

研究报告 Original Papers

9个常绿杂交冬青的抗寒能力比较

曾雯, 金晓玲*, 邢文, 胡曼筠

中南林业科技大学风景园林学院, 长沙410004

摘要:以9个常绿杂交冬青品种的离体叶片为供试材料进行低温胁迫处理, 用电导法配以Logistic方程计算出半致死温度(LT₅₀), 并测定了超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、脯氨酸和可溶性蛋白各项指标, 运用隶属函数法进一步分析其抗寒能力。结果表明, 杂交冬青的相对电导率(Rec)随着温度的降低而上升, LT₅₀均在-34.91~-14.13 °C之间; 低温胁迫下, 随着温度的降低, MDA含量逐渐上升, SOD活性和可溶性蛋白含量呈先上升后下降的趋势, 而脯氨酸含量呈先升后降或上升的变化趋势。综合LT₅₀和各指标隶属函数分析法得出抗寒性强弱顺序为: ‘Shamrock’>‘Forsteri’>‘Schworbel’s Compacta’>‘Anna’s Choice’>‘Tensaw’>‘Blue Maid’>‘Bronze Beauty’>‘Oscar Gray’>‘Savannah’。

关键词: 杂交冬青; 抗寒性; 半致死温度; 隶属函数法

杂交冬青是冬青属不同种间通过杂交后获得的种间杂交类型(Zhang等2011), 具有树形优美、果实色泽艳丽、观赏价值高等优良特性, 特别是抗寒能力尤其突出(Sun和Zhang 2010), 是极具开发利用前景的庭院观赏和城市绿化树种。

邵文鹏(2009)和夏云鹏(2010)采用相对电导率、保护酶活性、丙二醛含量、脯氨酸含量、可溶性蛋白含量来研究冬青属植物的抗寒性。Sun和Zhang(2010)通过对几种光滑冬青品种低温胁迫下相对电导率的测定, 结合Logistic方程计算出半致死温度, 实验数据得出的抗寒性强弱顺序与越冬期间田间观测的结果完全一致, 其中以‘Shamrock’品种的抗寒性最强。近年来, Logistic方程计算半致死温度与生理生化指标的隶属函数评价相结合的方法因能更加客观的评价植物的抗寒性而被人们接受(曹冉和王海洋2014)。到目前为止, 尚未有将Logistic方程计算半致死温度与生理生化指标的隶属函数分析法相结合的方法来评价杂交冬青的抗寒性。因此, 本文采用Logistic方程计算半致死温度结合生理生化指标(相对电导率、酶活性、丙二醛、脯氨酸和可溶性蛋白)的隶属函数分析, 来综合评价9个杂交冬青品种的抗寒性强弱, 为它们向北方地区推广应用提供理论依据和参考价值。

材料与amp;方法

1 实验材料

供试材料来源于2009年从美国引进的杂交冬

青(*Ilex* sp.)品种, 选择4年生、长势良好无病害的扦插苗为材料。根据美国植物耐寒区域图, Dirr(2009)对这9个品种的介绍见表1。

2 低温处理

2015年1月下旬取健康枝条的倒二、倒三片叶, 先用蒸馏水冲洗干净, 再放入去离子水中润洗, 然后用滤纸擦干后, 分别装入自封袋中。将分好的叶片置于5 °C的低温恒温槽(天恒SDC-6)中预冷2 h后, 进行试验低温处理, 共6个温度梯度, 分别为0、-5、-10、-15、-20和-25 °C, 以水银温度计校准, 处理时间为2 h。低温处理后取出放入冰箱(5 °C)解冻24 h, 每个温度3次重复, 解冻后测定电解质渗出率和相关生理生化指标, 每处理重复3次。

3 指标测定

采用雷磁DJS-1D电导率仪法测相对电导率(relative electrical conductivity, Rec)。将叶片用去离子水清洗干净, 用滤纸吸干。去除主脉和叶缘后, 剪成碎片, 将剪好的叶片称取0.1 g后装入具塞试管中, 加入10 mL去离子水, 塞上塞子, 充分震荡后室温下静置2 h, 测得电导率C₁, 再将试管沸水浴20 min, 冷却后测得电导率C₂, 以相对电导率表示细胞膜透性的大小。按公式(C₁/C₂)×100计算出Rec(%)

