

几种冬青属植物抗冻能力比较

张纪林¹ 谢晓金² 教忠意¹ 张璐² 郝日明²

(¹江苏省林业科学研究院, 南京 211153; ²南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

摘要: 选取了 11 种国内外冬青园艺品种或种, 以其离体叶片为试材, 采用低温循环仪自动降温程序模拟冰冻处理, 用电导法测定相对电导率, 并配以 Logistic 方程, 计算出各自的半致死温度。试验结果显示 11 种冬青的抗冻能力由高到低依次为: 龟甲冬青 (*Ilex crenata* var *convexa*)、绿冬青 (*I. viridis*)、拉索里娜冬青 (*I. xaltacrerensis* 'Lawsoniana')、枸骨 (*I. comuta*)、冬青 (*I. chinensis*)、无刺枸骨 (*I. comuta* var *fortunei*)、金边小叶冬青 (*I. xaltacrerensis* 'Golden Van Tol')、毛冬青 (*I. pubescens*)、花刺冬青 (*I. aferox* 'Avgentea')、小果冬青 (*I. micrococca*) 和金宝石冬青 (*I. crenata* 'Golden Gem')。在此基础上选出 9 种冬青树种离体叶片为试材, 作多个低温处理, 测定其可溶性糖和游离脯氨酸含量。结果表明, 随处理温度的降低, 可溶性糖和游离脯氨酸的含量逐渐增加, 低温下可溶性糖和游离脯氨酸的含量仅与部分冬青的抗冻性呈正相关。该研究数据对推测引进新品种的抗冻能力, 为它们的合理应用提供科学依据。

关键词: 冬青; 抗冻性; 电导法; 可溶性糖; 游离脯氨酸

中图分类号: S 687 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 03-0477-05

The Comparison of Frozen Resistance of Several Tree Species of *Ilex* L.

Zhang Jilin¹, Xie Xiaojin², Jiao Zhongyi¹, Zhang Lu², and Hao Riming²

(¹Institute of Forestry Science, Jiangsu Province, Nanjing 211153, China; ²College of Horticultural, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Electric conductivities in detached-leaf of eleven cultigens of *Ilex* from domestic and abroad were under simulated frozen treatment. Lethal temperature 50 (LT₅₀) was calculated with logistic formula and the results revealed that the frozen resistance from strong to weak were *Ilex crenata* var *convexa*, *I. viridis*, *I. xaltacrerensis* 'Lawsoniana', *I. comuta*, *I. chinensis*, *I. comuta* var *fortunei*, *I. xaltacrerensis* 'Golden Van Tol', *I. pubescens*, *I. aferox* 'Avgentea', *I. micrococca*, *I. crenata* 'Golden Gem'. Nine cultigens were selected based on the above results and their leaves were detached and treated at different low temperature to measure the contents of sucrose and proline. The results indicated that with temperature decreasing, the contents of soluble sucrose and proline increased, and the contents were positively related to the frozen resistance in some cultigens. The research results demonstrated important indexes to predict the frozen resistance of other new introduced plants.

Key words: *Ilex* L.; Frozen resistance; Electric conductivity; Soluble sucrose; Proline

冬青属 (*Ilex*) 植物属冬青科, 全世界多达 400 种以上^[1], 主要分布于热带中南美洲和热带亚洲地区, 在亚洲一些冬青种类可向北延伸分布到较高纬度的亚热带地区。冬青属原种和栽培品种有较强的耐寒能力, 如枸骨 (*Ilex comuta*) 在中国自然分布可达北纬 34°N 的连云港云台山, 引种到山东生长良好^[2]。可以认为, 不少冬青种和品种能够引种到中国的华北中南部地区, 可丰富这些地区的园林常绿观赏资源。本研究借助生理生态方法, 定量估测 11 种冬青资源的耐寒能力, 为这些种和品种的合理利用提供科学依据。

1 材料与方法

收稿日期: 2004 - 07 - 01; 修回日期: 2004 - 08 - 16

基金项目: 国家林业局 '948' 项目 (2001-59-01)

