

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2021.02.014

5个观赏雷竹变型对低温胁迫的生理响应

杨振亚¹, 赵建诚¹, 袁金玲², 王波¹, 李琴^{1*}, 周本智²

(1. 浙江省林业科学研究院, 浙江省竹类研究重点实验室, 浙江 杭州 310023;

2. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400)

摘要: [目的] 比较不同程度低温胁迫对5个观赏雷竹变型生理指标的影响, 研究不同雷竹变型的低温耐生理特性, 为观赏雷竹引种和栽培提供技术依据。[方法] 将5个雷竹变型叶片于7个温度(0、-5、-10、-15、-20、-25、-30℃)下处理24 h, 测定叶片相对电导率、抗氧化酶活性(超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT))以及可溶性蛋白、丙二醛(MDA)和脯氨酸含量。经Logistic方程拟合获得5个雷竹变型的半致死温度(LT_{50}), 通过主成分分析(PCA)和冗余分析(RDA), 探究5个雷竹变型的生理指标与温度的相关性以及抗寒能力。[结果] 5个雷竹变型的相对电导率曲线均符合典型的“S”型曲线, LT_{50} 为弯秆雷竹(-18.73℃) < 细叶乌头雷竹(-17.09℃) < 黄条雷竹(-16.98℃) < 黄皮雷竹(-16.82℃) < 花秆雷竹(-14.57℃)。5个雷竹变型抗氧化酶活性及可溶性蛋白、MDA、脯氨酸含量均随温度的下降呈先上升后下降的趋势。可溶性蛋白和脯氨酸在第1主成分中载荷量较高, 而SOD和POD活性在第2主成分中载荷较高。[结论] 5个雷竹变型耐寒性综合排名为: 弯秆雷竹 > 细叶乌头雷竹 > 黄皮雷竹 > 黄条雷竹 > 花秆雷竹。渗透调节物质(可溶性蛋白和脯氨酸)和抗氧化酶(SOD和POD)在雷竹耐寒过程中发挥主要作用。

关键词: 观赏竹; 雷竹; 耐寒性; 综合评价

中图分类号: S718.43

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2021)02-0131-10

低温是限制植物生长发育和影响植物地理分布的主要环境因素之一^[1]。由于纬度和地形的差异, 低温限制成为优良林木品种引种和培育迫切需要解决的难题^[2-3]。植物通过自身的生理和形态的可塑性来提高在低温条件下的适应性^[1, 4], 如抗氧化酶系统(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶)将在低温条件下被激活以抵御超氧自由基的毒害^[5-6]; 植物组织中可溶性蛋白、非结构性碳水化合物以及游离脯氨酸含量的增加也可提高细胞液渗透势, 降低冰点, 从而有效地避免细胞液结冰^[7-8]。由于树种对低温的耐受能力不同, 了解目标树种的耐寒极限在林木培育和良种引进过程中尤为重要。当植物受到低温胁迫时, 电解质因细胞膜被破坏而大量外渗, 通过测定组织电导率可判定植物受低温伤害程

度^[9-11]。然而, 判断引进树种是否适合引种地栽培仍然需要根据生理指标进行综合判定^[12]。

雷竹(*Phyllostachys praecox* C. D. Chu et C. S. Chao ‘Prevernalis’) 隶属禾本科(Gramineae)刚竹属(*Phyllostachys* Sieb. et Zucc.), 是早竹的栽培变型。雷竹易栽培、产量高、竹笋品质好, 是我国长江以南地区重要的笋用竹种, 具有较高的经济价值和生态服务价值^[13]; 同时, 具有特殊的秆形、叶形、秆色的雷竹变型也极具观赏价值; 但选育优良观赏雷竹品种并推广栽培需要对雷竹的生长习性、抗逆能力进行综合评价。目前, 关于观赏竹对环境因子的适应性研究主要包括温度^[14-15]、水分^[16-17]、养分^[18-19]等方面, 通过综合评价的方法筛选出一些抗逆性较好的观赏竹品种, 如耐旱性较好的黄秆京

收稿日期: 2020-05-09 修回日期: 2020-10-24

基金项目: 浙江省农业(林木)新品种选育重大科技专项(2016C02056-8)

* 通讯作者: 李琴. E-mail: 673343742@qq.com

竹 (*Ph. aureosulcata* McClure ‘Aureocarlis’), 耐寒性较好的平安竹 (*Pseudosasa japonica* var. *tsusumiana* Yanagita) 和金镶玉竹 (*Ph. aureosulcata* McClure ‘Spectabilis’) 等。关于雷竹适应性的研究主要包括经营措施^[20]、养分^[21]、水分^[22]、土壤盐碱度^[23]等方面, 而针对观赏雷竹品种耐寒性的研究还相对匮乏。因此, 本研究对 5 个具有良好观赏性表型的雷竹变型进行低温胁迫试验, 采用 Logistic 方程拟合、主成分分析等方法对其耐寒性进行综合评价, 以期对观赏性雷竹的引种和培育提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验材料取自浙江省杭州临安太湖源观赏竹种园有限公司竹种园 (119°95' E, 29°48' N), 该地地处浙江省西北部, 亚热带季风气候区南缘, 温暖湿润, 光照充足, 年均降水量 1613.9 mm, 年均气温 13~22℃, 无霜期平均为 237 d, 受台风、寒潮

和冰雹等灾害性天气影响。本研究的 5 个观赏雷竹变型均于 2016 年引种栽培, 基本信息见表 1。每个品种以同样的种植密度定植于 20 m² 的样地内。采用同样的田间管理方式 (灌溉、除草等), 以保证各品种生长条件基本一致。

1.2 试验方法

于 2019 年 9 月随机采集 5 个观赏雷竹变型标准木的功能叶 10 g, 置于 0~2℃ 冰盒中带回实验室。将叶片用清水洗净并用吸水纸擦干表面水分备用。试验设置 0、-5、-10、-15、-20、-25、-30℃ 7 个温度梯度, 将等量的叶片分为 7 个试验组分别进行不同温度处理, 处理时间 24 h, 每个试验组 3 次重复。用超低温冷冻循环仪 (DX-4015, 北京长流科学仪器有限公司) 以 5℃·h⁻¹ 逐渐降温到设置温度, 处理完毕后, 以 5℃·h⁻¹ 逐渐升温至 0℃, 然后在 0℃ 冰箱内保存待测, 待测时间小于 1 h。

