

DOI: 10.11929/j.swfu.201905081

引文格式: 张海燕, 樊军锋, 高建社, 等. 5个欧美杨无性系抗寒性测定与评价 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2020, 40(2): 36–43.

5个欧美杨无性系抗寒性测定与评价

张海燕 樊军锋 高建社 周永学

(西北农林科技大学林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要: 为比较引进欧美杨无性系抗寒性, 以其1年生休眠苗为试验材料, 采用人工梯度降温法在-15、-20、-25、-30、-35℃下处理24 h, 测定其相对电导率、超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性及丙二醛含量、可溶性蛋白含量的变化, 利用拟合的 Logistic 方程求出半致死温度, 依据隶属函数法及相关性分析对测定指标进行评价和抗寒性排序。结果表明: 低温胁迫下, 酶活性、丙二醛含量及可溶性蛋白含量呈先升高后降低的趋势, 无性系各指标间差异明显; 无性系 Qg 的半致死温度最低且隶属函数值最大, 各抗寒指标综合表现良好, 其抗寒性最强; 保护酶活性间呈极显著相关, 电导率、丙二醛含量、可溶性蛋白含量间存在显著相关关系, 6项指标可为杨树抗寒性研究测定提供参考依据。根据半致死温度及隶属函数值对抗寒性的排序为 Qg>Ta>Pa>Ti>La>中林 46>I-107。

关键词: 欧美杨; 抗寒能力; 半致死温度; 保护酶活性; 评价指标

中图分类号: S332

文献标志码: A

文章编号: 2095-1914(2020)02-0036-08

Determination and Evaluation of Cold Resistance of 5 *Populus×euramericana* Clones

Zhang Haiyan, Fan Junfeng, Gao Jianshe, Zhou Yongxue

(College of Forestry, Northwest Agriculture&Forestry University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to compare the cold resistance of introduced *Populus×euramericana* clones, the annual dormant seedlings were used as experimental materials, and the relative conductivity was determined by artificial gradient cooling method at -15, -20, -25, -30, -35℃ for 24 hours. The activities of SOD, POD, CAT and the changes of malondialdehyde and soluble protein content were measured under the low temperatures, and use the fitted logistic equation to find the semi-lethal temperature. The evaluation indexes and cold resistance were ranked according to the membership function method and correlation analysis. The results showed that under low temperature stress, enzyme activity, malondialdehyde content and soluble protein content increased first and then decreased, and the differences among different clones were obvious. The semi-lethal temperature of clone Qg was the lowest and the value of membership function was the largest. The cold resistance index has a good comprehensive performance, and its cold resistance is the strongest; the protective enzyme activity is extremely significantly correlated, and there is a significant correlation between conductivity, malondialdehyde content and soluble

收稿日期: 2019-05-07; 修回日期: 2019-05-23

基金项目: 国家重大研发计划项目 (SQ2016YFNC030041) 资助。

第1作者: 张海燕 (1994—), 女, 硕士研究生。研究方向: 林木遗传育种与森林高效培育。Email: 1692150900@qq.com。

通信作者: 樊军锋 (1963—), 男, 博士, 教授。研究方向: 杨树新品种选育及油松遗传改良。Email: xueshuyuandi@126.com。

protein content. Six indicators can be used to determine the cold resistance of poplar and provide a reference basis. According to the semi-lethal temperature and membership function values, the order of cold resistance is: Qg>Ta>Pa>Ti>La>Zhonglin 46>I-107.

Key words: *Populus×euramericana*; cold resistance; semi-lethal temperature; protective enzyme activity; evaluation index

杨树 (*Populus*) 栽培和利用历史悠久, 是重要的绿化、防护及用材林树种, 但其生长及分布也受到干旱、寒冷等极端天气的制约。杨树抗寒性研究, 可为其品种选育提供理论依据, 对于提高林木生产力与地区经济效益、促进我国生态环境的建设具有重要意义^[1]。植物通过一系列生理生化反应提高对环境的适应能力, 其体内多种渗透调节物以及保护酶等在维持细胞结构及生理功能、抵抗恶劣气候条件等方面具有重要作用。目前植物抗寒性的研究主要集中于植物形态与细胞结构、生理生化过程、基因工程等方面, 利用分子生物及转基因技术等手段对植物抗寒机制进行更加深入地探索^[2-3]。植物抗寒性鉴定方法主要有直接鉴定法、间接鉴定法、综合鉴定法等, 当前研究主要通过测定多个生理或形态指标, 并结合隶属函数法等植物抗逆性综合评价方法, 为植物抗寒性研究提供更加科学、准确的依据^[4-6]。

