

‘中山含笑’与台湾含笑母树及其 无明显表型变异子代的抗寒性分析

邱 健^{1,2}, 殷云龙^{2,①}, 王芝权², 施 钦², 陈婷婷², 华建峰², 汪贵斌^{1,①}

[1. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037;

2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园) 江苏省植物资源研究与利用重点实验室, 江苏 南京 210014]

摘要: 通过比较自然越冬下‘中山含笑’(*Michelia* ‘*Zhongshanhanxiao*’)与台湾含笑[*Michelia compressa* (Maxim.) Sarg.]母树及其无明显表型变异子代的冻害表现、生理指标变化和叶片解剖结构特征,对3种供试植物的抗寒性进行了综合评价。结果显示:自然越冬期间(2021年12月1日至2022年2月25日)3种供试植物均出现了一定程度的冻害,其中,台湾含笑无明显表型变异子代受冻程度最重,台湾含笑母树次之,‘中山含笑’受冻程度最轻。自然越冬期间,随着时间的推移3种供试植物叶片的可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、脯氨酸含量、超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量总体呈先升高后降低的变化趋势,其中,‘中山含笑’叶片可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、脯氨酸含量及超氧化物歧化酶活性的峰值均最高,台湾含笑无明显表型变异子代叶片丙二醛含量的峰值最高。3种供试植物间的9个叶片解剖结构指标均存在显著差异,其中,‘中山含笑’叶片的细胞结构紧密度和栅栏组织厚度均显著大于台湾含笑母树及其无明显表型变异子代;9个叶片解剖结构指标通过聚类分析可分为3类;通过相关性分析和相关指数计算选出细胞结构紧密度、栅栏组织厚度和叶片厚度作为3个典型指标。隶属函数分析结果显示:在基于5个生理指标和3个叶片典型解剖结构指标的综合评价中,‘中山含笑’的平均隶属函数值均最大,台湾含笑无明显表型变异子代均最小。综合分析认为,‘中山含笑’的抗寒性最强,台湾含笑母树次之,台湾含笑无明显表型变异子代最弱。

关键词: ‘中山含笑’; 台湾含笑; 无明显表型变异子代; 抗寒性; 生理指标; 解剖结构

中图分类号: Q949.747.1; Q945.79; S685.99 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2023)01-0029-10

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2023.01.04

Analysis on cold resistance of *Michelia* ‘*Zhongshanhanxiao*’ and mother tree of *M. compressa* and its progeny without obvious phenotypic variation QIU Jian^{1,2}, YIN Yunlong^{2,①}, WANG Zhiqian², SHI Qin², CHEN Tingting², HUA Jianfeng², WANG Guibin^{1,①} [1. Southern Modern Forestry Collaborative Innovation Center, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2023, 32(1): 29-38

Abstract: By comparing the manifestation of freezing damage, changes of physiological indexes, and leaf anatomical structure characteristics of *Michelia* ‘*Zhongshanhanxiao*’ and mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg. and its progeny without obvious phenotypic variation under natural overwintering condition, the cold resistance of three test plants were comprehensively evaluated. The results show that during the natural overwintering period (from December 1, 2021 to February 25, 2022), three test

收稿日期: 2022-07-27

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金资助项目[CX(21)3044]

作者简介: 邱 健(1998—),男,江西宜春人,硕士研究生,主要从事植物资源与生态环境方面的研究。

①通信作者 E-mail: yiny1066@sina.com; gbwang@njfu.edu.cn

引用格式: 邱 健, 殷云龙, 王芝权, 等. ‘中山含笑’与台湾含笑母树及其无明显表型变异子代的抗寒性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2023, 32(1): 29-38.

plants all have a certain degree of freezing damage, in which, the freezing damage degree of the progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa* is the highest, followed by the mother tree of *M. Compressa*, and that of *M. 'Zhongshanhanxiao'* is the lowest. During the natural overwintering period, soluble sugar content, soluble protein content, proline content, superoxide dismutase activity, and malondialdehyde content in leaves of three test plants generally show a tendency to first increase and then decrease over time, in which, the peak values of soluble sugar content, soluble protein content, proline content, and superoxide dismutase activity in leaves of *M. 'Zhongshanhanxiao'* are the highest, while that of malondialdehyde content in leaves of the progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa* is the highest. There are significant differences in nine anatomical structure indexes of leaves among three test plants, in which, the cell tense ratio and palisade parenchyma thickness of leaves of *M. 'Zhongshanhanxiao'* are significantly greater than those of the mother tree of *M. compressa* and its progeny without obvious phenotypic variation; the nine anatomical structure indexes of leaves can be divided into three categories by using cluster analysis; cell tense ratio, palisade parenchyma thickness, and leaf thickness can be selected as three typical indexes by using correlation analysis and correlation index calculation. The subordinate function analysis result shows that in the comprehensive evaluation based on five physiological indexes and three typical leaf anatomical structure indexes, the averages of subordinate function values of *M. 'Zhongshanhanxiao'* are the largest, while those of the progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa* are the smallest. The comprehensive analysis shows that the cold resistance of *M. 'Zhongshanhanxiao'* is the strongest, followed by the mother tree of *M. compressa*, and that of progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa* is the weakest.

