

18种绣线菊苗期抗寒性评价与筛选

刘慧民, 仉茜, 苏青, 刘计璇, 车代弟*

(东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 以18种(品种)不同地理分布及不同抗寒力的绣线菊为试验材料, 通过测定露地自然低温下的抗寒性相关生理指标, 应用隶属函数模型、Logistic方程计算生理指标隶属函数值; 通过测定冰冻处理枝条电导率计算其半致死温度, 根据生理指标隶属函数值和半致死温度确定其抗寒力。结果表明, 华北绣线菊、土庄绣线菊、绒毛绣线菊、石蚕叶绣线菊、绢毛绣线菊、金丝桃叶绣线菊、三裂绣线菊抗寒力最强; 毛果绣线菊、石棒绣线菊、柳叶绣线菊抗寒力较强。

关键词: 绣线菊; 抗寒性; 半致死温度; 隶属函数值

中图分类号: S 682.1⁺¹

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2014) 12-2427-10

Studies on Evaluation and Screening of Cold Resistance During Seedling Stage in Eighteen Species or Varieties of *Spiraea*

LIU Hui-min, ZHANG Qian, SU Qing, LIU Ji-xuan, and CHE Dai-di*

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Eighteen species or varieties of *Spiraea* were used as the experimental materials, which had different geographic distributions and different cold resistances. The physiological indexes which were related to cold resistance were determined under the natural low temperature in the open field. The subjection function model and Logistic equation were considered to calculate the subjection function value of the physiological indexes, and semi-lethal temperature was calculated through measuring the electrical conductivity of branches with frozen treatments. According to the subjection function value of the physiological indexes and the semi-lethal temperature to determine their cold resistant abilities. The results showed that *S. fritschiana* Schneid., *S. pubescens* Turcz., *S. velutina* Franch., *S. chamedryfolia* L., *S. sericea* Turcz., *S. hypericifolia* L. and *S. trilobata* Linn were screened out as the ones which had the strongest cold resistances, also *S. trichocarpa* Nakai, *S. media* Schmibt and *S. salicifolia* Linn as the ones which had the stronger cold resistances.

Key words: *Spiraea*; cold resistance; semi-lethal temperature; subjection function value

绣线菊属(*Spiraea*)植物具有适应性强、观赏价值高等特点, 如加以开发利用, 可以弥补北方高寒地区绿化素材的不足(刘慧民等, 2010)。

在各种环境胁迫中, 低温对植物的影响尤为突出(Ameglio et al., 2003; 李秀芬等, 2013),

收稿日期: 2014-08-25; 修回日期: 2014-12-08

基金项目: 第48批中国博士后基金面上项目(415152); 黑龙江省博士后基金项目(LBH-Z09288); 国家自然科学基金面上项目(31171986)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: 898462546@qq.com)

对植物最大净光合速率、光补偿点、光饱和点均产生影响，说明光合能力与抗寒能力间有一定关系（Damian & Donald, 2001）。植物的抗寒性与其质膜透性（Lyons, 1970）、膜脂肪酸种类与含量（王孝宣 等, 1997)、ABA 含量（龚月桦 等, 2006)、渗透调节物质与保护酶系统等均显著相关(Thomas & James, 1993; Gusta, 1994; 杨春祥 等, 2005; 相昆 等, 2011)。植物的半致死温度 (LT_{50}) 能准确反映其抗寒能力，可作为评价抗寒力的稳定指标（Lu & Mark, 1990; 赵昌琼 等, 2003; 徐康 等, 2005; Azzarello et al., 2009; Liu et al., 2012)。隶属函数法是目前普遍采用的抗性综合评价方法（王连翠, 2007; 张文娥 等, 2007)。本试验中以观赏价值较高的 18 种绣线菊为研究材料，通过测定露地自然低温与人工低温胁迫处理下的相关生理指标，拟合隶属函数模型，以 Logistic 方程得出抗寒生理指标隶属函数值和半致死温度，结合田间调查，对其抗寒能力作出评价，为其应用于北方高寒地区的园林绿化提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料来源于黑龙江省哈尔滨市森林植物园绣线菊资源圃（表 1），引种到东北农业大学园艺学院设施工程中心。采用 2 年生实生苗，用普通园土钵（13 cm × 13 cm）栽于露地，每钵土壤 500 g，每种绣线菊试验材料各栽植 200 钵，随机分成 4 组，每组 50 钵，其中 2 组用于露地自然低温、2 组用于冰冻试验处理。试验材料常规管理。当钵苗生长高度达 20~30 cm、分枝数量达 8~10 条、叶片数达 30 枚以上时，对各绣线菊钵苗进行低温处理。取样时在每组试验材料中按照对角线法随机采集位于中上部的当年生枝条上第 3~8 片生长最佳叶片（零上低温处理时）或当年生枝条中段（零下低温处理时），分别采集 12~16 g 叶片或枝条，液氮迅速处理保存于 -80 °C 冰箱待测。各处理试验材料采用 3 次重复随机取样、平行样测定，测定结果取平均值。

1.2 绣线菊露地自然低温处理及其生理指标测定与隶属函数计算

于 2011 年秋季 9 月上旬露地平均温度达 15 °C，9 月中下旬昼夜自然温度分别降到 5 和 0 °C，10 月上中旬分别达 -5 和 -15 °C 时开始，1 周后各取样 1 次，测定光合生理指标（仅在零上低温取样）、质膜透性、膜脂肪酸种类与含量、ABA 含量、可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量与保护酶活性等生理指标（Garraham & Pattem, 1982; Verruggen & Hermans, 2008），期间露地昼夜自然平均光照为 860~1 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

