

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.00496

自然条件下甘蔗品种抗寒生理生化特性的比较

张保青^{1,2} 杨丽涛^{1,2,3,*} 李杨瑞^{2,3,4}

¹广西大学农学院, 广西南宁 530005; ²广西亚热带生物资源保护利用重点实验室, 广西南宁 530005; ³中国农业科学院甘蔗研究中心, 广西南宁 530007; ⁴广西作物遗传改良生物技术重点实验室, 广西南宁 530007

摘 要: 为了筛选耐寒优良甘蔗品种, 在广西霜、雪、冰期最早、最长的县之一的资源县, 选用 21 个甘蔗品种进行试验, 在甘蔗成熟期温度明显不同的 3 个时间段采样, 观察甘蔗在低温过程中的整体形态变化, 分析与抗寒性相关的 6 个生理生化指标, 结合相关性检验, 采用隶属函数法对 21 个甘蔗品种进行抗寒性综合评价。试验结果表明不同甘蔗品种对长时间持续低温的反应各异, 其中可溶性蛋白质含量迟钝, 脯氨酸和丙二醛含量敏感; 根据隶属函数法的分析结果, 将供试品种划分为 3 级, 其中 I 级高抗寒型 4 个品种, II 级抗寒型 10 个品种, III 级低抗寒型 7 个品种。分析结果表明选择多个生理生化指标, 采用隶属函数法, 综合评估甘蔗工艺成熟期的抗寒性是可行的, 可以较好地揭示指标性状与抗寒性的关系, 为甘蔗生产提供参考依据。

关键词: 甘蔗; 抗寒性; 生理生化; 隶属函数; 抗寒性评价

Comparison of Physiological and Biochemical Characteristics Related to Cold Resistance in Sugarcane under Field Conditions

ZHANG Bao-Qing^{1,2}, YANG Li-Tao^{1,2,3,*}, and LI Yang-Rui^{2,3,4}

¹ Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, China; ² Guangxi Key Laboratory of Subtropical Bioresources Conservation and Utilization, Nanning 530005, China; ³ Sugarcane Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; ⁴ Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Laboratory, Nanning 530007, China

Abstract: In order to screen the cold tolerant sugarcane varieties, in Ziyuan County, one of the coldest counties having the longest duration for frost and snow, in Guangxi province we comprehensively evaluated 21 sugarcane varieties using subordinate function method combined with correlation analyses based on six physiological and biochemical indexes relevant to cold tolerance under natural conditions. It was found that different sugarcane varieties had different responses to the long duration of continuous cold stress, which were dull for soluble protein content proline and malondialdehyde were contents. Based on the analysis by subordinate function method, we divided the tested varieties into three groups of cold tolerance. The group I had four varieties with high cold tolerance, the group II had ten varieties with moderate cold tolerance, and the group III had seven varieties with low cold resistance. It is feasible to evaluate the cold resistance at processing maturing stage by using subordinate function method with multiple physiological and biochemical indexes, which can reveal the differences of cold hardiness in different sugarcane varieties, and provide good references for commercial sugarcane production.

Keywords: Sugarcane; Cold tolerance; Physiological and biochemistry changes; Membership function; Evaluation of cold hardiness

甘蔗是中国乃至世界第一大糖料作物^[1], 世界上的食糖生产绝大部分以甘蔗为原料。甘蔗已经成为广西的支柱经济作物^[2]。甘蔗是喜温作物, 种植于热带亚热带地区, 需要适宜的温度湿度才能正常生长。随着割手密等抗逆基因的导入, 甘蔗的种植已

从热带地区扩大到亚热带和温带地区。在我国, 近年来气候变化异常, 出现极端最低气温, 变化不稳定性增加, 寒冷灾害更加加重, 寒害和冷害使甘蔗生产和制糖工业生产受到严重阻碍, 每年都会造成不同程度的经济损失^[3-6], 低温寒害严重影响甘蔗生

本研究由国家科技支撑计划项目(2008BADB8B00), 科技部国际合作项目(2008DFA30600, 2009DFA30820)和国家现代农业产业技术体系建设专项资金(nycyt-024-01-15)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 杨丽涛, E-mail: liyr@gxu.edu.cn, Tel: 0771-3236407

第一作者联系方式: E-mail: zbxqxa@126.com

Received(收稿日期): 2010-09-09; Accepted(接受日期): 2010-11-26.

产以及制糖工业和其他用糖企业的稳定发展。因此,研究甘蔗抗寒性对提高甘蔗抗寒能力具有重要的意义。在低温胁迫下,甘蔗在形态结构、生理生化指标以及分子生物学等方面都发生显著的变化,研究工作主要从以下几方面开展:①以外部形态特性判断甘蔗受害程度^[7-8];②叶绿素^[4-5];③原生质膜透性^[9-10];④膜的过氧化产物 MDA^[11-12];⑤保护酶(SOD, 脱氢酶活性^[11-14];同工酶谱带,酸性转化酶、淀粉酶和中性转化酶活性^[15]);⑥光合特性^[16];⑦渗透调节物质(胞内可溶性糖和游离脯氨酸^[17]);⑧RNA表达或者基因表达^[18]。实践证明,甘蔗遭受自然低温伤害一般是在其生长期或成熟期,然而多数有关甘蔗抗寒性的研究基本都是幼苗期的桶栽试验,尚未见对大田和自然低温下甘蔗成熟期的抗寒性研究报道,对主要甘蔗栽培品种的抗寒性评价和排序研究也甚少,不利于指导生产实践与科技创新。本研究拟在大自然低温条件下试验,从生理生化水平对其抗寒性进行比较研究,探讨各指标与抗寒性的关系,对不同品种抗寒性的强弱进行评价和排序,为今后甘蔗抗寒性育种、品种推广以及常遭受寒害侵袭的蔗区选择栽培品种提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验区所在地资源县位于广西壮族自治区北部,地处东经 110°13'~110°54',北纬 25°48'~26°16'之间,属亚热带季风湿润气候区。由于地形地貌复杂,境内小气候多样,具有明显的山地气候特征。全县年均气温 16.4℃,年均降雨量 1 761.1 mm,年均日照数为 1 307.6 h,年均无霜期为 300 d,是广西霜、雪、冰期最早、最长的县之一。