Key words: *Michelia 'Zhongshanhanxiao'*; *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; progeny without obvious phenotypic variation; cold resistance; physiological index; anatomical structure

含笑属 (*Michelia* Linn.) 植物为木兰科 (Magnoliaceae) 常绿灌木或乔木, 该属植物形态优美, 花色多彩艳丽, 表型遗传多样性丰富, 是中国极具开发潜力的观赏植物, 也是北亚热带地区普遍引种的园林绿化植物^[1-2]。20 世纪 80 年代初, 江苏省中国科学院植物研究所 (南京中山植物园) 对台湾含笑 [*M. compressa* (Maxim.) Sarg.] 进行引种并获得了成功^[3]。在含笑属植物引种过程中, 低温是影响其生长和地理分布的重要非生物胁迫之一, 低温胁迫对植物会造成一系列生理和生化反应, 包括组织含水量降低、脯氨酸和可溶性糖等物质的积累以及激素调节^[4]。近年来, 国内学者对台湾含笑抗寒性开展了较多研究, 陈辉等^[5]研究了 4 种常绿阔叶树种对低温变化的生理响应, 揭示了台湾含笑等植物抗寒性与可溶性糖含量等生理指标间的内在联系。亓白岩等^[6-7]通过对 8 种含笑属植物越冬形态观察、叶片生理指标检测以及解剖结构特征分析, 评价了台湾含笑与含笑属其他植物间的抗寒性强弱, 发现抗寒性越强的树种, 其越冬期间部分生理指标的变幅越大, 解剖结构指标间比值也越大。王伟伟等^[8]通过计算植株半致死温度以及观察叶片解剖结构发现, 台湾含笑叶片半致死温度最低, 同时叶片厚度和角质层厚度均较厚, 因而抗寒性最强。

‘中山含笑’ (*Michelia 'Zhongshanhanxiao'*) 是在台湾含笑自然授粉后代的育苗过程中发现的具有明显表型变异的子代, 具有生长迅速、枝叶茂密、花大量多、叶大增厚等优良特性, 其观赏利用价值明显优于无明显表型变异子代^[9], 但目前对‘中山含笑’的抗寒性并不清楚。在低温环境下, 植物叶片形态结构和生理指标变化反映了植物对逆境的适应性及自我调节能力^[10-11]。依据越冬率区分植物抗寒类型是常用且相对稳定的方法, 但对于同一植物不同变种间存在的细微差异难以准确区分, 因此需要结合植物的形态、生理和解剖结构等指标。Meng 等^[12]在对樟子松 (*Pinus sylvestris* var. *mongolica* Litv.) 及其自然变种彰武赤松 (*Pinus densiflora* var. *zhangwuensis* S. J. Zhang, C. X. Li et X. Y. Yuan) 的研究中发现, 渗透调节物质、酶活性和丙二醛等生理指标与抗寒性存在密切的相关性, 且叶片气孔密度较小的品种抗寒性更强。

鉴于此, 本研究采用越冬观察法, 通过测定植物叶片的可溶性糖和可溶性蛋白质含量等生理指标, 并使用显微镜观察叶片解剖结构, 对‘中山含笑’与台湾含笑母树及其无明显表型变异子代的抗寒性进行比较, 以期确定‘中山含笑’适宜栽培区, 为丰富江苏常绿阔叶树种资源以及推进城市园林建设奠定基础, 并为选育抗寒性强的含笑属树种提供科学依据。

1 研究区概况和研究方法

1.1 研究区概况

研究区位于江苏省南京市江宁区禄口街道苗圃地(东经 118°52'24"、北纬 31°41'06"),气候类型以亚热带季风气候为主,年均温 17.6 °C,极端最高温 37 °C,极端最低温-7 °C,年降水量 1 200 mm,无霜期 240 d。土壤类型为黄棕壤,质地为沙壤土,酸碱度为 pH 4.5~pH 5.5,有机质含量 12.52 g·kg⁻¹,全氮含量

0.82 g·kg⁻¹,全磷含量 0.94 g·kg⁻¹,全钾含量 28.5 g·kg⁻¹。3 种供试植物分别为 20 年生的台湾含笑母树、6 年生的台湾含笑无明显表型变异子代和 6 年生的‘中山含笑’,基本生长信息见表 1。使用布鲁莱斯测高器(精度 0.1 m)测量株高;使用卷尺(精度 1 mm)测量地径和胸径;使用量杆(精度 1 cm)测量冠层东西向和南北向的投影直径,2 个投影直径平均值即为冠幅。试验期间每种植物采用同样的田间管理方式(定期灌溉除草等),以保证各植物间生长条件基本一致。