叶片细胞膜损害程度测定: (1) 相对电导率

表 1 5 个雷竹品种基本信息
Table 1 Basic information of 5 varieties

变种 Varieties	引种来源 Source	表型 Phenotype				观赏性表型 Ornamental phenotype
		株高 Plant height/ m	地径 Basal diameter/ mm	胸径 Diameter at breast height/mm	枝下高 Under branch height/m	
黄条雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. Notata	浙江临安 Lin'an, Zhejiang	5.28 ± 1.17	34.7 ± 7.87	33.5 ± 0.75	2.16 ± 0.82	竹秆主体为绿色, 节间分枝一侧沟槽内具黄色条纹 The main body of bamboo stalk is green with yellow stripe in one side groove of internode branch
黄皮雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. Chrysoerma	浙江临安 Lin'an, Zhejiang	2.30 ± 0.44	25.9 ± 5.13	22.0 ± 6.49	1.14 ± 0.15	竹秆和竹枝为黄色, 基部节间偶有绿色纵条纹 Bamboo stalks and branches are yellow, with occasional green longitudinal stripes between basal nodes
弯秆雷竹 <i>Ph. praecox</i> cv. Linanensis	浙江临安 Lin'an, Zhejiang	3.03 ± 0.75	26.3 ± 0.11	24.1 ± 12.2	1.32 ± 0.45	竹节节间呈一定幅度弯曲 The internodes of bamboo are bent at a certain degree
花秆雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. Viridisulcata	浙江临安 Lin'an, Zhejiang	5.29 ± 90.5	41.3 ± 9.75	37.1 ± 11	2.18 ± 0.7	竹秆黄色, 间分枝一侧沟槽为绿色, 且沟槽外有绿色细纵条纹; 部分叶片淡白色纵条纹; 竹箨淡黄褐色 The bamboo stalk is yellow, the groove on the side of the branch is green, and the bamboo pole except the groove has green and fine longitudinal stripes; some leaves are light white and longitudinal stripes; the bamboo stem is yellowish brown
细叶乌头雷竹 <i>Ph. praecox</i> 'Xiyewutouleizhu'	浙江临安 Lin'an, Zhejiang	2.74 ± 0.49	39.7 ± 9.47	38.88 ± 9.95	1.47 ± 0.38	叶细而窄呈瓦状上翘, 边缘略反转, 笋壳乌褐色 The leaves are thin, narrow and upturned like tiles. The upward reversed slightly at the edge of the leaf. The shell of bamboo shoot is dark brown.

(*REC*): 取待测叶片用打孔器制成大小相同的圆片, 随机选取形状完整的20片, 放置于试管底部, 加入20 mL去离子水, 然后将试管放入真空干燥箱中用真空抽气3次, 每次20 min, 常温下放置6 h, 期间每30 min振荡一次试管, 用电导率仪(STARTER3000C, 浙江纳德科学仪器有限公司)测定电导率值 S_1 , 再将试管置于水浴锅中沸水浴40 min后冷却, 在常温下稳定30 min后测定电导率值 S_2 。以去离子水电导率值 S_0 作为对照。根据公式 $REC = (S_1 - S_0) / (S_2 - S_0)$ 计算相对电导率。(2)丙二醛(MDA)含量用硫代巴比妥酸(TBA)显色法测定。

叶片抗氧化酶活性测定: 超氧化物歧化酶(SOD)采用氮蓝四唑法(NBT法)测定; 超氧化物酶(POD)的活性采用愈创木酚法测定; 过氧化氢酶(CAT)采用紫外吸收法测定。

渗透调节物质测定: 分别测定可溶性蛋白和脯氨酸含量分析雷竹在低温条件下的生理可塑性。可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝染色法测定; 脯氨酸含量采用酸性茚三酮比色法测定。以上生理指标均参照李合生的植物生理试验方法^[24]。

1.3 数据处理

1.3.1 Logistic方程的建立和 LT_{50} 确定 运用SPSS17.0软件将相对电导率拟合Logistic方程 $y = k / (1 + ae^{-bx})$, 后将获得的参数计算后得出低温半致死温度(LT_{50})。公式中 x 为处理温度, y 代表相对电导率, k 、 a 、 b 为参数, k 为 y 的最大极限值, b 反映了 x 与 y 之间的对应关系, a 表示曲线对原点的相对位置, 如果 y 为累计频率, 则常数 k 为1^[25]。当方程曲线出现拐点时的温度即为引起膜不可逆伤害的临界点, 可用来确定植物组织的 LT_{50} , 从而定量判断5个雷竹变型的抗寒能力^[26]。为了方便对 a 、 b 求解, 对原拟合方程进行线性化: 令 $y^1 = \ln[(k-y)/y]$, 则 $y^1 = -bx + \ln a$, 从而将Logistic方程转化为 y^1 与处理温度 x 之间的直线方程, 再运用SPSS 17.0软件进行线性拟合可求出 a 、 b 值以及相关系数 R , 而 $LT_{50} = (\ln a) / b$ ^[27]。

1.3.2 隶属函数值的计算 根据模糊数学的隶属函数法计算5个雷竹变型耐寒性的隶属函数值, 从而得到综合排名。隶属函数值可根据公式求出: 当指标与耐寒性呈正相关时(如抗氧化酶活性、可溶性蛋白和脯氨酸含量), $U_{ijk} = (X_{ijk} - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$; 而指标与耐寒性呈负相关时(如相对电导率

和MDA含量), $U_{ijk} = 1 - (X_{ijk} - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$, 其中, i 代表竹种, j 代表温度, k 代表指标, U_{ijk} 为第 i 个竹种在第 j 个温度处理下第 k 项指标的隶属函数值, X_{\min} 表示所有竹种所有温度下第 k 项指标的最小值, X_{\max} 表示第 k 项指标的最大值^[2]。

1.3.3 差异性分析(ANOVA)及主成分分析(PCA) 对所有生理指标用SPSS 17.0软件进行双因素方差分析(ANOVA), 采用Canoco 5.0软件进行主成分分析(PCA)和冗余分析(RDA), 确定生理指标变化的主分量, 计算其载荷值, 并分析各生理指标与温度间的相关性。根据主成分分析结果计算生理参数的主成分载荷量, 从而确定影响雷竹耐寒性的主要生理参数。运用Origin 9.0软件进行图表绘制。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对5个雷竹变型叶片相对电导率的影响

