

三个锦带花栽培品种低温半致死温度的测定及其抗寒性分析

海小霞, 吕飞, 王志刚, 聂庆娟, 刘炳响

(河北农业大学 林学院, 河北省林木种质资源与森林保护重点实验室, 河北 保定 071001)

摘要:以锦带花属的红王子锦带、花叶锦带和四季锦带 3 个优良的锦带花栽培品种当年生枝条为试材,通过人工冰冻方法,测定了模拟低温 0(CK)、-10、-20、-30、-40℃条件下 3 个锦带花品种离体枝条的 K^+ 相对渗出率和相对电导率,同时利用 Logistic 方程拟合 K^+ 相对渗出率及相对电导率与人工模拟低温变化关系,推算出 3 个品种的低温半致死温度(LT_{50});并对 3 个品种离体枝条的自由水含量、束缚水含量以及二者比值的变化进行了比较。结果表明:在模拟低温条件下,3 个品种离体枝条的 K^+ 相对渗出率和相对电导率均随温度降低逐渐增大,且总体上与 CK 有显著差异;对 K^+ 相对渗出率和相对电导率与温度进行 Logistic 方程拟合推算出花叶锦带、红王子锦带、四季锦带的半致死温度分别为 -35.60、-32.21、-31.50℃和 -34.88、-31.14、-28.44℃;随着胁迫温度的降低,3 个品种的束缚水含量均高于自由水含量,其中束缚水和自由水的比值排序为花叶锦带>红王子锦带>四季锦带。综合比较,3 个锦带花品种抗寒性强弱顺序为花叶锦带>红王子锦带>四季锦带。

关键词:锦带花;相对电导率; K^+ 相对渗出率;自由水;束缚水;低温半致死温度(LT_{50})

中图分类号:S 687 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)07-0056-06

低温寒害是影响植物正常生长和分布的一个自然致灾因素,尤其是北方地区,冬季漫长而寒冷,许多植物

由于引种地温度太低,常常导致花芽、枝条受到低温冻害甚至死亡,不能安全越冬,给城市园林植物的选择造成了一定的地域障碍,盲目配植会造成严重的经济损失。因此,对园林植物进行抗寒性能筛选,找到园林植物的临界低温,可有效降低植物低温受害率。目前,对抗寒性研究常用的测定方法有全株冰冻处理测试法(WPFT)、电解质渗出率法(EL)、叶绿素荧光法(CF)、热分析法(TA)和电阻抗图谱法(EIS)等^[1-3]。其中,人工冷

第一作者简介:海小霞(1984-),女,山西怀仁人,硕士研究生,研究方向为城市林业。E-mail:moqi.hai@foxmail.com.

责任作者:王志刚(1956-),男,河北高阳人,博士,教授,博士生导师,研究方向为城市林业与森林保护。E-mail:wzhg@hebau.edu.cn.

收稿日期:2013-11-22

larger than that under full sunlight condition and trended to increase significantly with the increase of shading degree and presented the largest leaf area under three layers of shade nets (8% of light transmission rate). The leaf thickness under full sunlight conditions was very significantly thicker than that covered with two (17% of light transmission rate) and three layers of shade nets, but had no significantly difference with that covered with one layer of shade net (46% of light transmission rate). Chlorophyll content under shading conditions was significantly higher than that in full sunlight condition in which ratio of chlorophyll a/b was significantly higher than that covered with one layer of shade net and was very significantly higher than that with two layers of shade nets or with three layer covers. Photosynthetic rate under full sunlight condition was significantly higher than that with shading conditions. Under the shade conditions, photosynthetic rate and stomatal conductance was significantly reduced while intercellular CO_2 concentration increased significantly with increasing degree of shading. Taking the tested indicators and field observation into account, *C. hjelmqvistii* could be considered as a heliophile, and had shade-tolerance in a certain degree and could grow normally in 22.864 klx of light intensity and 46% of light transmission rate.