采用氮蓝四唑(NBT)比色法测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性; 丙二醛

收稿 2015-10-08 修定 2016-01-11

资助 林业公益性行业科研专项经费项目(201404710)和湖南省“十二五”重点学科(风景园林学)(湘教发[2011]76号)。

* 通讯作者(E-mail: 121191638@qq.com)。

表1 九个杂交冬青品种的耐寒区域范围

Table 1 The hardiness zone of nine *Ilex* cultivars

冬青品种	耐寒分布区域范围	温度/°C
<i>Ilex cassine</i> 'Tensaw'	区域7~9	-18~-1
<i>Ilex glabra</i> 'Shamrock'	区域(4) 5~9 (10)	(-34) -29~-1 (4)
<i>Ilex crenata</i> 'Schworbel's Compacta'	区域5~8	-29~-7
<i>Ilex vomitoria</i> 'Anna's Choice'	区域7~10	-18~-4
<i>Ilex vomitoria</i> 'Oscar Gray'	区域7~10	-18~-4
<i>Ilex</i> × <i>attenuate</i> 'Fosteri'	区域6~9	-23~-1
<i>Ilex</i> × <i>attenuate</i> 'Savannah'	区域6~9	-23~-1
<i>Ilex</i> × <i>attenuate</i> 'Bronze Beauty'	区域6~9	-23~-1
<i>Ilex</i> × <i>meserveae</i> 'Blue Maid'	区域(6) 7~9	(-23) -18~-1

(malondialdehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法; 茚三酮显色法测定游离脯氨酸含量; 考马斯亮蓝G-250染色法测定可溶性蛋白含量; 上述各项测定参考植物生理学实验指导(陈建勋和王晓峰2006)。

4 抗寒性评价比较

通过测得的电导率计算相对电导率并拟合Logistic回归方程: $y=k/(1+ae^{-bx})$, k 为细胞伤害率饱和容量, 根据莫惠栋(1983)的观点, 如果 y 为累计频率, 则常数 k 为100%。 a 、 b 为方程参数, 将方程进行线性化处理, 求得 a 、 b 值, 用曲线的拐点作为半致死温度, 即 $X=-\ln a/b$, 即半致死温度。

同时, 应用隶属函数法(董万鹏等2015)综合性评价9个杂交冬青品种的抗寒性, 隶属函数值计算方法如下。

隶属函数值计算公式: $R(X_i)=(X_i-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min})$

反隶属函数值计算公式: $R(X_i)=1-(X_i-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min})$

其中, $R(X_i)$ 代表供试树种在某一温度处理下对应指标的隶属度[$0 < R(X_i) < 1$]; X_{\max} 指供试树种对应指标的最大值, X_{\min} 指供试树种对应指标的最小值

与抗寒性成负相关的参数Rec和MDA采用反隶属函数计算, 与抗寒性成正相关的参数SOD、脯氨酸等采用隶属函数计算。将每个树种越冬期每个阶段各指标的抗寒性隶属函数值累加起来, 求其平均值, 隶属函数均值越大, 该树种的抗寒性就越强。

5 数据处理

应用Microsoft Excel 2003进行数据统计与计算, 用SPSS 19.0软件对数据进行方差显著性分析。

实验结果

1 低温胁迫下杂交冬青SOD活性及MDA、脯氨酸、可溶性蛋白含量的变化

从表2可以看出, 9个杂交冬青在低温处理下的SOD活性变化规律基本一致, 随着处理温度的

表2 不同低温处理下杂交冬青SOD活性的变化

Table 2 The changes in SOD activities of *Ilex* cultivars under different low temperature treatments

品种	SOD活性/U·g ⁻¹ (DW)					
	0°C	-5°C	-10°C	-15°C	-20°C	-25°C
'Tensaw'	662.1±19.7 ^c	654.6±21.6 ^c	767.0±13.7 ^b	834.4±25.0 ^a	657.1±28.5 ^c	399.8±16.8 ^d
'Shamrock'	635.6±23.7 ^d	972.8±42.7 ^c	1232.9±41.1 ^b	1304.0±54.3 ^{ab}	1349.0±37.5 ^a	1303.0±52.5 ^{ab}
'Schworbel's Compacta'	524.4±24.9 ^e	753.8±19.8 ^c	820.9±22.5 ^b	934.4±41.2 ^a	853.8±39.4 ^b	690.9±27.5 ^d
'Anna's Choice'	742.5±16.3 ^d	924.2±37.8 ^b	1040.8±30.4 ^a	1087.2±41.8 ^a	811.8±26.3 ^c	547.6±24.3 ^e
'Oscar Gray'	721.1±27.1 ^c	865.6±15.5 ^b	918.4±33.2 ^a	705.7±29.6 ^c	569.4±25.0 ^d	416.6±12.1 ^e
'Fosteri'	457.9±14.5 ^d	840.4±29.2 ^b	896.5±38.4 ^b	961.4±42.5 ^a	1001.8±38.7 ^a	756.1±30.6 ^c
'Savannah'	511.4±26.7 ^b	511.4±14.9 ^b	661.4±27.9 ^a	519.3±24.9 ^b	524.4±25.0 ^b	321.1±13.5 ^c
'Bronze Beauty'	717.5±19.3 ^d	775.4±26.6 ^c	828.1±37.0 ^b	952.6±34.3 ^a	759.7±27.3 ^{cd}	503.5±15.5 ^e
'Blue Maid'	513.2±14.7 ^e	686.3±36.7 ^c	727.5±26.9 ^{bc}	819.2±33.9 ^a	742.9±28.2 ^b	585.9±24.8 ^d