欧美杨 (*P.×euramericana*) 原产美洲, 作为美洲黑杨 (*P. deltoides*) 与欧洲黑杨 (*P. nigra*) 的杂交子代, 具有耐旱性强、生长快、适应范围广等优良特性, 在我国中原地区是较好地工业用材原料及丰产林主栽树种。目前对欧美杨无性系的抗寒性研究相对较少。本研究采用梯度降温法测定各无性系在低温胁迫下的电导率、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、过氧化物酶 (POD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性及丙二醛 (MDA) 含量、可溶性蛋白含量等生理生化指标的变化, 采用隶属函数法对各无性系抗寒性差异进行初步分析和比较排序, 选出抗寒性较强的无性系, 探讨杨树抗寒性评价指标的选择, 以期为欧美杨新无性系的选育推广、造林栽培提供较为可靠的理论支持。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为无性系 Ta、La、Pa、Ti、Qg 以及对照无性系 (I-107 和中林 46 号杨)。其中 Ta、La、Pa、Ti、Qg、I-107 均是由中国林科院林业研

究所从意大利引进的欧美杨杂种无性系, 中林 46 为中国林科院林业研究所选育的欧亚黑杨与 I-69 杨的杂种无性系。试验材料均采自西北农林科技大学渭河试验站种质资源库。于 2019 年 1 月下旬选取生长状况良好且基本一致的 1 年生休眠苗 (地径 2 cm 以上枝条), 各无性系选取 4~5 株。

1.2 低温处理

将采集的枝条用自来水冲洗干净, 自上而下截取至 1.5 m 处后剪成 20 cm 左右枝段, 再用去离子水冲洗, 滤纸吸干并平均分成 6 份, 每个无性系各温度下设置 10 个重复。超低温存储冰箱温度梯度设置为 -15、-20、-25、-30、-35 ℃, 以常温作为对照 (CK)。各温度下的处理时间为 24 h。

1.3 测定方法

1.3.1 相对电导率的测定

随机选取低温处理后的枝条, 用去离子水冲洗 3 次, 滤纸吸干后剪成厚度约 0.5 cm 的小段, 称取各无性系小段约 1.0 g, 分别置于装有适量去离子水的锥形瓶中, 用封口膜封住瓶口, 常温下震荡 12 h。用电导率仪测定浸提液电导率 (E_1)。随后将浸提液置于沸水浴中 30 min, 冷却至室温, 测定电导率 (E_2)^[7], 各处理重复 3 次, 取平均值。按公式 (1) 计算相对电导率 (E)。

$$E = \frac{E_1}{E_2} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.2 生理生化指标的测定

通过含有 0.5% Triton×100 的磷酸缓冲液 (pH=7.8) 获得粗酶提取液。CAT 活性、SOD 活性、POD 活性、MDA 含量测定参照高俊凤^[8]的方法, 可溶性蛋白含量测定采用 BCA 蛋白定量试剂盒, 各无性系重复 3 次。

1.4 数据统计分析

采用 Excel 2016 及 SPSS 22.0 软件进行数据处理、作图及差异显著性和相关性分析; 以不同低温处理下得到的相对电导率 (E) 及相应处理温度 (x) 拟合各无性系 Logistic 方程^[9] (公式 (2)),

根据公式（3）求得各无性系的低温半致死温度（LT₅₀）^[10]。采用隶属函数法计算出各指标的综合隶属函数值，对于呈负相关的指标采用反隶属函数进行转换^[11]。

$$E = \frac{k}{(1 + ae^{-bx})}$$
 (2)

$$LT_{50} = \frac{\ln a}{b}$$
 (3)

式中：*k* 为细胞的饱和伤害情况，*a*、*b* 为方程参数（*a*、*b*、*k*>0）。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下各无性系 Logistic 方程与 LT₅₀