表 1 3 种供试植物基本生长信息($\bar{X}\pm SD$)
Table 1 Basic growth information of three test plants ($\bar{X}\pm SD$)

植物 ¹⁾ Plant ¹⁾	株高/cm Height	地径/cm Ground diameter	胸径/cm Diameter at breast height	冠幅/cm Crown diameter	株距/cm Plant spacing	行距/cm Row spacing
Z	600±50	15.4±2.6	13.3±2.4	472±66	50	50
M	670±60	20.8±4.3	16.9±4.1	454±57	200	200
N	400±40	7.5±1.2	6.8±1.6	215±45	50	50

¹⁾Z: ‘中山含笑’ *Michelia* ‘Zhongshanhanxiao’; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N: 台湾含笑无明显表型变异子代 Progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa*.

1.2 研究方法

1.2.1 越冬适应性观察 试验时间为 2021 年 12 月 1 日至 2022 年 2 月 25 日,其中,12 月最低温度-5 °C、最高温度 17 °C、平均温度 6.7 °C;翌年 1 月最低温度-3 °C、最高温度 13 °C、平均温度 4.7 °C;2 月最低温度-4 °C、最高温度 22 °C、平均温度 4.5 °C,2 月 10 日后温度回升。试验参考李瑞雪等^[13]的方法对 3 种供试植物进行越冬观察记录,依据叶面冻害情况分为 4 个等级:0 级,无冻害;1 级,少于 10% 的叶片(受冻叶面积小于 25%)受冻,叶面出现少量细小褐斑或形成团状褐斑;2 级,10%~50% 叶片(受冻叶面积小于 50%)受冻,叶面色泽加深,有大面积褐斑产生或褐斑数量增多,叶缘卷曲泛黄,个别叶片呈腐烂状;3 级,大于 50% 叶片(受冻叶面积大于 50%)受冻,叶片呈深褐色,出现大面积腐烂、汁液外渗和落叶的现象。在试验地内从各供试植物中随机选出 10 株长势良好、无病虫害的植株,对其冠层北侧中上部的当年生枝条中部的典型越冬成熟叶片进行观察并记录叶面冻害情况,每株观察 100 枚叶片。

1.2.2 生理指标测定 2021 年 12 月至 2022 年 2 月,随机从各供试植物冠层北侧中上部当年生枝条中部采摘无病虫害的第 3 至第 5 枚成熟且完整的叶片,每次取 3 个重复样品,每半个月左右采集 1 次,共采集

6 次。叶片采集后迅速用湿纱布包裹,装入密封塑料袋后带回实验室,依次用自来水和去离子水仔细清洗并用滤纸吸干表面水分,称量后放入液氮中速冻,置于-80 °C 冰箱中保存,用于生理指标测定。采用蒽酮比色法^{[14]195}测定可溶性糖含量;采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^{[14]184}测定可溶性蛋白质含量;采用酸性茚三酮显色法^{[14]250}测定脯氨酸含量;采用氮蓝四唑法^{[14]167}测定超氧化物歧化酶(SOD)活性;采用硫代巴比妥酸法^[14]测定丙二醛(MDA)含量。生理指标数据取 3 次测定结果的平均值。

1.2.3 叶片解剖结构观测 2022 年 2 月中旬从各供试植物冠层北侧中上部当年生枝条中部采摘无病虫害的第 3 至第 5 枚成熟且完整的叶片,每种供试植物取 6 枚叶片。从叶片中脉两侧切取面积 1 cm×1 cm 的小块,用 FAA 固定液进行固定,24 h 后按常规石蜡切片法^[15]制成永久切片,在 Olympus BX41 光学显微镜(日本 Olympus 公司)下观察和拍照。每种供试植物取 6 个切片,每个切片选取 3 个视野观测,并使用 Digimizer 4.5.1 软件测定叶片解剖结构指标,包括角质层厚度、上表皮厚度、下表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度和叶片厚度,并计算栅海比(栅栏组织厚度/海绵组织厚度)、细胞结构紧密度(栅栏组织厚度/叶片厚度)、细胞结构疏松度(海绵组织厚度/叶

片厚度)。叶片解剖结构数据取 18 个观测视野的平均值。

1.3 数据处理和分析

使用 EXCEL 2016 软件对数据进行统计整理,使用 SPSS 16.0 软件进行聚类分析和相关性分析,并采用隶属函数法^[16]对各指标进行综合评价。

变异系数(CV)的计算公式为 $CV = (\text{标准偏差} / \text{平均值}) \times 100\%$ 。根据叶片解剖结构指标的相关指数(R_i^2)来筛选典型指标,计算公式为 $R_i^2 = \sum r^2 / (n-1)$,式中, r 为同类中某一指标与其他指标之间的相关系数, n 为同类中指标的个数, $i=1,2,\dots,n$;相关指数越大,指标的典型性越强^[13]。

