

## 2 种叶型桢楠对低温胁迫的生理响应及耐寒性分析

李高志<sup>1</sup>, 朱亚军<sup>1</sup>, 周生财<sup>2</sup>, 陆云峰<sup>1</sup>, 张俊红<sup>1</sup>, 童再康<sup>1</sup>

(1. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300; 2. 浙江省庆元县实验林场, 浙江 庆元 323800)

**摘要:** 以大叶与小叶 2 种叶型桢楠 *Phoebe zhennan* 的 1 年生实生苗为试验材料, 研究低温胁迫对其生理生化指标的影响及耐寒性。结果表明: 低温胁迫下, 2 种叶型桢楠的相对电导率总体呈上升趋势, 丙二醛(MDA)质量摩尔浓度、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性及可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸质量分数总体呈先上升后下降趋势。-4.0 °C前, 大叶桢楠相对电导率呈波动变化, 略有上升, 小叶桢楠相对电导率则持续上升, 且显著高于大叶桢楠。大叶桢楠丙二醛质量摩尔浓度增幅较小, SOD 和 POD 活性和可溶性糖质量分数峰值高于小叶桢楠, 而可溶性蛋白和脯氨酸质量分数峰值低于小叶桢楠。用主成分分析和隶属函数法对 2 种叶型桢楠耐寒性进行综合性评价, 发现大叶桢楠耐寒性强于小叶桢楠。综合各测定指标可以认为, 小叶桢楠在 0.1 °C 低温下生理上即表现出冻害损伤, 而大叶桢楠能耐 -4.0 °C 的低温胁迫。图 3 表 4 参 42

**关键词:** 植物学; 桢楠; 低温胁迫; 生理生化指标; 综合评价

中图分类号: S718.43; Q945.78 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2017)02-0310-09

## Physiological indices at low temperature stress for two types of *Phoebe zhennan*

LI Gaozhi<sup>1</sup>, ZHU Yajun<sup>1</sup>, ZHOU Shengcai<sup>2</sup>, LU Yunfeng<sup>1</sup>, ZHANG Junhong<sup>1</sup>, TONG Zaikang<sup>1</sup>

(1. The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. Experimental Forest Farm of Qingyuan County, Qingyuan 323800, Zhejiang, China)

**Abstract:** *Phoebe zhennan* is vulnerable to low temperature, triggering the physiological and phenotypic damages in plants. To make scientific and accurate evaluations for cold-resistance with two types of *P. zhennan* (large-leaf and small-leaf), a comparison of physiological and biochemical characteristics between the two types was conducted using 1-year-old seedlings with artificial low temperature stress, using complete randomized block design, with three replication. A membership function method was conducted, and analysis included a principal components analysis. Results showed that the relative conductivity of the two leaf types increased significantly with low temperature stress; whereas, contents of malondialdehyde (MDA), soluble sugar, soluble protein and proline, and the activity of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) increased significantly, peaked at 0.1 °C and -4.0 °C in small-leaf and large-leaf type, respectively, and then decreased significantly. The leaf relative conductance rate of the large-leaf type fluctuated from 8.0 to -8.0 °C, but the small-leaf type continued to rise higher significantly than the large-leaf type. The increases in MDA, soluble protein, and proline content in the large-leaf type were lower significantly than those of the small-leaf type, and peak values of soluble protein and proline were higher significantly in the large-leaf type. Analysis revealed that the small-leaf type exhibited cold damage at 0.1 °C, but the large-leaf type resisted damage to -4.0 °C stress, which provides important clues for the breeding and introduction cultivation in *P. zhennan*. [Ch, 3 fig. 4 tab. 42

收稿日期: 2016-04-19; 修回日期: 2016-05-30

基金项目: “十三五”浙江省科学技术重大专项(2016C02056-2); 中央财政林业科技推广示范项目(2015-TS-02)

作者简介: 李高志, 从事珍贵树种遗传育种研究。E-mail: ligaozhi0919@163.com。通信作者: 童再康, 教授, 博士, 博士生导师, 从事珍贵树种新品种选育研究。E-mail: zktong@zafu.edu.cn

ref.]

**Key words:** botany; *Phoebe zhennan*; low-temperature stress; physiological and biochemical indexes; comprehensive evaluation

桢楠 *Phoebe zhennan* 是樟科 Lauraceae 楠属 *Phoebe* 的常绿乔木, 材质优良, 树姿优美, 属上等的材用和庭院绿化树种, 为中国著名“金丝楠木”的重要原植物, 产于四川、贵州西北部及湖北西部<sup>[1]</sup>。桢楠对低温敏感, 严重制约其栽培地域。为此, 研究桢楠的耐寒特性, 掌握它在低温胁迫下的生理生化指标变化, 为选育抗寒品种提供科学基础, 对扩大桢楠的栽培区域具有重要意义。低温作为重要的非生物胁迫因子, 对植物生长发育具有重要影响, 可以造成植物矿质营养吸收、光合作用、呼吸作用和新陈代谢等生理过程的紊乱, 对质膜和细胞结构造成损害<sup>[2-4]</sup>。林木抗寒性生理方面的研究已有诸多报道, 在杨树 *Populus*, 葡萄 *Vitis vinifera*, 梨 *Pyrus*, 核桃 *Juglans regia* 等植物<sup>[5-8]</sup>的抗寒性研究发现, 植物的抗寒性与相对电导率、相对含水率、水分饱和和缺、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性、丙二醛(MDA)和可溶性糖等具有相关性。目前, 有关楠属植物抗寒性方面的研究还较少, 滕开琼<sup>[9]</sup>研究发现超氧自由基产生速率, MDA, SOD 和过氧化氢酶(CAT)活性能较好地反映桢楠幼苗的耐低温能力, 可作为鉴定其抗寒性的生理指标。宗卫<sup>[10]</sup>研究发现, 自然低温下氯化钙和水杨酸处理可以降低闽楠 *Phoebe bournei* 和桢楠幼苗的相对电导率和丙二醛含量, 提高 POD 活性及可溶性糖、可溶性蛋白与叶绿素质量分数, 提高植株的耐寒性。自然桢楠群落中存在大叶与小叶 2 种叶型, 大叶型桢楠其正常叶较大, 先端渐尖; 小叶型桢楠的叶片较小, 尾尖, 观测发现两者的耐寒性不同。桢楠不同叶型对低温的生理响应比较尚未见报道。本试验选取了 2 种叶型的 1 年生桢楠, 研究低温胁迫对其叶片膜系统、抗氧化酶活性及渗透物质含量的影响, 并运用主成分分析法和隶属函数法对其耐寒性进行综合评价, 为桢楠的抗寒品种评价、选育与引种栽培提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