1.1 试验材料

供试有 11 种冬青树种的新鲜健康叶片, 其中国外引进品种有金宝石冬青 (*I. crenata* 'Golden Gem'), 金边小叶冬青 (*I. xaltacrerensis* 'Golden Van Tol'), 花刺冬青 (*I. aferox* 'Avgentea'), 龟甲冬青 (*I. crenata* var. *convexa*), 拉索里娜冬青 (*I. xaltacrerensis* 'Lawsoniana'), 无刺枸骨 (*I. comuta* var. *fortunei*); 国内冬青有枸骨 (*I. comuta*), 毛冬青 (*I. pubescens*), 冬青 (*I. chinensis*), 绿冬青 (*I. viridis*) 和小果冬青 (*I. micrococca*)。以引种广泛的枸骨作对照, 比较其他树种的抗冻性高低。上述材料均种植在江苏省林业科学研究院, 树龄 2~3 年, 生长健壮。

1.2 试验方法

1.2.1 电导法 于 2003 年 12 月上旬, 南京地区已进入严冬, 植株抗冻能力较强时。选择东南方向生长健康 1 年生枝条, 参照朱根海等^[3]的方法, 取健康枝条上倒 2 和倒 3 片叶, 除去中脉后, 先用自来水冲洗干净, 再用去离子水漂洗 3 次, 在滤纸上吸干。将叶片剪短 (约 3 cm 长) 分成 A1、A2、A3、A4、A5、A6 等 6 份, 每份约 3 g, 然后用纱布包好置于试管中, 用 9610 型低温循环仪 (Polyscience 公司生产) 进行 -9、-13、-17、-21、-25 低温处理, 以 -5 为对照, 每两个温度间降温 0.5 h, 并在处理温度保持 1 h, 共计 9 h。

将处理后的材料置于冰箱内 (温度 3.6℃) 解冻 24 h, 每个温度 3 次重复, 每重复约 1 g, (金宝石冬青、金边小叶冬青和花刺冬青因本身叶片太少, 每个处理只设两次重复), 分别标记为 A1-1、A1-2、A1-3 等, 依次类推共 216 份, 在每次重复中加入 20 mL 去离子水, 然后在室温下浸提 12 h。

DDS-307 型电导仪 (上海雷磁仪器厂) 测其电导率, 然后置沸水浴中 15 min 后冷却, 测其煮沸电导率, 按下列公式计算其相对电导率。相对电导率 (%) = (冰冻电导率 × 100) / 煮沸电导率。低温胁迫下细胞电解质透出率与温度之间的关系呈 S 型曲线, 与 Logistic 方程 $Y = k / (1 + ae^{-bx})$ 具有较好的拟合度, 求该 Logistic 方程的二阶导数, 并令其等于零, 则可获得曲线的拐点, $X = \ln(1/a) / b$, 即为半致死温度 (Lethal temperature 50, LT_{50})。在此点, 低温对电解质的递增效应最大^[3, 4]。

1.2.2 可溶性糖与游离脯氨酸试验方法 试验材料在 9610 型低温循环仪中进行 -5、-11 与 -17 处理, 每两个温度间降温 1 h, 并在处理温度保持 1.5 h。对照处理放于 5℃ 冰箱中, 可溶性糖与游离脯氨酸试验方法参照李合生等^[5]的方法。

2 结果与分析

2.1 11 种冬青树种的 LT_{50}

2003 年 12 月对 11 种冬青树种作电导率测定, 根据莫惠栋^[4]的计算方法, 求出 Logistic 方程的各参数 (a 、 b 、 k)、 LT_{50} 及拟合度列于表 1, 其中以花刺冬青 S 型曲线为代表 (图 1)。

用电导法得出的 11 种冬青的 LT_{50} 结果显示, 11 个冬青的抗冻能力由高到低依次为: 龟甲冬青、绿冬青、拉索里娜冬青、枸骨、冬青、无刺枸骨、金边小叶冬青、毛冬青、花刺冬青、小果冬青和金宝石冬青。其中以龟甲冬青最抗冻, LT_{50} 达到 -23.0。金宝石冬青抗冻性较差, LT_{50} 只有 -7.3。比园林常用种类枸骨和冬青的抗冻性强的种类有龟甲冬青、绿冬青和拉索里娜冬青。