表中数字为平均数±标准差, 不同小写字母表示不同温度下同一品种在0.05水平下有显著性差异。下表同此。

降低, SOD值先上升后下降, 峰值均出现在-20~-10°C之间, 大部分在它们的半致死温度附近波动: ‘Oscar Gray’和‘Savannah’在-10°C达到峰值; ‘Tensaw’、‘Schworbel's Compacta’、‘Anna's Choice’、‘Bronze Beauty’和‘Blue Maid’的峰值出现在-15°C低温胁迫下, ‘Shamrock’和‘Forsteri’的SOD活性在-20°C时达到最大。另一方面, 通过计算SOD的变化量发现, 在达到峰值时, ‘Oscar Gray’和‘Savannah’的增幅最小, 分别为27.36%和29.32%; ‘Shamrock’和‘Forsteri’的增幅最大, 分别为112.24%和118.78%。

MDA含量受低温影响较大, 随着处理温度的降低, 各品种的MDA含量逐渐增加(表3)。9个杂交冬青的MDA含量均增长了40%以上, 其中, ‘Anna's Choice’和‘Shamrock’的增长得最少, 分别为42.34%和45.9%, ‘Savannah’和‘Bronze Beauty’的增长得最多, 达98.76%和105.29%。

由表4可以看出, 低温处理下, 9个杂交冬青品种中, 有8个品种的脯氨酸含量变化趋势基本一致, 都表现为随着温度的降低先升高再降低, 峰值出现在-20~-15°C之间, 其中, ‘Schworbel's Compacta’、‘Anna's Choice’、‘Oscar Gray’、‘Savannah’和‘Bronze Beauty’的峰值出现在-15°C低温胁迫下, 而‘Tensaw’、‘Shamrock’、‘Forsteri’和‘Blue Maid’出现在-20°C。只有‘Shamrock’随着温度的降低而持续升高, 峰值出现在-25°C。在达到峰值时, ‘Savannah’、‘Blue Maid’、‘Tensaw’和‘Oscar Gray’的升高得相对较少, 分别为56.31%、56.39%、56.74%和57.43%, ‘Shamrock’的升高最多, 达122.48%。

可溶性蛋白的含量与SOD活性、脯氨酸含量具有相似的变化规律(表5), 随着温度的降低先升高再降低, 且峰值均出现在-20~-10°C之间, 与半致死温度基本对应。其中, ‘Savannah’在-10°C达到峰值; ‘Tensaw’、‘Schworbel's Compacta’、‘Oscar

表3 不同低温处理下杂交冬青MDA含量的变化

Table 3 The changes in MDA contents of *Ilex* cultivars under different low temperature treatments

品种	MDA含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)					
	0°C	-5°C	-10°C	-15°C	-20°C	-25°C
‘Tensaw’	5.00±0.04 ^d	5.04±0.08 ^d	5.43±0.20 ^d	6.22±0.61 ^c	6.92±0.25 ^b	7.56±0.51 ^a
‘Shamrock’	3.66±0.27 ^b	3.87±0.34 ^b	3.72±0.70 ^b	4.32±0.52 ^b	4.31±0.05 ^b	5.34±0.17 ^a
‘Schworbel's Compacta’	2.46±0.32 ^d	2.69±0.28 ^d	3.02±0.42 ^{cd}	3.43±0.47 ^{bc}	3.87±0.49 ^{ab}	4.17±0.21 ^a
‘Anna's Choice’	4.96±0.61 ^d	5.36±0.51 ^{cd}	5.70±0.45 ^{bcd}	6.14±0.57 ^{bc}	6.32±0.14 ^{ab}	7.06±0.23 ^a
‘Oscar Gray’	5.12±0.17 ^c	6.02±0.58 ^d	6.39±0.41 ^d	7.24±0.47 ^c	8.51±0.39 ^b	9.53±0.61 ^a
‘Forsteri’	4.54±0.29 ^d	4.94±0.62 ^{cd}	5.40±0.59 ^{bc}	5.68±0.38 ^{bc}	6.06±0.34 ^b	7.16±0.36 ^a
‘Savannah’	5.64±0.66 ^d	7.28±0.51 ^c	8.75±0.48 ^b	9.36±0.40 ^b	10.48±0.28 ^a	11.21±0.44 ^a
‘Bronze Beauty’	5.10±0.30 ^c	6.58±0.17 ^d	6.36±0.36 ^d	7.53±0.51 ^c	8.46±0.14 ^b	10.47±0.14 ^a
‘Blue Maid’	6.74±0.49 ^d	6.80±0.24 ^d	7.49±0.25 ^c	7.94±0.08 ^c	9.28±0.37 ^b	10.14±0.55 ^a