最大净光合速率 ($P_{n,\max}$)、光补偿点 (LCP)、光饱和点 (LSP) 测定采用光响应曲线法（樊超, 2008)。于晴朗微风天气 9:00—11:30 测定，采用开放气路，空气流速 0.5 L · min⁻¹，叶室温度 10~19 °C，相对湿度 50%~55%，CO₂ 浓度 360 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。利用人工光源依次设定光合有效辐射 (PAR) 为 0、30、50、100、300、500、800、1 000、1 200、1 400、1 600、1 800、2 000、2 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光照梯度，选取各绣线菊植株中上部生长良好的叶片测定。利用 Origin7.02 软件拟合绘制光响应曲线，光响应曲线利用非线性方程进行拟合（Murray, 1977)。

膜脂肪酸含量与种类测定采用气相色谱外标法（刘慧民 等, 2011)。称取 5 g 试验材料（零上低温时取当年生枝条先端第 3~8 枚叶片，零下低温时取当年生枝条中段），经研磨、提取、过滤、吹干、定量等处理后进行气相色谱分析：Shimadza GC-2010 气相色谱仪，中等极性色谱柱 30Q C2/AC10，30.0 cm × 0.22 mm (内径)，薄膜厚度 0.25 μm，柱温 200 °C，载气 N₂，分流比 1:10，FID 检测器温度 250 °C。据测定结果分析各绣线菊膜脂中脂肪酸种类与含量，计算脂肪酸不饱和指数。

ABA 含量测定参照酶联免疫法 (ELISA) (吴颂如 等, 1988)。称取 0.25 g 试验材料, 冰浴研磨提取过夜, 室温 4 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 15 min 后取上清液。上清液经 C₁₈ 预处理小柱过柱纯化, 纯化滤液 40 °C 水浴氮气吹干, 加稀释液溶解待试剂盒测定。

SOD 酶活性测定采用 NBT 还原法 (李合生, 2006)。渗透调节物质 (可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸) 生理指标测定采用比色法 (李合生, 2000)。

运用隶属函数法计算各绣线菊抗寒隶属函数值。每种绣线菊的各种生理指标的隶属值累加, 取其平均数以评定其抗寒性。公式: $R(X_i) = (X_i - X_{min}) / (X_{max} - X_{min})$, 式中 X_i 为某项指标测定值, X_{min} 、 X_{max} 为所有参试材料中该项指标的最小值和最大值; 如某一指标与抗寒力负相关用反隶属函数计算, 公式: $R(X_i) = 1 - (X_i - X_{min}) / (X_{max} - X_{min})$ 。本试验中分别计算每种绣线菊叶片生理指标隶属函数值和枝条生理指标隶属函数值, 得出它们的平均隶属函数值作为每种绣线菊的抗寒隶属函数值。

1.3 绣线菊冰冻处理及其电导率测定与半致死温度计算

在露地昼夜自然平均温度分别达 -15、-20 和 -25 °C 时 3 d 后取样; 同时在冰箱内分别人工设定不同的昼温夜温, 使昼夜均温为 -30、-35 和 -40 °C (因露地昼夜平均温度未能达到 -30 °C 及以下), 将露地中经上述低温冰冻的材料整株放于干净塑料袋中封装后转入低温冰箱冰冻, 每级温度处理 3 d 后取样。各样品取枝条中段采用 DDS-11 型电导仪法测定相对电导率, 通过拟合 Logistic 方程 $y = k / (1 + ae^{-bt})$ 计算各绣线菊半致死温度 (LT₅₀), 式中 y 代表相对电导率, t 代表处理温度, k 为细胞伤害率饱和容量, a , b 为方程参数 (Rajashekhar et al., 1979; Longford, 1994; 王微, 2009)。根据不同温度下的电导率值, 通过直线回归方法求得 a , b 值及相关系数 r 。曲线拐点 $x = (\ln a)/b$, 即为半致死温度 (朱根海 等, 1986)。采用改进的数学分析方法 ($k = 100$) 求得拐点温度 (高谦和宋长冰, 1997)。

1.4 各生理指标与电导率的关联分析

为评价 18 种绣线菊各抗寒生理指标与抗寒性间的关系, 对 18 种绣线菊的 9 个生理指标进行灰色关联分析, 将 18 种绣线菊的 9 个生理指标视为一个灰色系统, 以相对电导率为参考数列(母序列), 9 个生理指标为比较数列 (子序列) 计算各生理指标与抗寒性间的关联系数 (吴丽丽 等, 2010), 求得灰色关联度 (张超, 2008)。

1.5 绣线菊资源抗寒筛选

根据各绣线菊上述抗寒生理指标隶属函数值和半致死温度, 筛选抗寒性强与抗寒性弱的绣线菊种类, 对筛选出的抗寒与不抗寒绣线菊种类, 于次年春季再分别进行田间露地越冬调查, 以枝条冻梢数量百分率与枝条冻梢长度百分率、枝条萌芽率与展叶时间等形态生长指标评价各绣线菊越冬能力 (Guy, 1990)。

2 结果与分析

2.1 绣线菊抗寒性相关生理指标的隶属函数值

试验中得出 18 种 (品种) 绣线菊的抗寒生理指标值 (表 1)。每种绣线菊平均隶属函数值 (表 2) 分别由其可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、脯氨酸含量 (Cote et al., 1989)、SOD 酶活性 (Nordin et al., 1991)、ABA 含量、膜脂肪酸不饱和指数 (Xin & Browse, 2000)、光合生理指标 ($P_{n,max}$ 、LCP、