由表 1 可知，各无性系方程拟合度极显著（*P*<0.01），最高达到 0.993，最低达到 0.976。按照 LT₅₀ 对各无性系抗寒性强弱的排序为 Qg>Ta>Pa>Ti>La>中林 46>I-107。其中无性系 Qg 的 LT₅₀ 最低，为-30.97℃，表明其抗寒性最强；无性系 Qg、Ta、Pa、Ti 的 LT₅₀ 与对照无性系 I-107 和中林 46 差异显著（*P*<0.05），无性系 La 的 LT₅₀ 与对照无性系差异不显著。

根据各无性系的 LT₅₀ 可将 7 个无性系划分为 3 类，LT₅₀ 在-30℃以下的无性系，仅包括 Qg，达到-30.97℃，表明其抗寒性最强；LT₅₀ 在-26℃以下的无性系，包括 Ta、Pa、Ti，LT₅₀ 分别达到-29.65、-28.59℃和-26.21℃，其抗寒性相对较强；LT₅₀ 在-23℃以下，包括 La、I-107 和中林 46，其抗寒性较弱。

表 1 低温处理下各无性系的 Logistic 方程及 LT₅₀
Table 1 Logistics equation of different poplar clones under different low temperatures and estimation of LT₅₀

无性系	回归方程	LT ₅₀ /℃	R ²	排序
Ta	$E=97.294\ 0/(1+3.040e^{-0.038x})$	-29.65 ^c	0.976 ^{**}	2
Pa	$E=98.610\ 2/(1+3.498e^{-0.044x})$	-28.59 ^d	0.990 ^{**}	3
La	$E=98.282\ 8/(1+4.264e^{-0.060x})$	-24.01 ^b	0.991 ^{**}	5
Qg	$E=98.850\ 8/(1+5.630e^{-0.056x})$	-30.97 ^f	0.990 ^{**}	1
Ti	$E=98.040\ 3/(1+7.584e^{-0.077x})$	-26.21 ^c	0.993 ^{**}	4
I-107	$E=98.541\ 8/(1+4.328e^{-0.062x})$	-23.52 ^a	0.991 ^{**}	7
中林46	$E=97.174\ 9/(1+5.459e^{-0.071x})$	-23.84 ^{ab}	0.979 ^{**}	6

注：不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05），**表示拟合度极显著（*P*<0.01）。

2.2 低温处理下无性系生理生化指标的变化

2.2.1 低温处理下无性系的保护酶活性变化

植物体内保护酶抗氧化防御系统可以降解细胞中积累的活性氧自由基，低温胁迫下保护酶活性与植物抗寒性呈正相关^[12-13]。由表 2~4 可知，随着处理温度的降低，各无性系 SOD、POD、CAT 活性的变化趋势基本一致，均呈现先增加后降低的趋势。但不同无性系的保护酶活性达到峰值时的温度有所不同，各无性系的保护酶活性在不同低温胁迫下的变化幅度也不同。

表 2 低温处理下各无性系 SOD 活性变化
Table 2 Changes of SOD enzyme activities in different clones under different low temperature treatments U/g

无性系	处理					
	CK	-15℃	-20℃	-25℃	-30℃	-35℃
Ta	158.27±7.81 ^b	177.72±5.81 ^b	205.14±5.67 ^a	262.63±7.47 ^b	236.32±2.79 ^c	200.69±3.82 ^d
Pa	156.84±5.23 ^b	143.31±2.86 ^c	160.03±2.16 ^c	227.54±2.61 ^b	264.23±6.03 ^c	253.40±3.65 ^b
La	123.53±2.41 ^c	152.31±4.64 ^d	156.57±2.86 ^c	208.04±5.11 ^{cd}	226.375±4.35 ^c	173.57±3.03 ^c
Qg	187.46±3.00 ^a	195.415±3.29 ^a	211.82±4.79 ^a	287.05±3.68 ^a	365.92±3.33 ^a	225.76±5.25 ^c
Ti	162.66±6.84 ^b	169.45±3.34 ^c	205.85±4.91 ^a	294.61±3.39 ^a	305.8±3.10 ^b	290.37±3.89 ^a
I-107	134.53±4.93 ^c	177.37±3.59 ^b	192.37±5.57 ^b	211.06±6.68 ^c	189.81±3.19 ^d	162.05±6.80 ^f
中林46	123.60±3.73 ^c	133.17±3.12 ^f	155.89±3.71 ^c	198.29±4.48 ^d	126.50±6.35 ^e	123.92±5.31 ^e

