

常绿杂交卫矛越冬期间叶片中非结构性碳水化合物含量变化

施 征, 任 军, 曾 立 雄, 肖 文 发

(中国林业科学研究院 森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林生态与环境重点实验室, 北京 100091)

摘 要:以 3 年生北海道黄杨、胶州卫矛及其杂交子代为试材, 研究了越冬期间 3 个黄杨品种叶片中可溶性糖(果糖、葡萄糖)含量、淀粉含量和可溶性蛋白质含量的变化过程。结果表明: 3 个黄杨品种可溶性糖含量的变化趋势均是降低-升高-降低, 淀粉含量与之相反。杂交黄杨及其母本北海道黄杨可溶性糖含量和淀粉含量高于胶东卫矛; 但在单糖含量中, 果糖含量高于葡萄糖含量, 这在杂交黄杨中表现更加明显。北海道黄杨的可溶性蛋白质含量显著高于其它 2 个品种。3 个黄杨品种抗寒生理机制并不完全相同; 杂交黄杨抗寒性优于父母本, 为以后的新品种推广提供理论依据。

关键词:北海道黄杨; 胶州卫矛; 杂交子代; 越冬; 可溶性糖; 淀粉; 可溶性蛋白质

中图分类号:S 792.119 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)18-0074-04

我国北方冬季气候干燥、寒冷, 常绿树种较少, 使得在道路和公园绿化中常绿园林树种稀缺。因此, 新选育和发现的优良耐寒越冬常绿树种并对其进行耐寒性评价, 对我国北方冬季园林绿化非常重要。杂交常绿卫矛是以北海道黄杨(*Euonymus japonicus* 'Zhuzi')为母本和胶东卫矛(*Euonymus kiautschovicus*)为父本杂交而得到的。该杂交品种与其母本北海道黄杨相比, 其突出的特点是具有更强耐寒性, 能够在北京越冬期间保持常绿。因此, 认为该杂交种在北京地区园林绿化中具有广阔的市场前景。现以北海道黄杨、胶州卫矛及其杂交子代为试材, 研究了越冬期间叶片中可溶性糖含量、淀粉含量和可溶性蛋白质含量的变化过程, 探讨 3 个黄杨品种的抗寒生理机制, 并从生理学角度证明杂交黄杨抗寒性是否优于其父母本, 以期为以后新品种的推广提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于北京市昌平区沙河镇, 地处东经 116°17'、北纬 40°08', 海拔 43 m, 属于典型大陆性气候区。冬季最

低温度一般在 -20℃ 左右, 出现在 1 月份或者 2 月份, 昼夜温差 10℃ 左右, 多风。

1.2 试验材料

选取 3 年生的北海道黄杨(*Euonymus japonicus* 'Zhuzi'), 胶州卫矛(*Euonymus kiautschovicus*)及其杂交二代作为试验材料, 均由王木林先生提供。

1.3 试验方法

试验于 2011 年 12 月至 2012 年 4 月进行, 每月采集样品。选取健壮的植株, 取当年生枝叶, 剪成 5 cm 左右, 装入密封袋中, 用冰盒带回实验室。

1.4 项目测定

可溶性糖提取参照于建国等^[1]的《现代使用仪器分析方法》, 略有改动; 淀粉提取参照刘福岭等^[2]的《食品物理化学分析方法》, 略有改动。采用液相色谱法(Water HPLC)、Waters 244 型高效液相色谱仪(美国)测定可溶性糖含量和淀粉含量。色谱条件(色谱柱: sugar-pak 1 (美国); 流动相: 水; 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 70℃; 检测器: 视差检测器)。可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝法^[3]测定。

1.5 数据分析

数据分析在 SPSS 13.0 和 Excel 2007 统计软件下完成, 采用多因素方差分析, 并用 LSD 法对各参数平均数进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 Two-way ANOVA 分析

通过表 1 Two-way ANOV 分析结果表明, 在整个

第一作者简介:施征(1976-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为植物生理生态。E-mail: sz481@126.com.

责任作者:肖文发(1964-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为森林生态。E-mail: xiaowenf@caf.ac.cn.