以大叶和小叶 2 种叶型桢楠的 1 年生实生苗为供试材料, 选择生长健壮、长势相近的容器苗各 12 株。大叶桢楠采种于四川省雅安市(29°46'08.1"N, 102°52'13.4"E, 海拔为 860 m); 小叶桢楠采种于贵州省黔南布依族苗族自治州瓮安县(27°06'57.7"N, 107°40'32.7"E, 海拔为 813 m)。

### 1.2 试验方法

2015 年 12 月 10 日将试验材料移入 Snijders MC1000HE-EV 智能低温人工气候箱(荷兰 Snijders 公司)中进行低温胁迫处理。将 2 个叶型桢楠容器苗分成 3 组, 即设 3 次重复, 4 株·处理<sup>-1</sup>。温度梯度设置为 8.0 °C(对照), 4.0 °C, 0.1 °C(该仪器不可设置 0 °C), -4.0 °C, -8.0 °C, -12.0 °C, 各个温度梯度处理 24 h。

### 1.3 样品采集

在各温度梯度处理结束后采集叶片, 用蒸馏水擦净表面污物, 将叶片剪碎、混匀后, 进行生理指标的测定, 重复 3 次。

### 1.4 测定方法

质膜透性的测定: 参照蔡庆生<sup>[11]</sup>的方法, 采用电导仪法测定相对电导率。相对电导率(%)=( $E_1 - E_0$ ) / ( $E_2 - E_0$ ) × 100%, 其中:  $E_0$  为对照电导率值,  $E_1$  为处理电导率值,  $E_2$  为处理煮沸后电导率值。丙二醛(MDA)测定采用硫代巴比妥酸法。

抗氧化酶活性测定: 过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定<sup>[12]</sup>, 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试盒测定(南京建成生物研究所)。

有机溶质测定: 参照张治安等<sup>[12]</sup>的方法, 可溶性糖采用蒽酮法测定, 可溶性蛋白采用考马斯亮兰染色法测定, 脯氨酸采用脯氨酸(Pro)测定试剂盒测定(南京建成生物研究所)。

### 1.5 桢楠耐寒性综合评价方法

参照刘杜玲等<sup>[13-15]</sup>的方法, 运用主成分分析和隶属函数法对桢楠的抗寒性进行综合分析。抗冻系

数=处理测定值/对照测定值 $\times 100\%$ 。隶属函数值  $U(X_j)=(X_j-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min})$ ,  $j=1,2,\dots,n$ 。其中:  $X_j$  表示第  $j$  个综合指标;  $X_{\min}$  表示第  $j$  个综合指标的最小值;  $X_{\max}$  表示第  $j$  个综合指标的最大值。权重  $W_j=P_j/\sum_{j=1}^n P_j$ ,  $j=1, 2, \dots, n$ 。其中: 权重  $W_j$  表示第  $j$  个综合指标在所有综合指标中的重要程度;  $P_j$  为各类型桢楠第  $j$  个综合指标的贡献率。综合评定值  $D_i=\sum_{j=1}^n [U(X_j)\times W_j]$ ,  $i=1, 2, \dots, k; j=1, 2, \dots, n$ 。其中:  $D_i$  值为各类型桢楠在低温条件下用综合指标评价所得的耐寒性综合评价值,  $k$  为桢楠类型数。

## 1.6 数据处理

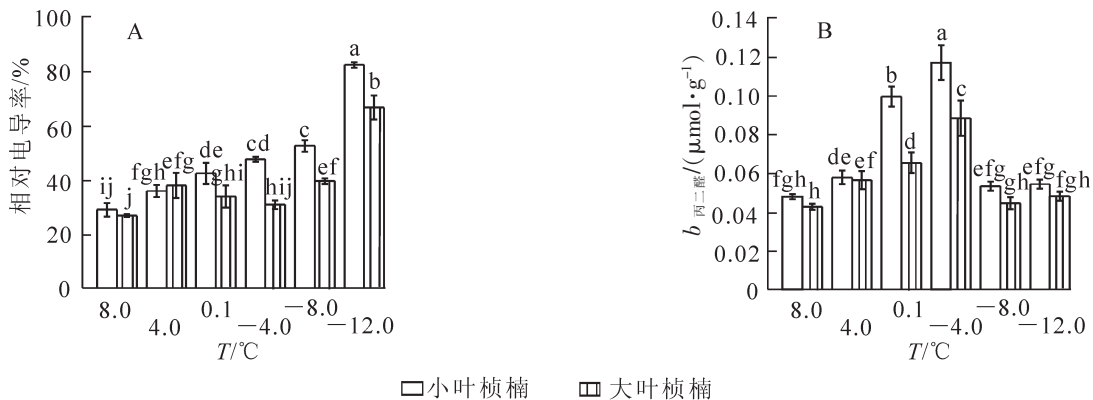
运用 Excel 和 DPS 软件进行数据处理和统计分析, 用 Origin 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫对 2 种叶型桢楠相对电导率和丙二醛质量摩尔浓度的影响

