

苹果铁高效相关性状与黄化指数相关性的研究

李英慧 韩振海* 许雪峰

(中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

摘要: 用组织培养方法, 对缺铁胁迫下苹果属中铁高效植物小金海棠和铁低效植物山定子及其有性杂交后代 F_1 的部分生理和形态指标变化的研究表明, 黄化指数与叶绿素含量变化 (叶绿素含量占对照的比率) 及发根数变化 (发根数占对照的比率) 间呈极显著负相关, 相关系数分别为 -0.8218 和 -0.8775 ; 与培养基 pH 值变化 (pH 值占对照的比率) 的相关系数为 -0.2924 , 未达到显著水平, 表明缺铁处理后黄化指数越高的株系叶绿素含量下降幅度越大, 发根数上升的幅度越小。

关键词: 苹果属; 铁; 铁高效苹果种; 缺铁胁迫; 黄化指数

中图分类号: S 661.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 03-0350-03

Fe-efficient Traits and Their Relationships to Chlorosis Index in Genus *Malus*

Li Yinghui, Han Zhenhai*, and Xu Xuefeng

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Relationship between a part of correlative traits and chlorosis index under Fe-deficiency stress were studied with Fe-efficient *Malus xiaojinensis*, *M. baccata* and an interspecific F_1 hybrids of *M. xiaojinensis* \times *M. baccata*. The results showed that the correlation coefficients (r) among the chlorophyll concentrations, number of roots, pH value as percentage of control with chlorosis index were -0.8218 , -0.8775 , -0.2924 respectively. These indicates that the higher the chlorosis index of lines in the hybrids, thus, the more obviously the chlorophyll concentrations decreased, the less the no. of roots increased, the higher the pH value decreased.

Key words: Apple; Iron; Fe-efficiency; Fe-deficiency stress; Chlorosis index

1 目的、材料与方法

本试验以小金海棠 (*Malus xiaojinensis*, $2n=4x=68$), 山定子 (*M. baccata*, $2n=2x=34$) 及小金海棠 \times 山定子的有性杂交后代 (F_1) 为试材, 在组织培养条件下, 研究缺铁处理后叶绿素含量、发根数、pH 值的变化与最明显、直观的形态反应性状黄化指数间的关系, 以期探讨苹果铁高效相关性状的相互关系, 并为鉴定和筛选铁高效基因型提供理论依据。

双亲及有性杂交后代首先在增殖培养基 ($MS + BA 0.8 \text{ mg} \cdot L^{-1} + IAA 0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1}$) 上进行扩繁后转移到生长培养基 ($MS + BA 0.1 \text{ mg} \cdot L^{-1} + IBA 1.0 \text{ mg} \cdot L^{-1}$), 15 d 后选择整齐一致的杂种和双亲苗各 80 株, 分别转移到正常 ($Fe, 50 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$) 和缺铁 ($Fe, 0 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$) 生长培养基上, 每株系各 6 瓶, 每瓶 8 株。处理 30 d 后取完全展开的幼叶, 参照苏正淑等^[1]的方法浸提叶绿体色素, 用 760MC 紫外分光光度计 (上海第三分析仪器厂) 在 645 nm、663 nm 波长处测定 O.D. 值, 计算总叶绿素含量 (单位: $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)。将缺铁处理 30 d 的幼苗转移到正常供铁的生根培养基 ($1/2MS + BA 0.05 \text{ mg} \cdot L^{-1} + IBA 1.0 \text{ mg} \cdot L^{-1}$) 中, 每株系 3 瓶, 每瓶 8 株, 40 d 后对大于 0.5 cm 长的根进行计数。将培养 30 d 后的植株轻轻取出培养瓶, 而后, 将每瓶中定量倒入的 30 mL 培养基在微波炉内

收稿日期: 2003-07-29; 修回日期: 2003-11-25

基金项目: 北京市自然科学基金重点项目 (6021003); 教育部青年教师教科奖励基金项目

* 通讯作者 Corresponding author

加热熔化, 用 pH 计测定, 重复 3 次。

植株黄化系数的评估参照 Lin 等^[2]的方法, 将刚展开的幼叶黄化状态分为 5 级, 即未黄化 (1 级)、轻微黄化 (2 级, 黄绿色)、中等黄化 (3 级)、较重黄化 (4 级, 带有轻微的斑点) 和严重黄化 (5 级, 带有褐色斑点)。统计黄化指数 $[\Sigma (\text{黄化级值} \times \text{相应黄化级植株数}) / (\text{总株数} \times \text{黄化最高级值}) \times 100\%]$ 。应用 SAS 8.10 统计分析软件, 依 PROC CORR 程序得到铁高效各性状与黄化指数的相关关系, 显著水平为 $P=0.001$ 。