2 结果和分析

2.1 越冬适应性分析

3 种供试植物自然越冬后均有不同程度的冻害表现(图 1)。统计结果显示:‘中山含笑’在自然越冬期间整体长势良好,有 4% 的叶片叶面出现少量细小褐斑,典型叶片叶面产生小面积团状褐斑,大部分叶片完好无损,冻害级别为 1 级;台湾含笑母树有 9% 的叶片叶面出现少量细小褐斑或形成小面积团状褐斑,典型叶片叶面产生较大面积团状褐斑,冻害级别为 1 级;台湾含笑无明显表型变异子代受冻叶片最多,有 16% 的叶片受冻,叶片表现为叶面色泽加深,叶缘卷曲泛黄,叶面褐斑数量较多,典型叶片出现腐烂症状,冻害级别为 2 级。3 种供试植物冻害程度表现为:台湾含笑无明显表型变异子代受冻程度最重,台湾含笑母树次之,‘中山含笑’受冻程度最轻。



Z: ‘中山含笑’ *Michelia* ‘*Zhongshanhanxiao*’; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N: 台湾含笑无明显表型变异子代 Progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa*.

图 1 3 种供试植物自然越冬后的典型叶片

Fig. 1 Typical leaves of three test plants after natural overwintering

2.2 生理指标变化及综合评价

自然越冬下 3 种供试植物叶片的渗透调节物质含量的变化见表 2; 3 种供试植物叶片的超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的变化见表 3; 基于这 5 个生理指标的综合评价结果见表 4。

2.2.1 渗透调节物质含量的变化 结果(表 2)显示: 自然越冬期间(2021 年 12 月 1 日至 2022 年 2 月 25 日), 3 种供试植物叶片的可溶性糖含量呈先升高后降低的变化趋势, 在 2022 年 1 月 15 日达到峰值, 其中, ‘中山含笑’ 的峰值最高 ($54.78 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 台湾含笑母树次之 ($53.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 台湾含笑无明显表型变异子代最低 ($51.89 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 但三者间差异不显著。2021 年 12 月 1 日至 2022 年 1 月 15 日, 台湾含笑无明显表型变异子代叶片可溶性糖含量的增幅在 3 种供试植物中最大, 为 59.32%。2022 年 2 月 10 日至 2022 年 2 月 25 日, 3 种供试植物叶片的可溶性糖含量略有下降, 但降幅不明显, 依然维持在较高水平。

结果(表 2)还显示: 自然越冬期间, 3 种供试植物叶片的可溶性蛋白质含量呈先升高后降低的变化趋势, 在 2022 年 2 月 10 日达到峰值, 其中, ‘中山含笑’ 的峰值最高 ($1.81 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 台湾含笑母树次之 ($1.65 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 台湾含笑无明显表型变异子代最低 ($1.55 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 且 ‘中山含笑’ 与后二者间差异显著。2021 年 12 月 1 日至 2022 年 2 月 10 日, ‘中山含笑’ 叶片可溶性蛋白质含量的增幅在 3 种供试植物中最大, 为 141.33%。2022 年 2 月 10 日至 2 月 25 日, 3 种供试植物叶片的可溶性蛋白质含量呈下降趋势, 其中, 台湾含笑母树的降幅最大, 为 21.21%。

结果(表 2)还显示: 自然越冬期间, 3 种供试植物叶片的脯氨酸含量呈先升高后降低的变化趋势, 在 2022 年 1 月 15 日达到峰值, 其中, ‘中山含笑’ 的峰值最高 ($67.85 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), 台湾含笑母树次之 ($62.41 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), 台湾含笑无明显表型变异子代最低 ($56.40 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), 且三者间差异显著。2021 年 12 月 1 日至 2022 年 1 月 15 日, ‘中山含笑’ 脯氨酸含量的增幅在 3 种供试植物中最大, 为 71.82%。2022 年 1 月 15 日至 2022 年 2 月 25 日, 3 种供试植物叶片的脯氨酸含量呈下降趋势, 其中, ‘中山含笑’ 的降幅最大, 为 8.18%。

总体上看, 3 种供试植物叶片的可溶性糖、可溶性蛋白质和脯氨酸含量的变化趋势相似; 从峰值看, ‘中山含笑’ 上述 3 个指标的峰值均最高, 台湾含笑无明显表型变异子代均最低。

表 2 自然越冬下 3 种供试植物叶片渗透调节物质含量的变化 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾
Table 2 Changes of osmoregulation substance contents in leaves of three test plants under natural overwintering ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