Key words: *Cotoneaster hjelmqvistii*; shading treatment; leaf area; photosynthetic characteristics; chlorophyll content

冻处理测定植物电解质渗出率法是利用植物受到逆境伤害时,细胞膜的功能会受到损害、结构遭到破坏,使其透性增大,细胞内各种水溶性物质、特别是 K^+ 等物质会以较高速率渗出,通过对相对电导率、 K^+ 相对渗出率等生理指标的测定,然后用 Logistic 曲线方程模拟出其与温度之间的函数关系,进而推导出植物的半致死温度^[4-8]。该方法具有可以测定植物不同组织,迅速获得试验结果,试验设备要求简单,提供客观、精确的数据等特点,被科研工作者广泛运用于对各种观赏、经济植物的抗寒性研究。缴丽莉等^[9]测定分析了山桐子、复叶槭、流苏、灯台树 4 种园林观赏植物的 K^+ 相对渗出率和相对电导率与植物萌芽率的相关系数,发现 K^+ 相对渗出率与萌芽率的相关性更高;冯献宾等^[2]对黄连木、栾树和黄山栾 3 种园林绿化植物叶片的超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性等生理指标及其相对电导率的测定,发现这 3 种植物中以栾树的抗寒性能最强。

锦带花(*Weigela florida* (Bunge) A. DC)属忍冬科锦带花属落叶灌木,观赏价值高,作为优良的园林绿化植物被广泛的引种、杂交育种,锦带花和它的优良杂交种已广泛的运用于城市景观规划设计中^[10-11]。至今关于锦带花的研究主要集中在栽培、繁殖以及耐旱、耐盐性方面^[11-13],对于锦带花及其栽培品种之间的抗寒性比较研究很少报道^[14-15],而对锦带花的优良观赏品种红王子锦带、花叶锦带、四季锦带的组织含水量及其电解质渗出率与抗寒性关系方面的研究尚鲜见报道。该试验旨在采用人工冰冻法处理 3 个锦带花的优良栽培品种当年生枝条,测定了 3 个不同的锦带花品种的 K^+ 相对渗出率、相对电导率、组织含水量,以期从生理生化指标的变化来比较优良锦带花品种间的抗寒性能以及了解各品种对低温胁迫的生理响应,为耐寒苗木的栽培选育

提供理论基础,同时为今后在北方城市园林绿化中选择适当的园林树种提供决策依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验材料采摘于河北省保定市河北农业大学西校区校园内和苗圃地(采样点如图 1 所示),地理坐标东经 $115^{\circ}26'36.28''$,北纬 $38^{\circ}49'18.62''$,海拔 17.2 m;位于太行山东麓,冀中平原西部;属暖温带亚湿润气候;年平均气温 12.7°C ,7 月平均气温 27°C ,1 月平均气温 -3°C ,极端温度 -13°C ;年均降雨量 500 mm 左右,平均相对湿度 60%,无霜期 165~210 d。

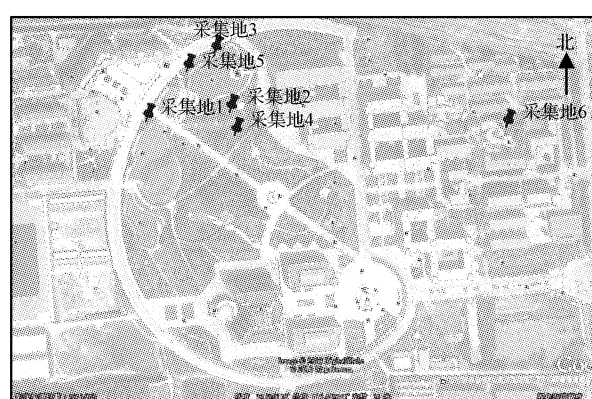


图 1 试验材料采集地示意图

Fig. 1 The diagram of the collection sites of experimental material

1.2 试验材料

供试材料为北方城市园林绿化应用广泛的露地生长的红王子锦带、花叶锦带和四季锦带 3 个锦带花栽培品种,采集当年生枝条备用(表 1)。

表 1

试验材料

Table 1

Test material

品种 Variety	形态特征 Morphological characteristics	来源 Source	园林应用 Landscape application
四季锦带 <i>Weigela florida</i> (Bunge) A. DC.	嫩枝淡红色,老枝灰褐色,花色白粉色	锦带花的优良变形	孤植于庭院草坪,丛植于住宅、公路旁,广泛用于园林色块栽培
红王子锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Red Prince	嫩枝淡红色(杭州地区为绿色),老枝灰褐色,花冠胭脂红	由美国引进的优良品种	适宜庭院墙隅、湖畔群植;可用花篱,丛植配植;点缀假山、坡地等
花叶锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Variegata	叶片绿色,叶缘为白色至黄色,花冠淡粉色	锦带花的优良芽变新类型	孤植、丛植于庭院、水景处搭配点缀,也可群植于林缘及草坪、花境