2 结果与分析

2.1 缺铁胁迫条件下叶绿素含量变化与黄化指数关系

在缺铁胁迫条件下, F_1 各单株的叶绿素含量都有所下降, 叶绿素含量的变化 (叶绿素含量占对照的比率) 与黄化指数间呈极显著负相关, 相关系数为 -0.8218 。这与 Ciano 等^[3]在大豆上为鉴定缺铁失绿症而获得的指标“叶绿素含量和目测指数之间存在着显著的负相关”的结果相一致。叶绿体的合成需要铁的存在。因此缺铁胁迫时叶绿体结构受损、严重缺铁时叶绿体变小甚至解体或液泡化^[4], 从而导致叶绿素不能形成, 这是植株黄化的主要原因。

2.2 缺铁胁迫条件下发根数变化与黄化指数关系

在缺铁胁迫条件下, F_1 分析群体内各单株的发根数与对照的相比都有所增加。如图 1 所示, 发根数的变化 (处理发根数占对照的比率) 同黄化指数呈极显著负相关, 相关系数为 -0.8775 。表明黄化指数高的个体缺铁处理后其发根数占对照的比率低, 发根数上升的幅度小。这样, 在缺铁胁迫条件下, 植株通过发根数的增加来增加根的表面, 从而加大对铁的吸收。发根数的这种变化是苹果属植物通过自身调节而作出的形态上的一种适应性反应。

2.3 缺铁胁迫条件下 pH 值变化与黄化指数关系

在缺铁胁迫条件下, F_1 分析群体内各单株的培养基 pH 值与对照相比都有所降低, 黄化指数高的个体, 其培养基 pH 值下降的幅度大; 但培养基 pH 值的变化 (pH 值占对照的比率) 同黄化指数相关系数仅为 -0.2924 (图 2), 相关不显著。

根际 pH 值降低是机理 I 植物在缺铁环境中所表现出来的最明显的生理性反应。Han 等^[5]报道, 缺铁胁迫条件下, 小金海棠的根际 pH 值明显下降, 而青海花叶、山定子根际 pH 值受铁胁迫的影响不大。由此也说明苹果属内各种间的抗缺铁失绿能力同根际 pH 值之间存在着较强的相关性, 至于本试验结果与 Han 等^[5]的结果不完全一致的原因, 可能有两方面, 即其一, 本次试验测定的是培养基的 pH 值而不是根际 pH 值, 培养基有一定的缓冲作用。其二, 在液培或田间条件下使根际 pH 值下降的原因是根系增加了质子的分泌, 而本试验用作缺铁处理的为生长培养基, F_1 有性杂交单株未生根, 从而因为试材生长状态的不同, 使得 pH 值的变化情况有异。本次试验首次将组织培

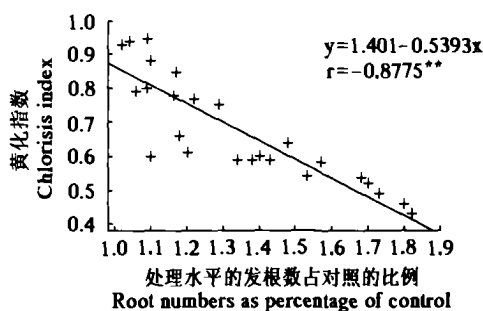


图 1 小金海棠 × 山定子 F_1 分析群体内发根数变化与黄化指数的关系

Fig. 1 The relation between changes of root numbers and chlorosis index in F_1 analysis population from *M. xiaojinensis* × *M. baccata*

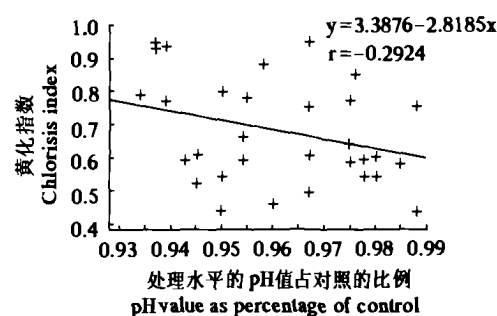


图 2 小金海棠 × 山定子 F_1 分析群体内 pH 值变化与黄化指数的关系

Fig. 2 The relation between changes of pH value and chlorosis index in F_1 analysis population from *M. xiaojinensis* × *M. baccata*