表4 不同低温处理下杂交冬青脯氨酸含量的变化

Table 4 The changes in free proline contents of *Ilex* cultivars under different low temperature treatments

品种	脯氨酸含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)					
	0°C	-5°C	-10°C	-15°C	-20°C	-25°C
‘Tensaw’	141.2±3.5 ^c	167.4±7.8 ^b	211.3±3.7 ^a	211.4±6.4 ^a	221.4±7.2 ^a	137.1±8.7 ^c
‘Shamrock’	151.6±7.1 ^c	225.1±8.4 ^d	274.0±10.0 ^c	284.2±8.8 ^{bc}	300.1±9.6 ^b	337.2±12.8 ^a
‘Schworbel's Compacta’	119.1±5.4 ^d	159.9±6.0 ^c	205.8±8.2 ^b	236.8±9.8 ^a	228.6±4.4 ^a	197.5±6.6 ^b
‘Anna's Choice’	161.7±2.5 ^c	214.2±9.4 ^c	245.2±5.3 ^b	265.0±6.4 ^a	252.0±7.2 ^b	189.9±3.6 ^d
‘Oscar Gray’	141.0±5.1 ^{de}	145.5±6.3 ^d	209.8±3.5 ^b	222.0±2.8 ^a	171.8±5.3 ^c	133.1±4.1 ^c
‘Forsteri’	154.8±7.2 ^c	184.5±6.4 ^d	218.2±7.8 ^c	237.6±8.1 ^b	268.6±9.5 ^a	261.4±11.3 ^a
‘Savannah’	104.0±6.2 ^c	100.3±5.3 ^c	141.4±9.8 ^b	162.6±8.4 ^a	136.9±7.1 ^b	99.3±8.4 ^c
‘Bronze Beauty’	129.5±9.9 ^f	167.4±7.8 ^d	200.4±2.8 ^b	228.7±4.6 ^a	183.0±3.4 ^c	144.3±3.1 ^c
‘Blue Maid’	121.4±6.1 ^d	143.5±7.1 ^c	138.0±5.4 ^c	168.8±10.4 ^b	189.8±4.6 ^a	157.1±6.2 ^b

表5 不同低温处理下杂交冬青可溶性蛋白含量的变化

Table 5 The changes in soluble protein contents of *Ilex* cultivars under different low temperature treatments

品种	可溶性蛋白含量/mg·g ⁻¹ (DW)					
	0°C	-5°C	-10°C	-15°C	-20°C	-25°C
‘Tensaw’	5.16±0.14 ^d	5.71±0.11 ^c	6.18±0.25 ^b	6.74±0.41 ^a	5.42±0.25 ^{cd}	4.23±0.31 ^e
‘Shamrock’	4.86±0.07 ^d	6.03±0.04 ^c	6.24±0.50 ^c	7.48±0.32 ^{ab}	7.84±0.15 ^a	7.14±0.27 ^b
‘Schworbel’s Compacta’	5.25±0.22 ^c	5.96±0.31 ^b	6.59±0.41 ^{ab}	7.09±0.57 ^a	6.51±0.39 ^{ab}	3.80±0.25 ^d
‘Anna’s Choice’	4.74±0.31 ^b	5.38±0.52 ^b	5.42±0.25 ^b	6.14±0.17 ^a	6.52±0.61 ^a	3.47±0.12 ^c
‘Oscar Gray’	4.29±0.18 ^b	4.80±0.32 ^{ab}	5.12±0.17 ^a	5.28±0.53 ^a	3.07±0.44 ^c	2.83±0.36 ^c
‘Forsteri’	4.32±0.17 ^c	5.69±0.34 ^b	6.25±0.59 ^{ab}	6.48±0.48 ^a	6.88±0.34 ^a	6.79±0.30 ^a
‘Savannah’	4.34±0.26 ^b	5.28±0.62 ^a	5.76±0.38 ^a	5.51±0.39 ^a	3.55±0.23 ^c	3.08±0.33 ^c
‘Bronze Beauty’	3.96±0.50 ^c	4.41±0.27 ^{bc}	5.44±0.36 ^a	5.70±0.21 ^a	4.83±0.34 ^b	2.92±0.10 ^d
‘Blue Maid’	4.52±0.39 ^d	4.97±0.54 ^{cd}	5.58±0.45 ^{bc}	6.41±0.15 ^a	6.06±0.27 ^{ab}	3.72±0.35 ^e

Gray’、‘Bronze Beauty’和‘Blue Maid’的峰值出现在-15°C低温胁迫下, ‘Shamrock’、‘Anna’s Choice’和‘Forsteri’的SOD活性在-20°C时达到最大。在达到峰值时, ‘Oscar Gray’的增加得最少, 为23.08%; ‘Forsteri’和‘Shamrock’的增加得最多, 达59.26%和64.31%。