由图1可知: 5个雷竹变型叶片相对电导率(*REC*)均随着温度的降低呈先上升后下降的趋势; 但弯秆雷竹叶片相对电导率在 -20°C 达到峰值, 而其余4种雷竹则均在 -25°C 达到峰值。另外, 5个雷竹变型相对电导率的峰值差异显著, 其中, 花秆雷竹相对电导率最高, 而细叶乌头雷竹相对电导率最低。根据相对电导率的结果拟合Logistic方程, 曲线的拟合效果均达到极显著水平($P < 0.01$)。根据 a 、 b 值分别计算出5个雷竹变型的半致死温度(LT_{50})。结果显示: 弯秆雷竹的 LT_{50} 最低(-18.73°C), 而花秆雷竹的 LT_{50} 最高

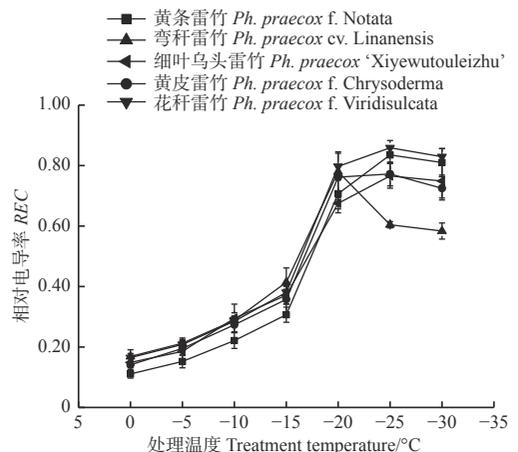


图1 低温胁迫对5个雷竹变型相对电导率的影响

Fig. 1 Effect of low temperature on relative conductivity of 5 varieties

(-14.57℃) (表2)。

2.2 低温胁迫对5个雷竹变型叶片抗氧化酶活性的影响

由图2可知：5个雷竹变型叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性随处理温度的降低均呈先上升后下降的趋势。花秆雷竹SOD活性在-10℃时达到峰值，而其余4种雷竹均在-15℃时达到峰值。5个

雷竹变型SOD活性上升幅度为：黄条雷竹(590.72) > 黄皮雷竹(548.52) > 弯秆雷竹(471.17) > 细叶雷竹(428.97) > 花秆雷竹(393.81)。双因素方差分析发现，SOD活性在不同温度间和不同变种间差异极显著($P < 0.01$) (表3)。

表2 5个雷竹变型在低温处理下相对电导率的回归方程和半致死温度

Table 2 Regression equation of conductivity under low temperature treatment and LT_{50} of 5 varieties

变种 varieties	logistic方程	a	b	$LT_{50}/^{\circ}\text{C}$	R^2
黄条雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. Notata	$y = 100 / (1 + 2.35e^{-0.1387})$	10.53	-0.1387	-16.98	0.927**
黄皮雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. Chrysoderma	$y = 100 / (1 + 6.63e^{-0.1125})$	6.63	-0.1125	-16.82	0.880**
弯秆雷竹 <i>Ph. praecox</i> cv. Linanensis	$y = 100 / (1 + 4.62e^{-0.0817})$	4.62	-0.0817	-18.73	0.725**
花秆雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. Viridisulcata	$y = 100 / (1 + 6.63e^{-0.1299})$	6.63	-0.1299	-14.57	0.901**
细叶乌头雷竹 <i>Ph. praecox</i> 'Xiyewutouleizhu'	$y = 100 / (1 + 6.59e^{-0.1103})$	6.59	-0.1103	-17.09	0.943**

注：**表示相关性在 $P < 0.01$ 水平上显著。

Note: ** represents a significant correlation at 0.01 level.

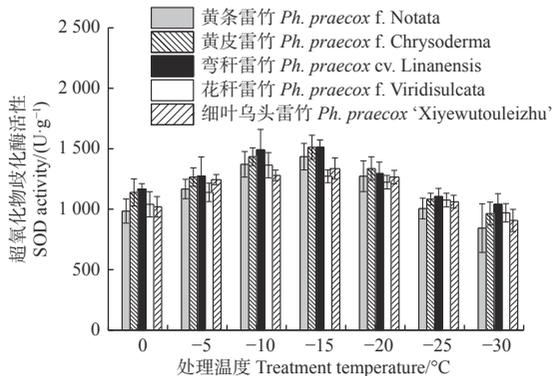


图2 低温胁迫对5个雷竹变型SOD活性的影响

Fig. 2 Effect of low temperature stress on SOD activity of 5 varieties

超氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性随温度变化的趋势与SOD的类似。花秆雷竹的POD活性在-10℃时达到极值，而其余4种雷竹均在-15℃时达到峰值。5个雷竹变型POD活性上升幅度为：黄皮雷竹(2577.78) > 黄条雷竹(2266.67) > 细叶乌头雷竹(2155.56) > 弯秆雷竹(2133.33) > 花秆雷竹(1555.56) (图3)。5个雷竹变型CAT活性均在-15℃时达到峰值，其上升幅度为：弯秆雷竹(540.74) > 黄条雷竹(511.11) > 细叶乌头雷竹(488.89) > 黄皮雷竹(481.48) > 花秆雷竹(437.04) (图4)。

表3 变种和温度处理的双因素方差分析

Table 3 Two-way variance analysis on varieties and temperatures

参数 Parameters	处理 Treatments		变种 Varieties		处理 × 变种 Treatments × Varieties	
	F-value	P-value	F-value	P-value	F-value	P-value
相对电导率 REC	1 087.349	< 0.01	12.725	< 0.01	9.718	< 0.01
超氧化物歧化酶 SOD	47.793	< 0.01	17.765	< 0.01	0.717	0.818
超氧化物酶 POD	19.793	< 0.01	0.926	0.454	1.025	0.449
过氧化氢酶 CAT	50.826	< 0.01	3.874	< 0.01	0.595	0.922
可溶性蛋白 Soluble protein	30.314	< 0.01	18.696	< 0.01	0.428	0.989
丙二醛 MDA	225.034	< 0.01	33.078	< 0.01	0.926	0.568
脯氨酸 Proline	86.603	< 0.01	43.230	< 0.01	0.576	0.934