试验地位于资源县中锋乡肖家村,土壤为栗钙土,土层深厚、土质肥沃、有灌溉条件。采取随机区组设计,3次重复,单行区,行长 12 m,行距 1 m,小区面积 12 m²。供试甘蔗于 2008 年 4 月 17 日种植,每米下种量为 16 芽,试验田的管理按照常规措施进行。图 1 (由广西气象研究所提供)表明,从 2008 年 10 月底开始降温,11 月底受较强冷空气影响,出现寒潮天气,降温幅度较大,12 月 23 日出现当年日最低温度-2.9℃。2009 年 1 月初再次出现寒潮天气,一直持续低温。

1.2 试验材料

21 个甘蔗品种(品系),包括 10 个桂糖系列(自育)品种,8 个引进品种,3 个其他地方品种(表 1)。

1.3 采样时间和方法

分别于 2008 年 11 月 27 日(最低气温为 5.2℃)、12 月 17 日(最低气温为 3.1℃)、2009 年 1 月 7 日(最低气温为 1.5℃)3 个时期采样,每品种随机选取 5 个点,每点选取生长一致的甘蔗+1 叶(甘蔗最高可见肥厚带叶片)。

1.4 试验方法

以 2008 年 11 月 27 日采样作为 CK,叶绿素(CHL)含量参照李合生等^[19]方法测定;采用蒽酮比色法^[20]测定可溶性糖(SS)含量;参照 Yang 等^[21]的方法测定可溶性蛋白含量(SP);用茚三铜比色法^[22]测游离氨基酸(AA)含量;参照刘祖祺和张石城^[23]的方法测脯氨酸(Pro)含量。采用硫代巴比妥酸比色法^[19]测定丙二醛(MDA)含量。

1.5 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 和 SPSS 统计软件统计分析试验数据,参照张文娥等^[24]、许桂芳等^[25]、韩瑞宏等^[26]和何雪银等^[27]的方法,计算隶属函数值和平

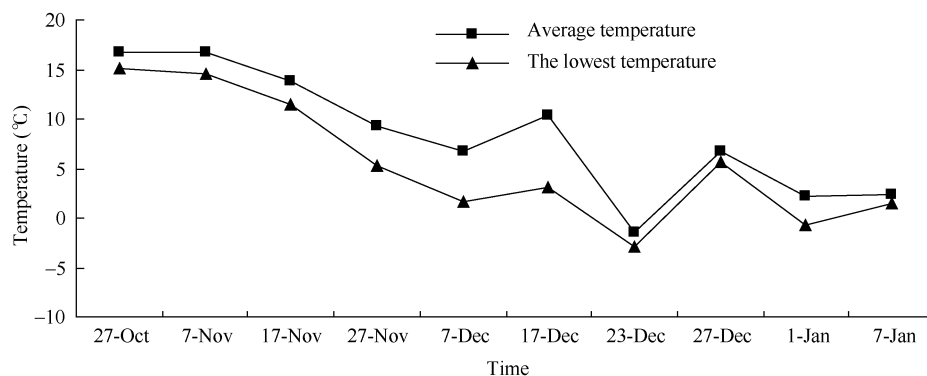


图 1 2008 年 10 月~2009 年 1 月试验区平均气温及最低气温

Fig. 1 Average and the lowest air temperature in experimental region from Oct. 2008 to Jan. 2009

表 1 供试甘蔗品种名称和来源
Table 1 Name and origin of the tested sugarcane varieties

供试品种 Cultivar	来源 Origin	供试品种 Cultivar	来源 Origin
桂糖 97/69 GT97/69	中国广西 Guangxi, China	新台糖 16 ROC16	中国台湾 Taiwan, China
桂糖 02/133 GT02/133	中国广西 Guangxi, China	新台糖 22 ROC22	中国台湾 Taiwan, China
桂糖 02/208 GT02/208	中国广西 Guangxi, China	台糖 28 TT28	中国台湾 Taiwan, China
桂糖 02/237 GT02/237	中国广西 Guangxi, China	台糖 98/0432 TT98/0432	中国台湾 Taiwan, China
桂糖 02/351 GT02/351	中国广西 Guangxi, China	台糖 98/2817 TT98/2817	中国台湾 Taiwan, China
桂糖 02/469 GT02/469	中国广西 Guangxi, China	台优 1 号 TY1	中国台湾 Taiwan, China
桂糖 21 GT21	中国广西 Guangxi, China	园林 6 号 YL6	日本 Japan
桂糖 26 GT26	中国广西 Guangxi, China	粤糖 00/236 YT00/236	中国广东 Guangdong, China
桂糖 27 GT27	中国广西 Guangxi, China	福农 15 FN15	中国福建 Fujian, China
桂糖 28 GT28	中国广西 Guangxi, China	赣蔗 18 GZ18	中国江西 Jiangxi, China
		桂引 5 号 GY5	巴西 Brazil

均隶属度, 分析评价品种抗寒性。

隶属函数 = $(X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ (1)

式中, X_i 为指标测定值, X_{\min} 、 X_{\max} 为所有参试材料某一指标的最小值和最大值。如果某一指标与抗寒性为负相关, 则用反隶属函数进行转换。

反隶属函数 = $1 - (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ (2)

2 结果与分析

2.1 自然降温过程中甘蔗的受害症状

在自然降温过程中, 初期温度为 10~25℃ 时, 甘蔗均未表现出明显的受害症状; 当温度降低至 2~4℃, 并持续 20 d 时, 抗寒性较弱的甘蔗品种叶片开始出现叶梢枯黄, 少数品种已经出现蔗茎水煮状, 但不严重。而抗寒性较强的甘蔗品种则没有这种表现, 如桂糖 28、福农 15 等; 当温度降至 1℃ 并持续一段时间后, 多数甘蔗品种的叶片全部呈明显枯死, 此时, 生长点变黑坏死, 侧芽干瘪坏死, 蔗茎的节剖开后呈不同程度水煮状, 节间部分或全部变为红

褐色, 蔗莖剖开后也呈水煮状。

2.2 低温对叶绿素含量的影响

如图 2 所示, 随着低温加剧, 参试品种叶绿素含量变化明显, 总体呈下降趋势。其中桂糖 02/208 和桂糖 26 的叶绿素含量随着降温过程表现为先升高后降低, 其他品种在降温过程中呈直线下降趋势。