日期 Date (CCYY-MM-DD)	可溶性糖含量/(mg · g ⁻¹) Soluble sugar content			可溶性蛋白质含量/(mg · g ⁻¹) Soluble protein content			脯氨酸含量/(μg · g ⁻¹) Proline content		
	Z	M	N	Z	M	N	Z	M	N
2021-12-01	35.47±1.44a	36.38±0.43a	32.57±1.74b	0.75±0.02b	0.89±0.08a	0.92±0.05a	39.49±2.58a	37.08±2.13a	36.56±2.05a
2021-12-15	38.71±1.01a	37.33±3.28a	35.35±1.26a	0.85±0.10b	1.02±0.07a	0.86±0.03b	43.68±1.44a	41.52±1.64a	44.72±1.99a
2022-01-01	52.35±3.02a	42.94±3.53b	50.24±3.35a	0.99±0.10b	1.13±0.07a	1.22±0.09a	56.61±4.53a	56.86±1.67a	53.64±3.29a
2022-01-15	54.78±1.24a	53.37±3.80a	51.89±2.55a	1.33±0.10b	1.34±0.11b	1.42±0.05a	67.85±3.04a	62.41±2.11b	56.40±2.70c
2022-02-10	52.59±2.18a	50.68±0.95a	47.26±1.50b	1.81±0.06a	1.65±0.09b	1.55±0.06b	66.81±1.49a	60.07±2.79b	55.87±5.30c
2022-02-25	49.67±1.26a	46.22±1.33a	45.99±2.38a	1.44±0.04a	1.30±0.05b	1.34±0.06b	62.30±3.34a	57.75±1.46b	55.42±1.70b

¹⁾Z: ‘中山含笑’ *Michelia* ‘*Zhongshanhanxiao*’; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N: 台湾含笑无明显表型变异子代 Progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa*. 同行中不同小写字母表示不同植物间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same row indicate the significant ($P < 0.05$) difference among different plants.

表 3 自然越冬下 3 种供试植物叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量的变化 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾
Table 3 Changes of superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) content in leaves of three test plants under natural overwintering ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

日期 Date (CCYY-MM-DD)	SOD 活性/(U · g ⁻¹) SOD activity			MDA 含量/(nmol · g ⁻¹) MDA content		
	Z	M	N	Z	M	N
2021-12-01	112.38±2.59a	98.13±2.86b	93.65±1.38b	18.21±0.17a	16.99±0.39b	15.82±0.47c
2021-12-15	121.29±4.47a	108.83±3.47b	96.13±0.81c	19.74±0.65a	17.28±0.41b	19.64±0.25a
2022-01-01	141.65±2.39a	119.74±3.78b	104.46±2.59c	24.28±0.71b	23.42±0.96b	26.07±0.92a
2022-01-15	134.41±1.36a	135.36±2.09a	123.61±4.74b	25.70±0.52b	26.33±0.45b	31.30±1.43a
2022-02-10	156.83±3.67a	143.71±2.34b	133.47±3.45c	32.53±0.57b	30.15±0.92c	34.74±0.47a
2022-02-25	130.61±4.02a	128.55±4.65a	121.42±2.28b	29.48±0.74a	27.29±0.73b	28.29±0.55b

¹⁾Z: ‘中山含笑’ *Michelia* ‘*Zhongshanhanxiao*’; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N: 台湾含笑无明显表型变异子代 Progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa*. 同行中不同小写字母表示不同植物间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same row indicate the significant ($P < 0.05$) difference among different plants.

表 4 3 种供试植物生理指标的综合评价
Table 4 Comprehensive evaluation on physiological indexes of three test plants

植物 ¹⁾ Plant ¹⁾	隶属函数值 ²⁾ Subordinate function value ²⁾					均值 Average	排序 Ranking
	SSC	SPC	PC	SDA	MC		
Z	0.661	0.422	0.625	0.621	0.515	0.569	1
M	0.536	0.445	0.513	0.455	0.590	0.508	2
N	0.509	0.444	0.443	0.292	0.463	0.431	3

¹⁾Z: ‘中山含笑’ *Michelia* ‘*Zhongshanhanxiao*’; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N: 台湾含笑无明显表型变异子代 Progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa*.

²⁾SSC: 可溶性糖含量 Soluble sugar content; SPC: 可溶性蛋白质含量 Soluble protein content; PC: 脯氨酸含量 Proline content; SDA: 超氧化物歧化酶活性 Superoxide dismutase activity; MC: 丙二醛含量 Malondialdehyde content.