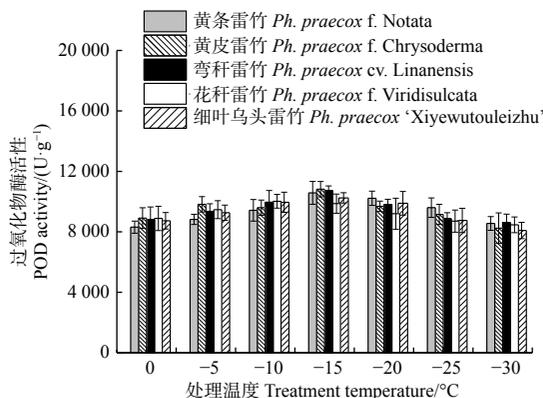


图3 低温胁迫对5个雷竹变型 POD 活性的影响
Fig. 3 Effect of low temperature stress on POD activity of 5 varieties

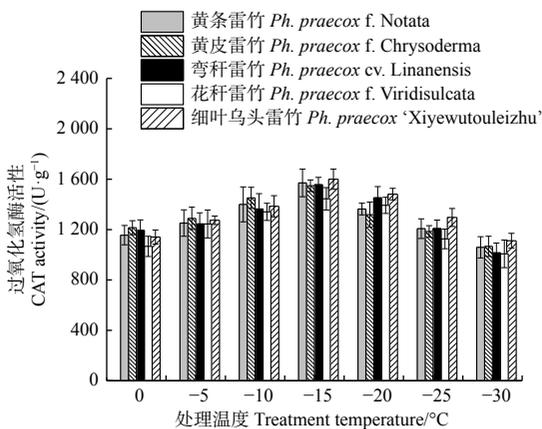


图4 低温胁迫对5个雷竹变型 CAT 活性的影响
Fig. 4 Effect of low temperature stress on CAT activity of 5 varieties

2.3 低温胁迫对5个雷竹变型叶片丙二醛含量的影响

由图5可知: 5个雷竹变型叶片中丙二醛(MDA)含量随处理温度的降低均呈先上升后下降的趋势。花秆雷竹的MDA含量在-15℃时达到峰值, 而其余4种雷竹均在-20℃时达到峰值。5个雷竹变型MDA含量上升幅度为: 花秆雷竹(28.71) > 黄条雷竹(24.9) > 细叶乌头雷竹(24.8) > 弯秆雷竹(24.27) > 黄皮雷竹(23.59)。双因素方差分析发现, MDA含量在不同温度间和不同变种间差异极显著($P < 0.01$), 但5个雷竹变型叶片MDA含量在达到峰值后的下降程度很小, 其在-30℃时的含量仍远高于0℃时的含量。

2.4 低温胁迫对5个雷竹变型叶片可溶性蛋白及脯氨酸含量的影响

由图6可知: 5个雷竹变型叶片中可溶性蛋白

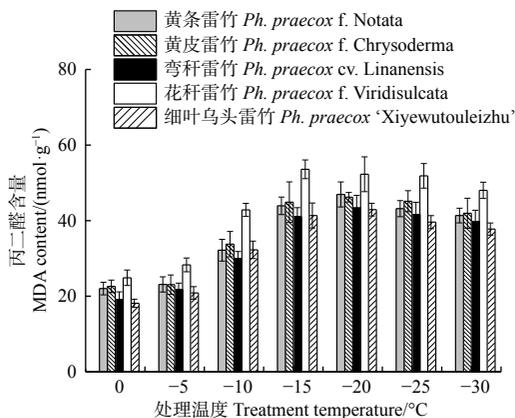


图5 低温胁迫对5个雷竹变型 MDA 含量的影响
Fig. 5 Effect of low temperature stress on MDA contents of 5 varieties

含量均随处理温度的降低均呈先上升后下降的趋势。弯秆雷竹可溶性蛋白含量在-20℃时达到峰值, 而其余4种雷竹均在-15℃时达到峰值。5个雷竹变型可溶性蛋白含量的上升幅度为: 黄皮雷竹(0.236) > 细叶乌头雷竹(0.229) > 弯秆黄皮雷竹(0.221) > 黄条雷竹(0.219) > 花秆雷竹(0.179)。双因素方差分析发现, 可溶性蛋白含量在不同温度间和不同变种间差异极显著($P < 0.01$)。

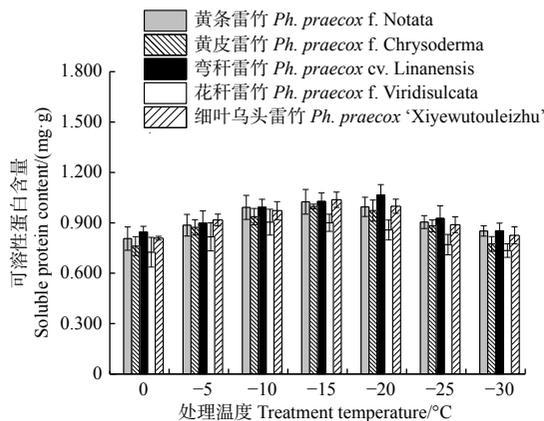


图6 低温胁迫对5个雷竹变型可溶性蛋白含量的影响
Fig. 6 Effect of low temperature stress on soluble protein contents of 5 varieties

由图7可知: 5个雷竹变型叶片中脯氨酸含量均随处理温度的降低均呈先上升后下降的趋势, 且均在-15℃时达到峰值。5个雷竹变型脯氨酸含量的上升幅度为: 弯秆雷竹(56.08) > 黄条雷竹(55.35) > 黄皮雷竹(54.35) > 细叶乌头雷竹(50.56) > 花秆雷竹(47.09)。双因素方差分析发现, 可溶性蛋白含量在不同温度间和不同变种间

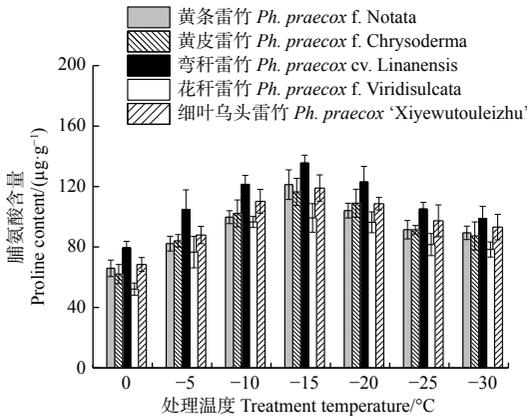


图7 低温胁迫对5个雷竹变型脯氨酸含量的影响

Fig. 7 Effect of low temperature stress on proline contents of 5 varieties

差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.5 低温胁迫对5个雷竹变型生理指标影响的主效应分析和冗余分析