LSP) 的隶属函数值加权平均后取得(刘慧民, 2013)。研究认为越抗寒的种类其隶属函数值越大。本试验中各绣线菊抗寒平均隶属函数值范围在0.254~0.613之间, 其中隶属函数值超过0.600的绣线菊仅有华北绣线菊和土庄绣线菊; 隶属函数值在0.400~0.600之间的有绒毛绣线菊、石蚕叶绣线菊、绢毛绣线菊、金丝桃叶绣线菊和三裂绣线菊; 说明这7种绣线菊抗寒力强于其它11种。

表2 露地自然低温处理18种(品种)绣线菊抗寒生理指标隶属函数值
Table 2 The subjection function of cold resistance physiological indexes of 18 species of *Spiraea* under the low temperature in the open field

供试材料 Material	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	脯氨酸 Proline	SOD	ABA	IUFA	光合生理指标 Photosynthetic physiological indexes	平均隶属值 Average subjection function
绣线菊 <i>S. bumalda</i>								
‘金山’ ‘Gold Mound’	0.404	0.678	0.136	0.558	0.048	0.483	0.395	0.386
‘金焰’ ‘Gold Flame’	0.352	0.329	0.230	0.576	0.045	0.330	0.427	0.327
石棒绣线菊 <i>S. media</i>	0.373	0.185	0.409	0.453	0.092	0.435	0.419	0.338
柳叶绣线菊 <i>S. salicifolia</i>	0.380	0.207	0.326	0.415	0.133	0.217	0.478	0.308
毛果绣线菊 <i>S. trichocarpa</i>	0.307	0.229	0.396	0.412	0.219	0.490	0.376	0.347
华北绣线菊 <i>S. fritschiana</i>	0.497	0.612	0.539	0.590	0.565	0.885	0.603	0.613
土庄绣线菊 <i>S. pubescens</i>	0.436	0.596	0.601	0.586	0.568	0.792	0.635	0.602
绒毛绣线菊 <i>S. velutina</i>	0.433	0.611	0.598	0.498	0.503	0.806	0.723	0.596
石蚕叶绣线菊 <i>S. chamedryfolia</i>	0.459	0.603	0.519	0.465	0.698	0.812	0.518	0.582
绢毛绣线菊 <i>S. sericea</i>	0.463	0.601	0.513	0.432	0.516	0.816	0.621	0.566
金丝桃叶绣线菊 <i>S. hypericifolia</i>	0.435	0.576	0.486	0.405	0.493	0.608	0.518	0.503
三裂绣线菊 <i>S. trilobata</i>	0.403	0.487	0.583	0.395	0.423	0.594	0.517	0.486
楔叶绣线菊 <i>S. canescens</i>	0.393	0.416	0.509	0.316	0.430	0.572	0.501	0.305
珍珠绣线菊 <i>S. thunbergii</i>	0.364	0.405	0.512	0.325	0.421	0.563	0.483	0.301
粉花绣线菊 <i>S. japonica</i>	0.383	0.436	0.413	0.302	0.403	0.457	0.322	0.296
耧斗菜叶绣线菊 <i>S. aquilegifolia</i>	0.307	0.448	0.426	0.298	0.379	0.451	0.293	0.288
美丽绣线菊 <i>S. elegans</i>	0.297	0.402	0.468	0.213	0.364	0.412	0.315	0.263
曲萼绣线菊 <i>S. flexuosa</i>	0.263	0.397	0.484	0.219	0.361	0.419	0.365	0.254

2.2 绣线菊冰冻处理下的半致死温度

由表3数据分析, 绣线菊枝条的电导率随温度降低逐渐升高, 但不同种间上升幅度并不一致。

表3 18种(品种)绣线菊梯度冰冻处理电导率及半致死温度的变化
Table 3 Changes of electric conductivity and semi-lethal temperature of 18 species of *Spiraea* through gradient frozen treatment

供试材料 Material	电导率/% Relative electric conductivity						方程参数 Equation parameters		LT ₅₀ /°C <i>r</i>
	-15 °C	-20 °C	-25 °C	-30 °C	-35 °C	-40 °C	a	b	
绣线菊 <i>S. bumalda</i>	40	47	54	61	67	73	4.3141	-0.0707	-20.7 0.9085
‘金山’ ‘Gold Mound’									
‘金焰’ ‘Gold Flame’	20	32	47	63	76	86	41.5990	-0.1574	-23.7 0.9608
石棒绣线菊 <i>S. media</i>	31	37	44	34	57	63	6.0158	-0.0670	-26.8 0.9094
柳叶绣线菊 <i>S. salicifolia</i>	27	34	43	52	61	69	10.6050	-0.0904	-26.1 0.9489
毛果绣线菊 <i>S. trichocarpa</i>	24	32	40	50	59	68	12.9830	-0.0942	-27.2 0.9494
华北绣线菊 <i>S. fritschiana</i>	24	29	35	41	47	54	8.4485	-0.0654	-32.6 0.9525
土庄绣线菊 <i>S. pubescens</i>	27	32	38	43	49	55	6.3694	-0.0586	-31.6 0.9587
绒毛绣线菊 <i>S. velutina</i>	21	28	35	43	52	60	13.2840	-0.0854	-30.3 0.9045
石蚕叶绣线菊 <i>S. chamedryfolia</i>	19	26	34	43	52	62	17.1160	-0.0947	-30.0 0.9021
绢毛绣线菊 <i>S. sericea</i>	28	33	39	46	52	59	6.9372	-0.0654	-29.6 0.9147
金丝桃叶绣线菊 <i>S. hypericifolia</i>	26	33	40	48	55	63	8.7459	-0.0769	-28.2 0.9368
三裂绣线菊 <i>S. trilobata</i>	26	33	41	49	57	65	10.2360	-0.0846	-27.5 0.9474
楔叶绣线菊 <i>S. canescens</i>	28	36	45	53	62	70	9.3651	-0.0877	-25.5 0.9365
珍珠绣线菊 <i>S. thunbergii</i>	27	35	45	55	65	73	12.3580	-0.1006	-25.0 0.9047
粉花绣线菊 <i>S. japonica</i>	27	36	46	57	67	76	13.6970	-0.1073	-24.4 0.9536
耧斗菜叶绣线菊 <i>S. aquilegifolia</i>	30	38	48	57	66	74	9.8433	-0.0953	-24.0 0.9343
美丽绣线菊 <i>S. elegans</i>	35	46	58	69	81	85	11.2490	-0.1192	-20.3 0.9328
曲萼绣线菊 <i>S. flexuosa</i>	34	47	61	73	83	89	16.2510	-0.1408	-19.8 0.9168