1.3 试验方法

1.3.1 人工冷冻处理 2012 年 11 月份植株落叶后气温在 0°C 时,在河北农业大学西校区的 6 个采样点,选择生长势基本一致的 2 a 植株 12 株,每株随机采集 6 个不同部位粗度相近的当年生枝条,剪成 20 cm 左右的长度,各品种分 5 组。用自来水冲洗数遍,再用蒸馏水冲洗

3~4 次,其中 1 组晾干后用保鲜膜包好置于冰箱($0\sim 4^{\circ}\text{C}$)中保存作为对照(CK)备用。另外 4 组用超低温冰柜进行冷冻处理;分别以每 1 h 降低 2.5°C 的速度降温到设定温度 -10 、 -20 、 -30 、 -40°C 后冷冻处理 24 h;低温处理结束后,将样品放置于 4°C 的冰箱内解冻 12 h 后取出,于室温($25\pm 1^{\circ}\text{C}$)下恢复 12 h 后进行生理指标测

定。每个处理枝条 5 段,3 次重复。

1.3.2 自由水含量和束缚水含量的测定 参考马林契克法^[16],用 2WA-J 阿贝折射仪测定糖及还原糖含量,换算成自由水含量、束缚水含量。自由水含量= $B \times (B_1 - B_2) / (B_2 \times W_f)$ 。式中, B 为加入样品中蔗糖溶液的重量; B_1 为原蔗糖溶液浓度百分数; B_2 为加样后糖溶液的浓度百分数; W_f 为植物样品鲜重。束缚水含量=组织水含量-自由水含量。

1.3.3 K^+ 相对渗出率的测定 将解冻后的样品去掉顶梢干枯部分,清洗擦干后截成 1 cm 小段,用去离子水冲洗 4~5 次,再用滤纸吸干水分,充分混匀后称取样品 5 g 置于 100 mL 刻度烧杯中,然后向烧杯中加入去离子水 30 mL,在 26℃ 保温箱中保温浸提 12 h 后,用原子吸收分光光度计测定 3 个锦带花品种样品的 K^+ 浓度(代表不同低温处理后的离体细胞电解质 K^+ 渗出值)。测定结束后将原样品浸提液放入沸水浴中煮沸 25 min,取出冷却 30 min,按上述相同条件再测定,以获得组织细胞全部破坏后浸提液的 K^+ 浓度(代表离体细胞电解质 K^+ 总量)^[17]。每个品种不同温度处理试验均 3 次重复。以 K^+ 相对渗出率评价原生质膜透性的大小^[18]。 K^+ 相对渗出率(%)=(低温处理后电解质 K^+ 浓度/煮沸后电解质 K^+ 浓度)×100%。

1.3.4 电导率的测定 将处理过的枝条剪成 0.5 cm 的小段,准确称取 0.5 g 于 50 mL 的小烧杯中,每个处理 3 次重复,加 20 mL 去离子水,用真空抽气机抽气 30 min,静置 2 h 之后,在室温(25±1)℃ 下采用电导法测定溶液电导率(代表低温处理后的电导率)。再将小烧杯用塑料膜封口于沸水浴锅中煮沸 30 min,取出冷却至室温后,再次测定溶液的电导率(以代表试材原生质膜全部破坏后的电导率)^[19]。相对电导率(%)=(低温处理后电导率/煮沸后电导率)×100%。