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(CAFYBB2011005-7)。

收稿日期:2014-05-27

冬季低温过程中,低温持续时间对黄杨叶片中葡萄糖、果糖、可溶性总糖、淀粉及可溶性蛋白质含量均有显著影响($P<0.05$);杂交黄杨子代与其父母本之间在以上

几个指标上也有显著差异($P<0.05$);时间及品种的交互作用对杂交黄杨子代及其父母本叶片中的可溶性糖、淀粉及可溶性蛋白质含量影响显著($P<0.05$)。

表 1

生理指标的双因素方差分析

Table 1

Two-way ANOVA analysis of physiological indicators

	df	葡萄糖含量 Content of glucose		果糖含量 Content of fructose		可溶性总糖含量 Content of soluble sugar		淀粉含量 Content of starch		可溶性蛋白质含量 Content of soluble protein	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
时间 Time	4	4 470	<0.05	255.41	<0.05	442.15	<0.05	3 110	<0.05	6.499	<0.05
品种 Variety	2	3 294	<0.05	60.82	<0.05	141.54	<0.05	1 151	<0.05	57.865	<0.05
时间×品种 Time×Variety	8	390.899	<0.05	11.756	<0.05	25.733	<0.05	4 227	<0.05	3.884	<0.05

2.2 黄杨不同品种对低温持续时间的响应

2.2.1 杂交黄杨及父母本越冬期间非结构性碳水化合物含量比较 从图 1 可以看出,杂交黄杨叶片中葡萄糖含量随着低温时间的延长呈降低-升高-降低的变化趋势,最低值出现在 1 月份。方差分析结果表明除 2 月份和 3 月份葡萄糖含量没有显著差异外,其它各月份杂交黄杨叶片中葡萄糖含量均呈显著差异($P<0.05$)。北海道黄杨叶片中葡萄糖含量最低值出现在 1 月份 1.22%,最高值出现在 4 月份 2.66%,除 2、3 月份葡萄糖含量差异不显著外,其它各月份均呈显著差异($P<0.05$)。胶州卫矛叶片中葡萄糖含量随低温时间的延长先降低,在 2 月份出现最低值 0.65%,而后随时间延长葡萄糖含量又呈上升趋势,1 月份和 3 月份葡萄糖含量差异不显著,其它各月份含量均呈显著差异($P<0.05$)。品种间比较发现,在越冬过程中,北海道黄杨叶片中葡萄糖含量除 1、3 月份外,均高于其它 2 个品种。从图 1 还可以看出,杂交黄杨叶片中果糖含量在越冬过程中呈下降-升高-下降的变化趋势,最高值 5.09% 出现在 12 月份,而最低值 1.82% 在 4 月份出现,12、2、3 月份之间果糖含量差异不

显著,而它们与其它 2 个月的果糖含量均呈显著差异($P<0.05$)。北海道黄杨叶片中果糖含量变化趋势与杂交黄杨相同,最高值 4.74% 出现在 12 月份,而最低值 1.27% 在 1 月份出现,各月份方差分析表明,2、3 月份果糖含量差异不显著,与其它几个月份差异显著($P<0.05$)。胶州卫矛果糖含量与北海道黄杨变化趋势相同,且最高值 4.69% 在 12 月份,最低值 1.27% 在 1 月份出现,各月份果糖含量方差分析表明,2、3 月份果糖含量差异不显著,与其它各月份差异显著($P<0.05$)。从图 1 可以看出,杂交黄杨可溶性总糖在越冬过程中 12 月份出现最高值 7.36%,最低值出现在 1 月份,通过方差分析表明,12 月份的可溶性糖含量与其它各月份含量均有显著性差异($P<0.05$),2 月份和 3 月份可溶性总糖含量无显著性差异,1 月份和 4 月份无显著差异。北海道黄杨可溶性总糖含量在越冬过程中呈下降-上升-下降-上升的变化趋势,方差分析表明,12 月份可溶性总糖含量的最高值 7.35% 和 1 月份出现的最低值 3.11% 均与其它各月份有显著性差异($P<0.05$),而 2、3、4 月份的可溶性总糖含量间没有显著性差异。胶州卫矛可溶性总糖

