Z, Therios I, Molassiotis A. 2014. Resveratrol and its combination with alpha-tocopherol mediate salt adaptation in citrus seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 78: 1 - 9.
- Li He-sheng. 2000. Modern plant physiological biochemical experiment principle and technology. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
李合生. 2000. 植物生理生化实验原理与技术. 北京: 高等教育出版社.
- Li Hesheng. 2001. Modern plant physiological biochemical experiment principle and technology. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
李合生. 2001. 植物生理生化实验原理与技术. 北京: 高等教育出版社.
- Li Hesheng. 2002. Modern plant physiology. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
李合生. 2002. 现代植物生理学. 北京: 高等教育出版社.
- Li R, Shi F, Fukuda K. 2010. Interactive effects of various salt and alkali stresses on growth, organic solutes, and cation accumulation in a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae) . Environmental and Experimental Botany, 68 (1): 66 - 74.
- Li Xuezhong, Luo Zeming, He Shaolan, Deng Lie. 1990. The effects of improving calcareous purple soil on growth and iron absorption of Jincheng orange. Scientia Agriculture Sinica, 23 (4): 35 - 42. (in Chinese)
李学柱, 罗泽民, 何绍兰, 邓 烈. 1990. 石灰性紫色土改良措施对枳砧锦橙吸铁及生长的效果. 中国农业科学, 23 (4): 35 - 42.

- Li Y, Han M Q, Lin M F, Ten Y, Zhu D H, Guo P, Weng Y B, Chen L S. 2015. Soil chemical properties, 'Guanximiyou' pummelo leaf mineral nutrient status and fruit quality in the southern region of Fujian Province, China. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15: 263 - 269.
- Li Ya-nan, Yuan Su-xia, Xu Lei-feng, Yang Pan-pan, Feng Ya-yan, Younes P H, Ming Jun. 2016. The Physiological response of lily to NaHCO_3 stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 43 (6): 1126 - 1140. (in Chinese)
- 李雅男, 袁素霞, 徐雷锋, 杨盼盼, 冯亚言, Younes Pourbeyrami Hir, 明 军. 2016. 百合在 NaHCO_3 胁迫下的生理响应机制. *园艺学报*, 43 (6): 1126 - 1140.
- Li Yingli, Fang Zheng, Mao Mingyan. 2014. Screening and identification of different oat cultivars for alkali stress. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 37 (6): 13 - 17. (in Chinese)
- 李英丽, 方 正, 毛明艳. 2014. 不同燕麦品种耐碱性筛选和鉴定. *河北农业大学学报*, 37 (6): 13 - 17.
- Liang Meiqing, Xue Jun, Fan Yulan, Li Xun, Peng Liangzhi. 2010. Studies on soil acidification of navel orange orchards in Gan-zhou City, Jiangxi Province. *South China Fruits*, 39 (4): 6 - 8, 13. (in Chinese)
- 梁梅青, 薛 珺, 范玉兰, 李 勋, 彭良志. 2010. 赣南脐橙园土壤酸化特征研究. *中国南方果树*, 39 (4): 6 - 8, 13.
- Liu Bingjun, Yang Yang, Li Qiang, Hu Guanglei, Chen Xiangyang, Fang Jianxin, Wang Shiqiang. 2011. Effects of adjusting pH of tea plantation soil on its soil nutrients, enzyme activity and microorganisms. *Journal of the Anhui Agri*, 39 (32): 19822 - 19824. (in Chinese)
- 刘炳君, 杨 扬, 李 强, 呼广雷, 陈向阳, 方建新, 王世强. 2011. 调节茶园土壤 pH 对土壤养分、酶活性及微生物数量的影响. *安徽农业科学*, 39 (32): 19822 - 19824.