注：不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05）。

表 3 低温处理下各无性系 POD 活性变化

Table 3 Changes of POD enzyme activities in different clones under different low temperature treatments U/ (g·min)

无性系	处理					
	CK	-15 ℃	-20 ℃	-25 ℃	-30 ℃	-35 ℃
Ta	6 298.59±16.62 ^c	7 034.09±20.34 ^e	8 981.32±32.00 ^c	10 042.39±43.92 ^b	8 591.85±28.88 ^c	6 854.94±38.68 ^e
Pa	5 276.37±27.15 ^f	7 243.40±44.66 ^d	8 388.47±12.95 ^e	9 450.47±14.80 ^d	9 684.57±55.96 ^d	5 819.39±30.21 ^f
La	6 146.33±12.50 ^d	6 967.61±43.01 ^e	7 986.19±39.39 ^g	8 880.19±80.12 ^f	10 824.19±67.50 ^b	9 090.89±86.73 ^c
Qg	7 137.11±58.92 ^a	9 943.99±44.24 ^a	10 259.22±67.04 ^a	11 877.98±75.03 ^a	14 338.60±43.71 ^a	9 585.72±50.51 ^b
Ti	5 985.67±11.79 ^e	7 853.09±51.15 ^c	8 545.67±59.16 ^d	9 242.24±71.93 ^e	10 429.10±7.81 ^c	10 080.22±27.03 ^a
I-107	5 397.30±30.30 ^f	6 177.22±13.75 ^f	8 157.14±27.17 ^f	9 249.85±67.71 ^e	7 668.03±52.28 ^f	5 085.93±56.75 ^g
中林46	6 535.05±33.32 ^b	8 529.45±29.17 ^b	9 698.75±37.12 ^b	10 383.96±104.90 ^c	9 571.28±44.24 ^d	8 134.92±32.05 ^d

注：不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05）。

表 4 低温处理下各无性系 CAT 活性变化

Table 4 Changes of CAT enzyme activities in different clones under different low temperature treatments U/ (g·min)

无性系	处理					
	CK	-15 ℃	-20 ℃	-25 ℃	-30 ℃	-35 ℃
Ta	20.58±0.56 ^a	22.71±0.34 ^a	35.22±0.38 ^a	41.64±0.61 ^a	31.57±0.36 ^c	27.04±0.60 ^c
Pa	18.62±0.32 ^b	21.50±0.40 ^b	25.50±0.49 ^c	29.68±0.37 ^d	33.73±0.44 ^b	32.50±0.62 ^a
La	14.48±0.29 ^{de}	12.45±0.60 ^f	16.62±0.46 ^e	24.56±0.35 ^e	26.30±0.40 ^e	19.78±0.42 ^e
Qg	16.51±0.68 ^c	20.46±0.50 ^e	28.51±0.65 ^b	32.60±0.31 ^b	36.65±0.26 ^a	30.40±0.40 ^b
Ti	13.54±0.49 ^e	14.53±0.20 ^e	19.47±0.36 ^d	23.50±0.52 ^f	27.51±0.55 ^d	25.55±0.32 ^d
I-107	15.35±0.33 ^d	12.52±0.20 ^{ef}	25.51±0.48 ^c	30.52±0.67 ^c	24.56±0.41 ^f	16.43±0.56 ^f
中林46	12.65±0.09 ^e	17.50±0.41 ^d	19.05±0.13 ^d	23.51±0.28 ^f	20.75±0.48 ^g	13.50±0.04 ^g

注：不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05）。

方差分析表明，低温胁迫下不同无性系的 SOD、POD 活性差异总体显著（*P*<0.05）。无性系 Pa、La、Qg、Ti 的 SOD、POD 活性在-30 ℃达到峰值，无性系 Ta、I-107、中林 46 的 SOD、POD 活性在-25 ℃达到峰值。其中，无性系 Qg 的 SOD、POD 活性始终维持在较高水平，最大值分别达到 365.92 U/g 和 14 338.60 U/（g·min），且增幅均达到最大，为 CK 的 0.95 倍和 1.00 倍，表明其抵抗低温胁迫的能力较强。

由表 4 可知，低温胁迫下各无性系的 CAT 活性差异总体显著（*P*<0.05）。无性系 Ta、Qg、I-107、中林 46 的 CAT 活性在-25 ℃达到峰值，无性系