2.2.2 超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的变化
结果(表 3)显示:自然越冬期间,3 种供试植物叶片的超氧化物歧化酶(SOD)活性总体呈先升高后降低的变化趋势,在 2022 年 2 月 10 日达到峰值,其中,‘中山含笑’的峰值最高(156.83 U · g⁻¹),台湾含笑

母树次之(143.71 U · g⁻¹),台湾含笑无明显表型变异子代最低(133.47 U · g⁻¹),且三者间差异显著。2021 年 12 月 1 日至 2022 年 2 月 10 日,台湾含笑母树叶片 SOD 活性的增幅在 3 种供试植物中最大,为 46.45%。2022 年 2 月 10 日至 2022 年 2 月 25 日,3 种供试植物叶片 SOD 活性呈下降趋势,其中,‘中山含笑’的降幅最大,为 16.72%。

结果(表 3)还显示:自然越冬期间,3 种供试植物叶片的丙二醛(MDA)含量呈先升高后降低的变化趋势,在 2022 年 2 月 10 日达到峰值,其中,台湾含笑无明显表型变异子代的峰值最高(34.74 nmol · g⁻¹),‘中山含笑’次之(32.53 nmol · g⁻¹),台湾含笑母树最低(30.15 nmol · g⁻¹),且三者间差异显著。2021 年 12 月 1 日至 2022 年 2 月 10 日,台湾含笑无明显表型变异子代叶片 MDA 含量的增幅在 3 种供试植物中最大,为 119.60%。2022 年 2 月 10 日至 2 月 25 日,3 种供试植物叶片 MDA 含量呈下降趋势,其中,台湾含笑无明显表型变异子代的降幅度最大,为

18.57%。

总体上看,3种供试植物叶片的SOD活性和MDA含量的变化趋势相似;从峰值看,‘中山含笑’叶片SOD活性的峰值最高,MDA含量的峰值较低;台湾含笑无明显表型变异子代叶片SOD活性的峰值最低,而MDA含量的峰值最高。

2.2.3 基于生理指标的综合评价 运用隶属函数法对3种供试植物的上述5个生理指标进行综合评价,结果(表4)显示:‘中山含笑’的平均隶属函数值最大,为0.569,其中,可溶性糖含量、脯氨酸含量和超氧化物歧化酶活性的隶属函数值在3种供试植物中均最大,分别为0.661、0.625和0.621;台湾含笑无明显表型变异子代的平均隶属函数值最小,为0.431。通过生理指标隶属函数值排序可知,中山含笑的抗寒性最强,台湾含笑母树次之,台湾含笑无明显表型变异子代最弱。

2.3 解剖结构分析

2.3.1 叶片解剖结构特征 3种供试植物的叶片解剖结构指标和解剖图分别见表5和图2。结果显示:‘中山含笑’叶片角质层最厚(4.54 μm),台湾含笑无明显表型变异子代叶片角质层最薄(3.20 μm);‘中山含笑’叶片角质层厚度与台湾含笑母树及其无明显表型变异子代间差异显著。3种供试植物叶片上、下表皮均由一层不规则细胞紧密排列而成,且上表皮厚度均大于下表皮厚度,其中,台湾含笑母树叶片的上、下表皮最厚,‘中山含笑’叶片上、下表皮最薄;3种供试植物间的上、下表皮厚度均差异显著,变异系数分别为17.35%和18.94%。叶片栅栏组织和海绵组织厚度以‘中山含笑’最厚,台湾含笑母树次之,台湾含笑无明显表型变异子代最薄;3种供试植物间叶片栅栏组织厚度差异显著,变异系数为6.65%;‘中山含笑’叶片海绵组织厚度与台湾含笑母树无显著差

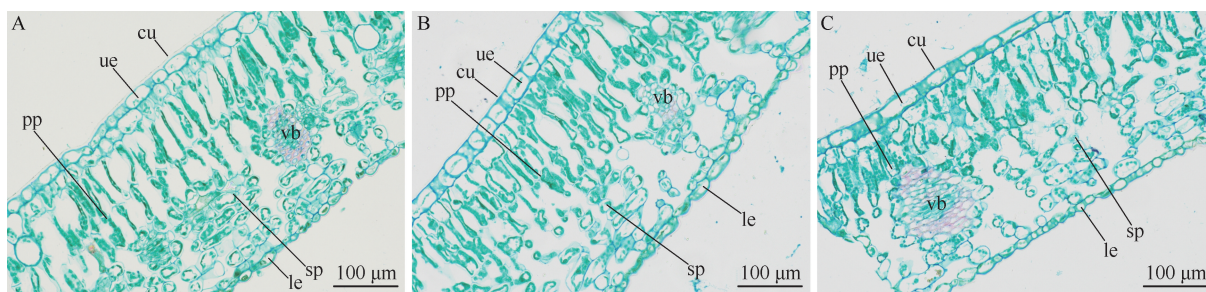
表5 3种供试植物叶片解剖结构指标的比较($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 5 Comparison on leaf anatomical structure indexes of three test plants ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