到 2009 年 1 月叶绿素含量降到最低水平, 其中台糖 98/2817 较 2008 年 11 月份的降幅最大, 为 75.3%, 其叶绿素含量也最低, 为 0.40 mg g⁻¹。桂糖 21 下降幅度最小, 为 13.0%, 说明该品种在寒害期间能经受低温的危害, 受低温影响最小, 仍能使叶绿素缓慢合成, 表现出较强的抗寒性。在整个降温过程中, 叶绿素降解趋势, 均是前期慢后期迅速, 可见随着胁迫的加重和胁迫时间的延长, 叶绿素降解逐渐加剧。

2.3 低温对可溶性糖含量的影响

由图 3 可以看出, 不同甘蔗品种叶片可溶性糖含量在自然低温下随着温度不同以及时间的延长而

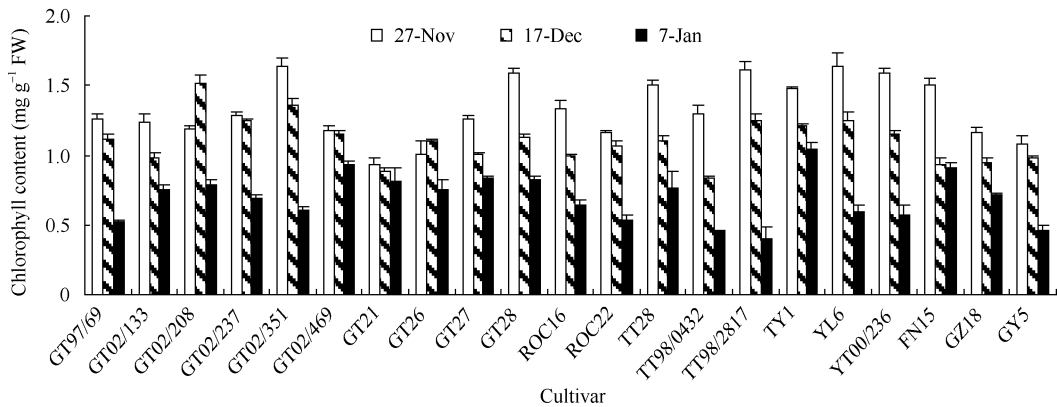


图 2 不同时间不同甘蔗品种叶片中叶绿素含量的变化
Fig. 2 Changes of chlorophyll content in leaf of different sugarcane varieties at different times

发生变化。大部分品种叶片中可溶性糖含量表现为高一低一高的变化趋势。初期温度下降使可溶性糖含量总体呈下降趋势, 随着低温的加剧其含量又有所升高, 可能是由于温度刚降低时, 细胞叶绿素含量下降, 光合作用受到抑制, 可溶性糖合成受到影响, 植株还未对低温作出相应的反应, 而随着低温加剧, 植株以增加可溶性糖含量的反应来抵御低温的影响。其中以桂糖 28 可溶性糖含量最高, 达到 58.36 mg g^{-1} , 桂糖 26 则升高了 118.46%, 这些品种的叶片中都能够使原生质保持较高的糖浓度以降低冰点, 表现出较强的抗寒性。桂糖 21 和台糖 28 的可溶性糖含量表现为直线上升; 桂糖 02/469、园林 6 号、台糖 98/2817 则为直线下降, 其中台糖 98/2817 达到最低点 14.63 mg g^{-1} , 说明桂糖 28、桂糖 26、桂糖 21、台糖 28 等品种遇到低温胁迫时, 能够产生较多的糖来增加原生质的浓度以降低冰点, 具有较强的抗寒性; 而桂糖 02/469、园林 6 号、台糖 98/2817 可溶性糖含量一直降低, 抗寒性较差。这一结果说

明作为有效的渗透调节物质, 在自然降温过程中, 甘蔗叶片中积累一定量的可溶性糖对其抵抗低温逆境具有重要作用。

2.4 低温对可溶性蛋白质含量的影响

由图 4 可知, 随自然低温处理时间延长, 各品种变化趋势不一。大部分甘蔗品种的可溶性蛋白质含量总体呈下降趋势。其中, 桂糖 97/69 等 9 个品种表现为一直下降, 桂糖 26 下降的最多, 为 3.18 mg g^{-1} ; 桂糖 02/237 等 7 个甘蔗品种表现为低—高一低的变化趋势, 其中园林 6 号的蛋白质含量升高的最高; 桂糖 21、桂糖 28 和 ROC22 表现为高一低一高的变化趋势, 桂糖 27 和台优则表现为蛋白质含量逐步升高。

2.5 低温对游离氨基酸含量的影响

随着温度的一直下降, 甘蔗品种的叶片中游离氨基酸含量均呈上升趋势, 于 1 月份达到最大值。说明经过长时间自然低温胁迫后甘蔗叶片内氨基酸含量高于前期刚降温时。不同品种的甘蔗叶片中游离氨基酸含量上升不同, 桂糖 21 含量最高, 桂糖 27

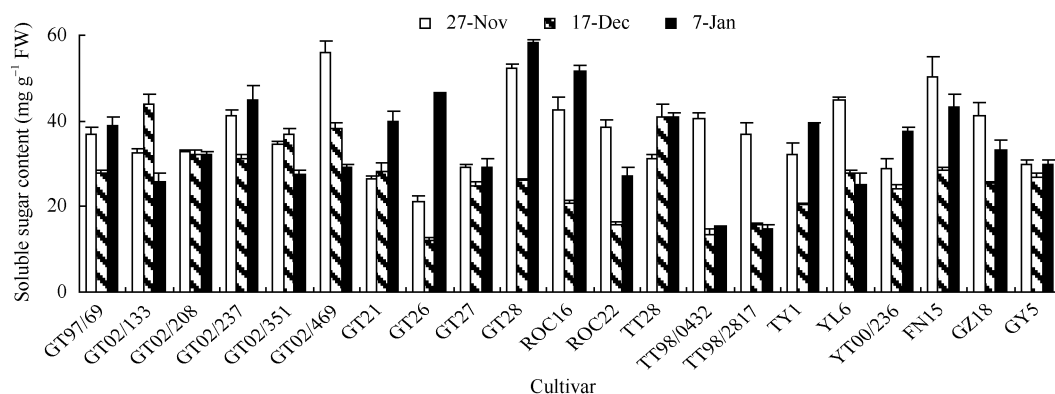


图 3 不同时间不同甘蔗品种叶片中可溶性糖含量的变化

Fig. 3 Changes of soluble sugar content in leaf of different sugarcane varieties at different times