养技术引入铁高效性状的评价和鉴定,其优点是培养方便,几乎所有条件都是人为控制的,影响植株活动的环境因素在一定程度上也是可预知的,可以在短时间内大量无性繁殖试材,且使设置单株重复的误差降到最低,可以有效地保存有性杂交种;缺点是不能进行观测性状的动态监测。

叶绿素含量、根际 pH 值降低是苹果属植物在缺铁胁迫条件下所表现出的最明显的生理性反应,而幼叶黄化是植物在缺铁胁迫下最明显的外部形态特征。本试验 F_1 代个体中黄化指数低的个体,叶绿素含量降低的少, pH 值降低的多,同铁高效基因型(如小金海棠)的表现相一致;而黄化指数高的个体叶绿素含量降低的多, pH 值降低的少,同铁低效基因型(如山定子)的表现相一致。说明由 F_1 代各无性系及双亲的幼叶黄化程度的级值而计算出的黄化指数可以代表植株的铁高效能力,用黄化指数来反应铁高效性是合适的。而本试验中所有有性杂交种经缺铁处理后叶绿素含量降低、pH 值降低,与液培低铁($4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)胁迫条件下苹果属小金海棠等种的表现一致;表明在铁源匮乏的情况下,苹果属植物可利用其体内贮存的铁以保证自身的生存和生长。这一方面说明,小金海棠和山定子的基因型差异同其体内铁的再利用效率有非常密切的关系^[7,8];另一方面,也佐证了小金海棠为铁高效利用基因型,山定子为铁低效利用基因型的结果^[5]。

植物主要以两种方式贮存铁。一种是铁库,铁以 Fe^{3+} 形态沉淀于细胞壁上;一种是铁结合蛋白,铁以 Fe^{3+} 的形态包被于蛋白壳外。Bienfait^[8]报道,豆类根自由空间中发现了铁库。1990 年韩振海等^[6]发现,供试的苹果属的 4 个野生种的根自由空间中也存在铁库。而本试验中用于黄化指数评价的试材都没有根系,但仍表现出铁高效的缺铁胁迫反应,在一定程度上说明根自由空间的铁库不是这些试材铁素贮存及铁高效性的主要方式;而植物铁结合蛋白(ferritin)是一种专门储存铁的蛋白质。在植物铁的代谢中起着维持铁的平衡的作用^[9]。因此本试验中铁不同效率的原因是否与铁结合蛋白有关、铁高效再利用的机理究竟是什么,目前还不清楚,有待于进一步的研究。

参考文献:

- 1 苏正淑,张宪政. 几种测定植物叶绿素含量的方法比较. 植物生理学通讯, 1989, (5): 77~78
- 2 Lin S, Cianzio S, Shoemaker R. Mapping genetic loci for iron deficiency chlorosis in soybean. Molecular Breeding, 1997, 3: 219~229
- 3 Cianzio-Rodriguez S, Fehr W R, Anderson I C. Genotypic evaluation for iron deficiency chlorosis in soybean by visual score and chlorophyll concentration. Crop Sci., 1979, 19: 644~646
- 4 陆景陵主编. 植物营养学(上册). 北京: 中国农业大学出版社, 2003. 77~82
- 5 Han Z H, Shen T, Korak R F, et al. Screening for Iron-efficient species in the genus *Malus*. J. Plant Nutr., 1994, 17: 579~592
- 6 韩振海, 许雪峰. 不同铁效率果树基因型研究的现状和前景, 园艺学年评. 北京: 科学出版社, 1995. 1, 1~16
- 7 成明昊, 李晓林, 张云贵. 苹果优良砧木—小金海棠研究进展. 西南农业大学学报, 2000, 22 (5): 383~386
- 8 Bienfait H F. Proteins under the control of the gene for Fe efficiency in tomato. Plant Physiology, 1988, 88: 785~787
- 9 Laulhere J P. Dynamic equilibria in iron uptake and release by ferritin. Biometals, 1996, 9 (3): 303~309

新书推荐

《中国果树志·杏卷》

《中国果树志·杏卷》由全国 71 个单位 80 余名专家历时 23 年的编撰, 2003 年 12 月终于问世了。这是世界首部系统研究杏树的科技专著, 全书共 114 万字, 彩图 300 幅, 专述了中国杏树的起源、传播、演化、栽培历史、地理分布和生产现状, 以及杏树的生物学特性、栽培技术要点、贮藏与加工技术等, 全书共记载描述和评价了杏的品种资源 1643 个, 充分反应了我国杏属资源的多样性和开发利用的潜力。

(张加延)

购书者请汇款(165 元, 含邮费)至: 北京中关村南大街 12 号,

中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。