

文章编号: 1001-1498(2010)01-0147-04

4 种地锦属植物半致死低温及抗寒生理指标研究

杨学军^{1,2}, 孙振元^{1*}, 韩 蕾¹, 巨关升¹, 彭镇华¹

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091;

2. 北京草业与环境研究发展中心, 北京 100097)

关键词: 地锦属; 半致死低温; 水分饱和亏; 可溶性糖; 可溶性蛋白; 丙二醛; 脯氨酸

中图分类号: S731.2

文献标识码: A

Study on Semi-lethal Low Temperatures and Physiological Index for Cold Resistance of Four *Parthenocissus* Species

YANG Xue-jun^{1,2}, SUN Zhen-yuan^{1*}, HAN Lei¹, JU Guan-sheng¹, PENG Zhen-hua¹

(1 Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration,

Beijing 100091, China; 2. Beijing Research and Development Center for Grass and Environment, Beijing 100097, China)

Abstract: Treated by freezing, 1-year-old dormant branches of four *Parthenocissus* species were used as test materials to determine the electro-conductivities. According to Logistic equation fitting, the semi-lethal low temperatures were calculated. The result showed that the semi-lethal low temperatures and freezing tolerance of the examined species were ranked as: *Parthenocissus quinquefolia* (- 16.63), *P. tricuspidata* (- 10.78), *P. laetevirens* (- 10.29), and *P. henryana* (- 7.72). By comparing several physiological indexes including water saturation deficit, soluble sugar, soluble protein, MDA, and proline contents, it was found that after cold stressing for a whole winter the soluble sugar and proline contents were well correlated to semi-lethal low temperatures. So both of them could be used as the physiological indexes for cold tolerance identification and selection of cold-resistant variety.

Key Words: *Parthenocissus*; semi-lethal low temperature; water saturation deficit; soluble sugar; soluble protein; MDA; proline

地锦属植物是城市立体绿化、荒山荒漠绿化的优良材料。我国野生地锦属植物有 9 个种,栽培中常用的只有地锦 (*Parthenocissus tricuspidata* (Sieb. & Zucc.) Planch.) 和五叶地锦 (*P. quinquefolia* (L.) Planch.)^[1]。中国林业科学研究院引种的川鄂爬山虎 (*P. henryana* Hemsl.)、绿爬山虎 (*P. laetevirens* Rehd.) 已连续 3 年在院内试验地露地越冬,但对其抗寒性研究国内外未见报道。以电解质外渗率研究植物抗寒性是最有效手段之一^[2],电解质外渗率结

合 Logistic 曲线方程推导半致死低温能准确地反映植物耐受的低温极限,在园林植物抗寒性研究中得到验证并已广泛应用^[2-4]。为确定地锦属植物的抗寒性,本文以 4 种地锦属植物 1 年生休眠枝为材料,研究不同低温处理条件下枝条的电解质外渗率,结合 Logistic 方程计算半致死低温,研究还筛选出与地锦属植物抗寒相关性较高的生理指标,为地锦属植物引种、育种和栽培应用提供理论依据。

收稿日期: 2009-09-16

基金项目: 国家科技支撑计划“优质抗逆专用地锦新品种选育”(2006BAD01A19-5)

作者简介: 杨学军(1974—),男,内蒙赤峰人,助理研究员,博士,从事园林植物生理生态学研究。

* 通讯作者: 孙振元,研究员,博士生导师, E-mail: Sunzy@263.net

1 材料与方 法

1.1 试验材料

中国林业科学研究院院内试验地地锦、五叶地锦、川鄂爬山虎、绿爬山虎的1年生休眠枝。

1.2 试验方法

1.2.1 地锦属植物枝条低温处理 2007年3月1日选取生长一致、叶芽饱满的1年生枝条,剪成10~15 cm枝段,保留2个芽,用自来水冲洗干净,然后用蒸馏水冲洗3次,吸干水分后,装入聚乙烯袋中,分别置于设定温度为0、-5、-10、-15、-20、-25、-30、-35 的低温冰箱中,低温处理24 h。以0 冰箱中保存的枝条为对照(CK),每种低温处理10根枝条,3次重复。

1.2.2 电解质外渗率(REC)测定^[5] 随机取每种低温处理的3根枝条,剪成1 cm小段,称2 g于50 mL三角瓶中,加20 mL蒸馏水,真空渗入10 min,3 000转离心10 min后,用DDS-12DW型电导仪测定电导值 R_1 ;之后将三角瓶封口置于高压锅内105 煮10 min,取出冷却后离心10 min,测定电导值 R_2 。