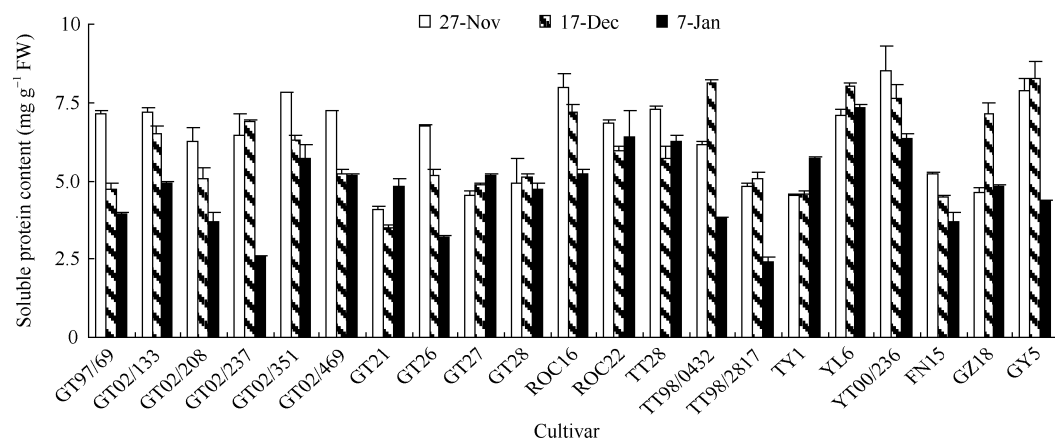


图 4 不同时间不同甘蔗品种叶片中可溶性蛋白质含量的变化

Fig. 4 Changes of soluble protein content in leaf of different sugarcane varieties at different times

在降温前期增长较快, 桂糖 28 在降温前期增长较慢, 在降温到 1 月份时达到最大值(图 5)。

2.6 低温对脯氨酸含量的影响

由图 6 看出, 在温度逐渐降低的过程中甘蔗叶片内的脯氨酸含量明显升高, 各品种间脯氨酸含量的升高趋势基本一致, 但在低温胁迫后升高的幅度不同。赣蔗 18 在 1 月份升到最高, 而园林 6 号升幅最低。甘蔗可以通过积累大量脯氨酸来增加细胞的渗透调节能力, 保护组织免受低温伤害。

2.7 低温对丙二醛含量的影响

由图 7 可以看出, MDA 含量自降温初开始增加, 随着低温持续和加剧, 呈急剧上升的趋势, 12 月 17 日有小幅升高, 至 1 月份达最高值。升高的幅度因品种的不同而不同。其中, 园林 6 号的 MDA 含量最高, 福农 15 含量最低, 升高幅度最小。在降温初始各甘蔗受伤害并不严重, 可以抵抗短期内的寒害;

但后期园林 6 号等 MDA 含量高的甘蔗品种受伤害程度比其他品种严重; 从各品种在不同温度条件下丙二醛(MDA)含量的变化可以看出, 福农 15 和台优的变化幅度较小, 说明其膜脂过氧化程度较低, 抗寒性较强。

2.8 不同甘蔗品种抗寒性综合分析

在自然降温过程中甘蔗叶片内叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白质、游离氨基酸、游离脯氨酸和 MDA 含量在不同时间段不同品种间高低不一。表 2 表明, 3 个时间段的各项指标测定值的变异系数都在 10% 以上, 1 月 7 日各指标的变异系数大于 11 月和 12 月的, 且在 12 月底到 1 月初已达到当地的最低气温 -2.9°C , 是测试的几个时间点中最冷的月份, 所以 1 月份不同甘蔗品种的 6 个相关指标可以较好地反映出不同甘蔗品种间抗寒性差异, 具有较好代表性。

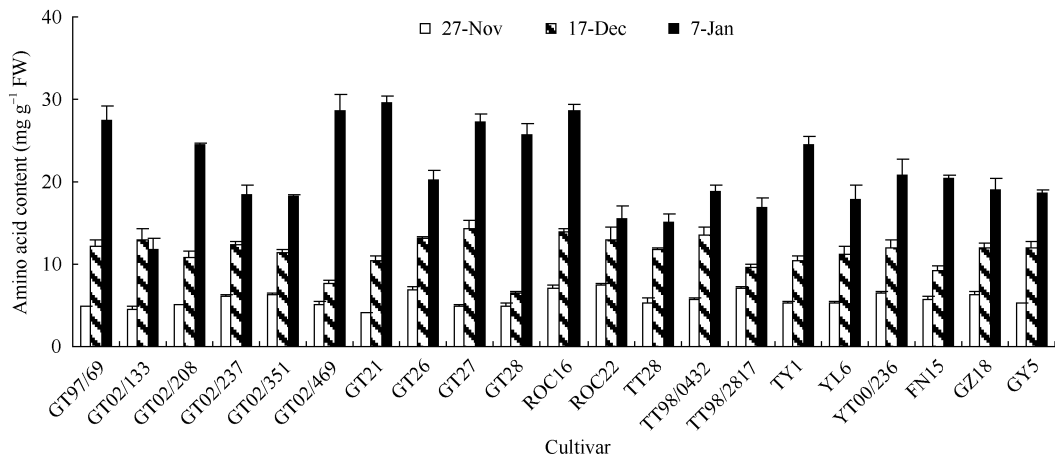


图 5 不同时间不同甘蔗品种叶片中游离氨基酸含量的变化

Fig. 5 Changes of free amino acid content in leaf of different sugarcane varieties at different times