1.3.5 Logistic 回归模型建立及半致死温度计算 根据朱根海等^[20]、史清华等^[21]有关组织半致死温度的计算方法,对不同低温胁迫下测定的各品种 K^+ 相对渗出率

和相对电导率与模拟低温的关系进行 Logistic 回归分析^[22-23],计算 LT_{50} 并进行拟合度检验。

$$y = k / (1 + ae^{-bt}) \quad (1)$$

式中, y 为 K^+ 相对渗出率或相对电导率; t 为温度梯度; k 为常数,是极限相对电导率或 K^+ 相对渗出率,在该试验中为 100%; a 和 b 为待定参数。对(1)式求二阶、三阶导数,并令其为 0,得(2)式:

$$LT_{50} = (\ln a) / b \quad (2)$$

(2)式为 K^+ 相对渗出率或相对电导率随温度下降而增加最快时的温度,即半致死温度(LT_{50} ,或组织崩溃点)。

1.4 数据分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 21.0 统计分析软件进行处理分析,采用单因素方差分析(One-way ANOVA),并对各个测定数据用新复极差法进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下 3 个锦带花品种枝条的组织含水量和自由水含量、束缚水含量比较

从表 2 可以看出,3 个锦带花品种组织含水量以红王子锦带最高,为 47.31%;四季锦带次之,46.76%;花叶锦带最低,45.95%;方差分析发现 3 个品种之间的组织含水量具有显著性差异($P < 0.05$)。3 个品种的束缚水含量均明显高于自由水含量,红王子锦带最高,为 39.34%,花叶锦带次之,38.61%,四季锦带最低,为 38.25%;其中四季锦带和花叶锦带的自由水含量具显著性差异($P < 0.05$),红王子锦带与其它 2 个品种间差异不显著($P > 0.05$);而四季锦带和花叶锦带束缚水含量无显著性差异($P > 0.05$)、红王子锦带与四季锦带间差异显著($P < 0.05$)。花叶锦带与四季锦带的束缚水含量和自由水含量的比值呈显著性差异($P < 0.05$),红王子锦带与其它 2 个品种无显著性差异;其中花叶锦带的比值最高,达 5.27,红王子锦带次之,为 4.94,四季锦带最低,为 4.49。

表 2 低温胁迫下 3 个锦带花品种当年生枝条组织的自由水含量和束缚水含量比较

Table 2 Comparison of free water content and bound water content on the current twigs of three varieties of *Weigela florida* under low temperature

品种 Variety	组织含水量 Water content/%	自由水含量 Free water content/%	束缚水含量 Bound water content/%	束缚水/自由水 Free water/bound water
四季锦带 <i>Weigela florida</i> (Bunge) A. DC	46.76±0.08b	8.51±0.16a	38.25±0.16b	4.49±0.14b
红王子锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Red Prince	47.31±0.08a	7.97±0.18ab	39.34±0.18a	4.94±0.14ab
花叶锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Variegata	45.95±0.10c	7.33±0.17b	38.61±0.17ab	5.27±0.13a

注:数据测定为平均值±标准误,不同字母表示同列数据的检验结果显著($P < 0.05$)。下同。

Note: Data in same column represent mean±SE, different letters mean significant difference ($P < 0.05$). The same below.

2.2 低温胁迫下 3 个锦带花栽培品种离体枝条的 K^+ 相对渗出率比较

从表 3 可以看出,3 个锦带花栽培品种的 K^+ 相对

渗出率随处理温度的降低而明显上升,但上升幅度在不同温度下各品种有一定差异;显著性差异分析,除-10℃下花叶锦带外,其它各品种在不同低温处理下测

得的 K^+ 相对渗出率均与 CK 呈显著性差异 ($P < 0.05$)。在 -10°C 低温下, 花叶锦带的 K^+ 相对渗出率达到 20.27%, 而另外 2 个品种分别为 27.18%、28.18%。在 -30°C 低温下, 四季锦带的 K^+ 相对渗出率超过了 50%, 而花叶锦带和红王子锦带的 K^+ 相对渗出率在 47% 左右。在 -40°C 低温下花叶锦带的 K^+ 相对渗出率为

49.83%, 而其它 2 个品种均已接近 60%。对不同低温处理下所测定的离体枝条组织的 K^+ 相对渗出率进行显著性差异分析发现, 除红王子锦带外, 其它 2 个品种在 -30°C 与 -40°C 处理间, 均无显著性差异; 在 -20°C 与 -30°C 处理间, 花叶锦带无显著性差异; 3 个品种在 -10°C 与 -20°C 处理间, 均呈显著性差异。

表 3 低温胁迫下 3 个锦带花品种当年生枝条 K^+ 相对渗出率比较

Table 3 Comparison of K^+ relative leakage rate of the current twigs of three varieties of *Weigela florida* under low temperature