对低温胁迫下的5个雷竹变型生理特征的主效应分析 (PCA) 结果 (表4) 显示: 第1主成分可反映生理指标变化 59.38% 的贡献率, 其中, 可溶性蛋白和脯氨酸这两个体现细胞渗透调节响应的指标载荷量较高; 第2主成分可解释约 27.8% 的信息量, 其中, 体现细胞抗氧化酶调节能力的指标 SOD 和 POD 载荷量较高。从温度对生理指标的影响看, 可将 0°C、-5°C 归为一类, -10°C、-15°C 和 -20°C 归为一类, -25°C 和 -30°C 归为一类, 同类的处理对生理指标产生的影响相近 (图8)。冗余分析 (RDA) 结果 (图9) 表明: 3种抗氧化酶活性、可溶性蛋白以及脯氨酸间表现出显著正相关关系, 而 MDA 和相对电导率间表现出显著正相关关系。温度的改变对相对电导率、脯氨酸、MDA 以及抗氧化酶活性的影响较大, 而对可溶性蛋白的影响相对较小。运用隶属函数法将与耐寒性相关 (正相关和负相关) 的生理指标综合分析比单独分析一个或一类指标更具科学性。根据隶属函数值得到5个雷竹变型耐寒性综合排名为: 弯秆雷竹 > 细叶乌头雷竹 > 黄皮雷竹 > 黄条雷竹 > 花秆雷竹 (表5)。

3 讨论

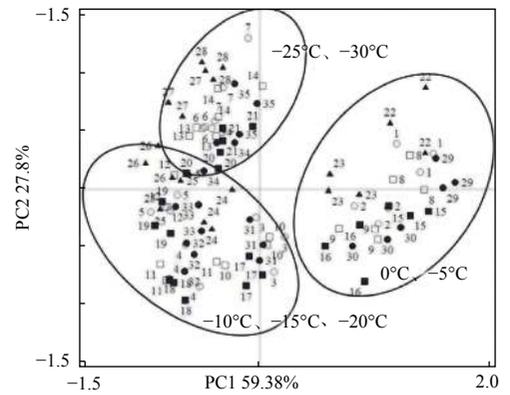
3.1 抗氧化酶系统对低温的响应

低温条件下植物体内会积累大量可破坏植物生物膜系统的超氧自由基^[28], 而抗氧化酶系统可有效

表4 生理指标的主分量载荷

Table 4 Component matrix of physiological indices

生理指标 Physiological indices	第1主成分 PC1	第2主成分 PC2
相对电导率 REC	-0.974	0.078
超氧化物歧化酶 SOD	0.620	0.753
超氧化物酶 POD	0.733	0.604
过氧化氢酶 CAT	0.793	-0.462
丙二醛 MDA	-0.942	0.325
可溶性蛋白 Soluble protein	0.947	-0.247
脯氨酸 Proline	0.925	0.077



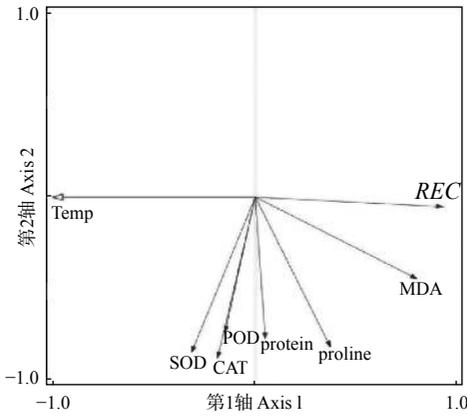
注: 数字代表第 n 个处理, 其中, 符号 \circ 、 \square 、 \blacksquare 、 \blacktriangle 和 \bullet 分别代表弯秆雷竹、细叶乌头雷竹、黄条雷竹、黄皮雷竹、花秆雷竹。每个变种的7个温度处理按 0、-5、-10、-15、-20、-25、-30°C 顺序用数字表示。相同的数字表示每个处理的重复。PC1 59.38% 表示第1主成分可反映生理指标变化 59.38% 的贡献率; PC2 27.8% 表示第2主成分可反映生理指标变化 27.8% 的贡献率。

Notes: The number represents the n treatment, in which the symbols \circ , \square , \blacksquare , \blacktriangle and \bullet represent the *Ph. praecox* cv. Linanensis, *Ph. praecox* 'Xiyewutouleizhu', *Ph. praecox* f. Notata, *Ph. praecox* f. Chrysoderma and *Ph. praecox* f. Viridisulcata respectively. The seven temperature treatments for each tree species were numerically represented in order (0°C, -5°C, -10°C, -15°C, -20°C, -25°C, -30°C). The same number represents the repetition of each treatment. The PC1 59.38% indicates that the first principal component can reflect the 59.38% contribution ratio of physiological parameter change; PC2 27.8% indicates that the second principal component can reflect the 27.8% contribution ratio of physiological parameter change.

图8 不同温度处理下5个雷竹变型生理参数的主成分分析 (PCA)

Fig. 8 Principal component analysis (PCA) of physiological parameters of 5 varieties under different treatments

清除超氧自由基。植物通过超氧化物歧化酶 (SOD) 将组织中的 O_2^- 转化为 H_2O_2 和 O_2 , 再由超氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 将 H_2O_2 转化成 H_2O 和 O_2 , 从而使植物膜系统在低温条件下免受



注: 空心箭头向量为环境因子(温度), 实心箭头向量为生理指标。向量越长代表环境因子主效应越强, 向量间的夹角代表它们之间的相关性。向量同方向表明正相关, 反方向表明负相关, 垂直表明不相关。
Notes: The vector hollow arrow represent environmental factor (temperature), and the vectors with solid arrow represent physiological indexes. The longer the vector is represents the more important the environmental effects, and the angle between vectors illustrates the correlation between them. Vectors in the same direction indicates positive correlation, the opposite direction indicates negative correlation and the vertical indicates no correlation.