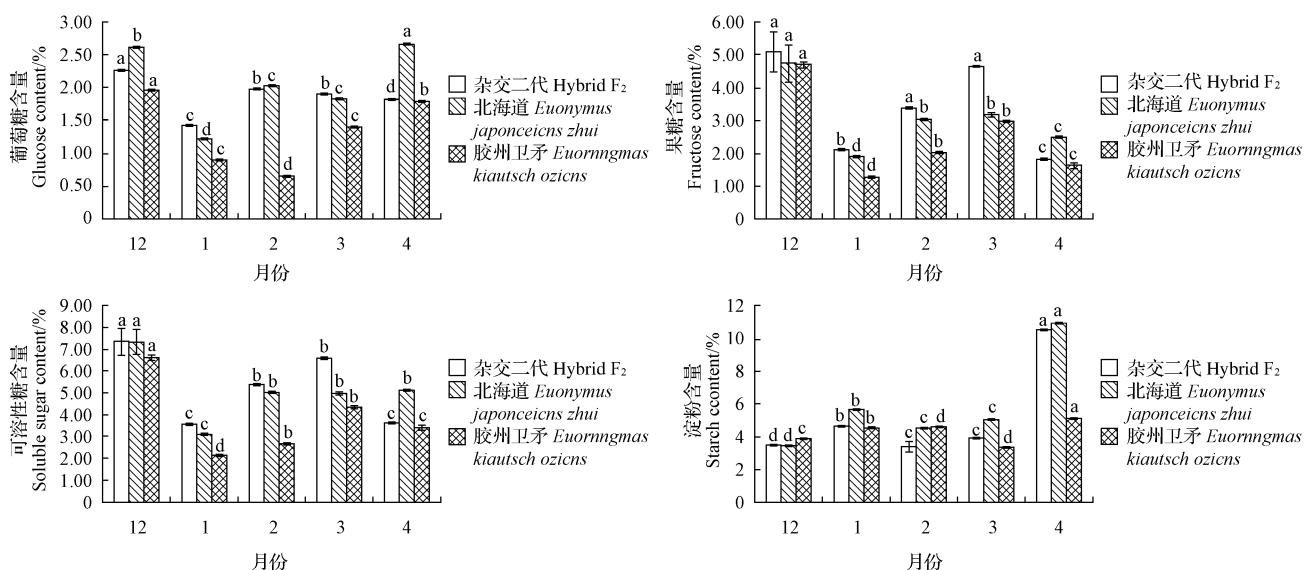


图 1 越冬期间非结构性碳水化合物含量变化

Fig. 1 The change of non-structural carbohydrates content during the winter

含量呈降低-升高-降低的变化趋势,最高值仍然在 12 月份出现,最低值在 1 月份,方差分析表明,2、3 月份可溶性总糖含量无明显差异,而与其它各月份之间差异显著($P < 0.05$)。由图 1 可知,杂交黄杨淀粉含量随低温时间的延长呈升高降低再升高的变换趋势,4 月份淀粉含量显著高于其它月份。北海道黄杨淀粉含量变化趋势为升高-降低-升高,同样 4 月份淀粉含量显著高于其它月份。胶州卫矛淀粉含量同样北海道黄杨变化趋势相同,最高值同样在 4 月份出现,其与其它月份差异显著。但是 3 个品种 4 月份的淀粉含量比较发现,杂交黄杨和

北海道黄杨叶片中的淀粉含量明显高于胶州卫矛。

2.2.2 越冬期间单糖含量变化 从图 2 葡萄糖、果糖和可溶性总糖含量在越冬期间的变化可以看出,3 个黄杨品种中果糖含量,在整个越冬过程中一直高于葡萄糖含量。杂交黄杨果糖和可溶性糖含量的变化趋势一致,最低值在 1 月份,最高值在 3 月份。北海道黄杨和胶州卫矛果糖和可溶性糖含量的变化与杂交黄杨相同。在越冬过程中,葡萄糖含量虽温度变化,其变化幅度不剧烈,而果糖则变化幅度较大。所以,在 3 个黄杨品种可溶性总糖的变化中,单糖中果糖含量起着主导作用。