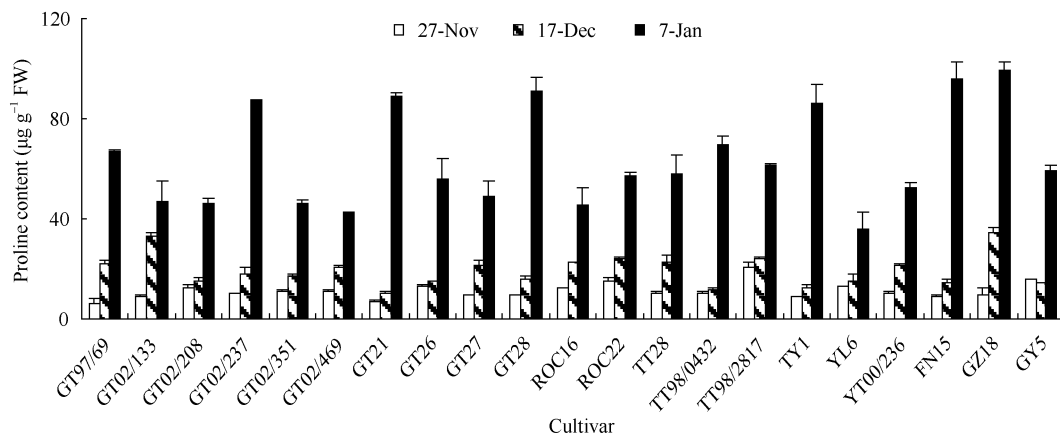


图 6 不同时间不同甘蔗品种叶片中脯氨酸含量的变化

Fig. 6 Changes of proline content in leaf of different sugarcane varieties at different times

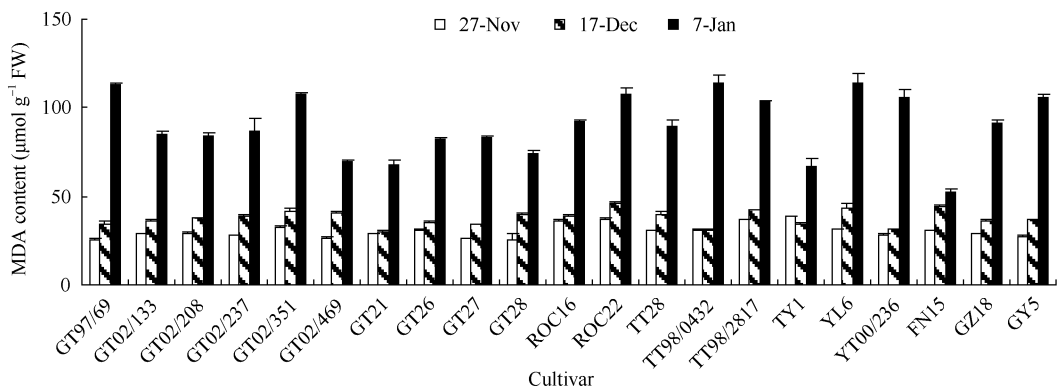


图 7 不同时间不同甘蔗品种叶片中丙二醛含量的变化
Fig. 7 Changes of MDA content in leaf of different sugarcane varieties at different times

表 2 不同时间各指标的变异系数
Table 2 Variation coefficient of each index at different times (%)

指标 Index	时间 Date (year/month/day)		
	2008/11/17	2008/12/17	2009/1/7
叶绿素 Chlorophyll	16.23	14.80	24.57
可溶性糖 Soluble sugar	23.76	32.45	31.60
可溶性蛋白质 Soluble protein	21.17	22.94	26.90
游离氨基酸 Free amino acid	15.96	17.29	23.97
脯氨酸 Proline	27.96	32.71	30.93
丙二醛 MDA	13.22	11.83	19.52

2.9 抗寒指标间的相关性

对 1 月份中 21 个甘蔗品种的 6 个指标进行简单相关分析。表 3 表明，叶绿素含量与可溶性糖含量显著正相关，与丙二醛含量显著负相关；可溶性糖含量与丙二醛含量显著负相关；脯氨酸含量与丙二醛含量显著负相关。游离氨基酸含量与叶绿素含量、可溶性糖含量、脯氨酸含量均呈一定正相关，与可

溶性蛋白质含量和丙二醛含量呈负相关。丙二醛是衡量低温伤害的比较直接的鉴定指标^[28]，以上分析说明，MDA 含量与其他指标呈负相关，起负面效应，它含量越高，抗寒性越低。叶绿素、可溶性糖、游离氨基酸、脯氨酸含量对甘蔗抗寒起正向作用，含量越高，甘蔗越抗寒；而可溶性蛋白质含量和丙二醛之间无明显相关性。可见，低温胁迫对甘蔗的影响是多方面的，叶片叶绿素、可溶性糖、游离氨基酸、脯氨酸及 MDA 含量可作为不同甘蔗品种抗寒性鉴定的指标。

2.10 利用隶属函数评价甘蔗抗寒性

为了能够比较全面地反映甘蔗的抗寒性，采用模糊数学中隶属函数法，选用与甘蔗抗寒性关系密切的 5 个生理生化指标，即叶绿素、可溶性糖、游离氨基酸、脯氨酸和丙二醛含量对 21 个甘蔗品种抗寒性进行综合评价，各甘蔗品种的平均隶属度见表 4。参照前人研究的方法^[24-27]，结合大田实际情况，按照平均隶属度将抗寒性分为 3 级。I 级，0.60~1.00，为高抗寒品种；II 级，0.30~0.59，为中抗寒品种；III 级，0~0.29，为低抗寒品种。

表 3 不同甘蔗品种抗寒指标的相关性分析
Table 3 Correlation analyses among cold-resistance indices in different sugarcane varieties

指标 Index	叶绿素 Chlorophyll	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白质 Soluble protein	游离氨基酸 Free amino acid	脯氨酸 Proline	丙二醛 MDA
叶绿素 Chlorophyll	1					
可溶性糖 Soluble sugar	0.469*	1				
可溶性蛋白质 Soluble protein	0.122	-0.026	1			
游离氨基酸 Free amino acid	0.400	0.421	-0.044	1		
脯氨酸 Proline	0.270	0.386	-0.360	0.106	1	
丙二醛 MDA	-0.893**	-0.495*	0.180	-0.375	-0.446*	1

* 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著相关。
* and ** denote significance at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

表 4 不同甘蔗品种的隶属函数值
Table 4 Subordinate function (SF) values of different sugarcane varieties