18种绣线菊半致死温度拟合曲线方程的相关系数均在0.900以上，说明半致死温度与Logistic方程相关性高，数据可靠。各绣线菊半致死温度范围在-19.8~-32.6℃之间，其中半致死温度超过-30℃的有华北绣线菊、土庄绣线菊、绒毛绣线菊和石蚕叶绣线菊4种；在-25~-30℃之间的有8种；在-20~-25℃之间的有5种；-20℃以上的仅有曲萼绣线菊1种。根据黑龙江省域历年温度分布情况，能耐受-27℃以下低温的绣线菊，基本可以在黑龙江省中部和北部地区露地应用，因此认为华北绣线菊、土庄绣线菊、绒毛绣线菊、毛果绣线菊、绢毛绣线菊、三裂绣线菊、金丝桃叶绣线菊和石蚕叶绣线菊等8种抗寒力较强，可以在黑龙江省高寒地域露地应用。

2.3 生理指标与抗寒性的关联分析

为评价18种绣线菊各抗寒生理指标与抗寒性间的关系，对9个生理指标（表1）进行灰色关联分析。灰色关联分析是对一个相互关联的系统关系变化的量化比较，关联度反映关联程度的量度，关联度越大说明系统内各因素间相关趋势越接近（赵天宏等，2003；李建武和王蒂，2008）。由表4数据分析，18种绣线菊各生理指标与抗寒性间的关联度范围在0.39~1.31之间。方差分析表明，各生理指标与抗寒性的关联度之间多数差异显著，其中可溶性糖的关联度最大为1.31，各生理指标按关联度大小排序为可溶性糖>膜脂肪酸不饱和指数>ABA>光补偿点>最大净光合速率>光饱和点>可溶性蛋白>SOD酶活性>脯氨酸。各抗寒生理指标与其抗寒性的关联度在0.3以上，说明与绣线菊抗寒性有一定的相关性（胡尚连等，2010）。

2.4 抗寒绣线菊资源筛选

根据表5数据，参照张文娥等（2007）的方法依据隶属函数值对各绣线菊抗寒分类：华北与土庄绣线菊隶属函数值在0.60~0.69间，为抗性种类（Resistance, R），抗寒性Ⅱ级；绒毛、石蚕叶、绢毛、金丝桃叶和三裂绣线菊隶属函数值在0.40~0.59间，为中抗种类（Middle Resistance, MR），抗寒性Ⅲ级；‘金山’、毛果、石棒、‘金焰’、柳叶、楔叶和珍珠绣线菊隶属函数值在0.30~0.39间，为低抗种类（Lower Resistance, LR），抗寒性Ⅳ级；粉花、耧斗菜叶、美丽和曲萼绣线菊隶属函数值在0~0.29间，为不抗种类（Susceptible, S），抗寒性Ⅴ级。

华北、土庄、绒毛、石蚕叶、绢毛、金丝桃叶6种绣线菊的半致死温度在-28~-32.6℃间，抗寒力强，可在黑龙江省北部高寒地区露地应用（该区域冬季平均温度为-31.3℃）；三裂、毛果、石棒、柳叶4种绣线菊的半致死温度在-26~-27.5℃间，抗寒力较强，可在黑龙江省中部地区露地应用（该区域冬季平均温度为-26℃）；楔叶、珍珠、粉花、耧斗菜叶、‘金焰’5种绣线菊的半致死温度在-23~-25.5℃间，抗寒力中等，可在黑龙江省南部地区露地应用（该区域冬季平均温度为-24℃）；‘金山’、美丽、曲萼3种绣线菊的半致死温度在-19~-20.7℃间，抗寒力弱，不适合在黑龙江地区露地应用。

根据18种绣线菊的半致死温度和平均隶属值综合分析，并结合各绣线菊露地越冬表现进行筛选（刘慧民，2013），华北绣线菊、土庄绣线菊（抗寒性Ⅱ级）、绒毛绣线菊、石蚕叶绣线菊、绢毛绣线菊、金丝桃叶绣线菊、三裂绣线菊（抗寒性Ⅲ级）抗寒力最强；毛果绣线菊、石棒绣线菊、柳叶绣线菊（抗寒性Ⅳ级）抗寒力较强。

表4 18种绣线菊生理指标与相对电导率间的关联度

Table 4 The relational degree of 18 species of *Spiraea* between their relative electric conductivity and physiological indexes