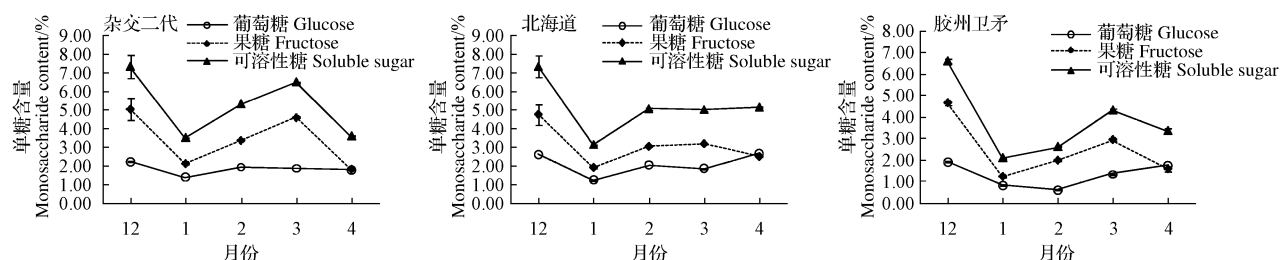


图 2 越冬期间单糖含量变化

Fig. 2 The change of monosaccharide content during the winter

2.2.3 越冬期间可溶性蛋白质含量变化 从图 3 越冬期间叶片中可溶性蛋白质含量的变化可以看出,杂交黄杨和胶州卫矛叶片中可溶性蛋白质含量在整个越冬过程中各月份之间没有显著差异($P > 0.05$)。北海道黄杨叶片中可溶性蛋白质含量呈升高再降低的变化趋势,最高值在 2 月份出现,最低值在 4 月份出现,但是方差分析表明,只有 4 月份的可溶性蛋白质含量与其它各月份之间差异显著($P < 0.05$),其它几个月份之间无显著差异($P > 0.05$)。且除 4 月份外,北海道黄杨叶片中的可溶性蛋白质含量高于其它 2 个品种。

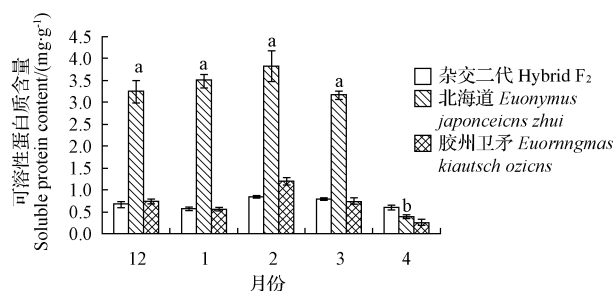


图 3 越冬期间可溶性蛋白质含量变化

Fig. 3 The change of soluble protein content during the winter

3 结论与讨论

植物在秋季抗寒锻炼中积累可溶性物质,春季解除锻炼时降低,这是一个比较普遍的现象。植物在抗寒锻炼中大量积累糖类物质,增加了细胞的保水能力和组织中的非结冰水,进而提高了避冰冻脱水的能力。如此高的糖积累,一方面固然可能来自光合作用的积累大于消耗,因为在冷锻炼温度下光合作用继续超过呼吸作用,

而植物的生长速度减慢,使得光合产物得以积累,但这种情况应该是在夏末秋初当温度的降低还不足以严重抑制光合作用强度的阶段。细胞中积累的糖主要由淀粉降解而来,因此叶绿体中淀粉粒的储存和消耗对于提高抗冻力使植物安全度过寒冬应该是具有积极的生理作用^[4]。

通过双因子 ANOVA 分析结果表明,低温持续时间、不同品种均对叶片中葡萄糖、果糖、可溶性总糖、淀粉和蛋白质含量呈显著性影响,说明不同黄杨品种对低温的反应方式不同。

北海道黄杨、胶州卫矛及其杂交黄杨葡萄糖、果糖及可溶性糖含量在秋季低温锻炼过后(12 月份)增加,而 1 月份含量均显著下降。1 月份是北京地区冬天气温最低的月份,一方面黄杨的呼吸作用对糖消耗增大,另一方面植物需要更多的可溶性糖类物质来增加细胞液的浓度,避免细胞结冰。2 月份气温上升可溶性糖含量均不同程度升高,而 3、4 月份可溶性糖含量上升明显,因为此时黄杨开始萌芽,新叶长出,光合作用趋于正常,糖类物质开始积累。从淀粉含量的变化也可以看出,1 月份 3 个品种淀粉含量最低,以后几个月其含量逐渐升高,尤其 4 月份杂交黄杨及北海道黄杨淀粉含量显著升高,4 月份植物开始萌动,光合作用产生的碳水化合物大于供给植物生长发育对碳水化合物的需求,以淀粉的形式积累下来,所以造成了淀粉含量的增加。这与北京地区地被菊、北海道黄杨等越冬植物的研究结果一致^[5-6]。

糖是植物生长发育和基因表达的重要调节因子,它不仅是能量来源和结构物质,而且在信号传导中具有类

似激素的初级信使作用^[8]。植物中的可溶性糖主要有蔗糖、葡萄糖和果糖。以己糖激酶 HXK1 为受体的葡萄糖信号途径已有较多的研究,而蔗糖信号的存在也已得到证实。已有研究发现果糖信号传导的途径^[7]。

研究发现,糖作为信号分子作用的发挥往往需要较高的浓度,而非传统植物激素在极低浓度下起调控作用^[9]。该研究中发现,可溶性单糖含量变化中,果糖含量明显高于葡萄糖。每个品种在越冬过程中单糖含量的变化也不相同,杂交二代果糖含量高于其它 2 个品种。葡萄糖含量北海道黄杨在 12 月份和 4 月份高于其它 2 个品种,但在 1~3 月份杂交二代葡萄糖含量与北海道黄杨差别不大。所以,如果单糖在抗寒过程中有信号传导的作用,果糖在 3 个黄杨品种越冬过程中很可能发挥着重要作用,此方面还有待于深入研究。