植物 ²⁾ Plant ²⁾	CT/ μm	UET/ μm	LET/ μm	PPT/ μm	SPT/ μm	LT/ μm	P/S	CTR	CSR
Z	4.54 \pm 0.25a	18.59 \pm 1.13c	9.82 \pm 1.24c	138.55 \pm 5.25a	157.94 \pm 7.55a	335.00 \pm 11.83b	0.88 \pm 0.04a	0.41 \pm 0.02a	0.47 \pm 0.01a
M	3.44 \pm 0.41b	26.71 \pm 2.18a	13.63 \pm 2.40a	131.88 \pm 3.95b	157.56 \pm 9.88a	347.92 \pm 11.49a	0.84 \pm 0.06a	0.38 \pm 0.01c	0.45 \pm 0.03b
N	3.20 \pm 0.16b	21.32 \pm 1.94b	11.89 \pm 0.85b	120.74 \pm 4.41c	141.37 \pm 3.85b	303.63 \pm 7.02c	0.85 \pm 0.03a	0.40 \pm 0.01b	0.47 \pm 0.01a
A	3.73	22.21	11.78	130.39	152.41	328.85	0.86	0.40	0.46
CV/%	17.65	17.35	18.94	6.65	6.92	6.51	5.27	4.84	3.87

¹⁾ CT: 角质层厚度 Cuticle thickness; UET: 上表皮厚度 Upper epidermis thickness; LET: 下表皮厚度 Lower epidermis thickness; PPT: 栅栏组织厚度 Palisade parenchyma thickness; SPT: 海绵组织厚度 Spongy parenchyma thickness; LT: 叶片厚度 Leaf thickness; P/S: 栅栏比 Palisade parenchyma and spongy parenchyma ratio; CTR: 细胞结构紧密度 Cell tense ratio; CSR: 细胞结构疏松度 Cell spongy ratio. 同列中不同小写字母表示不同植物间差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P<0.05$) difference among different test plant.

²⁾ Z: ‘中山含笑’ *Michelia* ‘Zhongshanhanxiao’; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N: 台湾含笑无明显表型变异子代 Progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa*. A: 均值 Average. CV: 变异系数 Coefficient of variation.



cu: 角质层 Cuticle; ue: 上表皮 Upper epidermis; pp: 栅栏组织 Palisade parenchyma; sp: 海绵组织 Spongy parenchyma; le: 下表皮 Lower epidermis; vb: 维管束 Vascular bundle.

A: ‘中山含笑’ *Michelia* ‘Zhongshanhanxiao’; B: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; C: 台湾含笑无明显表型变异子代 Progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa*.

图2 3种供试植物叶片结构解剖图
Fig. 2 Anatomical diagram of leaf structure of three test plants

异,二者与台湾含笑无明显表型变异子代差异显著,3种供试植物海绵组织厚度的变异系数为 6.92%。台湾含笑母树叶片最厚(347.92 μm),台湾含笑无明显表型变异子代叶片最薄(303.63 μm),3种供试植物间的叶片厚度差异显著,变异系数为 6.51%。叶片栅海比、细胞结构紧密度和细胞结构疏松度的值基本上以‘中山含笑’最大,台湾含笑无明显表型变异子代次之,台湾含笑母树最小;3种供试植物间的栅海比无显著差异,细胞结构紧密度差异显著;细胞结构疏松度表现为‘中山含笑’与台湾含笑无明显表型变异子代无显著差异,二者与台湾含笑母树差异显著。

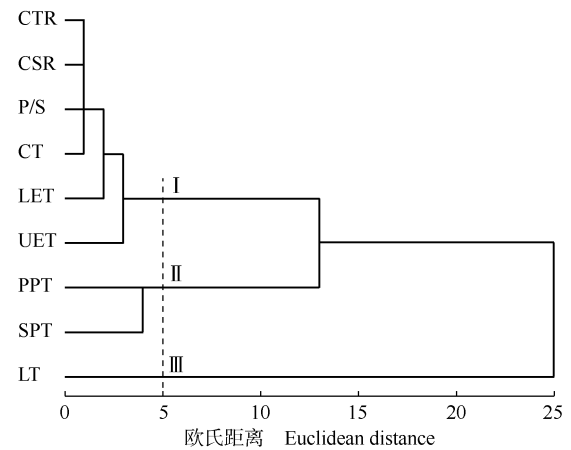
2.3.2 叶片解剖结构指标筛选 采用分层聚类的方法对上述 9 个叶片解剖结构指标进行分析,结果(图 3)显示:在欧氏距离 5 处,9 个指标分为 3 类: I 类包括细胞结构紧密度、细胞结构疏松度、栅海比、角质层厚度、下表皮厚度和上表皮厚度; II 类包括栅栏组织厚度和海绵组织厚度; III 类仅包括叶片厚度。

进一步对各类中指标间的相关性进行分析,结果(表 6)显示:细胞结构紧密度与角质层厚度和栅海比呈极显著正相关,与上、下表皮厚度呈极显著负相关;细胞结构疏松度与上表皮厚度和栅海比分别呈显著和极显著负相关,与下表皮厚度呈显著正相关;角质层厚度与上表皮厚度和下表皮厚度分别呈显著和极显著负相关;上表皮厚度与下表皮厚度呈极显著正相关。栅栏组织厚度和海绵组织厚度呈极显著正相关。