2 种叶型桢楠在 8.0 °C 时相对电导率差异不显著, 随温度降低小叶桢楠相对电导率呈持续上升规律, 4.0 °C 时已达显著水平, -8.0 °C 后急剧上升, -12.0 °C 时升高到峰值 82.0%, 为对照的 284.7%; 大叶桢楠相对电导率至 4.0 °C 时显著升高, 之后略有下降, -4.0 °C 后缓慢升高, -8.0 °C 时急剧升高, -12.0 °C 时升高到峰值 66.4%, 相当于对照的 249.7% (图 1A)。

随处理温度降低, 2 种叶型桢楠丙二醛质量摩尔浓度变化均呈先上升后下降趋势 (图 1B)。8.0 °C 和 4.0 °C 时 2 种叶型桢楠丙二醛质量摩尔浓度差异不显著, 4.0 °C 后小叶桢楠的丙二醛质量摩尔浓度急剧增加, 到 0.1 °C 时丙二醛质量摩尔浓度的增幅达 72.4%, 是大叶桢楠增幅的 4.6 倍。-4.0 °C 时 2 种叶型桢楠丙二醛质量摩尔浓度都到达峰值, 分别为 0.116 5 和 0.088 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ , 为对照的 2.5 倍和 2.1 倍。之后随温度降低, 丙二醛质量摩尔浓度迅速降低, -8.0 °C 和 -12.0 °C 时降至较低水平, 两者之间差异不显著, 各自与对照差异也不显著。由图 1B 可以看出: 0.1 °C 和 -4.0 °C 时, 小叶桢楠丙二醛质量摩尔浓度和总体变化幅度均显著高于大叶桢楠, 可见低温胁迫对小叶桢楠的破坏更严重。



采用最小显著差异(LSD)法进行单因素多重比较, 不同字母表示在0.05水平差异显著。

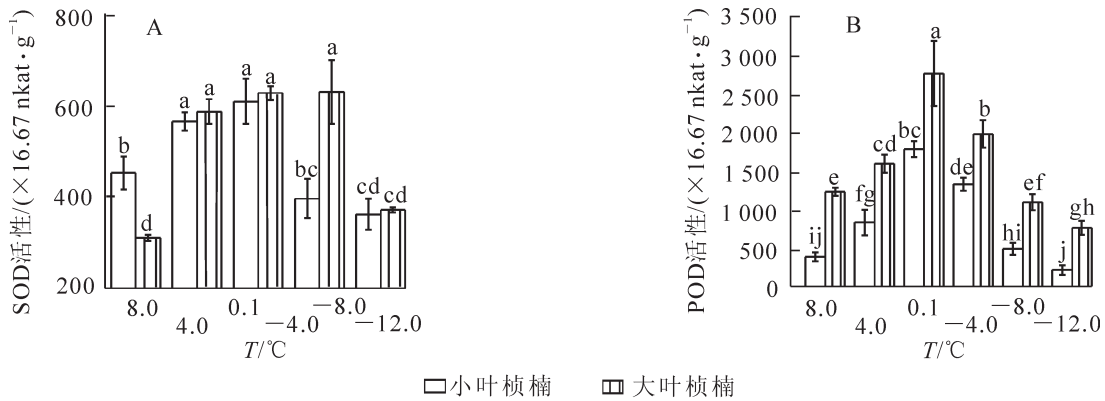
图 1 低温胁迫对相对电导率(A)和丙二醛质量摩尔浓度(B)的影响

Figure 1 Effect of low temperature stress on relative conductivity(A) and content of MDA(B)

### 2.2 低温胁迫对桢楠抗氧化酶活性的影响

图 2A 可以看出: 低温处理前期桢楠的 SOD 活性升高。8.0 °C 时小叶桢楠 SOD 活性显著高于大叶桢楠, 至 4.0 °C 时 2 种叶型桢楠的 SOD 活性均显著增加到较高水平。其中大叶桢楠 SOD 活性上升速度更快, 之后保持在较高水平, 4.0 °C 和 0.1 °C 时, 两者差异不显著, -4.0 °C 时大叶桢楠 SOD 仍保持较高活性, 而此时小叶桢楠 SOD 活性已显著降低, 两者差异显著。POD 活性变化趋势 2 种叶型桢楠相似, 呈先上升后下降 (图 2B), 从 8.0 °C 至 4.0 °C 间, 小叶桢楠 POD 活性增加了 116.3%, 达到显著水平, 大叶桢楠仅增加了 29.3%, 未达到显著水平。可见小叶桢楠比大叶桢楠对低温更敏感。之后, 两者 POD 活性都急剧上升, 至 0.1 °C 时大叶桢楠和小叶桢楠的 POD 活性都达到峰值, 分别为 2 753.3 $\times$ 16.67  $\text{nk}\cdot\text{g}^{-1}$ ,

1 776.7  $\times$  16.67 nkat $\cdot$ g $^{-1}$ , 为对照的 224.5% 和 464.8%, 且在各温度下大叶桉楠的 POD 活性均显著高于小叶桉楠。从图 2 可见: 低温胁迫下大叶桉楠的 SOD 和 POD 活性均明显高于小叶桉楠,  $-4.0$   $^{\circ}$ C 时活性分别是小叶桉楠的 1.6 倍, 1.5 倍。