但无刺枸骨、金边小叶冬青、毛冬青、花刺冬青均具有较高的抗冻能力, LT_{50} 在 -12 ~ -18 之间。

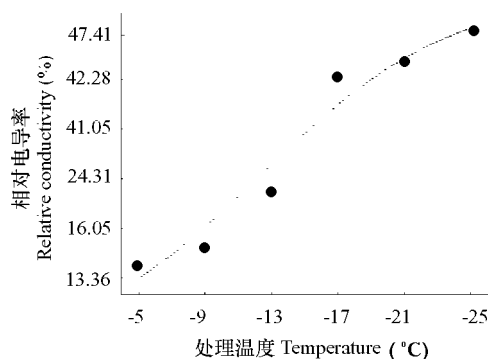


图 1 花刺冬青的相对电导率随温度变化的 Logistic 曲线

Fig. 1 Logistic curve of relative conductivity to temperature of *Ilex aferox* 'Avgentea'

表 1 11种冬青电导率的 Logistic方程参数及 LT_{50} Table 1 The parameters of Logistic and LT_{50} of eleven species of Ilex L.

树种 Tree species	a	b	k	LT_{50} ()	拟合度 R^2
枸骨 <i>Ilex comuta</i>	13.06962	0.1304586	93.57867	-19.7	0.9956**
金宝石冬青 <i>I. crenata</i> 'Golden Gem'	2.086814	0.1007222	25.93535	-7.3	0.9856**
金边小叶冬青 <i>I. xaltacrerensis</i> 'Golden Van Tol'	5.74668	0.1022763	66.08991	-17.1	0.9756**
小果冬青 <i>I. micrococca</i>	6.619987	0.2069193	59.29984	-9.1	0.9542**
无刺枸骨 <i>I. comuta</i> var. <i>fortunei</i>	4.014468	0.0753515	56.41185	-18.4	0.9643**
毛冬青 <i>I. pubescens</i>	4.299502	0.1177287	64.37569	-12.4	0.9807**
冬青 <i>I. chinensis</i>	4.30624	0.0744073	70.24947	-19.6	0.9687**
龟甲冬青 <i>I. crenata</i> var. <i>convexa</i>	8.017047	0.0904508	69.61512	-23.0	0.9885**
花刺冬青 <i>I. afenox</i> 'Avengea'	8.616119	0.1743971	52.74005	-12.3	0.9786**
绿冬青 <i>I. viridis</i>	6.202171	0.0806754	73.41447	-22.6	0.9553**
拉索里娜冬青 <i>I. xaltacrerensis</i> 'Lawsoniana'	6.172801	0.08200227	80.60767	-22.2	0.9546

注：a、b、k分别表示曲线渐进度、曲线斜率、方程系数；**表示拟合度达到极显著水平。

Note: a, b and k indicate the gradual curve, curve slope and equation coefficient, respectively. ** Indicate the significance of R^2 at $P < 0.01$ respectively.

2.2 9种冬青低温处理下可溶性糖的变化

由表 2 中 9 种冬青在 -5、-11 和 -17 以及对照 (5) 处理的可溶性糖含量变化可以看出, 随温度下降, 9 种冬青可溶性糖的含量比 5 时都有相应的增加。但在不同低温处理下 9 种冬青可溶性糖含量的变化趋势不相同, 枸骨从 -5 到 -11, 可溶性糖的含量之间存在极显著差异。龟甲冬青和绿冬青从 5 到 -5, 可溶性糖的含量之间存在极显著差异, 但从 -5 到 -11, 可溶性糖含量之间只存在显著性差异。拉索里娜冬青从 5 到 -5, 可溶性糖含量之间存在显著性差异。小果冬青从 -11 到 -17, 可溶性糖含量之间存在显著性差异。而冬青、无刺枸骨和金宝石冬青从 5 到 -17, 可溶性糖含量之间差异不显著。

表 2 9种冬青在不同温度处理下可溶性糖含量的平均值

Table 2 The average of soluble sucrose content of nine species of Ilex L. under different temperature ($g \cdot kg^{-1}DM$)