品种 Variety	K ⁺ 相对渗出率 Relative leakage of K ⁺ / %				
	0℃ (CK)	-10℃	-20℃	-30℃	-40℃
四季锦带 <i>Weigela florida</i> (Bunge) A. DC	15.34±0.019d	28.18±0.027c	35.27±0.022b	54.19±0.035a	57.94±0.016a
红王子锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Red Prince	14.78±0.016e	27.18±0.037d	39.92±0.022c	47.88±0.013b	56.24±0.021a
花叶锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Variegata	11.32±0.025d	20.27±0.018cd	40.28±0.036b	47.18±0.063ab	49.83±0.008a

注: 不同字母表示同行数据的检验结果显著 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Different letters in same row mean significant difference ($P < 0.05$). The same below.

2.3 低温胁迫下 3 个锦带花品种离体枝条组织的相对电导率比较

从表 4 可以看出, 随处理温度降低, 各品种相对电导率持续升高, 处理温度与电解质渗出率之间呈显著负相关, 但上升的幅度有所差异; 对各低温处理下测定的 3 个品种的相对电导率与 CK 进行差异显著性分析, 除 -10°C 红王子锦带和花叶锦带外, 均与 CK 呈显著性差异 ($P < 0.05$)。在 -10°C 低温下, 花叶锦带的相对电导率最低为 25.97%, 而另外 2 个品种分别为 33.35%、

31.63%。在 $-20 \sim -30^\circ\text{C}$ 低温下, 各品种枝条的相对电导率发生了较大变化, 在 -30°C 时, 四季锦带超过了 50%, 而花叶锦带和红王子锦带的相对电导率为 49.10%、46.26%。在 -40°C 低温下四季锦带的相对电导率为 60.14%, 而其它 2 个品种也均已超出 50%。对不同低温处理下所测定的离体枝条组织的相对电导率进行差异显著性分析, 3 个品种的相对电导率在不同低温处理之间均呈显著性差异。

表 4 低温胁迫下 3 个锦带花品种当年生枝条相对电导率比较

Table 4 Comparison of relative conductivity of the current twigs of three varieties of *Weigela florida* under low temperature

品种 Variety	相对电导率 Relative conductivity / %				
	0℃ (CK)	-10℃	-20℃	-30℃	-40℃
四季锦带 <i>Weigela florida</i> (Bunge) A. DC	21.75±0.78e	33.35±1.33d	39.65±0.64c	53.05±1.15b	60.14±0.62a
红王子锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Red Prince	25.56±0.64e	31.63±1.28de	40.61±1.55c	49.10±1.20b	57.91±1.23a
花叶锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Variegata	23.43±0.56d	25.97±0.47d	34.07±0.34c	46.26±1.27b	54.33±0.04a

2.4 低温胁迫下 3 个锦带花品种 Logistic 回归模型的建立及其半致死温度

从表 5 可以看出, 测定的 K^+ 渗出率值与处理温度进行 Logistic 回归, R^2 是方程拟合度的度量, 它的取值

在 (0, 1) 之间, 值越大, 说明方程的拟合度越好, 该试验中, 四季锦带、红王子锦带、花叶锦带 K^+ 相对渗出率值拟合方程的 R^2 值分别为 0.931、0.938、0.781, 相对电导率拟合方程的 R^2 分别为 0.974、0.986、0.986, 对拟合方

表 5 低温胁迫下 K^+ 相对渗出率和相对电导率的回归模型建立及其离体组织半致死温度测定

Table 5 Regression models of relative of K^+ leakage rate and conductivity and determination of the tissue's semi-lethal temperature of *Weigela florida* under the low temperature

品种 Variety	K ⁺ 相对渗出率回归模型				电导率回归模型			
	Regression model of relative leakage of K ⁺				Regression model of conductivity			
	回归模型	相关系数 R^2	P 值	离体组织半致死温度	回归模型	相关系数 R^2	P 值	离体组织半致死温度
	Regression model	Correlation coefficient	P value	LT ₅₀ of the tissue/℃	Regression model	Correlation coefficient	P value	LT ₅₀ of the tissue/℃
四季锦带 <i>Weigela florida</i> (Bunge) A. DC	$y=100/(1+e^{1.403+0.046t})$	0.931	0.000	-31.50	$y=100/(1+e^{1.109+0.039t})$	0.974	0.000	-28.44
红王子锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Red Prince	$y=100/(1+e^{1.323+0.041t})$	0.938	0.000	-32.21	$y=100/(1+e^{1.121+0.036t})$	0.986	0.000	-31.14
花叶锦带 <i>Weigela florida</i> cv. Variegata	$y=100/(1+e^{1.566+0.044t})$	0.781	0.000	-35.60	$y=100/(1+e^{1.465+0.042t})$	0.986	0.000	-34.88