图 9 雷竹生理指标对温度响应的冗余分析 (RDA)

Fig. 9 Redundant analysis of temperature response by physiological indexes of *Ph. praecox* 'Prevernalis'

伤害^[27]。本研究中, 5 个雷竹变型抗氧化酶活性随着温度的降低呈先上升后下降的趋势, 说明抗氧化酶系统在雷竹耐受低温的过程中发挥积极的作用, 但当温度低于雷竹的耐受极限时, 会引起抗氧化酶系统紊乱, 从而导致活性降低。这与娜塔栎

(*Quercus nuttallii* Palmer.)^[28]、元宝枫 (*Acer truncatum* Bunge)^[29]、黄条金刚竹 (*Pleioblastus kongosanensis* f. *aureostriatus* Muroi et Yuk. Tanaka)^[30] 等植物上的研究结果一致。结合 5 个雷竹变型的半致死温度发现, 抗氧化酶活性随着温度变化曲线的峰值均发生在半致死温度之前, 说明通过叶片电导率获得的树种半致死温度同样是抗氧化酶活性的拐点温度; 另外也说明酶活性的降低间接导致了细胞膜的损害, 进而引起植物细胞内电解质的外渗。主成分分析结果发现, SOD 和 POD 活性在第 2 主成分中载荷量最高, 说明 SOD 和 POD 在雷竹耐寒过程中起到关键作用。从生理指标对低温的响应看, 可将温度分为 3 类, 即 0℃、-5℃ 归为一类, -10℃、-15℃ 和 -20℃ 归为一类, -25℃ 和 -30℃ 归为一类。结合各指标的变化趋势得出, 雷竹可耐受高于 -5℃ 的低温, 而当温度低于 -10℃ 时则通过改变生理活性和物质含量提高对低温的抗性, 当温度低于 -20℃ 后则达到雷竹的低温耐受极限。研究表明, 敏感的生理可塑性有助于植物在逆境环境下生存^[31], 从本研究中抗氧化酶活性的上升幅度看, 花秆雷竹上升幅度均最小, 说明花秆雷竹的抗氧化酶系统对低温的响应最不敏感, 这可能是导致花秆雷竹耐寒性表现不佳的原因之一。相反, 耐寒性表现良好的弯秆雷竹和黄条雷竹等抗氧化酶活性的上升幅度更大。

表 5 5 个雷竹变型的隶属函数值及耐寒性综合排名

Table 5 The membership function and the comprehensive ranking on cold tolerance of 5 varieties

变种 Varieties	隶属函数值 Fuzzy mathematics							总评分 Score	综合排名 Comprehensive ranking
	相对电导率 REC	超氧化物歧化酶 SOD	超氧化物酶 POD	过氧化氢酶 CAT	丙二醛 MDA	可溶性蛋白 Soluble protein	脯氨酸 Proline		
黄条雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. <i>Notata</i>	0.547 9	0.464 7	0.420 2	0.471 4	0.493 2	0.581 4	0.494 9	0.496 2	4
黄皮雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. <i>Chrysoderma</i>	0.532 1	0.604 5	0.454 8	0.487 5	0.473 2	0.471 0	0.492 5	0.502 2	3
弯秆雷竹 <i>Ph. praecox</i> cv. <i>Linanensis</i>	0.565 5	0.636 1	0.449 6	0.476 8	0.558 2	0.642 8	0.691 0	0.574 3	1
花秆雷竹 <i>Ph. praecox</i> f. <i>Viridisulcata</i>	0.475 1	0.466 2	0.378 2	0.378 6	0.295 7	0.265 8	0.369 6	0.375 6	5
细叶乌头雷竹 <i>Ph. praecox</i> 'Xiyewutouleizhu'	0.538 9	0.472 2	0.392 9	0.539 3	0.572 8	0.576 7	0.547 6	0.520 1	2

3.2 膜系统的低温受损

相对电导率的大小可以最直接的反映膜系统的损伤程度。本研究中, 5 个雷竹变型相对电导率随着温度下降的变化曲线均为典型的“S”型曲线。这

种变化趋势与鹅毛竹 (*Shibataea chinensis* Nakai)、铺地竹 (*Arundinaria argenteostriata* E. G. Camus) 等观赏竹的低温胁迫试验结果基本一致^[12]; 但也有研究发现, 阔叶箬竹 (*Indocalamus latifolius* (Keng)

McClure)、茶秆竹 (*Pseudosasa amabilis* (McClure) Keng f.) 等观赏竹的电导率曲线在半致死温度之前上升平缓随后陡然上升^[32]。从5个雷竹变型电导率的最大值看,弯秆雷竹最小而花秆雷竹最大,说明弯秆雷竹细胞膜受损最低而花秆雷竹最大。这同样符合半致死温度以及耐寒性综合评价结果。比较发现,虽然5个雷竹变型半致死温度相对于金镶玉竹 (*Phyllostachys aureosulacata* f. *Spectabilis*) 和金丝毛竹 (*Phyllostachys heterocyclus* (Carr.) Mitford cv. *Gracilis*) 等刚竹属竹种总体偏高^[15],即耐寒性较弱,但与铺地竹和鹅毛竹等常见观赏性竹种相比耐寒性较强^[30]。

丙二醛 (MDA) 是植物脂膜过氧化的重要产物之一,其在植物组织中的积累会使脂膜在逆境中的损伤加剧^[33]。耐寒性较差的树种低温条件下往往发生更早更严重的细胞膜氧化现象,这就导致其 MDA 含量的显著增加^[27]。5个雷竹变型 MDA 含量均随着温度的降低呈先上升后下降的趋势,这与张玮等关于麻竹 (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) 低温胁迫试验结果一致^[34]。通过比较 MDA 含量及其变化程度,可以反映出5个雷竹变型在低温中的受损程度。本研究中,花秆雷竹 MDA 含量上升幅度显著高于其它4种雷竹,说明在同样的温度胁迫下花秆雷竹细胞膜氧化程度更大。

3.3 渗透调节物质对低温胁迫的响应

可溶性蛋白是植物在低温条件下重要的渗透调节和信息传递物质。植物通过提高细胞中可溶性蛋白含量,增加细胞内的束缚水与自由水的比值,从而避免因细胞液结冰而产生的机械伤害^[35]。本研究中,5个雷竹变型可溶性蛋白含量均随着温度降低而呈先上升后下降的趋势,这与徐传宝等关于竹子低温胁迫的结论基本一致^[36]。但从相关性分析结果发现,可溶性蛋白含量与温度的相关性相对于脯氨酸和 MDA 较小,同样的现象也出现在 POD 的结果中,这可能是由于这两个指标在低温下相对增长率较小引起的。也有研究认为,可溶性蛋白的含量与低温不存在明显的关联^[37],甚至有研究发现,可溶性蛋白的含量随着低温胁迫程度的增加呈先降低后上升的趋势^[38]。脯氨酸同样是一种重要的渗透调节物质,有研究发现,植物通过提高细胞中脯氨酸含量来提高原生质的保水能力,从而平衡在低温条件下的细胞代谢^[39]。另外,脯氨酸还是一种自由基