生理指标 Physiological index	关联度 Relational degree
可溶性糖 Soluble sugars	1.31 a
可溶性蛋白 Soluble protein	0.51 def
脯氨酸 Proline	0.39 f
超氧化物歧化酶 SOD	0.48 ef
脱落酸 ABA	0.92 bc
膜脂肪酸不饱和指数 IUFA	1.02 b
最大净光合速率 $P_{n,max}$	0.64 de
光补偿点 LCP	0.72 cd
光饱和点 LSP	0.52 def

表5 18种(品种)绣线菊各抗寒生理指标隶属函数值、半致死温度及抗寒力
Table 5 The subjection function value of cold resistant indexes and semi-lethal temperature and cold resistant ability of 18 species of *Spiraea*

供试材料 Material	平均隶属值 Average subjection function value	抗寒力排序 Rank of cold resistance ability	抗寒力评价 Evaluation of cold resistance ability	LT ₅₀ /℃	抗寒力排序 Rank of cold resistance ability	抗寒力评价 Evaluation of cold resistance ability
华北绣线菊 <i>S. fritschiana</i>	0.613	1	II	-32.6	1	强 Most resistant
土庄绣线菊 <i>S. pubescens</i>	0.602	2	II	-31.6	2	强 Most resistant
绒毛绣线菊 <i>S. velutina</i>	0.596	3	III	-30.3	3	强 Most resistant
石蚕叶绣线菊 <i>S. chamedryfolia</i>	0.582	4	III	-30.0	4	强 Most resistant
绢毛绣线菊 <i>S. sericea</i>	0.566	5	III	-29.6	5	强 Most resistant
金丝桃叶绣线菊 <i>S. hypericifolia</i>	0.503	6	III	-28.2	6	强 Most resistant
三裂绣线菊 <i>S. trilobata</i>	0.486	7	III	-27.5	7	较强 More resistant
‘金山’绣线菊 <i>S. bumalda</i> ‘Gold Mound’	0.386	8	IV	-20.7	16	弱 Less resistant
毛果绣线菊 <i>S. trichocarpa</i>	0.347	9	IV	-27.2	8	较强 More resistant
石棒绣线菊 <i>S. media</i>	0.338	10	IV	-26.8	9	较强 More resistant
‘金焰’绣线菊 <i>S. bumalda</i> ‘Gold Flame’	0.327	11	IV	-23.7	15	中等 Middle resistant
柳叶绣线菊 <i>S. salicifolia</i>	0.308	12	IV	-26.1	10	较强 More resistant
楔叶绣线菊 <i>S. canescens</i>	0.305	13	IV	-25.5	11	中等 Middle resistant
珍珠绣线菊 <i>S. thunbergii</i>	0.301	14	IV	-25.0	12	中等 Middle resistant
粉花绣线菊 <i>S. japonica</i>	0.296	15	V	-24.4	13	中等 Middle resistant
耧斗菜叶绣线菊 <i>S. aquilegifolia</i>	0.288	16	V	-24.0	14	中等 Middle resistant
美丽绣线菊 <i>S. elegans</i>	0.263	17	V	-20.3	17	弱 Less resistant
曲萼绣线菊 <i>S. flexuosa</i>	0.254	18	V	-19.8	18	弱 Less resistant

3 讨论

本试验中模拟隶属函数模型和拟合 Logistic 方程, 计算各绣线菊抗寒生理指标隶属函数值和半致死温度, 据此评价并筛选抗寒绣线菊资源。

绣线菊抗寒评价与筛选方法的可靠性: 植物抗性是多因素影响的综合性数量性状, 对植物的抗性评价应从形态、生理生化等指标中筛选有显著影响的若干主要指标(景忆莲等, 1999)。为评价 18 种绣线菊的抗寒性并筛选抗寒资源, 选择了与绣线菊抗寒性关联度在 0.39~1.31 间的可溶性糖、膜脂肪酸不饱和指数、ABA、光补偿点等 9 个生理生化指标, 以减少单一指标造成的片面性和不准确, 使评价结果更具科学性; 隶属函数法和半致死温度是普遍采用的抗性综合评价方法, 田治国等(2011)通过测定 16 个抗旱生理指标, 应用隶属函数法对 9 个万寿菊品种的抗旱性进行综合评价和筛选。赵昌琼等(2003)、徐康等(2005)以 Logistic 方程计算茶梅半致死温度, 作为评价茶梅抗寒力的重要依据; 目前这两种方法已广泛用于大麦、银杏、辣椒和偃麦草等植物的抗逆评价, 本研究中按抗寒生理指标隶属函数值将 18 种绣线菊抗寒力分为 5 级, 并结合它们的半致死温度, 评价与筛选抗寒绣线菊资源, 具有双重依据和可靠性。

绣线菊抗寒评价和筛选与绣线菊露地越冬表现的一致性: 据高爱农等(2000)和张文娥等(2007)用经典方法对绣线菊抗寒分级, 18 种绣线菊种间抗寒能力有一定差别(表 5)。半致死温度是衡量植物抗寒力的稳定指标(Liu et al., 2012), 据各绣线菊半致死温度和黑龙江省历年温度分布情况(中国气象科学数据共享服务网), 给出了各绣线菊的不同应用区域(表 5)。分别按隶属函数值和半致死温度, 各绣线菊抗寒能力排序比较一致(表 5), 前 7 种绣线菊及第 17、18 种绣线菊的抗寒力排序完全一致, 毛果、石棒、柳叶、楔叶、珍珠、粉花、耧斗菜叶 7 种绣线菊的排序仅差 1 位或 2 位, 仅‘金山’、‘金焰’绣线菊抗寒顺序明显不同, ‘金山’绣线菊抗寒力排序分别为第 8、16 位, ‘金焰’绣线菊抗寒力排序分别为第 11、15 位, 排序位次变化较大。‘金山’、‘金焰’绣线菊在东北地区没有自然分布, 是近年推出的杂交新品种, 因具备观花观彩色叶价值在哈尔滨园林中有所应用, 应用初期露地越冬植株地上部分均出现明显冻梢, 或地上部分全部冻死, 仅根系具备露地越冬能力,