甘蔗品种 Sugarcane variety	叶绿素 Chlorophyll	可溶性糖 Soluble sugar	游离氨基酸 Free amino acid	脯氨酸 Proline	丙二醛 MDA	平均隶属度 Average of SF	抗寒类型 Cold resistance
桂糖 28 GT28	0.66	1.00	0.78	0.87	0.64	0.79	高抗 HR
福农 15 FN15	0.79	0.66	0.49	0.94	1.00	0.77	高抗 HR
台优 1 号 TY1	1.00	0.56	0.71	0.80	0.76	0.77	高抗 HR
桂糖 21 GT21	0.65	0.57	1.00	0.84	0.74	0.76	高抗 HR
桂糖 02/469 GT02/469	0.83	0.33	0.95	0.11	0.72	0.59	中抗 MR
桂糖 02/237 GT02/237	0.45	0.69	0.37	0.82	0.43	0.55	中抗 MR
赣蔗 18 GZ18	0.49	0.43	0.41	1.00	0.36	0.54	中抗 MR
新台糖 16 ROC16	0.37	0.84	0.95	0.15	0.35	0.53	中抗 MR
桂糖 27 GT27	0.68	0.33	0.87	0.20	0.49	0.52	中抗 MR
桂糖 26 GT26	0.55	0.73	0.48	0.31	0.51	0.51	中抗 MR
桂糖 02/208 GT02/208	0.61	0.40	0.72	0.16	0.48	0.47	中抗 MR
桂糖 97/69 GT97/69	0.19	0.56	0.88	0.49	0.02	0.43	中抗 MR
台糖 28 TT28	0.57	0.60	0.19	0.35	0.39	0.42	中抗 MR
粤糖 00/236 YT00/236	0.27	0.52	0.51	0.26	0.13	0.34	中抗 MR
桂糖 02/133 GT02/133	0.55	0.26	0.00	0.17	0.47	0.29	低抗 LR
桂引 5 号 GY5	0.09	0.35	0.38	0.37	0.12	0.26	低抗 LR
桂糖 02/351 GT02/351	0.33	0.29	0.36	0.16	0.11	0.25	低抗 LR
新台糖 22 ROC22	0.21	0.29	0.21	0.34	0.10	0.23	低抗 LR
台糖 98/0432 TT98/0432	0.09	0.02	0.40	0.53	0.00	0.21	低抗 LR
园林 6 号 YL6	0.30	0.24	0.35	0.00	0.00	0.18	低抗 LR
台糖 98/2817 TT98/2817	0.00	0.00	0.29	0.41	0.16	0.17	低抗 LR

ASF 代表函数值的算术平均值。ASF represents the arithmetic mean value.

3 讨论

温度是作物生长发育过程中十分重要的生态因子，不同甘蔗品种对寒冷的抵抗能力是不同的。在自然降温过程中，甘蔗受到低温胁迫会发生形态及生理生化等方面的变化。叶绿素含量是反映植物光合作用能力的一个间接指标，叶绿体是植物体内冷敏感性很强的一个细胞器，低温胁迫致使植物叶片细胞膜透性增加，并使叶绿素合成过程受到抑制且叶绿体结构遭到破坏，长期低温还会导致叶绿素的分解加快，叶绿素含量降低^[29]。有研究报道，叶片叶绿素的稳定指数是鉴定作物抗寒性的指标之一^[30]。在本研究中，抗寒性较强的甘蔗品种桂糖 21、福农 15 和台优的叶绿素较稳定，分解较少；而抗寒性较弱的甘蔗品种如 ROC22 在低温胁迫下叶绿素分解较多，叶绿素含量降低严重。这与李茂枝^[4]和陈能武等^[5]的研究结果一致。

可溶性糖是植物细胞内重要的渗透调节物质，能增强细胞渗透势，降低细胞溶液的冰点，还可缓

冲细胞质过度脱水，保护细胞质胶体不致遇冷凝固，从而减少逆境胁迫对细胞的伤害，使植物适应外界环境的变化^[31]；可溶性糖还能清除羟自由基，抵抗逆境的伤害，以及间接诱导蛋白质的合成，提高植物的抗冷能力。可溶性糖含量在低温胁迫下积累是各种植物的抗寒性研究中普遍采用的抗寒性指标。可溶性糖及蛋白质的含量均与多数植物的抗寒性正相关^[32]。本试验表明，甘蔗在降温初始，可溶性糖含量大部分都降低，随着气温逐渐下降可溶性糖含量因品种不同而表现出升降的不同，抗寒性较强的品种，可溶性糖含量表现升高趋势，而抗寒性较弱的品种则表现继续降低的趋势。可能的原因是甘蔗在遭受到轻度寒害时，还没有激发出增加糖含量的机制，而且需要消耗大量的糖去维持正常的各种功能和代谢；在后期低温期间的可溶性糖含量，则表现为抗寒性强的品种比抗寒性弱的品种升高幅度更大。

可溶性蛋白与可溶性糖一样是一种保护物质，可溶性蛋白质含量与植物抗寒性在许多植物中表现出明显的正相关^[33]，这可能是由于植物体内蛋白质

合成的增加或降解的减少。本研究显示,不同抗寒性甘蔗品种间可溶性蛋白质含量在低温胁迫下没有一致的变化趋势,这可能是各品种遗传背景不同,以及大田自然环境中的复杂因素,所表现的变化并不一致造成的。综合对可溶性蛋白质的研究结果可以看出,蛋白质含量的变化与抗寒性的关系比较复杂,不同品种蛋白质合成对低温的响应机制可能不同,反映出了蛋白质的质变、量变与抗寒性发展的复杂关系。

脯氨酸作为细胞的渗透调节物在低温胁迫下可以增强细胞的持水力,起到保护植物组织的作用^[34]。在植株处于低温胁迫状态时,其体内的游离脯氨酸能维持细胞结构、细胞运输和调节渗透压等,以保持细胞内环境的相对稳定,使植株表现出一定的抗性。游离脯氨酸会在植物中大量积累来抵御各种环境胁迫^[35-36]。本试验中甘蔗叶片的游离氨基酸含量和脯氨酸含量在降温初始时保持较低水平,而在温度大幅度下降并持续较长时间时有明显的上升,而不同品种的升高幅度不同,说明游离氨基酸和脯氨酸含量的增加是甘蔗对寒冷适应的重要生理反应,它关系到甘蔗对低温的抵御能力,甘蔗抗寒性强的品种桂糖 21 的升高幅度最高,而抗寒性弱的桂糖 02/133 升高幅度最低。甘蔗植株体内脯氨酸含量的增加有利于提高其抗寒性,这与 Artus^[37]和李茂枝^[4]的报道一致。因此可以将甘蔗叶片内脯氨酸含量作为衡量甘蔗的抗寒性生理生化指标之一。