程的相关系数进行 F 检验,均达到显著水平($P < 0.05$),说明方程的拟合度较好。对不同低温条件下测定的 3 个锦带花品种的 K^+ 相对渗出率和相对电导率进行 Logistic 方程拟合,并测算出离体组织的半致死温度 LT_{50} 。 K^+ 相对渗出率回归模型推算出花叶锦带的半致死温度 LT_{50} 为 -35.60°C ,红王子锦带 -32.21°C ,四季锦带 -31.50°C ;相对电导率回归模型测算出花叶锦带的半致死温度 LT_{50} 为 -34.88°C ,红王子锦带的为 -31.14°C ,四季锦带的为 -28.44°C ,2 种回归模型测算出的半致死温度非常相近,3 个品种的半致死温度排序相一致。结合表 4 可以看出,红王子锦带和花叶锦带的 LT_{50} 在 $-30 \sim -40^{\circ}\text{C}$ 之间,在此温度区间它们的相对电导率达到 50% 以上;四季锦带枝条的 LT_{50} 在 $-20 \sim -30^{\circ}\text{C}$ 之间,在 $-20 \sim -30^{\circ}\text{C}$ 之间其相对电导率达到 50% 以上。

3 结论与讨论

植物体内的水分以自由水和束缚水 2 种状态存在,自由水参与各种代谢过程;而束缚水不参与代谢,其作用主要在于稳定原生质的结构。一般认为自由水含量高,植物代谢活动旺盛;束缚水含量高,植物的抗逆性强^[24]。使用马林契克法分别测定 3 个不同品种的锦带花苗木组织的束缚水含量、自由水含量,以及二者的比值,结果发现,在低温处理下,3 个锦带花栽培品种的组织含水量为 46.50% 左右,均显著低于新鲜植物组织的组织含水量(70%~80%);测定发现 3 个品种的束缚水含量均较自由水含量高,大约是自由水含量的 4 倍以上,说明锦带花的这 3 个品种的抗逆性较强。但品种间差异仍较大,花叶锦带束缚水/自由水比值最高,束缚水多而自由水含量非常少。由于低温时植物细胞内少量的自由水渗透到细胞外,而不结冰束缚水起到了维持细胞质稳定的作用,从而使细胞内冰点降低,提高了植物的抗逆性^[25],这也说明了花叶锦带的抗寒性相对较强;红王子锦带也具有较高的束缚水含量,束缚水/自由水的比值仅次于花叶锦带,说明其也具有较强的抗寒能力,而四季锦带的自由水含量相对较高,束缚水/自由水的比值最小,说明 3 个品种中其抗寒能力最弱。

通过测定外渗液的电导值和钾离子浓度的变化,可反映出所测试材料的细胞膜损伤程度,进而判断植物抗寒性能的强弱^[7],是鉴定植物抗寒性较直观的方法,目前,已被广泛应用^[26]。该试验利用原子吸收分光光度法和电导法分别测定 3 个锦带花品种在 $-10 \sim -40^{\circ}\text{C}$ 不同低温处理下枝条离体组织的 K^+ 相对渗出率和相对电导率,结果表明,3 个锦带花品种离体枝条的 K^+ 相对渗出率和相对电导率总体变化趋势较一致,即随着温度的降低均明显增大,说明各品种随着低温胁迫的加剧,细胞膜受到伤害逐渐加重,细胞膜的透性增加,细胞内的各