电解质外渗率 = $(R_1/R_2) \times 100\%$ 。

1.2.3 萌芽率的测定 取每种低温处理的7根枝条,在人工气候箱中25 条件下水培,调查累计20 d的发芽数。

1.2.4 地锦枝条生理指标测定^[11]

(1) 水分饱和亏(WSD)的测定^[6]:选取生长一致、叶芽饱满的1年生枝条,剪成15~20 cm枝段,分3组,每组6个,称鲜质量 W_f ,在密闭黑暗处吸水24 h称其饱和质量 W_s ,再放于烘箱烘干后称其干质量 W_d 。 $WSD = (W_f - W_d) / (W_s - W_d)$ 。

(2) 可溶性蛋白质含量的测定:采用紫外吸收法^[5]。

(3) 可溶性糖含量的测定:采用蒽酮比色法^[5]。

(4) 丙二醛含量的测定:采用硫代巴比妥酸(TBA)显色法^[5]。

(5) 脯氨酸含量的测定:采用茚三酮显色法^[5]。

1.3 数据分析

用SPSS软件进行方差分析。

采用OriginPro7.0软件将电解质外渗率拟合成Logistic曲线方程^[5]。电解质外渗率变化曲线为“S”形,求出曲线的拐点温度能较准确地估计出植物组织损伤的起始温度(LT_{10})、半致死温度(LT_{50})和组织细胞膜接近全透性时的致死温度。Logistic方程

拟合公式为:

$$y = a / (1 + be^{-kt})$$

式中: y 为电解质外渗率, t 为处理温度, k 为电解质外渗的饱和容量, a 、 b 为方程参数。

对Logistic方程求二阶、三阶导数,并令 $d^2y/dt^2 = 0$, $d^3y/dt^3 = 0$,则得到:

$$t_1 = (\ln b) / k$$

$$t_2 = [\ln(b/3.7321)] / k$$

$$t_3 = [\ln(b/0.2680)] / k$$

t_1 为电解质外渗率随温度下降而增加最快时的温度; t_2 、 t_3 为Logistic曲线的2个拐点,分别代表组织损伤的起始温度(LT_{10})和组织细胞膜接近全透时的温度^[6]。

2 结果与分析

2.1 半致死低温分析

2.1.1 低温处理对枝条萌芽率的影响分析 地锦、五叶地锦、川鄂爬山虎、绿爬山虎枝条经过低温处理后枝条萌芽率明显降低,萌芽率低于50%时的温度即植物半致死低温^[7]。从图1可以看出:4种地锦属植物分别在-15、-20、-10、-10 时枝条的萌芽率低于50%。当温度为-25时地锦的萌芽率为12.5%,温度为-35 时五叶地锦的萌芽率仍有5%,而川鄂爬山虎和绿爬山虎在-20 时就失去萌芽能力,说明地锦和五叶地锦比川鄂爬山虎和绿爬山虎耐低温。

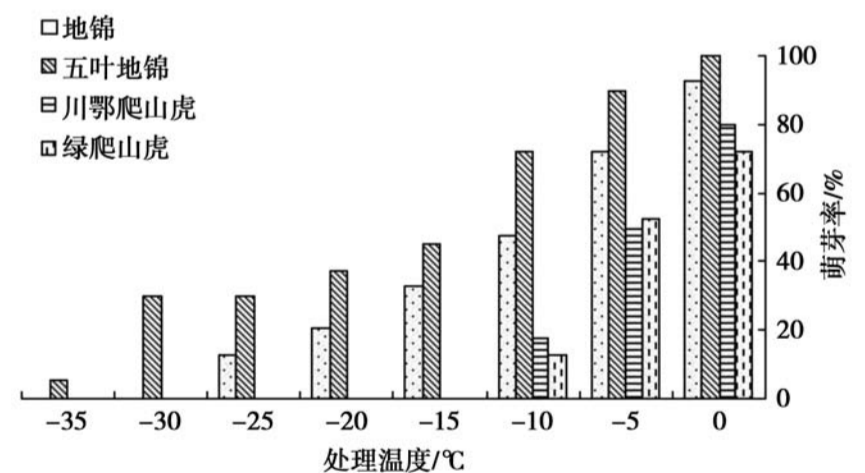


图1 低温处理对4种地锦属植物枝条萌芽率的影响

2.1.2 电解质外渗率 Logistic 曲线方程拟合分析

相对电导率达到50%时的温度可以作为枝条的半致死低温^[8],从图2可以看出:地锦、五叶地锦、川鄂爬山虎、绿爬山虎枝条分别在-20、-25、-15、-15 时电解质外渗率超过50%。