‘金山’比‘金焰’冻梢严重。连续两年对绣线菊露地越冬植株田间调查,以枝条冻梢数量百分率与冻梢长度百分率、枝条萌芽率与展叶时间、开花时期与开花数量等形态生长指标评价各绣线菊越冬能力(Guy, 1990; 刘慧民, 2013),发现‘金山’、‘金焰’绣线菊露地越冬能力较弱,且‘金山’弱于‘金焰’。‘金山’绣线菊抗寒隶属函数值较高,半致死温度较高,结合其田间越冬表现,不作为抗寒力较强种类。‘金焰’绣线菊同样有较高的抗寒隶属函数值和较高的半致死温度,其露地越冬能力也较弱,认为以半致死温度衡量这两种绣线菊的抗寒力比较准确(许瑛和陈发棣, 2008)。

4 结论

18种绣线菊抗寒力分为4级:华北绣线菊和土庄绣线菊为抗性种类,抗寒力II级;绒毛绣线菊等5种绣线菊为中抗种类,抗寒力III级;‘金山’绣线菊等7种绣线菊为低抗种类,抗寒力IV级;粉花绣线菊等4种绣线菊为不抗种类,抗寒力V级。以各绣线菊抗寒生理指标隶属函数值和半致死温度模拟隶属函数和拟合Logistic方程数学模型,建立绣线菊抗寒评价与筛选方法。筛选华北绣线菊、土庄绣线菊、绒毛绣线菊、石蚕叶绣线菊、绢毛绣线菊、金丝桃叶绣线菊、三裂绣线菊抗寒力最强;毛果绣线菊、石棒绣线菊、柳叶绣线菊抗寒力较强。

References

- Ameglio T, Pigeon D, Archilla O. 2003. Adaptation to cold temperature and response to freezing in roses. *Acta Hort*, 1: 515 - 520.
- Azzarello E, Mugnai S, Pandolfi C, Masi E, Mancuso S. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. *Tree: Structure and Function*, 23 (1): 159 - 167.
- Cote B, Vogel C S, Dawson O. 1989. Autumnal changes in tissue nitrogen of autumn olive, black alder and eastern cottonwood. *Plant and Soil*, 118 (1 - 2): 23 - 32.
- Damian J A, Donald R O. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trend in Plant Science*, 6 (1): 36 - 42.
- Fan Chao. 2008. Adeptability studies on the six species *Spiraea* under weak light treatment and weak light dis-treatment environment[M. D. Dissertation]. Harbin: Northeast Agricultural University. (in Chinese)
- 樊超. 2008. 6种绣线菊对弱光及解除弱光环境的适应性研究[硕士论文]. 哈尔滨: 东北农业大学.
- Gao Ai-nong, Jiang Shu-rong, Zhao Xi-wen, Deng Ji-guang, Sha Shou-feng, Liu Zhi, Zhang Min. 2000. Study on the hardiness of apple cultivars. *Journal of Fruit Science*, 17 (1): 17 - 21. (in Chinese)
- 高爱农, 姜淑荣, 赵锡温, 邓继光, 沙守峰, 刘志, 张敏. 2000. 苹果品种抗寒性测定方法的研究. *果树科学*, 17 (1): 17 - 21.
- Gao Er-qian, Song Chang-bing. 1997. A study on cold resistance of apple varieties with Logistic function. *Northern Horticulture*, (6): 30 - 32. (in Chinese)
- 高爾谦, 宋长冰. 1997. 用Logistic方程描述苹果品种耐寒性研究. *北方园艺*, (6): 30 - 32.
- Garraham D, Pattem B D. 1982. Responses of plants to low nonfreezing temperature proteins, metabolism, and acclimation. *Annual Review of Plant Physiology*, 33: 347 - 372.
- Gong Yue-hua, Zhou Yong-xue, Fan Jun-feng, Liu Ying-zhou, Pang Ke-jia. 2006. Cold hardiness of *Pinus ponderosa*, *P. banksian* and *P. tabulaeformis*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17 (8): 1389 - 1392. (in Chinese)
- 龚月桦, 周永学, 樊军锋, 刘迎洲, 庞珂佳. 2006. 美国黄松、班克松和油松的抗寒性比较. *应用生态学报*, 17 (8): 1389 - 1392.
- Gusta L V. 1994. Stress tolerance induction: The role of ABA and heat stale proteins. *HortScience*, 29 (5): 571.
- Guy C L. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: Role of protein metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 41: 187 - 223.
- Hu Shang-lian, Cao Ying, Duan Ning, Ren Peng, Li Yi, Chen Qi-bing. 2010. Analysis of grey correlation and cluster on cold-tolerance of different bamboo varieties. *Journal of Fujian College of Forestry*, 30 (4): 327 - 332. (in Chinese)
- 胡尚连, 曹颖, 段宁, 任鹏, 李益, 陈其兵. 2010. 不同类型竹种抗寒性的灰色关联与聚类分析. *福建林学院学报*, 30 (4): 327 - 332.