植物器官衰老时或在逆境条件下往往发生膜脂过氧化作用,丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物之一,其含量可以反映细胞膜脂过氧化程度及细胞遭受伤害的程度^[38]。在低温胁迫下,甘蔗体内活性氧自由基的积累超出一定限度时,就会引起膜脂过氧化,其产物 MDA 会大量积累^[39]。在本试验中,11 月份气温开始下降,各甘蔗品种还没有出现大量的 MDA,而后由于温度下降,MDA 的含量急剧上升,这可能是由于甘蔗在一定温度范围内还有一定的抵御能力,当温度持续下降时,甘蔗叶片细胞内膜脂过氧化加剧,损害了膜脂功能,MDA 含量增加。这与陈少裕^[14]和黄有总等^[11]报道的结果一致。

低温对甘蔗的影响是复杂的,不仅表现在形态上,同时也表现在生理生化过程中。由于供试品种不同,蔗株对低温的适应能力各异。因此,在进行甘蔗品种抗寒性鉴定时,不能使用单一的生理生化指标,而应以多个指标综合评价。隶属函数法已经成

功应用于葡萄^[24]、玉米^[25]、小麦^[40]、苜蓿^[41]等其他作物的抗逆性评价,并证明其对抗性筛选的可靠性。本研究综合前人的经验将隶属函数分析法应用于自然低温条件下的大田甘蔗抗寒性研究,应用多个生理指标对不同甘蔗品种进行综合抗寒性评价,提高了评价的准确性。这在理论和实践中都有一定的指导作用。

4 结论

不同甘蔗品种对长时间持续低温的反应各异,其中可溶性蛋白质含量迟钝,脯氨酸和 MDA 含量敏感;根据隶属函数法将供试品种划分为 3 级,其中 I 级高抗寒型 4 个品种,II 级抗寒型 10 个品种,III 级低抗寒型 7 个品种。选择多个生理生化指标,采用隶属函数法,综合评估甘蔗成熟期的抗寒性是可行的,可以较好地揭示指标性状与抗寒性的关系,为甘蔗生产提供参考依据。

致谢: 本工作得到广西甘蔗研究所杨荣仲研究员、朱秋珍研究员、王维赞副研究员和周会博士的热情帮助,特此致谢。

References

- [1] Li Y-R(李杨瑞). Springing up of sugarcane and sugar industry in China. *Guangxi Agric Sci* (广西农业科学), 2005, 36(1): 79-81
- [2] Li Y-R(李杨瑞). Discussion about the sugarcane sugar industry development in Guangxi after China's entry into WTO. *Guangxi Agric Sci* (广西农业科学), 2003, 34(1): 1-4 (in Chinese with English abstract)
- [3] Xu W-H(许文花), Yang Q-H(杨清辉). Advances in the research of cold resistance in sugarcane. *Sugarcane* (甘蔗), 2003, 10(3): 8-12 (in Chinese with English abstract)
- [4] Li M-Z(李茂枝). Study on cold resistance and control measures in sugarcane. *Sugar Crops China* (中国糖料), 1998, (2): 42-45 (in Chinese with English abstract)
- [5] Chen N-W(陈能武), Yang Z-R(杨荣仲), Wu C-W(吴才文). Studies on the technique of identification for freeze resistance in sugarcane. *Sugarcane Canesugar* (甘蔗糖业), 1996, (4): 1-9 (in Chinese with English abstract)
- [6] Zhang M-Q(张木清), Chen R-K(陈如凯), Lü J-L(吕建林). Effects of low temperature stress on the chlorophyll a fluorescence induction kinetics in the seedling of sugarcane. *J Fujian Agric Univ* (Nat Sci Edn) (福建农业大学学报·自然科学版), 1999, 28(1): 1-7 (in Chinese with English abstract)
- [7] Tan Z-K(谭宗琨), Ou Z-R(欧钊荣), He Y(何燕). Analysis of the major meteorological calamity and the research on optimum layout of cane sugar production in Guangxi. *Sugarcane Canesugar*