树种 Tree species	可溶性糖含量 The contents of soluble sucrose				相对增幅 Relative increment (%)
	-17	-11	-5	5 (对照 Control)	
枸骨 <i>Ilex comuta</i>	479.8aA	475.8aA	424.1bB	441.7bAB	86
龟甲冬青 <i>I. crenata</i> var. <i>convexa</i>	517.7aA	519.2aA	477.1bA	408.3cB	268
绿冬青 <i>I. viridis</i>	59.77abA	62.93aA	61.65abA	56.45cB	59
拉索里娜冬青 <i>I. xaltacrerensis</i> 'Lawsoniana'	359.9aA	331.1abAB	309.9abAB	274.3cB	312
冬青 <i>I. chinensis</i>	745.0aA	761.0aA	734.5aA	719.0aA	36
无刺枸骨 <i>I. comuta</i> var. <i>fortunei</i>	459.6aA	455.9aA	449.9aA	427.6aA	75
毛冬青 <i>I. pubescens</i>	364.2aA	333.6abA	327.2bA	324.3bA	123
小果冬青 <i>I. micrococca</i>	399.6aA	360.6bA	350.1bA	344.1bA	161
金宝石冬青 <i>I. crenata</i> 'Golden Gem'	525.0aA	517.9aA	511.7aA	508.4aA	33

注：数字后大、小写字母分别表示 $P=0.01$ 、 0.05 水平上差异显著, 下表同。

Note: The different capital and small letters indicated significances at $P=0.01$, 0.05 level, respectively, the same below.

表 3 9种冬青在不同温度处理下游离脯氨酸含量的平均值

Table 3 The average of proline content of nine species of Ilex L. under different temperature ($mg \cdot g^{-1}DM$)

树种 Tree species	游离脯氨酸含量 The contents of proline				相对增幅 Relative increment (%)
	-17	-11	-5	5 (对照 Control)	
枸骨 <i>Ilex comuta</i>	0.11bB	0.13aA	0.10bCB	0.09cB	22.2
龟甲冬青 <i>I. crenata</i> var. <i>convexa</i>	0.15aA	0.12bB	0.11bB	0.08cC	87.5
绿冬青 <i>I. viridis</i>	0.13aA	0.12aA	0.09bB	0.07cB	85.7
拉索里娜冬青 <i>I. xaltacrerensis</i> 'Lawsoniana'	0.11aA	0.09bB	0.07cC	0.07cC	57.1
冬青 <i>I. chinensis</i>	0.06bB	0.09aA	0.07bB	0.07bB	-
无刺枸骨 <i>I. comuta</i> var. <i>fortunei</i>	0.08bA	0.09aA	0.09aA	0.08bA	-
毛冬青 <i>I. pubescens</i>	0.08abA	0.09aA	0.07bA	0.07bA	14.2
小果冬青 <i>I. micrococca</i>	0.25cB	0.29aA	0.27bB	0.26cB	-
金宝石冬青 <i>I. crenata</i> 'Golden Gem'	0.08cBC	0.07cC	0.12aA	0.09bB	-

2.3 9种冬青低温处理下游离脯氨酸的变化

由表 3 可见, 9 种冬青树种在 3 种低温处理条件下游离脯氨酸含量均不同程度地高于 5 下脯氨酸的含量, 且总体上皆随温度下降而呈增长的趋势。但随着低温胁迫的加剧, 9 种冬青中的游离脯氨酸含量消长动态亦存在一定的差异, 如龟甲冬青、拉索里娜冬青、冬青和枸骨, 从 - 11 到 - 17 , 游离脯氨酸含量存在极显著的差异。而枸骨、冬青绿冬青与小果冬青, 从 - 5 到 - 11 , 其含量存在极显著的差异。金宝石冬青从 5 到 - 5 存在极显著的差异。从相对增幅看, 增幅较高的种类依次是龟甲冬青、绿冬青、拉索里娜冬青和枸骨。