2 低温胁迫对杂交冬青相对电导率的影响

由表6可以看出, 9个杂交冬青品种的相对电导率的变化趋势相同, 随着温度的降低相对电导率逐渐升高: -15~0°C处理的杂交冬青相对电导率上升缓慢, 平均增加了13.71%; -25~-15°C的相对电导率迅速上升, 平均增加了39.69%。9个品种的相对电导率变化存在显著差异($P<0.05$), 以‘Savannah’的相对电导率增幅最大, 达62.77%; ‘Shamrock’的相对电导率增幅最小, 为30.8%。

通过计算得到Logistic方程各参数($\ln a$ 、 b 、 R^2)及 LT_{50} (图1)。9种杂交冬青的抗寒能力依次为

‘Shamrock’、‘Forsteri’、‘Schworbel’s Compacta’、‘Anna’s Choice’、‘Tensaw’、‘Blue Maid’、‘Bronze Beauty’、‘Oscar Gray’、‘Savannah’。以‘Shamrock’最抗寒, LT_{50} 达-34.91°C, ‘Savannah’抗寒性较差, 为-14.13°C。此外, ‘Forsteri’和‘Schworbel’s Compacta’也有较高的抗寒能力, LT_{50} 在-20°C以下。且以上各品种的 LT_{50} 均与表1中耐寒区域范围相对应。

3 杂交冬青抗寒性综合评价

大量研究表明隶属函数均值越大表示该树种的抗寒性就越强(刘慧民等2014; 董万鹏等2015)。由表7可以看出, 9个杂交冬青中的抗寒顺序依次为: ‘Shamrock’、‘Forsteri’、‘Schworbel’s Compacta’、‘Anna’s Choice’和‘Tensaw’、‘Blue Maid’、‘Bronze Beauty’、‘Oscar Gray’、‘Savannah’。说明以上结果与 LT_{50} 及耐寒区域范围一致, 说明本研究中9个杂交冬青的抗寒性能力强弱的结果是可靠的。

表6 低温胁迫对杂交冬青相对电导率的影响

Table 6 The effects of low temperature stress on Rec of *Ilex* cultivars

品种	Rec/%					
	0°C	-5°C	-10°C	-15°C	-20°C	-25°C
‘Tensaw’	15.81±0.94 ^e	17.93±1.55 ^{de}	21.06±1.07 ^d	29.76±1.74 ^c	52.19±1.94 ^b	75.70±3.29 ^a
‘Shamrock’	14.28±0.81 ^e	15.73±1.24 ^{de}	17.75±0.79 ^{cd}	19.57±1.23 ^c	25.91±1.05 ^b	45.08±2.31 ^a
‘Schworbel’s Compacta’	15.54±1.13 ^d	17.73±1.81 ^d	21.61±1.43 ^c	25.10±1.52 ^c	42.37±3.56 ^b	64.29±1.87 ^a
‘Anna’s Choice’	14.98±0.74 ^d	16.51±2.23 ^d	19.32±1.15 ^d	24.87±1.47 ^c	52.26±2.31 ^b	73.44±4.56 ^a
‘Oscar Gray’	17.56±0.88 ^d	16.94±1.09 ^d	20.60±1.62 ^d	35.17±2.11 ^c	60.28±3.69 ^b	79.24±3.91 ^a
‘Forsteri’	15.51±1.29 ^f	18.16±0.62 ^e	20.62±1.46 ^d	24.17±1.27 ^c	35.23±1.96 ^b	59.70±1.24 ^a
‘Savannah’	19.72±2.17 ^d	21.96±1.98 ^d	24.15±2.67 ^d	46.72±2.25 ^c	75.32±2.47 ^b	82.49±4.28 ^a
‘Bronze Beauty’	17.62±1.36 ^e	21.08±0.94 ^e	27.76±1.35 ^d	32.94±2.26 ^c	55.10±1.73 ^b	73.64±3.49 ^a
‘Blue Maid’	16.16±1.02 ^e	17.86±1.46 ^{de}	20.79±0.97 ^d	32.28±1.23 ^c	59.03±2.34 ^b	74.19±2.58 ^a