种离子的外渗率提高^[5]。在 -10°C 低温下,各品种相对电导率值均在 30% 左右,红王子锦带、花叶锦带与 CK 差异不显著,可能是由于红王子锦带和花叶锦带细胞膜具有相似的自我调节功能,细胞膜透性小,电渗率变幅不大;而四季锦带与 CK 具有显著性差异($P < 0.05$),说明四季锦带的自我调节功能较其它 2 个品种弱,细胞膜透性较大。在 $-20 \sim -30^{\circ}\text{C}$ 低温下,各品种离体枝条的电渗率值发生了较大变化,在 -30°C 时,四季锦带超过了 50%,说明四季锦带细胞已严重冻伤,细胞膜丧失了选择机能,细胞内电解质大量外渗,枝条组织受到不可逆的伤害;而花叶锦带和红王子锦带的相对电导率为 49.10%、46.26%,受冻害相对较轻。在 -40°C 低温下花叶锦带的相对电导率为 60.14%,而其它 2 个品种也均已超出 50%,说明各品种均受到不可逆的低温冻害。朱根海等^[20]、郭卫东等^[27]认为用 Logistic 方程对电解质渗出率进行拟合,用拐点温度表示组织半致死温度,与真实情况较为接近,受浸泡时间影响很小,结果也较可信。该试验根据不同低温处理下测定的离体枝条的 K^+ 相对渗出率和相对电导率,用拟合 Logistic 方程模型求出半致死温度(LT_{50})分别为:花叶锦带的半致死温度最低,为 -35.60°C 和 -34.88°C ;四季锦带的半致死温度最高,为 -31.50°C 和 -28.44°C ;而红王子锦带处于二者之间,其半致死温度为 -32.21°C 和 -31.14°C 。该试验测定的红王子锦带半致死温度与王玲等^[13]测定结果 -32.08°C 基本相似,而 3 个品种的半致死温度均低于宝石锦带和贵妃锦带,其半致死温度分别为 -41.59°C 和 -39.60°C ,高于金亮锦带,其半致死温度分别为 -30.46°C 。结合 K^+ 相对渗出率与相对电导率测定结果分析可知,花叶锦带抗寒能力最强,红王子锦带次之,四季锦带最弱。

对上述测定结果进行综合分析,可以发现利用人工冰冻处理离体组织后用原子吸收分光光度法和电导法测得的原生质外渗率及马林契克法测定的自由水含量和束缚水含量对 3 个锦带花的不同优良栽培品种的抗寒性分析结果较一致,其抗寒能力由强到弱依次为花叶锦带>红王子锦带>四季锦带。这一分析结果为耐寒苗木的栽培选育提供理论基础,同时可为今后北方城市园林绿化中根据当地冬季温度选择锦带花品种提供决策依据。

参考文献

- [1] 刘大林.低温胁迫下番石榴叶片生理生化变化的探讨[J].林业科学,2003,39(专刊 1):38-41.
- [2] 冯献宾,董倩,李旭新,等.黄连木和黄山栎树的抗寒性[J].应用生态学报,2011,22(5):1141-1146.
- [3] 李俊才,刘成,王家珍,等.洋梨枝条的低温半致死温度[J].果树学报,2007,24(4):529-532.
- [4] 沈漫.常春藤质膜透性和内源激素与抗寒性关系初探[J].园艺学报,2005,32(1):141-144.