- Jing Yi-lian, Liu Yao-bin, Fan Wan-fa, Xiao Bai-cai. 1999. Advance in the study on Verticillium Wilt of cotton and its breeding for resistance. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 8 (3): 106 - 110. (in Chinese)
- 景忆莲, 刘耀斌, 范万法, 肖百才. 1999. 棉花黄萎病及其抗性育种研究进展. *西北农业学报*, 8 (3): 106 - 110.
- Li He-sheng. 2006. Modern plant physiology. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 李合生. 2006. 现代植物生理学. 北京: 高等教育出版社.
- Li He-sheng. 2000. Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社.
- Li Jian-wu, Wang Di. 2008. Application of grey correlative degree analysis on the physiological identification of potato drought resistance. *Seed*, 27 (2): 21 - 23. (in Chinese)
- 李建武, 王蒂. 2008. 灰色关联度分析在马铃薯抗旱生理鉴定中的应用. *种子*, 27 (2): 21 - 23.
- Li Xiu-fen, Zhu Jiao-jun, Wang Qing-li, Zhang Jin-xin, Zhu Cheng-yao, Liu Xue-feng, Liu Li-min. 2013. Research on the disturbance of forest damage to forests. *Acta Ecologica Sinica*, 33 (12): 3563 - 3574. (in Chinese)
- 李秀芬, 朱教君, 王庆礼, 张金鑫, 祝成瑶, 刘雪峰, 刘利民. 2013. 森林低温霜冻灾害干扰研究综述. *生态学报*, 33 (12): 3563 - 3574.
- Liu Hui-min. 2013. Study on cold resistance screening and the identifying of the low-temperature proteins of eighteen species *Spiraea* [Postdoctoral Research Report]. Harbin: Northeast Forestry University. (in Chinese)
- 刘慧民. 2013. 18种绣线菊抗寒筛选与低温蛋白鉴定研究[博士后研究工作报告]. 哈尔滨: 东北林业大学.
- Liu Hui-min, Xing Yan-qiu, Lü Gui-e, Zhu Yu-tao, Yan Yong-qing. 2011. Changes of membrane fatty acid in 2 species *Spiraea* L. under low-temperature and de-acclimation conditions. *Journal of China Agricultural University*, 16 (2): 52 - 57. (in Chinese)
- 刘慧民, 邢艳秋, 吕贵娥, 朱玉涛, 闫永庆. 2011. 低温与脱锻炼处理下 2 种绣线菊膜脂肪酸变化研究. *中国农业大学学报*, 16 (2): 52 - 57.
- Liu Hui-min, Zhu Yu-tao, Che Dai-di, Jiang Long, Chen Qing-shan, Wu Feng-zhi. 2010. Association analysis of ornamental traits with RAPD markers in 18 portion materials of *Spiraea* L. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (7): 1125 - 1131. (in Chinese)
- 刘慧民, 朱玉涛, 车代弟, 姜隆, 陈庆山, 吴凤芝. 2010. 绣线菊 18 份材料观赏性状与 RAPD 标记的关联分析. *园艺学报*, 37 (7): 1125 - 1131.
- Liu W P, Su S C, Liu X, Hou Z X. 2012. Comparison of different cultivars of blueberry overwintering ability in Qingdao of China. *American Journal of Plant Sciences*, (3): 391 - 396.
- Longford N T. 1994. Logistic regression with random coefficients. *Computational Statistics & Data Analysis*, 17 (1): 1 - 15.
- Lu S L, Mark R. 1990. Cold acclimation of yong kiwifruit vine under artificial hardening conditions. *Hort Science*, 25 (12): 1628 - 1630.
- Lyons J M. 1970. Qoxidative activity of mitochondria isolated from plant tissue sensitive and resistant to chilling injury. *Plant Physiology*, 45 (4): 386 - 389.
- Murray J D. 1977. Nonlinear differential equation models in biology. Oxford: Clarendon Press.
- Nordin K, Heino P, Palva E T. 1991. Separate signal pathways regulate the expression of a low-induced gene in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Molecular Biology*, 16 (6): 1061 - 1071.
- Rajashekhar C, Gusta L V, Burke M J. 1979. Membrane structural transition: Probale relation to frost damage in hardy Heibaceous species//Lysons J M, Graham D, Raison J K. Low temperature stress in crop plants the role of membrane. New York: Academic Press: 255 - 274.
- Thomas H, James A R. 1993. Freezing tolerance and solute changes in contrasting genotypes of *Lolium perenne* L. acclimated to cold and drought. *Annals of Botany*, 72: 249 - 254.
- Tian Zhi-guo, Wang Fei, Zhang Wen-e, Zhao Xiu-ming. 2011. Drought-resistance evaluation of marigold cultivars based on multiple statistics analysis. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 22 (12): 3315 - 3320. (in Chinese)
- 田治国, 王飞, 张文娥, 赵秀明. 2011. 多元统计分析方法在万寿菊品种抗旱性评价中的应用. *应用生态学报*, 22 (12): 3315 - 3320.
- Verruggen N, Hermans C. 2008. Proline accumulation in plants: A review. *Amion Acids*, 35 (4): 753 - 759.
- Wang Lian-cui. 2007. Primary study on freezing-resistance mechanism and tea quality for the six introduced varieties of Tea in Linyi area[M. D. Dissertation]. Jinan: Shandong Normal University. (in Chinese)
- 王连翠. 2007. 临沂地区引进不同茶树品种的抗寒性研究[硕士论文]. 济南: 山东师范大学.