Pa、La、Ti 的 CAT 活性在-30 ℃达到峰值。相比 CK，无性系 Qg 的 CAT 酶活性增幅最大，达到 1.22 倍，无性系 Ta 的 CAT 活性维持在最高水平，增幅达到 1.02 倍，无性系 Pa 的降幅最小，为 3.79%，说明低温刺激下不同无性系的保护酶系统的反应程度不同。

2.2.2 低温处理下各无性系的 MDA 含量变化

MDA 是膜脂过氧化过程的最终分解产物，其含量可以反映细胞膜系统的受伤害程度^[14]。由表 5 可知，低温处理下各无性系的 MDA 含量呈先增高后降低的趋势，不同无性系 MDA 含量存在一定差异。无性系 Ta、Pa、La、Qg、Ti 的

MDA 含量均在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 达到峰值, 无性系 I-107、中林 46 在 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 达到峰值。其中 MDA 含量增幅最大的无性系为 Pa, 达到 2.42 倍, 表明其细胞膜

过氧化程度较大, 细胞受害严重; 增幅最小的无性系为 Qg 和 Ta, 为 CK 的 1.21 倍, 表明其细胞受害程度较小, 抗寒能力相对较强。

表 5 低温处理下各无性系 MDA 含量的变化

Table 5 Changes of MDA content in different clones under different low temperature treatments

mmol/g

无性系	处理					
	CK	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-25\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-30\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-35\text{ }^{\circ}\text{C}$
Ta	0.52 ± 0.03^c	1.02 ± 0.02^b	1.05 ± 0.03^b	1.13 ± 0.04^c	1.15 ± 0.03^c	1.05 ± 0.05^c
Pa	0.62 ± 0.03^b	0.77 ± 0.06^d	0.94 ± 0.04^c	0.99 ± 0.03^d	2.09 ± 0.08^{ab}	1.64 ± 0.05^b
La	0.59 ± 0.06^b	1.04 ± 0.03^b	1.13 ± 0.04^b	1.22 ± 0.02^{bc}	1.51 ± 0.04^c	0.99 ± 0.04^c
Qg	0.61 ± 0.04^b	0.88 ± 0.03^c	0.94 ± 0.04^c	1.00 ± 0.06^d	1.34 ± 0.05^d	1.04 ± 0.05^c
Ti	0.95 ± 0.08^a	1.17 ± 0.07^a	1.14 ± 0.06^b	1.27 ± 0.05^b	2.18 ± 0.07^a	1.80 ± 0.06^a
I-107	0.83 ± 0.06^a	1.12 ± 0.05^{ab}	1.25 ± 0.05^a	2.23 ± 0.05^a	1.99 ± 0.08^b	1.66 ± 0.05^b
中林46	0.61 ± 0.05^b	0.95 ± 0.06^{bc}	1.03 ± 0.07^{bc}	1.05 ± 0.07^{cd}	0.95 ± 0.07^f	0.87 ± 0.05^d

注: 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

2.2.3 低温处理下各无性系可溶性蛋白含量变化

多数研究表明, 可溶性蛋白含量与植物抗寒能力呈正比, 其含量的增加可以促使植物增加束缚水的含量, 增强保水能力, 减少细胞结冰带来的伤害^[15]。由表 6 可知, 各无性系的可溶性蛋白含量随着温度的降低呈现先增高后降低的趋势。无性系 Pa、La、Qg、Ti 的可溶性蛋白含量在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$

达到峰值, 无性系 Ta、I-107、中林 46 的可溶性蛋白含量在 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 达到峰值。低温胁迫下, 无性系 Pa 的可溶性蛋白含量增幅最大, 为 CK 的 0.36 倍, 而 I-107 的增幅最小, 为 0.20 倍; 无性系 Ta、Pa、La、Qg 的可溶性蛋白含量均高于对照无性系并且差异显著 ($P<0.05$)。