采用最小显著差异(LSD)法进行单因素多重比较, 不同字母表示在0.05水平差异显著。

图 2 低温胁迫对 SOD(A) 和 POD(B) 活性的影响

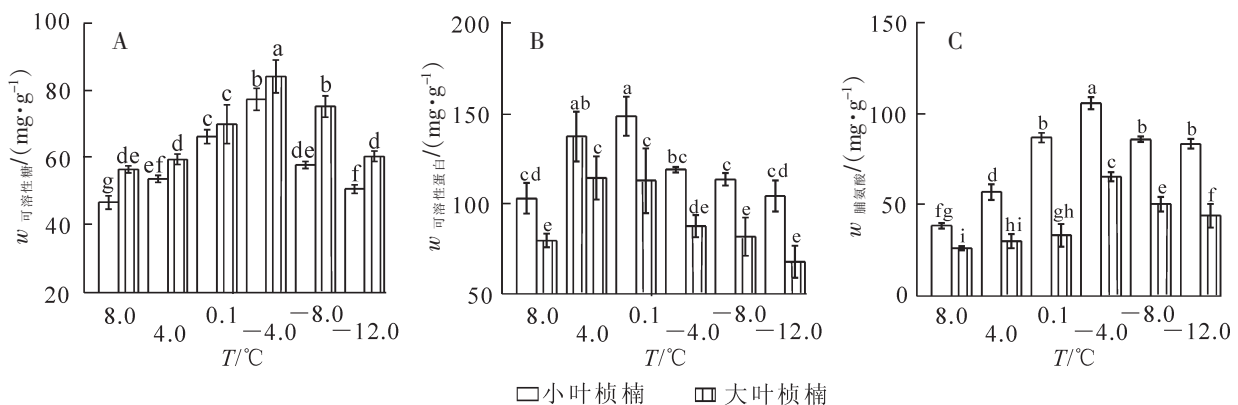
Figure 2 Effect of low temperature stress on the activity of SOD(A) and POD(B)

### 2.3 低温胁迫对有机溶质质量分数的影响

不同低温胁迫下 2 种叶型桉楠的可溶性糖质量分数的测定结果见图 3A。处理温度在不低于  $-4.0$   $^{\circ}$ C 时, 2 种叶型桉楠的可溶性糖质量分数随温度降低均连续上升,  $-4.0$   $^{\circ}$ C 时 2 种叶型桉楠可溶性糖质量分数都升高到峰值, 分别为 77.52, 84.27 mg $\cdot$ g $^{-1}$ , 是对照的 1.7 倍和 1.5 倍。小叶桉楠可溶性糖质量分数在  $4.0$   $^{\circ}$ C,  $0.1$   $^{\circ}$ C,  $-4.0$   $^{\circ}$ C 时增幅分别为 14.9%, 23.4%, 16.7%, 变化均达到显著水平; 大叶桉楠可溶性糖质量分数  $4.0$   $^{\circ}$ C 时变化未达到显著水平, 之后增幅较大,  $0.1$   $^{\circ}$ C 和  $-4.0$   $^{\circ}$ C 时分别为 17.6% 和 20.1%, 差异显著。各处理温度下, 大叶桉楠可溶性糖质量分数始终高于小叶桉楠, 除  $0.1$   $^{\circ}$ C 外, 差异都到达显著水平。

2 种叶型桉楠不同处理温度下的可溶性蛋白质质量分数如图 3B 所示,  $8.0$   $^{\circ}$ C 至  $4.0$   $^{\circ}$ C 间均显著升高,  $4.0$   $^{\circ}$ C 时均达到了显著差异水平。随着处理温度的进一步降低, 小叶桉楠进一步升高,  $0.1$   $^{\circ}$ C 时达到峰值; 而大叶桉楠  $4.0$   $^{\circ}$ C 后已呈下降趋势。 $0.1$   $^{\circ}$ C 后 2 种桉楠的可溶性蛋白质质量分数均下降,  $-4.0$   $^{\circ}$ C,  $-8.0$   $^{\circ}$ C,  $-12.0$   $^{\circ}$ C 时与对照差异都不显著。低温胁迫下小叶桉楠可溶性蛋白质质量分数和变化幅度都大于大叶桉楠。

不同处理温度下 2 种叶型桉楠的脯氨酸质量分数变化如图 3C 所示, 均呈先升高后降低的变化趋势。其中小叶桉楠增长幅度显著大于大叶桉楠,  $4.0$   $^{\circ}$ C,  $0.1$   $^{\circ}$ C 和  $-4.0$   $^{\circ}$ C 时脯氨酸质量分数增长都达到显著水平,  $-4.0$   $^{\circ}$ C 时质量分数最大为 116.54  $\mu$ g $\cdot$ g $^{-1}$ , 较对照增长 174.3%。大叶桉楠在  $0.1$   $^{\circ}$ C 之前脯氨酸质量分



采用最小显著差异(LSD)法进行单因素多重比较, 不同字母表示在0.05水平差异显著。

图 3 低温胁迫对可溶性糖(A), 可溶性蛋白(B) 和脯氨酸(C) 质量分数的影响

Figure 3 Effect of low temperature stress on the content of soluble sugar(A), soluble protein(B) and proline(C)

数变化呈缓慢增加, 0.1 °C至-4.0 °C间急剧上升, 达到峰值 58.65  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 较对照增长 149.2%。小叶桢楠对低温响应较早, 且相对增幅显著高于大叶桢楠。

#### 2.4 2种叶型桢楠耐寒性的综合评价

植物在逆境条件下产生复杂的生理变化过程, 单一生理生化指标难以科学评定植物对逆境的适应能力<sup>[5,13]</sup>。对各指标进行相关性分析, 得出相关系数矩阵(表1)。由相关系数矩阵可以看出, 各项生理指标之间存在相关性, 使得它们提供的信息发生重叠, 各单项生理指标在桢楠耐寒中发挥的作用也不尽相同, 为此采用主成分分析法进行综合性评价。综合考虑各种温度处理下各生理生化指标变化趋势, 选取-4.0 °C低温处理下的各项指标进行2种叶型桢楠耐寒性的综合评价。根据各项指标值, 计算各项指标的耐寒系数(表2)。