- Wang Wei. 2009. The study on changing regularity of several cold resistance indexes of Alfalfa under low temperature stress [M. D. Dissertation]. Northeast Normal University. (in Chinese)
- 王微. 2009. 低温胁迫下紫花苜宿几个抗寒生理指标的变化规律 [硕士论文]. 长春: 东北师范大学.
- Wang Xiao-xuan, Li Shu-de, Dong Hui-ru, Gao Zhen-hua, Dai Shan-shu. 1997. The Effect of low temperature on free fatty acid in tomato seedlings and florescence. *Acta Horticulturae Sinica*, 24 (2): 161 - 164. (in Chinese)
- 王孝宣, 李树德, 东惠茹, 高振华, 戴善书. 1997. 低温胁迫对番茄苗期和开花期脂肪酸的影响. 园艺学报, 24 (2): 161 - 164.
- Wu Li-li, Zhang Chang-yong, Wang Qing-sheng, Niu Zhong-lin, Qiu Lei. 2010. The application of grey correlation analysis in maize breeding. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 16 (8): 156 - 157. (in Chinese)
- 吴丽丽, 张长勇, 王庆胜, 牛忠林, 邱磊. 2010. 灰色关联度分析在玉米育种中的应用. 安徽农学通报, 16 (8): 156 - 157.
- Wu Song-ru, Chen Wan-fen, Zhou Xie. 1988. Enzyme linked immunosorbent assay endogenous plant hormones. *Plant Physiology Communications*, (5): 53 - 57. (in Chinese)
- 吴颂如, 陈婉芬, 周燮. 1988. 酶联免疫法 (ELISA) 测定内源植物激素. 植物生理学通讯, (5): 53 - 57.
- Xiang Kun, Zhang Mei-yong, Xu Ying, Wang Xiao-fang, Yue Lin-xu. 2011. Cold tolerance of walnut cultivars: A comprehensive evaluation. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 22 (9): 2325 - 2330. (in Chinese)
- 相昆, 张美勇, 徐颖, 王晓芳, 岳林旭. 2011. 不同核桃品种耐寒性综合评价. 应用生态学报, 22 (9): 2325 - 2330.
- Xin Z, Browse J. 2000. Cold comfort farm: The acclimation of plants to freezing temperature. *Plant cell and Environment*, 23 (9): 893 - 902.
- Xu Kang, Xia Yi-ping, Xu Bi-yu, Lin Tian, Yang Xia. 2005. Measurement of cold tolerance based on REC and the Logistic equation in *Camellia hiemalis* 'Shishi Gashira'. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (1): 148 - 150. (in Chinese)
- 徐康, 夏宜平, 徐碧玉, 林田, 杨霞. 2005. 以电导法配合 Logistic 方程确定茶梅‘小玫瑰’的抗寒性. 园艺学报, 32 (1): 148 - 150.
- Xu Ying, Chen Fa-di. 2008. The LT₅₀ and cold tolerance adaptability of chrysanthemum during a natural drop in temperature. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (4): 559 - 564. (in Chinese)
- 许瑛, 陈发棣. 2008. 菊花 8 个品种的低温半致死温度及其抗寒适应性. 园艺学报, 35 (4): 559 - 564.
- Yang Chun-xiang, Li Xian-li, Gao Dong-sheng, Shi Zuo-an. 2005. Effects of chilling stress on membrane lipid peroxidation and activities of protective enzymes in nectarine flower organs. *Journal of Fruit Science*, 22 (1): 73 - 75. (in Chinese)
- 杨春祥, 李宪利, 高东升, 史作安. 2005. 低温胁迫对油桃花器官膜脂过氧化和保护酶活性的影响. 果树学报, 22 (1): 73 - 75.
- Zhang Chao. 2008. Research on the drought stress adaptability of six species of *Spiraea* L. [M. D. Dissertation]. Harbin: Northeast Agriculture University. (in Chinese)
- 张超. 2008. 6 种绣线菊的干旱适应性研究 [硕士论文]. 哈尔滨: 东北农业大学.
- Zhang Wen-e, Wang Fei, Pan Xue-jun. 2007. Comprehensive evaluation on cold hardiness of *Vitis* species by Subordinate Function (SF). *Journal of Fruit Science*, 24 (6): 849 - 853. (in Chinese)
- 张文娥, 王飞, 潘学军. 2007. 应用隶属函数法综合评价葡萄种间抗寒性. 果树学报, 24 (6): 849 - 853.
- Zhao Chang-qiong, Lu Zhan-gen, Pang Yong-zhen, Tan Feng. 2003. Semilethal low temperature and low temperature adaptability of two media species. *Journal of Chongqing University*, 26 (6): 86 - 88. (in Chinese)
- 赵昌琼, 芦站根, 庞永珍, 谈峰. 2003. 曼地亚红豆杉的半致死温度与对低温的适应性. 重庆大学学报, 26 (6): 86 - 88.
- Zhao Tian-hong, Shen Xiu-ying, Yang De-guang, Ma Xiu-fang. 2003. Application of grey correlative degree analysis on the physiological identification of maize drought resistance. *Liaoning Agricultural Science*, (1): 1 - 4. (in Chinese)
- 赵天宏, 沈秀瑛, 杨德光, 马秀芳. 2003. 灰色关联度分析在玉米抗旱生理鉴定中的应用. 辽宁农业科学, (1): 1 - 4.
- Zhu Gen-hai, Liu Zu-qi, Zhu Pei-ren. 1986. A study on determination of lethal temperature with Logistic function. *Journal of Nanjing Agricultural University*, (3): 11 - 16. (in Chinese)
- 朱根海, 刘祖祺, 朱培仁. 1986. 应用 Logistic 方程确定植物组织低温半致死温度的研究. 南京农业大学学报, (3): 11 - 16.