表 6 低温处理下各无性系可溶性蛋白含量的变化

Table 6 Changes of SP content in different clones under different low temperature treatments

mg/g

无性系	处理					
	CK	$-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-25\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-30\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-35\text{ }^{\circ}\text{C}$
Ta	14.06 ± 0.64^a	15.99 ± 0.68^a	17.11 ± 0.60^a	18.19 ± 0.34^a	15.76 ± 0.21^b	14.56 ± 0.40^c
Pa	13.53 ± 0.38^a	14.40 ± 0.53^b	15.73 ± 0.26^b	17.25 ± 0.26^b	19.80 ± 0.16^a	15.61 ± 0.23^b
La	13.77 ± 0.20^a	14.73 ± 0.98^{ab}	15.55 ± 0.56^b	16.49 ± 0.62^c	17.48 ± 0.39^a	14.63 ± 0.53^{bc}
Qg	13.53 ± 0.23^a	14.45 ± 0.51^b	15.66 ± 0.40^b	16.57 ± 0.22^c	18.49 ± 0.53^a	17.37 ± 0.48^a
Ti	11.79 ± 0.04^b	12.49 ± 0.43^c	13.60 ± 0.57^c	14.60 ± 0.35^d	15.27 ± 0.56^b	14.43 ± 0.53^c
I-107	11.92 ± 0.63^b	12.74 ± 0.34^c	13.23 ± 0.34^{cd}	14.29 ± 0.32^d	14.07 ± 0.66^c	13.27 ± 0.52^d
中林46	10.72 ± 0.32^c	12.09 ± 0.42^c	12.19 ± 0.26^d	13.47 ± 0.37^d	13.13 ± 0.21^c	12.30 ± 0.17^d

注: 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

由无性系 Pa 的 MDA、可溶性蛋白含量变化可以推断, 寒冷刺激使枝条细胞出现应激反应, 细胞膜脂过氧化作用加剧, MDA 含量升高, 同时细胞内保护酶活性、可溶性蛋白等物质含量增加以抵抗外界不良环境, 维持细胞功

能的相对稳定。

2.3 各无性系抗寒性综合评价

以相对电导率、SOD 活性、POD 活性、CAT 活性酶及 MDA 含量、可溶性蛋白含量为评级指标, 依据隶属函数值进行排序。结果表明各无性

系抗寒能力的强弱为 Qg>Ta>Pa>Ti>La>中林 46>I-107，这与按照 Logistic 方程所得的 LT₅₀ 的排序相一致。无性系 Qg 的隶属函数值最大（0.945 2），表明其抗寒性最强，对照无性系 I-107 和中林 46 的隶属函数值都较小（0.137 6 和 0.256 7），表明其抗寒性相对较弱。

表 7 各无性系测定指标隶属函数值及综合排序
Table 7 Comprehensive ranking of membership function values of cold resistance among each clones

无性系	相对电导率	POD 活性	SOD 活性	CAT 活性	MDA 含量	SP 含量	$\sum T_{ij}$	$\overline{T_{ij}}$	排序
Ta	0.638 8	0.283 4	0.652 6	1.000 0	0.972 2	0.929 0	4.476 4	0.746 1	2
Pa	0.591 5	0.192 8	0.562 0	0.759 9	0.629 6	1.000 0	3.735 8	0.622 6	3
La	0.074 2	0.381 2	0.292 5	0.100 6	0.800 9	0.800 7	2.450 0	0.408 3	5
Qg	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.810 3	1.000 0	0.860 9	5.671 2	0.945 2	1
Ti	0.426 9	0.485 8	0.927 1	0.238 5	0.174 4	0.353 2	2.605 9	0.434 3	4
I-107	0.000 0	0.000 0	0.336 3	0.249 7	0.000 0	0.239 5	0.825 4	0.137 6	7
中林46	0.021 0	0.519 3	0.000 0	0.000 0	0.807 1	0.000 0	1.540 3	0.256 7	6

2.4 不同抗寒指标间的相关性分析

由表 8 可知，不同抗寒性测定指标间具有一定相关关系。SOD 活性、POD 活性、CAT 活性之间呈极显著正相关（ $P<0.01$ ），相关系数在 0.90 以上；可溶性蛋白含量和抗氧化酶活性之间呈极显著正相关（ $P<0.01$ ），相关系数达到 0.95 以上；MDA 含量与 SOD 活性、可溶性蛋白含量呈

极显著负相关（ $P<0.01$ ），与 POD 活性、CAT 活性呈显著负相关（ $P<0.05$ ）；相对电导率与 MDA 含量极显著负相关（ $P<0.01$ ），与 SOD 活性、CAT 活性、可溶性蛋白含量呈显著负相关（ $P<0.05$ ）。可见，6 项指标间具有较大的相关性，各指标间具有一定的协同作用，能够在一定程度上反映供试无性系的抗寒性强弱。