3 结论与讨论

低温胁迫下的电导率^[6~9]、可溶性糖含量^[10, 11]和游离脯氨酸含量变化等^[12]生理生态测试方法均有报道用于植物抗冻性研究。从上述研究结果看, 随温度的降低, 植物体内的可溶性糖和游离脯氨酸含量随之增加, 与前人的研究结论一致。然而在比较不同种和品种之间抗冻能力高低差别时, 这两种方法的可比性显得较为定性, 有时还比较复杂。以可溶性糖含量变化为例, 9 种冬青的 3 个低温处理与对照处理相比, 基本上是温度越低, 可溶性糖含量越高, 呈相关关系。以 3 种低温处理可溶性糖含量相对增幅来看, 龟甲冬青、拉索里娜冬青、毛冬青和小果冬青的增幅相对较大, 分别为 26.8%、31.2%、12.3%和 16.1%; 金宝石冬青相对增幅最小, 仅有 3.3%; 而绿冬青、枸骨、冬青和无刺冬青的相对增幅介于两者之间。游离脯氨酸含量变化直接受到所设处理温度的水平影响, 其中, 龟甲冬青、绿冬青和拉索里娜冬青在 3 个低温处理水平上, 基本上是温度越低, 游离脯氨酸含量越高, 且呈正比关系。枸骨、冬青和小果冬青, 在 - 5 和 - 11 表现出温度越低游离脯氨酸含量越高, 呈正相关。只有金宝石冬青在 - 5 时, 表现温度低游离脯氨酸含量上升的规律。可初步归类为 3 个抗冻等级。

比较而言, 低温胁迫下的电导率变化, 借助 Logistic 方程拟合的 LT_{50} , 较能量化地反映植物抗冻能力水平。依据 LT_{50} 的试验结果 (表 1): 11 种冬青, 抗冻能力从高到低依次为: 龟甲冬青、绿冬青、拉索里娜冬青、枸骨、冬青、无刺枸骨、金边小叶冬青、毛冬青、花刺冬青、小果冬青和金宝石冬青。作者认为, LT_{50} 能够较为客观的反映树种本身的耐低温能力, 如果在每次测试中加入在南京地区露地栽培可以正常越冬枸骨和冬青作参考, 其 LT_{50} 数值的可比性更强。从试验结果推测, 龟甲冬青、绿冬青和拉索里娜冬青的 LT_{50} 低于枸骨, 其抗冻能力应高于枸骨, 可在山东济南地区 (其历史最低气温在 - 16.1)、甚至河南北部商丘地区 (其历史最低气温在 - 20 左右) 引种栽培。而金宝石冬青通过作者的观察在南京地区露地栽培尚可, 向北引种应慎重。

尽管如此, 综合比较分析对预测植物的抗冻能力高低是非常重要的。每种抗冻性试验只测其中的一个生理指标, 有一定的局限性。从 9 个冬青的 LT_{50} 、可溶性糖含量和游离脯氨酸含量综合分析, 3 种方法均证明龟甲冬青和拉索里娜冬青这 2 种抗冻能力强; 而金宝石冬青抗冻能力较差; 枸骨和毛冬青的抗冻能力介于中间。冬青和无刺冬青从 LT_{50} 、可溶性糖含量抗冻能力介于中间水平, 而游离脯氨酸含量却显示抗冻能力较差。绿冬青从 LT_{50} 、游离脯氨酸含量显示来看抗冻能力好, 可溶性糖含量却显示中等。但是小果冬青的 LT_{50} 显示抗冻能力较差, 可溶性糖含量却显示抗冻能力好, 游离脯氨酸含量显示抗冻能力中等, 小果冬青是 9 种冬青中唯一的落叶种类, 冬季落叶, 其叶片组织细胞膜结构抗冻与否不影响其生存, 由于植物化学成分的可移动性, 生化指标的参考价值更大。

树种的抗冻性易随环境温度变化而改变, 诸如极端最低温度、寒潮, 特别春寒, 其降温幅度、持续时间长短等对植物的抗冻性有直接影响^[13], 带来抗冻性差异。由于本试验均以理想气候条件为前提, 且仅以离体叶片为试材, 试验结果还需通过引种试验加以证明。

参考文献:

- 1 陈书坤. 中国植物志. 第 45 卷 (2). 北京: 科学出版社, 1999. 1~266
Chen S K. China flora Vol 45 (2). Beijing: Science Press, 1999. 1~266 (in Chinese)
- 2 臧德奎, 李鹏波, 王 瑾. 山东园林中常绿阔叶树种的选择和应用. 中国园林, 2001, (5): 71~73
Zang D K, Li P B, Wang J. Selection and application of ornamental evergreen broadleaf trees and shrubs in Shandong region. China Garden, 2001, (5): 71~73 (in Chinese)
- 3 朱根海, 朱培仁. 小麦抗寒性的季节变化及温度对脱锻炼的效应. 南京农学院学报, 1984, (2): 9~16
Zhu G H, Zhu P R. Effects of season changes and temperature on de-hardening in *Triticum aestivum*. Journal of Nanjing Agricultural College, 1984, (2): 9~16 (in Chinese)
- 4 莫惠栋. Logistic 方程及其应用. 江苏农学院学报, 1983, 4 (2): 53~57
Mo H D. Logistic equation and its application. Journal of Jiangsu Agricultural College, 1983, 4 (2): 53~57 (in Chinese)
- 5 李合生, 孙 群, 赵世杰, 章文华. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 195~258
Li H S, Sun Q, Zhao S J, Zhang W H. Experimental principle and technique of physiology and biochemistry of plants. Beijing: Higher Education Press, 2000. 195~258 (in Chinese)
- 6 杨家骝, 刘祖祺, 刘谷良. 电导法测定柑桔耐寒性的灵敏度和精确度的检验. 南京农学院学报, 1980, (1): 87~95
Yang J Y, Liu Z Q, Liu G L. An examination and certification to the responsiveness and precision of testing the cold resistance in citrus by electrical conducting method. Journal of Nanjing Agricultural College, 1980, (1): 87~95 (in Chinese)
- 7 Peter M. Rosen, George L. Good, Peter L. Steponkus. Desiccation injury and direct freezing injury to evergreen *Azaleas*: a comparison of cultivars. J. Amer Hort Sci, 1983, 108 (1): 28~31
- 8 Akira Sakai, Naotoshi Hakoda. Cold hardiness of the genus *camellia*. J. Amer Soc Hort Sci, 1979, 104 (1): 53~57
- 9 Orville M. Lindstrom. The use of leaf parts to estimate the cold hardiness of southern magnolia (*Magnolia grandiflora* L.). Hortscience, 1992, 27 (3): 247~249
- 10 王孝宣, 李树德, 东惠茹, 高振华, 戴善书. 番茄品种耐寒性与 ABA 和可溶性糖含量的关系. 园艺学报, 1998, 25 (1): 56~60
Wang X X, Li S D, Dong H R, Gao Z H, Dai S S. The correlation of cold-tolerance with ABA, soluble sucrose and respiratory intensity in tomato. Acta Horticulturae Sinica, 1998, 25 (1): 56~60 (in Chinese)
- 11 Gusta L V, Wilen R W, Fu P. Low-temperature stress tolerance: The role of abscisic acid, sucrose, and heat-stable proteins. Hortscience, 1996, 31 (1): 39~46
- 12 姚明华, 徐跃进, 李晓丽, 袁 黎. 茄子耐冷性生理生化指标的研究. 园艺学报, 2001, 28 (6): 527~531
Yao M H, Xu Y J, Li X L, Yuan L. Research on physiological and biochemical characteristics of cold-tolerance to *Solanum melongena* L. Acta Horticulturae Sinica, 2001, 28 (6): 527~531 (in Chinese)
- 13 郝日明, 魏宏图. 紫金山森林植被性质与常绿落叶阔叶混交林重建可能性的探讨. 植物生态学报, 1999, 23 (2): 108~115
Hao R M, Wei H T. Succession tendency of Zhongshan vegetation and discussion of possibility of reconstructing evergreen and deciduous broad-leaved mixed forest. Acta Phytocologica Sinica, 1999, 23 (2): 108~115 (in Chinese)

新书推荐

《英汉生物学词汇》(第二版)

本书是《英汉生物学词汇》1983年版的增修订本, 是一部综合生物学各分支学科词汇的大型工具书。收有动物学、植物学、人体解剖学、组织胚胎学、微生物学、遗传学、细胞学、生物化学、生物物理学、时间生物学、生物工程、分子生物学、生态学等学科以及医学、农学的词汇, 共约 130 000 条。定价: 99 元 (含邮费)。

《英汉园艺学词典》 章文才主编

该词典共收集专业词汇约两万条, 按照全、新、准、精的收词原则, 收录了园艺科学的基本词汇和与园艺科学有密切联系的基础科学和边缘科学词汇, 其中从现代外文书刊中摘录的拼合新词约 100 多条。为了便于检索, 本词典将主要的果树、蔬菜、花卉种名, 按植物属分类汇编。可供我国园艺界的教学、科研、生产方面的专业人员和广大园艺工作者参考使用。定价: 23 元 (含邮费)。

购书者请通过邮局汇款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。