表1 各单项测定指标的相关系数矩阵

Table 1 Correlation matrix of each single index

指标	相对电导率	丙二醛	超氧化物歧化酶	过氧化物酶	可溶性糖	可溶性蛋白
丙二醛	0.047					
超氧化物歧化酶	-0.041	0.046				
过氧化物酶	-0.415*	0.381*	-0.277			
可溶性糖	-0.013	0.602**	-0.177	0.636**		
可溶性蛋白	-0.126	0.321	0.161	0.094	-0.119	
脯氨酸	0.492**	0.586**	0.186	-0.195	0.275	0.425**

说明: \*\*表示0.01水平上显著相关( $P<0.01$ ); \*表示0.05水平上显著相关( $P<0.05$ )。

表2 各单项指标的耐寒系数

Table 2 Freezing resistant coefficient of each single index

类型	各指标的耐寒系数/%						
	相对电导率	丙二醛	超氧化物歧化酶	过氧化物酶	可溶性糖	可溶性蛋白	脯氨酸
小叶桢楠	167.85	244.60	87.71	354.74	115.89	274.38	165.55
大叶桢楠	111.44	200.86	202.52	160.84	109.87	249.21	148.84

对各单项指标进行主成分分析, 提取前2个主成分作为综合指标, 它们的贡献率分别为: 73.17%和19.73%, 累积贡献率达到92.90%(表3)。根据隶属函数计算公式计算出2种叶型桢楠综合指标的隶属函数值, 再取各综合指标的贡献率, 用权重计算公式计算各综合指标的权重, 得出2个综合指标的权重为0.7876和0.2124(表4)。

表3 各综合指标的系数和贡献率

Table 3 Coefficient of comprehensive index and their contribution rate

主成分	相对电导率	丙二醛	超氧化物歧化酶	过氧化物酶	可溶性糖	可溶性蛋白	脯氨酸	贡献率/%
1	0.175	-0.015	-0.184	0.310	0.337	-0.144	0.126	73.17
2	0.124	0.334	-0.129	-0.094	-0.173	0.433	0.202	19.73

表4 各综合指标值、权重、隶属函数值和综合评定值

Table 4 The value of comprehensive index, index weight,  $U(X_i)$  and  $D_i$

类型	综合指标值 $C_{11}$	综合指标值 $C_{12}$	隶属函数值 $U(X_1)$	隶属函数值 $U(X_2)$	综合评定值 $D$
小叶桢楠	0.848 1	0.600 4	0.358 7	0.619 5	0.414 1
大叶桢楠	-0.848 1	-0.600 4	0.516 8	0.504 8	0.514 3
权重			0.787 6	0.212 4	

用综合评定值公式计算各类型桢楠低温胁迫下综合评定值  $D_i$ 。根据  $D$  值(表4), 对不同类型桢楠的耐寒性进行比较,  $D$  值越大, 耐寒性越强。结果显示, 小叶桢楠和大叶桢楠的综合评定值分别为0.4141和0.5143, 表明大叶桢楠的耐寒性强于小叶桢楠。

### 3 讨论与结论

相对电导率和丙二醛在低温胁迫下变化的研究已有诸多报道, 植物受到低温逆境胁迫后, 其膜脂首先发生相变, 由液晶相转变成凝胶相, 使膜透性发生改变, 胞内离子外渗<sup>[16]</sup>, 引起相对电导率升高。丙二醛是膜脂过氧化作用的产物<sup>[17]</sup>, 为此, 相对电导率和丙二醛质量摩尔浓度常作为反映生物膜受伤害程度的指标<sup>[18-20]</sup>, 且与植物的抗寒能力呈负相关。本研究表明, 2 种叶型桉楠经低温处理后, 叶片相对电导率升高, 与葡萄, 杏 *Armeniaca vulgaris*, 藜麦 *Chenopodium quinoa* 等植物<sup>[6,21-22]</sup>低温胁迫下的测定结果一致, 说明在一定低温下, 桉楠叶片的细胞膜透性被破坏。2 种叶型桉楠丙二醛质量摩尔浓度均先上升后下降, 这与黑壳楠 *Lindera megaphylla*, 墨西哥玉米 *Zea mexicana* 等植物<sup>[23-24]</sup>低温胁迫下的测定结果一致, 前期上升说明低温引起桉楠叶片细胞膜质过氧化, 且随着温度降低, 过氧化程度不断加剧。2 种叶型桉楠相对电导率和丙二醛质量摩尔浓度变化幅度明显不同, 表明 2 种叶型桉楠的耐寒性存在差异, 在 0.1 °C 时, 小叶桉楠虽然叶片、枝干上尚未出现外观变化, 但已出现明显的细胞膜伤害, 而大叶桉楠则在 -4.0 °C 时出现这种生理变化, 可以认为大叶桉楠耐寒性显著高于小叶桉楠。

植物体内存在抗氧化酶保护系统, 正常条件下活性氧的产生和清除处于动态平衡状态<sup>[25]</sup>。低温胁迫下, 植物会产生大量的活性氧自由基, 为抵御活性氧对细胞的伤害, 植物抗氧化酶活性增强, 以清除活性氧。但这种清除作用存在限制, 随着自由基的大量产生, 当清除速度小于生成速度时, 则动态平衡被打破, 对植物细胞造成伤害<sup>[26]</sup>。本试验发现, SOD 和 POD 活性均呈现先升后降的变化趋势, 说明桉楠在胁迫前期, 产生了显明的应激反应, 通过提高 SOD 和 POD 活性来消除体内产生的自由基, 抵御低温带来的伤害, 与前人的研究结果一致<sup>[6,27-28]</sup>。大叶桉楠 SOD 上升幅度显著高于小叶桉楠, 该结果印证了细胞膜透性的变化趋势, 证实在 0.1 °C 胁迫下, 小叶桉楠的活性氧自由基已超出其自身的清除能力, 产生了冷冻伤害, 而大叶桉楠此时还处于上升阶段, 但到 -4.0 °C 后呈下降趋势。