的清除剂,可在逆境条件下稳定蛋白质和核酸^[40]。本研究中,不同程度的脯氨酸含量升高同样是5个雷竹变型在低温条件下的适应性策略。综合评分较高的弯秆雷竹脯氨酸含量上升幅度最大,而花秆雷竹最小。结合主成分分析发现,可溶性蛋白和脯氨酸是占有主分量载荷最高的两个指标,而这两个指标均是重要的渗透调节物质。可见,细胞的渗透调节是雷竹耐寒过程中的主要策略。从5个雷竹变型的可溶性蛋白和脯氨酸的极值(最小值和最大值)看,抗寒性较好的雷竹含有相对高的物质含量,这或许造成雷竹变型间耐寒能力的差异。

本研究中,适当的低温可以增加雷竹叶片中渗透调节物质的含量。在雷竹栽培过程中,幼苗期进行适当的低温锻炼或许可以有效提高雷竹的御寒能力。本试验仅选择5个观赏雷竹变型叶片作为试验材料,并没有涉及竹笋、竹秆、根系等重要的器官,利用叶片进行24 h低温处理的试验方法与自然低温条件也存在一定的差距。但本研究得出的雷竹半致死温度与前人有关雷竹在自然低温条件下生长的结论基本相符。如郭子武等调查浙江北部雷竹在经历较长时间(15 d左右)严重低温寒害天气(局部低温达 -15°C)后的生长状况发现,部分雷竹林出现叶片大量枯黄,竹秆皱缩变色,甚至立竹死亡的情况,严重影响雷竹生长和竹笋产出^[41]。同时,本研究结果也为在我国不同气候区进行雷竹变型的栽培和推广提供参考依据。5个雷竹变型均不适宜在我国东北、华北和西北的严寒或寒冷地区进行推广栽培;在中南、华东、西南地区的偏北部,最低温度低于 -15°C 的地区则应避免种植如花秆雷竹等耐寒能力较弱的雷竹变型;而其余地区均可栽培推广本试验的5个雷竹变型。雷竹越冬是一个长期的抗逆过程,本试验结果仅初步揭示雷竹变型间的耐寒性差异,对雷竹的耐寒机理还有待更深入的研究。后续试验中将综合考虑雷竹多个器官对低温的响应,并将大田观赏性雷竹越冬生长表现和生理响应纳入到耐寒性综合评价中。

4 结论

本研究阐明了5个雷竹变型在低温条件下的生理响应策略,并对5个雷竹变型的耐寒性进行综合评价,获得了雷竹在低温下的半致死温度,为观赏性雷竹引种和栽培提供了技术依据。5个雷竹变型

在低温条件下耐寒性综合排名为:弯秆雷竹>细叶乌头雷竹>黄皮雷竹>黄条雷竹>花秆雷竹。渗透调节物质(可溶性蛋白和脯氨酸)以及抗氧化酶(SOD和POD)在雷竹耐寒过程中发挥主要作用。半致死温度的确定给雷竹引种提供了温度的定量参考。在雷竹引种和栽培过程中可根据5个雷竹变型的半致死温度来确定引种地是否宜林。由于雷竹在其生活史的不同阶段对低温环境的适应性存在差异。因此,在后续试验中将进一步研究雷竹其它生长阶段对低温环境的适应情况。

参考文献:

- [1] Laloi M, Klein M, Riesmeier J W, *et al.* A plant cold-induced uncoupling protein[J]. *Nature*, 1997, 389(6647): 135-136.
- [2] 邓仁菊, 范建新, 王永清, 等. 火龙果幼苗对低温胁迫的生理响应及其抗寒性综合评价[J]. *植物生理学报*, 2014, 50(10): 1529-1534.
- [3] Dolezal J, Klimes A, Dvorsky M, *et al.* Disentangling evolutionary, environmental and morphological drivers of plant anatomical adaptations to drought and cold in Himalayan graminoids[J]. *Oikos*, 2019, 128(11): 1576-1587.
- [4] Prasad T K, Anderson M D, Martin B A. Evidence for chilling induce oxidative stress in maize seedlings and regulatory role for hydrogen peroxide[J]. *Plant Cell*, 1994, 6(1): 65-74.
- [5] Lee D H, Lee C B. Chilling stress induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber in gelyzyme activity assays[J]. *Plant Science*, 2000, 159(1): 75-85.
- [6] 罗新义, 冯昌军, 李红, 等. 低温胁迫下肇东苜蓿 SOD、脯氨酸活性变化初报[J]. *中国草地*, 2004, 26(4): 79-81.
- [7] 卢太白, 吕金印, 陆和平, 等. 越冬及返青期冬小麦叶片中可溶性蛋白质、氨基酸含量与抗寒性的关系[J]. *西北农业学报*, 2009, 18(1): 56-59.
- [8] 江锡兵, 宋跃朋, 马开峰, 等. 低温胁迫下美洲黑杨与大青杨杂种无性系若干生理指标变化研究[J]. *北京林业大学学报*, 2012, 34(1): 58-63.
- [9] Lyons J M. Chilling injury in plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1973, 24: 445-466.
- [10] 许瑛, 陈发棣. 菊花8个品种的低温半致死温度及其抗寒适应性[J]. *园艺学报*, 2008, 35(4): 559-564.
- [11] 曹冉, 王海洋. 11种常绿阔叶树的抗寒性研究[J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2014, 36(8): 57-64.
- [12] 林树燕, 丁雨龙. 电导法对7种观赏竹的抗寒性测定[J]. *西北林学院学报*, 2008, 23(1): 34-38.
- [13] 姜培坤, 周国模, 徐秋芳. 雷竹高效栽培措施对土壤碳库的影响[J]. *林业科学*, 2002, 38(6): 6-11.
- [14] 应叶青, 魏建芬, 解楠楠, 等. 自然低温胁迫对毛竹生理生化特性的影响[J]. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2011, 35(3): 133-136.
- [15] 孙飞飞. 观赏竹的耐寒性研究及园林应用[D]. 临安: 浙江农林大学, 2015.
- [16] 赵兰, 邢新婷, 江泽慧, 等. 4种地被观赏竹的抗旱性研究[J]. *林业科学研究*, 2010, 23(2): 221-226.
- [17] 杨振亚, 周本智, 周燕, 等. PEG模拟干旱对毛竹种子萌发及生长生理特性的影响[J]. *林业科学研究*, 2018, 31(6): 47-54.
- [18] 李伟成, 王树东, 钟哲科, 等. 不同施肥梯度下酒竹的形态和光合响应[J]. *竹子研究汇刊*, 2010, 29(2): 11-17.
- [19] 杨振亚. 亚热带典型树种对水分供应的响应及觅养策略[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2019.
- [20] 翟婉璐, 杨传宝, 张小平, 等. 林地覆盖经营对雷竹生物量及土壤肥力的影响[J]. *应用生态学报*, 2018, 29(4): 1147-1155.
- [21] 叶莉莎, 陈双林. 雷竹对不同形态氮素养分的生理响应[J]. *浙江农林大学学报*, 2017, 34(1): 14-19.
- [22] 张玮, 王鑫梅, 潘庆梅, 等. 干旱胁迫下雷竹叶片叶绿素的高光谱响应特征及含量估算[J]. *生态学报*, 2018, 38(18): 6677-7784.
- [23] 何奇江, 李楠, 周文伟, 等. 盐胁迫对雷竹叶叶绿素含量的影响[J]. *竹子研究汇刊*, 2014, 33(2): 58-62.
- [24] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 134-137.
- [25] 莫惠栋. Logistic方程及其应用[J]. *江苏农学院学报*, 1983, 4(2): 53-57.
- [26] 朱根海, 刘祖祺, 朱培红. 应用 Logistic 方程确定植物半致死温度的研究[J]. *南京农业大学学报*, 1986(3): 11-151.
- [27] 杨振亚, 台秀国, 曹振玉, 等. 4个引种栎类树种苗期抗寒性初步研究[J]. *山东大学学报: 理学版*, 2016, 51(5): 43-60.
- [28] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutases[J]. *Plant Physiology*, 1993, 101(1): 7-12.
- [29] 高福元, 张吉立, 刘振平. 冬季低温对4种彩叶植物SOD、POD活性影响的研究[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(5): 169-173.
- [30] 刘国华, 林树燕, 王福升, 等. 4种地被竹生理指标对低温的响应[J]. *竹子研究汇刊*, 2011, 30(4): 6-10.
- [31] Jackson R B, Manwaring J H, Caldwell M M. Rapid physiological adjustment of roots to localized soil enrichment[J]. *Nature*, 1990, 344(6261): 58-60.
- [32] 秦宇. 山东省引种观赏竹的抗寒性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.
- [33] 王玲丽, 贾文杰, 马璐琳, 等. 低温胁迫对不同百合主要生理指标的影响[J]. *植物生理学报*, 2014, 50(9): 1413-1422.
- [34] 张玮, 黄树燕, 吴继林, 等. 低温胁迫对麻竹叶片和根系抗性生理指标的影响[J]. *生态学杂志*, 2012, 31(3): 513-519.
- [35] Foyer C H, Descourvieres P, Kunert K J. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants[J]. *Plant Cell and Environment*, 1994, 17(5): 507-523.
- [36] 徐传宝, 戴庆敏. 低温胁迫对竹子3种渗透调节物质的影响[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(1): 127-130.
- [37] Levitt J. Responses of plants to environmental stress. Vol. 1. Chilling, freezing and high temperature stress[M]. 2nd ed. New York: Aca-