- (甘蔗糖业), 2006, (1): 17–21 (in Chinese with English abstract)
- [8] Zeng Z-Z(曾昭座), Wei J(韦坚), Wei R-H(韦日辉), Zhu X-Q(朱学群). Investigation of frost bitten sugarcane in Liujiang County. In: Proceedings of Annual Meeting of Guangxi Society of Sugarcane Technologists, 2008 (in Chinese)
- [9] Zhu Q-Z(朱秋珍). Study on the identification of cold resistance in sugarcane. *Guangxi Agric Sci* (广西农业科学), 1995, (6): 264–265 (in Chinese)
- [10] Yang R-Z(杨荣仲). A preliminary analysis on quality deterioration of several sugarcane varieties under natural frozen injury. *Sugarcane* (甘蔗), 1999, 6(2): 1–5 (in Chinese with English abstract)
- [11] Huang Y-Z(黄有总), Xu J-Y(徐建云), Chen C-J(陈超君), He Y-X(何银雪). Comparative tests on drought resistance and frost resistance of several new sugarcane varieties. *Guangxi Agric Sci* (广西农业科学), 2002, (2): 103–104 (in Chinese with English abstract)
- [12] Chen S-Y(陈少裕). Low temperature stress and peroxidation of membrane lipid in sugarcane. *J Fujian Agric Univ* (福建农学院学报), 1992, 21(1): 22–26 (in Chinese with English abstract)
- [13] Chen S-Y(陈少裕). Leaf senescence and membrane lipid peroxidation in sugarcane. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1992, 18(2): 111–115 (in Chinese with English abstract)
- [14] Chen S-Y(陈少裕). Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 1991, 27(2): 84–90 (in Chinese with English abstract)
- [15] Zhang M-Q(张木清), Chen R-K(陈如凯). Studies on the cold resistance in sugarcane: II: Change of the enzymes in seeding leaf under low temperature treatment in sugarcane. *J Fujian Agric Coll* (福建农学院学报), 1993, 22(1): 23–27 (in Chinese with English abstract)
- [16] Du Y C, Nose A, Wasano K. Effects of chilling temperature on photosynthetic rates, photosynthetic enzyme activities and metabolite levels in leaves of three sugarcane species. *Plant Cell Environ*, 1999, 22: 317–324
- [17] Ding C(丁灿). The Application of the Determination of the Electrical Conductivity and the Breast of Ammonia Acid on Identification of Cold Resistance in Wild Germplasm Resources of Sugarcane Kunming. MS Dissertation of Yunnan Agricultural University, 2001 (in Chinese with English abstract)
- [18] Nogueira F T S, De Rosa V E, Menossi M, Ulian E C, Arruda P. RNA expression profiles and data mining of sugarcane response to low temperature. *Plant Physiol*, 2003, 132: 1811–1824
- [19] Li H-S(李合生). Plant Physiology and Biochemistry Experiment Principle and Technology (植物生理生化实验原理与技术). Beijing: Higher Education Press, 2000 (in Chinese)
- [20] Zou Q(邹琦). Guidance for Plant Physiology Experiments (植物生理学实验指导). Beijing: China Agriculture Press, 2000, p 113 (in Chinese)
- [21] Yang L, Felix F B, Lin H, Walker A. Identification and characterization of proteomic Expression of grapevines in response to *Xylella fastidiosan*. In: The Annual Meeting of the American Society of Plant Biologists, August 5-9, Boston, Massachusetts, 2006. p 174
- [22] Bigiduoque X H, Jing J-H(荆家海), Ding Z-R(丁钟荣) trans. Analysis Methods of Plant Biochemistry (植物生物化学分析方法). Beijing: Science Press, 1981. pp 95–101 (in Chinese)
- [23] Liu Z-Q(刘祖祺), Zhang S-C(张石城). Plant Resistant Physiology. Beijing: China Agriculture Press, 1994. p 369 (in Chinese)
- [24] Zhang W-E(张文娥), Wang F(王飞), Pan X-J(潘学军). Comprehensive evaluation on cold hardiness of vitis species by subordinate function (SF). *J Fruit Sci* (果树学报), 2007, 24(6): 849–853 (in Chinese with English abstract)
- [25] Xu G-F(许桂芳), Zhang C-Y(张朝阳), Xiang Z-X(向佐湘). Comprehensive evaluation of cold resistance on four *Lysimachia* plants by subordinate function values analysis. *J Northwest For Univ* (西北林学院学报), 2009, 24(3): 24–26 (in Chinese with English abstract)
- [26] Han R-H(韩瑞宏), Lu X-S(卢欣石), Gao G-J(高桂娟), Yang X-J(杨秀娟). Analysis of the principal components and the subordinate function of alfalfa drought resistance. *Acta Agrestia Sin* (草地学报), 2006, 14(2): 142–146 (in Chinese with English abstract)
- [27] He X-Y(何雪银), Wen R-L(文仁来), Wu C-R(吴翠荣), Zhou J-G(周锦国). Analysis of maize drought resistance at seeding stage by fuzzy subordination method. *Southwest China J Agric Sci* (西南农业学报), 2008, 21(1): 52–56 (in Chinese with English abstract)
- [28] Zhang J-L(张吉立), Liu Z-P(刘振平), Bi H(毕海), Wang P(王鹏), Chen Y-J(陈雅君). Comparative study on the cold-resistance of four species of color-leafed plants under drop in temperature. *J Shanxi Agric Sci* (山西农业科学), 2009, 37(7): 44–47 (in Chinese with English abstract)
- [29] Wang G-L(王国莉), Gou Z-F(郭振飞). Responses of photorespiration to chilling stress in rice with different chilling tolerance. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2005, 31(5): 673–676 (in Chinese with English abstract)
- [30] Ma C-P(马春平), Song L-P(宋丽萍), Cui G-W(崔国文). Chilling: A comparative study of physiological indices. *Heilongjiang Anim Sci Vet Med* (黑龙江畜牧兽医), 2006, (6): 47–48 (in Chinese with English abstract)
- [31] Li R-Q(利容千), Wang J-B(王建波). Cell and Physiology of Plant Stress (植物逆境细胞及生理学). Wuhan: Wuhan University Press, 2002. pp 160–164 (in Chinese)
- [32] Luo H-L(罗焕亮), Xu W-L(徐位力), Li J-Z(李建忠), Ma Q-L(马庆良), Cui T-B(崔堂兵), Huang Z-L(黄卓烈). Study on the acceptance of *Acacia mangium* to low temperature stress. *J South China Agric Univ* (华南农业大学学报: 自然科学版), 2002, 23(2): 51–53 (in Chinese with English abstract)
- [33] Jian L-C(简令成). Advances of the studies on the mechanism of plant cold hardiness. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 1992, 9(3): 17–22 (in Chinese)
- [34] Liu H-Y(刘慧英), Zhu Z-J(朱祝军), Lü G-H(吕国华), Qian

- Q-Q(钱琼秋). Study on relationship between physiological changes and chilling tolerance in grafted watermelon seedlings under low temperature stress. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2003, 36(11): 1325–1329 (in Chinese with English abstract)
- [35] Jiang M-Y(蒋明义), Guo S-Q(郭绍川), Zhang X-M(张学明). Proline accumulation in rice seedlings exposed to oxidative stress in relation to antioxidation. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 1997, 23(4): 347–352 (in Chinese with English abstract)
- [36] Bai B-Z(白宝璋), Ren Y-X(任永信), Bai S(白嵩). Plant Physiology and Biochemistry, 2nd edn (植物生理学, 第 2 版). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2003. pp 257–279 (in Chinese)
- [37] Artus N N, Uemura M. Constitutive expression of the cold-regulated *Arabidopsis thaliana* COR15, a gene affects both chloroplast and protoplast freezing tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 13404–13409
- [38] Robert R C, Bewlery J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiol*, 1980, 65: 245–248
- [39] Stewart C R, Larher F. Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. *Biochem Plant*, 1980, 5: 609–635
- [40] Chen R-M(陈荣敏), Yang X-J(杨学举), Liang F-S(梁凤山), Lu S-Y(卢少源), Zhang R-Z(张荣芝), Zhao H-R(赵华荣). Comprehensive evaluation on wheat drought-resistance traits by subordinate function values analysis. *J Agric Univ Hebei* (河北农业大学学报), 2005, 25(2): 7–9 (in Chinese with English abstract)
- [41] Wei Y-S(魏永胜), Liang Z-S(梁宗锁), Shan L(山仑), Zhang C-L(张辰露). Comprehensive evaluation on alfalfa drought-resistance traits by subordinate function values analysis. *Pratac Sci* (草业科学), 2005, 22(6): 33–36 (in Chinese with English abstract)