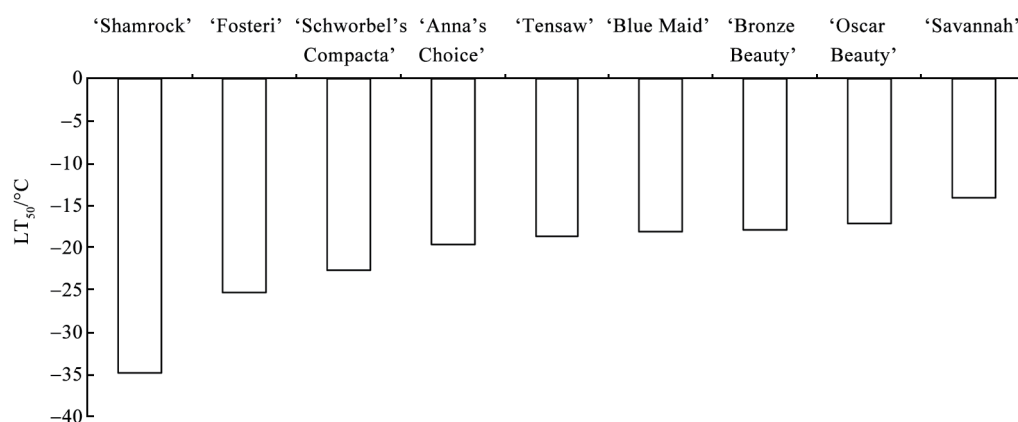
图1 9个杂交冬青品种的半致死温度(LT₅₀)Fig.1 The semi-lethal temperatures (LT₅₀) of nine *Ilex* cultivars

表7 低温胁迫下9个杂交冬青的隶属函数值

Table 7 The membership function of nine *Ilex* cultivars under low temperature stress

品种	Rec	SOD	MDA	脯氨酸	可溶性蛋白	平均值	抗寒性
'Shamrock'	0.7152	0.6971	0.6766	0.5950	0.5833	0.6534	1
'Fosteri'	0.6970	0.6640	0.5840	0.5805	0.6829	0.6417	2
'Schworbel's Compacta'	0.6807	0.5820	0.5244	0.6132	0.6282	0.6057	3
'Anna's Choice'	0.6820	0.5771	0.5413	0.5774	0.5929	0.5941	4
'Tensaw'	0.6728	0.6030	0.5983	0.5286	0.5351	0.5876	5
'Blue Maid'	0.6457	0.5425	0.6103	0.4637	0.5539	0.5632	6
'Bronze Beauty'	0.6358	0.5625	0.5686	0.4640	0.5839	0.5630	7
'Oscar Gray'	0.6574	0.5637	0.5431	0.4160	0.5721	0.5505	8
'Savannah'	0.5964	0.5498	0.4351	0.3919	0.5622	0.5071	9

讨 论

低温冻害是影响常绿植物向北推广应用的最主要因素之一。低温胁迫下,植物细胞膜发生相的变化,生物膜的透过性增大,细胞内的电解质外渗(Lyons 1973)。电导法就是通过该原理来鉴定植物的抗寒性的,并且相对电导率越高,说明低温胁迫对细胞膜的伤害程度越大(Mittler 2002)。Rajashekar等(1979)在此基础上,利用Logistic方程曲线描述低温对植物细胞膜的伤害过程,提出曲线拐点为LT₅₀的观点。大量研究表明(张纪林等2005;邓仁菊等2014):LT₅₀是能较直观反映植物抗寒能力的生态指标。本研究由此方法计算出9个杂交冬青品种的LT₅₀,得到杂交冬青的抗寒能力强弱顺序依次为'Shamrock'、'Forsteri'、'Schworbel's Compacta'、'Anna's Choice'、'Tensaw'、'Blue Maid'、'Bronze Beauty'、'Oscar Gray'和'Savan-

nah'。这与耐寒区域范围相对一致,且本研究中'Shamrock'的LT₅₀ -34.91°C与Sun和Zhang (2010)研究结果基本一致:'Shamrock' LT₅₀ -31.8°C,与越冬期间田间观测相近。

有研究发现,树种抗寒能力越强,SOD活性越高(方小平等2010)。同时低温胁迫后SOD活性变化趋势先上升后下降,且该指标与品种抗寒性密切相关(陆思思等2013)。本研究中,9个杂交冬青的SOD活性随着低温胁迫先上升后下降,且'Shamrock'、'Forsteri'和'Schworbel's Compacta'的活性较高,抗寒性强。MDA是膜脂过氧化作用的最终产物,反映植物遭受逆境伤害的程度(Velikova等2000)。MDA含量与植物抗寒性成负相关(林艳等2012)。随着低温胁迫,'Savannah'、'Bronze Beauty'、'Blue Maid'和'Oscar Gray'的MDA积累量相对较多,抗寒力较差,'Shamrock'和'Schworbel's Compacta'的相对较少,抗寒力强。

游离脯氨酸是植物体内一种有效的亲和性渗透调节物质,当植物受到低温胁迫时,游离脯氨酸含量会受到一定变化(李合生2012)。本研究发现,9个品种中有8个品种脯氨酸含量基本随着温度的降低先升高再降低,只有‘Shamrock’随着温度的降低一直升高,直到 -25°C ,这可能是由于它的抗寒性比较好,本试验设计还未能达到其峰值。可溶性蛋白含量的增加有利于提高细胞内的束缚水含量,从而降低冰点,对植物的抗寒性具有重要作用(潘瑞焯2008)。研究表明(Shyam等1987; 亓白岩等2010),植物在低温胁迫下细胞内可溶性蛋白含量与抗寒性表现呈正相关。我们的研究也得到类似的结论。