4种地锦属植物枝条的电解质外渗率随低温处理温度的降低均呈“S”形上升(图2)。用Logistic方程对实验数据进行拟合,得出地锦、五叶地锦、川

鄂爬山虎、绿爬山虎方程参数, 计算出枝条的组织伤害起始温度分别为 - 2.67、- 5.92、- 2.77、- 2.65 ; 半致死低温分别为 - 10.78、- 16.63、- 7.72、

- 10.29 ; 细胞膜接近全透时温度分别为 - 18.92、- 27.33、- 12.67、- 17.96 。

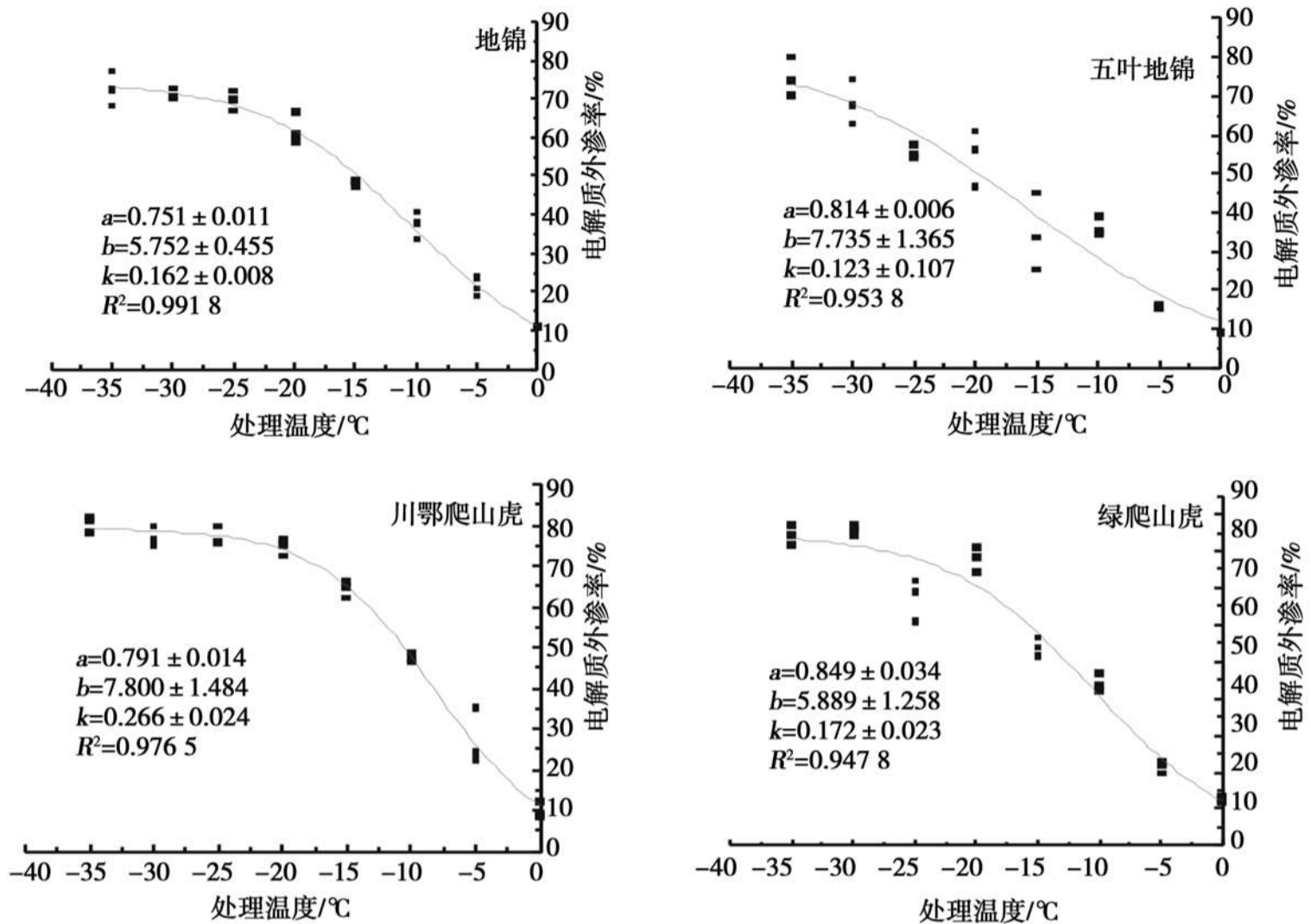


图 2 不同低温处理 4 种地锦属植物休眠枝条电解质外渗率变化 Logistic 方程拟合曲线

2.2 4 种地锦属植物休眠枝条生理指标与抗寒性相关性分析

由表 1、2 可以看出: 4 种地锦属植物水分饱和亏与半致死低温相关系数为 0.725, 五叶地锦水分饱和亏为 9.21%, 显著低于其他 3 种地锦。可溶性糖含量与半致死低温相关系数为 - 0.945, 五叶地锦干叶可溶性糖含量为 $139.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 显著高于地锦 ($101.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 地锦显著高于川鄂爬山虎。可溶性蛋白含量与半致死低温相关系数为 - 0.806, 五叶

地锦和地锦鲜叶的可溶性蛋白含量分别为 29.96 、 $28.52 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 显著高于绿爬山虎和川鄂爬山虎。丙二醛含量与半致死低温相关系数为 - 0.861, 五叶地锦、地锦的丙二醛含量与绿爬山虎的差异均不显著, 但显著高于川鄂爬山虎。脯氨酸含量与半致死低温相关系数为 - 0.901, 五叶地锦和地锦鲜叶的脯氨酸含量分别为 0.832 、 $0.714 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 显著高于绿爬山虎和川鄂爬山虎。

表 1 4 种地锦属植物半致死低温与生理指标的相关性

生理指标	水分饱和亏	可溶性糖	可溶性蛋白	丙二醛	脯氨酸
相关性	0.725	- 0.945	- 0.806	- 0.861	- 0.901

表 2 4 种地锦属植物抗寒生理指标的多重比较

测试指标	水分饱和亏 / %	可溶性糖 / $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	可溶性蛋白 / $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	丙二醛 / $(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	脯氨酸 / $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$