demic Press, 1980.

- [38] 朱 政, 蒋家月, 江昌俊, 等. 低温胁迫对茶树叶片 SOD、可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38 (1): 24-26.
- [39] Anjum F, Rishi V, Ahmad F. Compatibility of osmolytes with Gibbs energy of stabilization of proteins[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1476(1): 75-84.
- [40] 任晓平, 张喜春, 张 楠, 等. 低温胁迫对番茄幼苗叶片中脯氨酸降解酶的活性及其基因表达量的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28 (10): 132-135.
- [41] 郭子武, 俞文仙, 陈双林, 等. 雷竹林严重低温寒害与立竹性状和林地覆盖经营的关系[J]. 广西植物, 2018, 38 (12): 1599-1604.

Physiological Response of Five Varieties of Ornamental *Phyllostachys praecox* ‘Prevernalis’ to Low Temperature Stress

YANG Zhen-ya¹, ZHAO Jian-cheng¹, YUAN Jin-ling², WANG Bo¹, LI Qin¹, ZHOU Ben-zhi²

(1. Zhejiang Academy of Forestry, Hangzhou 310023, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Bamboo Research, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 2. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] To observe the effects of cold stress on the physiology indicators of *Phyllostachys praecox* ‘Prevernalis’, in order to study the cold tolerance mechanism of five varieties of ornamental *Ph. praecox* ‘Prevernalis’ to cold stress. [Method] The relative conductivity, antioxidant enzyme activity (superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT)), soluble protein content, malondialdehyde content and proline content in leaves of *Ph. praecox* ‘Prevernalis’ treated at different temperatures (0, -5, -10, -15, -20, -25, and -30°C) for 24 hours were measured. The semi-lethal temperature (LT_{50}) of the five varieties was obtained by fitting the Logistic equation, and the correlation between physiological parameters and temperature as well as the cold resistance of the five varieties were investigated by principal component analysis (PCA) and redundancy analysis (RDA). [Results] All the relative conductivity curves of the five varieties were similar to S curve. The LT_{50} of the five varieties showed an increasing order of *Ph. praecox* cv. Linanensis (-18.73°C) < *Ph. praecox* ‘Xiyewutouleizhu’ (-17.09°C) < *Ph. praecox* f. Notata (-16.98°C) < *Ph. praecox* f. Chrysoderma (-16.82°C) < *Ph. praecox* f. Viridisulcata (-14.57°C). The antioxidant enzyme activity, soluble protein content, MDA content and proline content of the five varieties increased and then decreased with the decrease of temperature. The component matrix of soluble protein content and proline content was higher in the principal component 1. The activity of SOD and POD was higher in the principal component 2. [Conclusion] The cold tolerance of the five varieties showed a decreasing order of *Ph. praecox* cv. Linanensis > *Ph. praecox* ‘Xiyewutouleizhu’ > *Ph. praecox* f. Chrysoderma > *Ph. praecox* f. Notata > *Ph. praecox* f. Viridisulcata. The osmotic regulatory substances (soluble protein and proline) and antioxidant enzyme (SOD and POD) play major roles in the cold tolerance of *Ph. praecox* ‘Prevernalis’.

Keywords: ornamental bamboo; *Phyllostachys praecox* ‘Prevernalis’; cold tolerance; comprehensive evaluation

(责任编辑: 金立新)