本研究通过电导法配以Logistic方程确定杂交冬青的 LT_{50} ,并结合冬青的耐寒区域范围及各生理指标隶属函数法来比较9个杂交冬青品种的抗寒能力,得出抗寒能力强弱顺序依次为‘Shamrock’、‘Forsteri’、‘Schworbel’s Compacta’、‘Anna’s Choice’、‘Tensaw’、‘Blue Maid’、‘Bronze Beauty’、‘Oscar Gray’、‘Savannah’。而我们在田间观测中还发现,抗寒性最差的‘Savannah’在河南郑州(期间最低温为 -8°C)能很好的露地越冬,表明测试的9个品种都有往北推广的可能性。当然除低温外,影响常绿树种向我国北方推广应用的主要非生物因素还包括水分等。但我们在湖南长沙田间观测发现,这些杂交冬青均表现出一定的抗旱能力,尤其在2013年湖南旱灾期间,测试的9个品种大部分表现良好,因此我们也将进一步探索这9种杂交冬青的抗旱能力,为丰富北方常绿植物提供更多的参考资料,为其向更高纬度地区引种及推广应用提供理论依据。

参考文献

- Cao R, Wang HY (2014). Comprehensive evaluation of 11 evergreen broad-leaved tree species for their cold tolerance. *J Southwest Univ (Nat Sci Ed)*, (08): 57–64 (in Chinese with English abstract) [曹冉, 王海洋(2014). 11种常绿阔叶树的抗寒力研究. *西南大学学报(自然科学版)*, (08): 57–64]
- Chen JX, Wang XF (2006). *Experimental Instruction of Plant Physiology*. Guangzhou: South China University of Technology Press, 66–80 (in Chinese) [陈建勋, 王晓峰(2006). *植物生理学实验指导*. 广州: 华南理工大学出版社, 66–80]
- Deng RJ, Fan JX, Wang YQ, Jin JF, Liu T (2014). Semilethal temperature of pitaya under low temperature stress and evaluation on their cold resistance. *Plant Physiol J*, 50 (11): 1742–1748 (in Chinese with English abstract) [邓仁菊, 范建新, 王永清, 金吉芬, 刘涛(2014). 低温胁迫下火龙果的半致死温度及抗寒性分析. *植物生理学报*, 50 (11): 1742–1748]
- Dirr MA (2009). *Manual of Woody Landscape Plants*. Champaign: Stipes Publishing LLC, 527–556
- Dong WP, Luo C, Li XQ, Hu J, Li Y (2015). Effects of low temperature stress on physiological indexes of cold resistance of *Passiflora edulis*. *Plant Physiol J*, 51 (5): 771–777 (in Chinese with English abstract) [董万鹏, 罗充, 李秀琴, 胡静, 李艳(2015). 低温胁迫对西番莲抗寒生理指标的影响. *植物生理学报*, 51 (5): 771–777]
- Fang XP, Li CY, Hu GP (2010). Studies on the cold resistance of four *Magnoliaceae* species in Guizhou province. *Forest Res*, 23 (6): 862–865 (in Chinese with English abstract) [方小平, 李昌艳, 胡光平(2010). 贵州4种木兰科植物幼苗的抗寒性研究. *林业科学研究*, 23 (6): 862–865]
- Li HS (20012). *Modern Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 358 (in Chinese) [李合生(2012). *现代植物生理学*. 北京: 高等教育出版社, 358]
- Lin Y, Guo WZ, Xu ZH, Jia ZK (2012). Cold resistance and changes on MDA and soluble sugar of leaves of *Ligustrum lucidum* Ait in winter. *Chin Agric Sci Bull*, 28 (25): 68–72 (in Chinese with English abstract) [林艳, 郭伟珍, 徐振华, 贾宗镨(2012). 大叶女贞抗寒性及冬季叶片丙二醛和可溶性糖含量的变化. *中国农学通报*, 28 (25): 68–72]
- Liu HM, Zhang Q, Su Q, Liu JX, Che DD (2014). Studies on evaluation and screening of cold resistance during seedling stage in eighteen species or varieties of *Spiraea*. *Acta Horticult Sin*, 41 (12): 2427–2436 (in Chinese with English abstract) [刘慧民, 仇茜, 苏青, 刘计璇, 车代弟(2014). 18种绣线菊苗期抗寒性评价与筛选. *园艺学报*, 41 (12): 2427–2436]
- Lu SS, Li SL, Li Q, Li ZG, Liang H (2013). Effect of low temperature stress on enzyme activities of sugarcane internode. *Southwest China J Agric Sci*, 26 (3): 968–972 (in Chinese with English abstract) [陆思思, 李素丽, 李琼, 李志刚, 梁和(2013). 低温胁迫对不同抗寒性甘蔗品种节间几种酶活性的影响. *西南农业学报*, 26 (3): 968–972]
- Lyons JM (1973). Chilling injury in plants. *AM Rev Plant Physical*, 24: 445–446
- Mittler R (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*, 7 (9): 405–410
- Mo HD (1983). Logistic equation and its application. *Jiangsu J Agric Sci*, 4 (2): 53–57 (in Chinese) [莫惠栋(1983). Logistic方程及其应用. *江苏农学院学报*, 4 (2): 53–57]
- Pan RZ (2008). *Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 292 (in Chinese) [潘瑞焯(2008). *植物生理学*. 北京: 高等教育出版社, 292]
- Qi BY, Zhou DQ, Yu ZG, Xu BH, Yin YL (2010). Study on cold resistance of eight *Michelia* plants. *Jiangsu Agric Sci*, (5): 258–263 (in Chinese) [亓白岩, 周冬琴, 於朝广, 徐和宝, 殷云龙(2010). 8种含笑属植物的抗寒性研究. *江苏农业科学*, (5): 258–263]
- Rajashekar C, Gusta LV, Burke MJ (1979). Membrane structural transition: probable relation to frost damage in hardy herbaceous species. In: Lysons JM, Gharma D, Raison JK. *Low Temperature*