低温胁迫下植物通过积累可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸等物质降低细胞渗透势, 保护生物膜, 维持细胞结构提高植物自身对低温的适应性<sup>[29-33]</sup>。多数研究认为低温胁迫下, 可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸等物质的质量分数与植物抗寒性正相关。但在黑麦草 *Lolium perenne*<sup>[34]</sup>和结缕草 *Zoysia japonica*<sup>[35]</sup>等的研究中发现可溶性糖质量分数与植物抗寒性无相关关系; 武兰芳<sup>[36]</sup>在研究低温下玉米 *Zea mays* 可溶性蛋白质量分数变化时发现, 随着低温处理时间的延长可溶性蛋白质量分数逐渐降低; JACKSON<sup>[37]</sup>, 何开跃等<sup>[38]</sup>认为: 脯氨酸的积累可能是植物对低温的一种适应或者细胞受损的一种表现, 与植物的耐寒能力无明确相关关系。本研究表明: 低温胁迫下, 桉楠的可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸质量分数均逐渐升高, 在达到一定的临界低温后, 呈现下降的趋势, 这与杨玉珍等<sup>[39]</sup>的研究一致。可以认为: 低温胁迫下桉楠可通过生成有机溶质来抵御低温伤害, 但 3 类物质出现峰值的低温不同, 且 2 种叶型桉楠间也不相同。其中大叶桉楠的可溶性糖质量分数显著高于小叶桉楠, 而可溶性蛋白和脯氨酸质量分数则显著低于小叶桉楠。由此可见: 植物在低温胁迫下可诱导有机溶质的产生, 并随细胞功能的损害而下降, 但其质量分数直接用于衡量其耐寒能力具有一定的局限性。

植物的耐寒性是受多种因素影响的数量性状<sup>[13]</sup>, 在低温胁迫下涉及多种生理生化指标的变化, 难以采用单一指标对耐寒性做出准确评价<sup>[40]</sup>。主成分分析法作为综合评价植物抗性的方法, 目前已在茶树 *Camellia sinensis*, 葡萄等<sup>[41-42]</sup>多种植物的耐寒性评价上被采用。本试验采用 7 个单项指标并根据其贡献率的大小组合成 2 个综合指标评价桉楠的耐寒性强弱, 再结合隶属函数法, 得到 2 种叶型桉楠的综合评定值, 对小叶桉楠和大叶桉楠的耐寒性做出综合性评价, 证实了大叶桉楠耐寒性优于小叶桉楠。

### 4 参考文献

- [1] 郑万钧. 中国树木志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1983.
- [2] 计淑霞, 戴绍军, 刘炜. 植物应答低温胁迫机制的研究进展[J]. 生命科学, 2010, 22(10): 1013 - 1019.  
JI Shuxia, DAI Shaojun, LIU Wei. The advances of plants in response and adaption to low temperature stress [J]. *Chin Bull Life Sci*, 2010, 22(10): 1013 - 1019.
- [3] 刘辉, 李德军, 邓治. 植物应答低温胁迫的转录调控网络研究进展[J]. 中国农业科学, 2014, 47(18): 3523 - 3533.