- Ruan Songlin, Xue Qingzhong. 2002. Germination characteristics of seeds under salt stress and physiological basis of salt-tolerance of seedlings in hybrid rice. *Chinese Journal Rice Science*, 16 (3): 281 - 284. (in Chinese)
- 阮松林, 薛庆中. 2002. 盐胁迫条件下杂交水稻种子发芽特性和幼苗耐盐生理基础. *中国水稻科学*, 16 (3): 281 - 284.
- Storey R, Walker R R. 1999. Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae*, 78 (1 - 4): 39 - 81.
- Strayer R F, Lin C J, Alexander M. 1981. Effect of simulated acid rain on nitrification and nitrogen mineralization in forest soils. *Journal of Environmental Quality*, 10 (4): 547 - 551.
- Turner B L, Haygarth P M. 2005. Phosphatase activity in temperate pasture soils: Potential regulation of labile organic phosphorus turnover by phosphodiesterase activity. *Science of the Total Environment*, 344 (1 - 3): 27 - 36.
- van Loon L C. 2015. The intelligent behavior of plants. *Trends in Plant Science*, 21 (4): 286 - 294.
- Wang Sangen. 2009. Plant hardiness physiology and molecular biology. Beijing: Modern Education Press: 236 - 258. (in Chinese)
- 王三根. 2009. 植物抗性生理与分子生物学. 北京: 现代教育出版社: 236 - 258.
- Xie Zhinan, Zhuang Yimei, Wang Renji, Xu Wenbao. 1997. Correlation between soil pH and the contents of available nutrients in selected soils from kinds of subtropical zone in Fujian. *Acta Horticulturae Sinica*, 24(3): 209 - 214. (in Chinese)
- 谢志南, 庄伊美, 王仁玕, 徐文宝. 1997. 福建亚热带果园土壤 pH 值与有效态养分含量的相关性. *园艺学报*, 24 (3): 209 - 214.
- Xu Gui-fang, Zhang Zhao-yang, Xiang Zuo-xiang. 2009. Comprehensive evaluation of cold resistance on four *Lysimachia* plants by subordinate function values analysis. *Journal of Northwest Forestry University*, 24 (3): 24 - 26. (in Chinese)
- 许桂芳, 张朝阳, 向佐湘. 2009. 利用隶属函数法对 4 种珍珠菜属植物的抗寒性综合评价. *西北林学院学报*, 24 (3): 24 - 26.
- Zhang Wenqing, Zwiazek J J. 2016. Effects of root medium pH on water transport and apoplastic pH in red-osier dogwood (*Cornus sericea*) and paper birch (*Betula papyrifera*) seedlings. *Plant Biology*, 1435 - 8603: 1 - 7.
- Zhang Yong-feng, Liang Zheng-wei, Sui Li, Cui Yan-ru. 2009. Effect on physiological characteristic of *Medicago sativa* under saline-alkali stress at seeding stage. *Acta Prataculturae Sinica*, 18 (4): 230 - 235. (in Chinese)
- 张永锋, 梁正伟, 隋 丽, 崔彦如. 2009. 盐碱胁迫对苗期紫花苜蓿生理特性的影响. *草业学报*, 18 (4): 230 - 235.
- Zhu J K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, 6 (2): 66 - 71.
- Zhu Shi-ping, Chen Jiao, Liu Xiao-feng, Cao Li, Lu Zhi-ming, Zhao Xiao-chun. 2014. Evaluation of salinity and alkalinity tolerances of 15 citrus rootstocks by in vitro culture. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 36 (6): 47 - 52. (in Chinese)
- 朱世平, 陈 娇, 刘小丰, 曹 立, 陆智明, 赵晓春. 2014. 15 种柑橘砧木出苗期耐盐碱性评价. *西南大学学报 (自然科学版)*, 36 (6): 47 - 52.
- Zong Xuefeng, Wang Sangen. 2011. Plant physiological research technology. Chongqing: Southwest Normal University Press. (in Chinese)
- 宗学凤, 王三根. 2011. 植物生理研究技术. 重庆: 西南师范大学出版社.