- [5] 王文举,张亚红,牛锦凤,等. 电导法测定鲜食葡萄的抗寒性[J]. 果树学报,2007,24(1):34-37.
- [6] 项延军,李新芝,王小德. 5种藤本植物的抗寒性研究初探[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2011,37(4):421-424.
- [7] 王永红,李纪元,田敏,等. 低温胁迫对山茶物种2个抗寒性生理指标的影响[J]. 林业科学研究,2006,19(1):121-124.
- [8] 刘慧英,朱祝军,吕国华,等. 低温胁迫下西瓜嫁接苗的生理变化与耐冷性关系的研究[J]. 中国农业科学,2003,36(11):1325-1329.
- [9] 缴丽莉,路丙社,白志英,等. 四种园林树木抗寒性的比较分析[J]. 园艺学报,2006,33(3):667-670.
- [10] 卓丽环,陈龙清. 园林树木学[M]. 北京:中国农业出版社,2003:335-336.
- [11] 马立华,郁永英,谭振平,等. 锦带花属2个新品种[J]. 植物研究,2010,30(5):629-631.
- [12] 任志彬,聂庆娟,王志刚,等. 盐胁迫对锦带花生长及光合特性的影响[J]. 北方园艺,2011(7):93-97.
- [13] 刘晓东,高春红,王玲. 两种锦带花品种对干旱胁迫的生理响应[J]. 东北林业大学学报,2012(9):22-24.
- [14] 闫永庆,石溪婵,胡小多,等. 低温对红王子锦带生理生化指标的影响[J]. 北方园艺,2008(5):172-175.
- [15] 王玲,王春雷,马喜娟,等. 锦带花新品种抗寒性[J]. 东北林业大学学报,2012(12):43-46.
- [16] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司,2000.
- [17] 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(3):49-55.
- [18] 邓令毅,王洪春. 葡萄的抗寒性与质膜透性[J]. 植物生理学通讯,1984(2):12-15.
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2006:134.
- [20] 朱根海,刘祖祺,朱培仁. 应用 Logistic 方程确定植物组织低温半致死温度研究[J]. 南京农业大学学报,1986(3):11-16.
- [21] 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.
- [22] Rajashekar C, Gusta L V, Burke M J. Membrane structural transition: probable relation to frost damage in hardy Heibaceous species[C]//In: Lysons J M, Graham D, Raison J K, eds. Low temperature stress in crop plants the role of membrane. New York: Academic Press, 1979: 255-274.
- [23] Repo T, Lappi J. Estimation of standard error of impedance-estimated frost resistance[J]. Scandinavian Journal of Forest Research, 1989, 4: 67-74.
- [24] 相昆,张美勇,徐颖,等. 不同核桃品种耐寒特性综合评价[J]. 应用生态学报,2011,22(9):2325-2330.
- [25] 周永学,樊军锋,龚月桦,等. 美国黄松的生长特性及抗寒性研究[J]. 林业科学研究,2007,20(4):500-505.
- [26] 周永学,樊军锋,龚月桦,等. 奥地利黑松的生长特性及抗寒性研究[J]. 北京林业大学学报,2007,29(6):53-57.
- [27] 郭卫东,张真真,蒋小韦,等. 低温胁迫下佛手半致死温度测定和抗寒性分析[J]. 园艺学报,2009,36(1):81-86.

Determination of Semilethal Temperature of Three Varieties of *Weigela florida* Under Low Temperature Stress and Evaluation on Their Cold Resistance

HAI Xiao-xia, LV Fei, WANG Zhi-gang, NIE Qing-juan, LIU Bing-xiang

(Key Lab of Genetic Resources of Forest and Forest Protection of Hebei Province, College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001)

Abstract: Taking the current twigs which of three varieties of *Weigela florida* (*Weigela florida* cv. Red Prince, *Weigela florida* cv. Variegata, *Weigela florida* (Bunge) A. DC) as materials, by artificial freezing method and atomic absorption spectrometer, the relative K^+ leakage and electric conductivity of dormant, the current twigs which of three varieties of *Weigela florida* were calculated with different low temperature 0 (CK), -10 , -20 , -30 , -40°C . Regression models were established between low temperature (T) and the relative K^+ leakage and electric conductivity to calculate the semilethal temperatures (LT_{50}); and measured the free and bound water and its ratio of the three different varieties of stem tissue. The results showed that the relative K^+ leakage and conductivity of dormant the current twigs gradually increased with the decreasing temperature under low temperature stress, it showed significant difference compared with the control ($P < 0.05$); the semi-lethal temperatures (LT_{50}) of three varieties of *Weigela florida* were calculated respectively by logistic equation regression analysis of the relative K^+ leakage and electric conductivity, which of *Weigela florida* cv Red Prince, *Weigela florida* cv. Variegata, *Weigela florida* (Bunge) A. DC were -35.60 , -32.21 , -31.50°C and -34.88 , -31.14 , -28.44°C . The bound water content of three varieties were higher than the free water under low temperature stress. The order of bound water/free water ratio was *Weigela florida* cv. Variegata $>$ *Weigela florida* cv. Red Prince $>$ *Weigela florida* (Bunge) A. DC. The comprehensive comparison results showed that the cold resistance of the three varieties was in the order of *Weigela florida* cv. Variegata $>$ *Weigela florida* cv. Red Prince $>$ *Weigela florida* (Bunge) A. DC.

Key words: *Weigela florida*; relative electric conductivity; relative K^+ leakage; free water; bound water; semilethal temperature (LT_{50})