五叶地锦	9.21 ± 5.52 b	139.8 ± 15.5 a	29.96 ± 4.07 a	10.33 ± 4.77 a	0.832 ± 0.07 a
地锦	20.37 ± 2.47 a	101.3 ± 5.78 b	28.52 ± 2.71 a	9.24 ± 1.82 a	0.714 ± 0.15 a
绿爬山虎	31.26 ± 14.12 a	114.5 ± 6.84 bc	16.47 ± 4.18 b	7.84 ± 2.09 ab	0.528 ± 0.04 b
川鄂爬山虎	21.30 ± 11.60 a	95.1 ± 3.42 c	10.65 ± 4.33 b	4.70 ± 3.35 b	0.449 ± 0.03 b

注: $P < 0.05$ 。

3 结论与讨论

以低温处理的 4 种地锦属植物的枝条萌芽率估算的半致死低温与电解质外渗率结合 Logistic 曲线方程计算的致死温度较一致。根据半致死低温得出 4 种地锦属植物抗寒性由大到小的顺序是: 五叶地锦、地锦、绿爬山虎、川鄂爬山虎。本研究取样时, 地锦属植物已解除自然休眠, 进入强迫休眠期。五叶地锦、地锦、绿爬山虎、川鄂爬山虎半致死低温分别为 - 16.63、- 10.78、- 10.29、- 7.72。北京 3 月份极端低温为 - 10^[9], 五叶地锦、地锦、绿爬山虎在北京地区不会受到冻害, 而川鄂爬山虎可能会受冻害, 不适宜大面积应用。

可溶性糖和脯氨酸与地锦属植物半致死低温均为负相关, 相关系数分别为 - 0.945、- 0.901, 能较准确地反应植物抗寒性大小, 可作为地锦属植物抗寒性鉴定和抗寒种质筛选的生理指标。这与其他学者对珙桐(*Davidia involucrate* Baill.)^[10]、葡萄(*Vitis vinifera* L. Fl. Sp.)^[11]、乐昌含笑(*Michelia chapensis* Dandy.)^[12]、菊花(*Dendranthema morifolium* Tzvel.)^[13]、马蹄金(*Dichondra repens* Forst.)^[14]、无花果(*Ficus carica* Linn. Sp. Pl.)^[15]、大叶黄杨(*Buxus megistophylla* Levl.)^[16]的研究结果相同, 但也有研究与本文研究结果不同, 文献[17 - 21]认为以可溶性蛋白或丙二醛含量做为抗寒性筛选指标更为可靠。可溶性糖可提高细胞的渗透浓度、降低水势、增加保水能力, 从而使冰点下降^[22]。脯氨酸含有亚氨基, 能促进蛋白质水合作用, 维持细胞结构, 调节渗透势, 许多植物在低温胁迫时体内游离脯氨酸出现异常的大量积累^[23]。