表 8 各测定指标相关系数矩阵
Table 8 Matrix of correlation coefficients for each measurement index

指标	POD活性	SOD活性	CAT活性	可溶性蛋白含量	MDA含量
SOD	0.902**				
CAT	0.936**	0.962**			
可溶性蛋白	0.978**	0.967**	0.973**		
MDA	-0.846*	-0.889**	-0.835*	-0.910**	
相对电导率	-0.623	-0.799*	-0.772*	-0.756*	0.850**

注：*表示显著相关（ $P<0.05$ ），**表示极显著相关（ $P<0.01$ ）。

3 结论与讨论

低温胁迫下细胞膜选择透性的改变造成细胞内溶质外渗，相对电导率等相关测定指标与细胞原生质膜受害程度呈正相关。一般配合拟合的 Logistic 方程求出植物的 LT₅₀ 以对植物抗寒性进行更直观的比较^[16-17]。本研究计算出无性系 Qg、Ta、Pa、Ti、La、中林 46 以及 I-107 的 LT₅₀ 分别为 -30.97、-29.65、-28.59、-26.21、-24.01、-23.84、-23.52 ℃。由此，各无性系抗寒性强弱的排序依

次为 Qg>Ta>Pa>Ti>La>中林 46>I-107，这与依据隶属函数值的排序相一致，证明由相对电导率推导的 LT₅₀ 是评价植物抗寒性的重要指标之一，可为杨树无性系的育种推广提供依据。
低温环境下，植物体内活性氧（AOS）清除系统失衡，导致脂质的过氧化作用^[18]。植物体内的酶保护系统可以降解活性氧自由基，防御过氧化物对细胞膜系统的伤害，维持其功能的稳定性^[19-20]。本研究结果表明，SOD、POD、CAT 活性在不同低温胁迫下呈现先升高后降低的趋势，表

明植物在逆境中的防御系统不断加强,但随着温度的降低也遭到不同程度的破坏。此外,不同无性系的保护酶活性达到峰值时的温度有所不同,各无性系保护酶活性的增幅、降幅也不尽相同,说明不同无性系对逆境的反应程度及能力不同,无性系 Qg 的 SOD、POD、CAT 活性相对其他无性系均较高且增幅最大,说明低温胁迫下其抗氧化酶系统调节能力较强,使其抗寒性不断增强。

MDA 是细胞膜脂过氧化反应的重要产物之一,其含量的高低与植物抗寒性呈负相关^[21]。不同低温下,7 个无性系的 MDA 含量呈先升高后降低的趋势,抗寒性强的无性系其 MDA 含量增幅也较小,这与李晓东等^[14]的研究结果相一致。可溶性蛋白作为细胞应对逆境时积累的渗透调节物,其含量与植物抗寒性呈正相关^[15,20],抗寒性较强的无性系其可溶性蛋白积累量及增幅较大。无性系 Qg、Ta、Pa、Ti 的保护酶活性及可溶性蛋白含量均显著高于对照无性系,且 LT_{50} 显著低于对照无性系,表明其抗寒性较对照无性系较强,可以作为欧美杨抗寒新品种选育上的理想材料。保护酶活性、MDA 含量、可溶性蛋白含量都可在一定程度上反应植物应对低温的敏感性,但植物的抗寒机制受到其遗传基础、蛋白调控、生存环境、试验条件等多种因素的影响^[22-23],因此这 3 类指标作为间接评价依据结合隶属函数法等综合评价方法才能更加科学全面的对植物抗逆性进行分析和评价^[24-25]。本研究作为对引进无性系 Ta、Pa、La、Qg、Ti 抗寒性的初步探究,采用隶属函数法对 6 项测定指标进行定量分析评价,各指标间也存在不同水平的相关性,SOD、POD、CAT 活性为极显著相关,三者在过氧化物的清除上具有协同作用,与可溶性蛋白含量呈极显著相关,其在植物御寒上都具有促进作用;MDA 活性与酶活性、可溶性蛋白含量呈极显著负相关,其含量越高表明植物受害程度越高,三者之间具有负协同作用,这与吕小军等^[26]的研究结果一致,由此说明各抗寒性相关指标可以反映引进欧美杨新无性系的抗寒能力。

[参 考 文 献]