- LIU Hui, LI Dejun, DENG Zhi. Advances in research of transcriptional regulatory network in response to cold stress in plants [J]. *Sci Agric Sin*, 2014, **47**(18): 3523 – 3533.
- [4] 乌凤章, 王贺新, 徐国辉, 等. 木本植物低温胁迫生理及分子机制研究进展[J]. 林业科学, 2015, **41**(7): 116 – 128.
- WU Fengzhang, WANG Hexin, XU Guohui, *et al.* Research progress on the physiological and molecular mechanisms of woody plants under low temperature stress [J]. *Sci Silv Sin*, 2015, **41**(7): 116 – 128.
- [5] 李晓宇, 杨成超, 彭建东, 等. 杨树苗期抗寒性综合评价体系的构建[J]. 林业科学, 2014, **50**(7): 44 – 51.
- LI Xiaoyu, YANG Chengchao, PENG Jiandong, *et al.* Establishment of an integrated assessment system on cold resistance of poplars at the seeding stage [J]. *Sci Silv Sin*, 2014, **50**(7): 44 – 51.
- [6] 高登涛, 白茹, 鲁晓燕, 等. 引入石河子地区的5个葡萄砧木抗寒性比较[J]. 果树学报, 2015, **32**(2): 232 – 237.
- GAO Dengtao, BAI Ru, LU Xiaoyan, *et al.* Study on the cold resistance of five grapevine rootstocks introduced to Shihezi [J]. *J Fruit Sci*, 2015, **32**(2): 232 – 237.
- [7] 杨盛, 郭黄萍, 郝国伟, 等. 山西部分梨品种抗寒性测定及生理指标研究[J]. 农学学报, 2014(12): 72 – 77.
- YANG Sheng, GUO Huangping, HAO Guowei, *et al.* Determined the cold resistance on some pear varieties and studied on its resistance physiology in Shanxi Province [J]. *J Agric*, 2014(12): 72 – 77.
- [8] 任俊杰, 赵爽, 苏彦莘, 等. 春季低温胁迫对核桃抗氧化酶指标的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, **44**(3): 75 – 81.
- REN Junjie, ZHAO Shuang, SU Yanping, *et al.* Effects of low temperature stress in spring on antioxidase indexes of walnuts [J]. *J Northwest A & F Nat Univ Sci Ed*, 2016, **44**(3): 75 – 81.
- [9] 滕开琼. 樟科3种常绿阔叶树种抗寒生理的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2000.
- TENG Kaiqiong. *The Study on the Chilling Resistance Physiology of 3 Broad-leaved Evergreens in Lauraceae* [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2000.
- [10] 宗卫. CaCl<sub>2</sub>和SA对樟科3种常绿阔叶树种幼苗的抗寒性研究[D]. 荆州: 长江大学, 2013.
- ZONG Wei. *Study of the Physiological Effect of CaCl<sub>2</sub> and SA on Cold-tolerance of 3 Broad-leaved Evergreen Seedlings in Lauraceae* [D]. Jingzhou: Yangtze University, 2013.
- [11] 蔡庆生. 植物生理学实验[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2013: 174 – 179.
- [12] 张治安, 陈展宇. 植物生理学实验技术[M]. 长春: 吉林大学出版社, 2008.
- [13] 刘杜玲, 张博勇, 孙红梅, 等. 早实核桃不同品种抗寒性综合评价[J]. 园艺学报, 2015, **42**(3): 545 – 553.
- LIU Duling, ZHANG Boyong, SUN Hongmei, *et al.* Comprehensive evaluation on cold resistance of early fruiting walnut cultivars [J]. *Acta Horti Sin*, 2015, **42**(3): 545 – 553.
- [14] 翟飞飞, 韩蕾, 刘俊祥, 等. 人工低温胁迫下多年生黑麦草诱变株系的抗寒性研究[J]. 草业学报, 2013, **22**(6): 268 – 279.
- ZHAI Feifei, HAN Lei, LIU Junxiang, *et al.* Assessing cold resistance of mutagenic strains of perennial ryegrass under artificial low-temperature stress [J]. *Acta Pratac Sin*, 2013, **22**(6): 268 – 279.
- [15] 柳新红, 何小勇, 苏冬梅, 等. 翅荚木种源抗寒性综合评价体系的构建与应用[J]. 林业科学, 2007, **43**(10): 45 – 50.
- LIU Xinhong, HE Xiaoyong, SU Dongmei, *et al.* Establishment and application of integrated assessment system on cold resistance of different *Zenia insignis* provenances [J]. *Sci Silv Sin*, 2007, **43**(10): 45 – 50.
- [16] 杜永吉, 于磊, 孙吉雄, 等. 结缕草3个品种抗寒性的综合评价[J]. 草业学报, 2008, **17**(3): 6 – 16.
- DU Yongji, YU Lei, SUN Jixiong, *et al.* Comprehensive assessment of cold resistance of three *Zoysia japonica* varieties [J]. *Acta Pratac Sin*, 2008, **17**(3): 6 – 16.
- [17] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1991, **27**(2): 84 – 90.
- CHEN Shaoyu. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell [J]. *Plant Physiol Commun*, 1991, **27**(2): 84 – 90.
- [18] 王荣富. 植物抗寒指标的种类及其应用[J]. 植物生理学通讯, 1987, **23**(3): 49 – 55.
- WANG Rongfu. The kinds of plant hardiness criteria and their application [J]. *Plant Physiol Commun*, 1987, **23**(3): 49 – 55.
- [19] 杨捷, 朱玉菲, 何笑蕾, 等. 低温胁迫对天目琼花和花叶锦带抗寒生理的影响[J]. 河北农业大学学报, 2015,