参考文献:

- [1] 李正红. 地锦与五叶地锦种质创新研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2005: 3 - 4
- [2] 张 钢. 国外木本植物抗寒性测定方法综述[J]. 世界林业研究, 2005, 18(5): 14 - 18
- [3] 徐 康, 夏宜平, 徐碧玉, 等. 以电导法配合 Logistic 方程确定茶梅‘小玫瑰’的抗寒性[J]. 园艺学报, 2005, 32(1): 148 - 150
- [4] 缴丽莉, 路丙社, 白志英, 等. 四种园林树木抗寒性的比较分析

- [J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 667 - 670
- [5] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 100 - 144, 208 - 215
- [6] 李彦慧, 佟爱民, 刘冬云, 等. 廊坊杨抗寒性研究[J]. 河北农业大学学报, 2005, 28(4): 23 - 26, 47
- [7] Repo T, Lappi J. Estimation of standard error of impedance—estimated frost resistance[J]. Scandinavian Journal of Forest Research, 1989, 4: 67 - 74
- [8] Luoranen J, Repo T, Lappi J. Assessment of the frost hardiness of shoots of silver birch (*Betula pendula*) seedlings with and without controlled exposure to freezing[J]. Canadian Journal of Forest Research, 2004, 34(5): 1108 - 1118
- [9] 《中国农业气象情报年鉴》编委会. 中国农业气象情报年鉴(1990年卷)[M]. 北京: 气象出版社, 1991: 112
- [10] 彭红丽, 苏智先. 低温胁迫对珙桐幼苗的抗寒性生理生化指标的影响[J]. 汉中师范学院学报, 2004, 24(2): 50 - 53
- [11] 牛锦凤, 王振平, 李 国, 等. 几种方法测定鲜食葡萄枝条抗寒性的比较[J]. 果树学报, 2006, 23(1): 31 - 34
- [12] 李晓储, 万志州, 黄利斌, 等. 乐昌含笑引种育苗技术研究[J]. 林业科技开发, 2001, 15(3): 14 - 15
- [13] 郑 路, 傅玉兰, 陈树桃, 等. 菊花抗寒性与营养特性的研究[J]. 园艺学报, 1994, 21(2): 185 - 188
- [14] 李 君, 周守标, 黄文江. 马蹄金野生种与栽培种在自然降温过程中的抗寒性研究[J]. 草业科学, 2005, 22(6): 105 - 107
- [15] 姜卫兵, 王业遴, 马 凯. 渗透保护物质在无花果抗寒性发育中的作用[J]. 园艺学报, 1992, 19(4): 371 - 372
- [16] 熊佑清, 李崇涛, 刘晓辉. 大叶黄杨的抗寒性及其应用研究[J]. 中国园林, 2004, 20(4): 35 - 38
- [17] 何若韞, 王光洁. 植物寒冷驯化的机理. 植物生理生化进展[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 17 - 29
- [18] Kazuoka T, Oeda K. Heat-stable COR (cold-regulated) proteins associated with freezing tolerance in spinach[J]. Plant Cell Physiol, 1992, 33(8): 1107 - 1114
- [19] 王永红, 李纪元, 田 敏, 等. 低温胁迫对山茶物种 2 个抗寒性生理指标的影响[J]. 林业科学研究, 2006, 19(1): 121 - 124
- [20] 高志红, 章 镇, 韩振海. 果梅种质枝条抗寒性鉴定[J]. 果树学报, 2005, 22(6): 709 - 712
- [21] 林善枝, 李雪平, 张志毅. 低温锻炼对毛白杨幼苗抗冻性和总可溶性蛋白质的影响[J]. 林业科学, 2002, 38(6): 137 - 141
- [22] Gatschet M J, Taliaferro C M, Anderson J A, et al. Cold Acclimation and Alterations in Protein Synthesis in Bermudagrass Crowns[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1994, 119(3): 477 - 480
- [23] Sagisaka S, Araki T. Amino acid pools in perennial plants at the wintering stage and at the beginning of growth[J]. Plant and Cell Physiol, 1983, 24(3): 479 - 494