植物体内可溶性蛋白质含量与其抗寒性有关,遭受低温胁迫的植物,体内可溶性蛋白质含量会有所增加,以此对植物抗寒起调节作用^[10]。可溶性蛋白质的亲水胶体性质强,含量增加可显著加强细胞的保水能力。可溶性蛋白质中一部分是功能蛋白质,在抗寒锻炼中各藤本植物的可溶性蛋白质含量增加可能是因为合成了对低温更稳定、活性更强的同工酶,以保证其在抗寒锻炼中各类物质代谢的进行,为抗寒性的发展打下基础;或者可能是因为合成了某些特异性蛋白质如冷驯化蛋白(CAIP)对其遭遇冷害时维持膜的稳定有作用^[11]。该研究中,越冬期间北海道黄杨可溶性蛋白质含量显著高于其它 2 个品种,4 月份气温上升 3 个黄杨品种的可溶性蛋白质含量降低,尤其是北海道黄杨下降最明显,可见,可溶性蛋白质在北海道黄杨及其它 2 个品种越冬过程

中起到了非常重要的作用。提高了黄杨叶片的细胞液渗透势,避免结冰,保证越冬过程中黄杨叶片维持绿色。

总之,植物越冬抵御低温的是一个复杂的过程,3 个黄杨品种的冬季抗寒机理有所不同。从以上几个抗寒指标的研究中可以看出,杂交黄杨的抗寒性不低于其父母本,能够安全越冬。为杂交品中的推广提供理论依据。

参考文献

- [1] 于建国,王文芝. 现代实用仪器分析方法[M]. 北京:中国林业出版社,1994.
- [2] 刘福岭,戴行钧. 食品物理化学分析方法[M]. 北京:中国林业出版社,1987.
- [3] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2006.
- [4] 董丽,路艳红,黄亦工,等. 常绿阔叶植物越冬期间叶片水分及淀粉粒的动态变化[J]. 北京林业大学学报,2002,24(5/6):76-80.
- [5] 白永霞,沈漫,刘婷,等. 地被菊露地越冬期间的抗旱性研究[J]. 北京农学院学报,2013,28(3):19-23.
- [6] 马妮,孙振元,刘庆华,等. 北海道黄杨叶片解剖结构的季节变化[J]. 北京林业大学学报,2011,33(6):112-118.
- [7] Li P, Wind J J, Shi X L, et al. Fructose sensitivity is suppressed in *Arabidopsis* by the transcription factor ANAC089 lacking the membrane-bound domain[J]. PNAS, 2012, 1(7):1-6.
- [8] Rolland F, Joris W, Johan T M. Glucose-sensing mechanisms in eukaryotic cells[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2011, 26(5):310-317.
- [9] 王玉华,杨清,陈敏. 植物糖感知和糖信号传导[J]. 植物学通报, 2004, 21(3):273-279.
- [10] 回彦哲,袁小亚,任士福,等. 连翘和美国金钟连翘的抗寒性分析[J]. 河北农业大学学报, 2013, 36(2):36-39.
- [11] 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.

Changes in Non-structure Carbohydrate in Leaves of *Euonymus* Evergreen Hybrid During Winter

SHI Zheng, REN Jun, ZENG Li-xiong, XIAO Wen-fa

(Key Laboratory of Forest Ecology and Environment of State Forestry Administration, Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091)

Abstract: Taking three-year-old *Euonymus japonicus* 'Zhuzi', *Euonymus kiautschovicus* and the hybrid seedlings as materials, the changing of contents of soluble sugar, starch and protein during the winter were studied. The results showed that during the winter, the contents of soluble sugar decreased firstly, then increased, and decreased lastly, starch in contrast. The content of soluble sugar and starch in hybrid and *Euonymus japonicus* 'Zhuzi' was higher than *Euonymus kiautschovicus*'s, and the protein in *Euonymus japonicus* 'Zhuzi' was significantly higher than the other two species. The content of fructose was higher than glucose, and was more distinguished in hybrid. The three species had different mechanisms of cold. The hybrid had a stronger cold hardiness than its parents.

Keywords: *Euonymus japonicus* 'Zhuzi'; *Euonymus kiautschovicus*; hybrid; cold stress; soluble sugar; starch; soluble protein