- 38**(2): 60 – 65.
- YANG Jie, ZHU Yufei, HE Xiaolei, *et al.* Effects of low temperature stress on cold resistance physiology of *Viburnum sargentii* Koehne and *Weigela florida* cv. Variegata [J]. *J Agric Univ Hebei*, 2015, **38**(2): 60 – 65.
- [20] HODGES D M, deLONG J M, FORNEY C F, *et al.* Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds [J]. *Planta*, 1999, **207**(4): 604 – 611.
- [21] 王华, 王飞, 陈登文, 等. 低温胁迫对杏花 SOD 活性和膜脂过氧化的影响[J]. *果树科学*, 2000, **17**(3): 197 – 201.
- WANG Hua, WANG Fei, CHEN Dengwen, *et al.* Effects of low temperature stress on SOD activity and membrane deroxidization of apricot flowers [J]. *J Fruit Sci*, 2000, **17**(3): 197 – 201.
- [22] JACOBSEN S E, MONTEROS C, CORCUERA L J, *et al.* Frost resistance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) [J]. *Eur J Agron*, 2007, **26**(4): 471 – 475.
- [23] 周敏, 刘志雄, 王瑶, 等. 黑壳楠对低温胁迫的生理响应及耐寒性分析[J]. *长江大学学报(自然科学版)*, 2012, **9**(2): 18 – 20.
- ZHOU Min, LIU Zhixiong, WANG Yao, *et al.* Physiological responses of *Lindera megaphylla* to low temperature and its cold tolerance [J]. *J Yangtze Univ Nat Sci Ed*, 2012, **9**(2): 18 – 20.
- [24] 蒋安, 郭彦军, 范彦, 等. 低温胁迫对墨西哥玉米幼苗抗寒性的影响[J]. *草业科学*, 2010, **27**(3): 89 – 92.
- JIANG An, GUO Yanjun, FAN Yan, *et al.* Effect of low temperature stress on the cold resistance of *Zea mexicana* seedling [J]. *Pratac Sci*, 2010, **27**(3): 89 – 92.
- [25] 尹永强, 胡建斌, 邓明军. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展[J]. *中国农学通报*, 2007, **23**(1): 105 – 110.
- YIN Yongqiang, HU Jianbin, DENG Mingjun. Latest development of antioxidant system and responses to stress in plant leaves [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2007, **23**(1): 105 – 110.
- [26] 孟庆瑞, 杨建民, 樊英利. 果树抗寒机制研究进展[J]. *河北农业大学学报*, 2002, **25**(增刊): 87 – 91.
- MENG Qingrui, YANG Jianmin, FAN Yingli. Research progress in cold hardiness of orchard trees [J]. *J Agric Univ Hebei*, 2002, **25**(supp): 87 – 91.
- [27] 杨春祥, 李宪利, 高东升, 等. 低温胁迫对油桃花器官膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. *果树学报*, 2005, **22**(1): 69 – 71.
- YANG Chunxiang, LI Xianli, GAO Dongsheng, *et al.* Effects of chilling stress on membrane lipid peroxidation and activities of protective enzymes in nectarine flowers organs [J]. *J Fruit Sci*, 2005, **22**(1): 69 – 71.
- [28] HEIDARVAND L, MAALIAMI R. Physio-biochemical and proteome analysis of chickpea in early phases of cold stress[J]. *J Plant Physiol*, 2013, **170**(5): 459 – 469.
- [29] 任军, 黄志霖, 曾立雄, 等. 低温胁迫下植物生理反应机理研究进展[J]. *世界林业研究*, 2013, **26**(6): 15 – 20.
- REN Jun, HUANG Zhilin, ZENG Lixiong, *et al.* A review of physiological reaction mechanism of plants exposed to low temperature stress [J]. *World For Res*, 2013, **26**(6): 15 – 20.
- [30] 邱乾栋, 吕晓贞, 臧德奎, 等. 植物抗寒生理研究进展[J]. *山东农业科学*, 2009(8): 53 – 57.
- QIU Qiantong, LÜ Xiaozhen, ZANG Dekui, *et al.* Research progress on plant physiology of cold resistance [J]. *Shandong Agric Sci*, 2009(8): 53 – 57.
- [31] FOLGADO R, SERGEANT K, RENAUT J, *et al.* Changes in sugar content and proteome of potato in response to cold and dehydration stress and their implications for cryopreservation [J]. *J Proteomics*, 2014, **98**(4): 99 – 111.
- [32] VERBRUGGEN N, HERMANS C. Proline accumulation in plants: a review [J]. *Amino Acids*, 2008, **35**(4): 753 – 759.
- [33] LIANOPOULOU V, BOSABALIDIS A M, PATAKAS A, *et al.* Effects of chilling stress on leaf morphology, anatomy, ultrastructure, gas exchange, and essential oils in the seasonally dimorphic plant *Teucrium polium* (Lamiaceae) [J]. *Acta Physiol Plant*, 2014, **36**(8): 2271 – 2281.
- [34] THOMAS H, JAMES A R. Freezing tolerance and solute changes in contrasting genotypes of *Lolium perenne* L. acclimated to cold and drought [J]. *Ann Bot*, 1993, **72**(3): 249 – 254.
- [35] PATTION A J, CUNNINGHAM S M, VOLENEC J J, *et al.* Differences in freeze tolerance of *Zoysia grasses* ( II )



- carbohydrate and proline accumulation [J]. *Crop Sci*, 2007, **47**(5): 2170 – 2181.
- [36] 武兰芳. 低温下玉米幼苗叶片某些细胞器可溶性蛋白质的变化[J]. 华北农学报, 1990, **5**(2): 38 – 43.  
WU Lanfang. Changes of soluble protein in some organelles of maize seedling leaf at low temperature [J]. *Acta Agric Boreal-Sin*, 1990, **5**(2): 38 – 43.
- [37] JACKSON A E, SEPPELT R D. The accumulation of proline in *Prasiola crispa* during winter in Antarctica [J]. *Physiol Plant*, 1995, **94**(1): 25 – 30.
- [38] 何开跃, 李晓储, 黄利斌, 等. 3种含笑耐寒生理机制研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2004, **28**(4): 62 – 64.  
HE Kaiyue, LI Xiaochu, HUANG Libin, *et al.* A study on cold-resistant mechanism in three kinds of *Michelia* [J]. *J Nanjing For Univ Nat Sci Ed*, 2004, **28**(4): 62 – 64.
- [39] 杨玉珍, 陈刚, 彭方仁, 等. 不同种源香椿苗木茎部抗寒性的研究[J]. 北方园艺, 2014(18): 1 – 4.  
YANG Yuzhen, CHEN Gang, PENG Fangren, *et al.* Study on cold tolerance of stems of *Toona sinensis* seedlings from different provenances [J]. *Northern Hortic*, 2014(18): 1 – 4.
- [40] 杨宁宁, 孙万仓, 刘自刚, 等. 北方冬油菜抗寒性的形态与生理机制[J]. 中国农业科学, 2014, **47**(3): 452 – 461.  
YANG Ningning, SUN Wancang, LIU Zigang, *et al.* Morphological characters and physiological mechanisms of cold resistance of winter rapeseed in northern China [J]. *Sci Agric Sin*, 2014, **47**(3): 452 – 461.
- [41] 李叶云, 舒锡婷, 周月琴, 等. 自然越冬过程中3个茶树品种的生理特性变化及抗寒性评价[J]. 植物资源与环境学报, 2014, **23**(3): 52 – 58.  
LI Yeyun, SHU Xiting, ZHOU Yueqin, *et al.* Change in physiological characteristics and resistance evaluation of three cultivars of *Camellia sinensis* during natural overwintering period [J]. *J Plant Resour Environ*, 2014, **23**(3): 52 – 58.
- [42] ZHANG J, WU X, NIU R, *et al.* Cold-resistance evaluation in 25 wild grape species [J]. *Vitis*, 2012, **51**(4): 153 – 160.