- Stress in Crop Plants the Role of Membrane. New York: Academic Press, 255–274
- Shao WP (2009). Study on cold resistance of evergreen broad-leaved plants [Dissertation]. Taian: Shandong Agrical University (in Chinese with English abstract) [邵文鹏(2009). 几种常绿阔叶植物抗寒性研究[学位论文]. 泰安: 山东农业大学]
- Shyam SM, Ronald JP, Rajinder SD (1987). Changes in protein Patterns and translatable messenger RNA populations during cold acclimation of Alfalfa. *Plant Physiol*, 84: 1172–1172
- Sun YP, Zhang DL (2010). Cold hardiness of *Ilex glabra* cultivars from field trials and laboratory tests. *J Environ Hortic*, 28 (4): 191–196
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid raintreated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci*, 151 (01): 59–66
- Xia YP (2010). Physiological responses of broadleaf holly leaves under low temperature and drought stress [Dissertation]. Zhengzhou: Henan Agrical University (in Chinese with English abstract) [夏云鹏(2010). 低温与干旱胁迫对大叶冬青叶片生理特性影响的研究[学位论文]. 郑州: 河南农业大学]
- Zhang JL, Xie XJ, Jiao ZY, Zhang L, Hao RM (2005). The comparison of frozen resistance of several tree species of *Ilex* L.. *Acta Hortic Sin*, 32 (3): 477–481 (in Chinese with English abstract) [张纪林, 谢晓金, 教忠意, 张璐, 郝日明(2005). 几种冬青属植物抗冻能力比较. *园艺学报*, 32 (3): 477–481]
- Zhang DL, Sun YP, Jin XL, Han LJ (2011). Cross Compatibility of *Ilex glabra* (L.) A. Gray with *Ilex meserveae* S. Y. Hu and *Ilex verticillata* (L.) A. Gray. *J CSUFT*, 31 (10): 1–9 (in English with Chinese abstract)

Comparison of cold resistance among nine evergreen *Ilex* cultivars

ZENG Wen, JIN Xiao-Ling*, XING Wen, HU Man-Jun

College of Landscape Architecture, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

Abstract: In order to evaluate the cold resistance of nine evergreen *Ilex* cultivars, the physiological mechanism of detached-leaf from nine evergreen *Ilex* cultivars under low temperature stress was studied. Their semi-lethal temperatures were calculated by relative electric conductivity (Rec) and logistic equation. Meanwhile, the contents of SOD, MDA, free proline and soluble protein were determined to provide their cold resistance. The results indicated that Rec increased as the dropping of temperature, and LT_{50} was between -14.13°C and -34.91°C . With the temperature decreased, the contents of MDA increased, and the SOD activity and soluble protein contents increased firstly, then decreased, and the contents of free proline increased or increased firstly, then decreased. Synthetic evaluation of LT_{50} and the membership function indicated that the ranking of cold tolerance of *Ilex* cultivars was: ‘Shamrock’ > ‘Forsteri’ > ‘Schworbel’s Compacta’ > ‘Anna’s Choice’ > ‘Tensaw’ > ‘Blue Maid’ > ‘Bronze Beauty’ > ‘Oscar Gray’ > ‘Savannah’.

Key words: *Ilex* cultivars; cold resistance; semi-lethal temperature; the membership function

Received 2015-10-08 Accepted 2016-01-11

This work was supported by the Forestry Industry Research Special Funds for Public Welfare Projects (Grant No. 201404710) and the Twelfth Five-Year Key subjects (Landscape Architecture) of Hunan Province (Grant No. 76[2011]).

*Corresponding author (E-mail: 121191638@qq.com).