- [1] 徐呈祥. 提高植物抗寒性的机理研究进展 [J]. 生态学报, 2012, 32(24): 7966-7980.
- [2] 丁莉萍, 王宏芝, 魏建华. 杨树转基因研究进展及展望 [J]. 林业科学研究, 2016, 29(1): 124-132.
- [3] 李文明, 辛建攀, 魏驰宇, 等. 植物抗寒性研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45(12): 6-11.
- [4] Pareek A, Khurana A, Sharma A K, et al. An overview of signaling regulons during cold stress tolerance in plants [J]. Current Genomics, 2017, 18(6): 237-245.
- [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.
- [6] 藕丹, 樊军锋, 周永学, 等. 10 个白杨派无性系抗寒性的比较与评价 [J]. 东北林业大学学报, 2017, 45(1): 16-19, 54.
- [7] 史清华, 高建社, 王军. 5 个杨树无性系抗寒性的测定与评价 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(11): 1937-1941.
- [8] 高俊凤. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [9] 朱根海, 刘祖祺, 朱培仁. 应用 Logistics 方程确定植物组织低温半致死温度的研究 [J]. 南京农业大学学报, 1986, 9(3): 11-16.
- [10] 石永红, 万里强, 刘建宁, 等. 多年生黑麦草高温半致死温度与耐热性研究 [J]. 草业科学, 2010, 27(2): 104-108.
- [11] 李鹏, 田嘉, 唐开文, 等. 基于隶属函数评估法的扁桃花蕾抗寒性研究 [J]. 中南林业科技大学学报, 2017, 37(2): 39-43.
- [12] 胡建芳, 陈建中, 姚延椿. 杨树保护酶活性与抗寒性关系研究 [J]. 天津农业科学, 2011, 17(6): 18-20.
- [13] 韩浩章, 张丽华, 王晓立, 等. 自然越冬过程中 3 种表型香樟抗寒性比较 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2017, 37(2): 12-18.
- [14] 李晓东, 樊军锋, 邱兴, 等. 美洲黑杨×青杨派杂种无性系苗期抗寒性的鉴定与筛选 [J]. 西北林学院学报, 2015, 30(2): 100-104.
- [15] 王苏甫·阿不力提甫, 阿依古丽·铁木儿, 帕提曼·阿布都热合曼, 等. 利用隶属函数法综合评价梨砧木抗寒性 [J]. 中国农业大学学报, 2014, 19(3): 121-129.
- [16] 刘贝贝, 陈利娜, 牛娟, 等. 6 个石榴品种抗寒性评价及方法筛选 [J]. 果树学报, 2018, 35(1): 66-73.
- [17] 田星, 樊军锋, 张锦梅. 8 种美洲黑杨无性系抗寒性评价 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2018, 38(3): 80-86.
- [18] Plath M, Mody K, Potvin C, et al. Establishment of native tropical timber trees in monoculture and mixed-species plantations: small-scale effects on tree performance and insect herbivory [J]. Forest Ecology and Management, 2011, 261(3): 741-750.
- [19] Thakur P, Nayyar H. Facing the cold stress by plants in the changing environment: sensing, signaling, and defending mechanisms [M]. New York: Springer, 2013.

[20] Nazari M, Maali A R, Mehraban F H, et al. Change in Antioxidant Responses against Oxidative Damage in Black Chickpea Following Cold Acclimation [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2012, 59(2): 183–189.

[21] 陈博, 石进朝, 李迎春. 低温胁迫对大果榛枝条抗寒性的影响 [J]. 西部林业科学, 2019, 48(6): 35–40.

[22] 李清亚, 路斌, 赵佳伟, 等. 低温胁迫对北美豆梨电阻抗参数与抗寒性的影响 [J]. 西部林业科学, 2019, 48(6): 150–154.

[23] 李小琴, 张凤良, 杨湑, 等. 橡胶树野生种质资源抗寒性评价及其与生长的相关性分析 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2019, 39(2): 44–51.

[24] 赵滢, 杨义明, 范书田, 等. 木本植物抗寒性的环境调控及响应机制研究进展 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(2): 750–756.

[25] 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.

[26] 吕小军, 杨途熙, 何小红, 等. 冬季低温对花椒抗寒性生理指标的影响 [J]. 西北农业学报, 2013, 22(7): 143–148.

(责任编辑 冯 雪)