根据各解剖结构指标间的相关性大小计算 3 类指标的相关指数。结果(表 7)显示: I 类中细胞结构紧密度的相关指数最大,为 0.335,选择为该类的典型

指标; II 类中栅栏组织厚度和海绵组织厚度的相关指数相同,且海绵组织厚度和栅栏组织厚度的变异系数相差不大,因此选择更能反映叶肉组织结构特点的栅栏组织厚度作为该类的典型指标; III 类中仅叶片厚度 1 个指标,选择为该类的典型指标。

2.3.3 基于叶片解剖结构指标的综合评价 运用隶属函数法对 3 种供试植物的 3 个叶片典型解剖结构指标进行综合评价,结果(表 8)显示:‘中山含笑’的平均隶属函数值最大,为 0.686,其中,细胞结构紧密



CTR: 细胞结构紧密度 Cell tense ratio; CSR: 细胞结构疏松度 Cell spongy ratio; P/S: 栅海比 Palisade parenchyma and spongy parenchyma ratio; CT: 角质层厚度 Cuticle thickness; LET: 下表皮厚度 Lower epidermis thickness; UET: 上表皮厚度 Upper epidermis thickness; PPT: 栅栏组织厚度 Palisade parenchyma thickness; SPT: 海绵组织厚度 Spongy parenchyma thickness; LT: 叶片厚度 Leaf thickness.

图 3 3 种供试植物叶片解剖结构指标的聚类图
Fig. 3 Cluster diagram of leaf anatomical structure indexes of three test plants

表 6 3 种供试植物叶片解剖结构指标间的相关性分析¹⁾
Table 6 Correlation analysis on leaf anatomical structure indexes of three test plants¹⁾

指标 Index	不同指标间的相关系数 Coefficient of correlation among different indexes								
	CT	UET	LET	PPT	SPT	LT	P/S	CTR	CSR
CT	1.000								
UET	-0.475 *	1.000							
LET	-0.555 **	0.640 **	1.000						
PPT	0.700 **	-0.152	-0.331	1.000					
SPT	0.455 *	0.081	-0.115	0.673 **	1.000				
LT	0.300	0.359	0.133	0.718 **	0.815 **	1.000			
P/S	0.272	-0.287	-0.257	0.384 *	-0.422 *	-0.129	1.000		
CTR	0.537 **	-0.675 **	-0.618 **	0.410 *	-0.162	-0.341	0.694 **	1.000	
CSR	0.282	-0.421 *	0.399 *	-0.004	0.394 *	-0.211	-0.510 **	0.264	1.000

¹⁾ CT: 角质层厚度 Cuticle thickness; UET: 上表皮厚度 Upper epidermis thickness; LET: 下表皮厚度 Lower epidermis thickness; PPT: 栅栏组织厚度 Palisade parenchyma thickness; SPT: 海绵组织厚度 Spongy parenchyma thickness; LT: 叶片厚度 Leaf thickness; P/S: 栅海比 Palisade parenchyma and spongy parenchyma ratio; CTR: 细胞结构紧密度 Cell tense ratio; CSR: 细胞结构疏松度 Cell spongy ratio. *: P<0.05; **: P<0.01.

表7 3种供试植物叶片解剖结构指标的相关指数及排序
Table 7 Correlation index and ranking of leaf anatomical structure indexes of three test plants

分类 Category	指标 ¹⁾ Index ¹⁾	相关指数 Correlation index	类中排序 Ranking in category
I	CTR	0.335	1
	CSR	0.149	6
	P/S	0.193	5
	CT	0.195	4
	LET	0.265	3
	UET	0.270	2
II	PPT	0.453	1
	SPT	0.453	1
III	LT	1.000	1

¹⁾ CTR: 细胞结构紧密度 Cell tense ratio; CSR: 细胞结构疏松度 Cell spongy ratio; P/S: 栅海比 Palisade parenchyma and spongy parenchyma ratio; CT: 角质层厚度 Cuticle thickness; LET: 下表皮厚度 Lower epidermis thickness; UET: 上表皮厚度 Upper epidermis thickness; PPT: 栅栏组织厚度 Palisade parenchyma thickness; SPT: 海绵组织厚度 Spongy parenchyma thickness; LT: 叶片厚度 Leaf thickness.

表8 3个供试植物叶片典型解剖结构指标的综合评价
Table 8 Comprehensive evaluation on typical anatomical structure indexes of leaves of three test plants

植物 ¹⁾ Plant ¹⁾	隶属函数值 ²⁾ Subordinate function value ²⁾			均值 Average	排序 Ranking
	CTR	PPT	LT		
Z	0.679	0.770	0.608	0.686	1
M	0.246	0.553	0.803	0.535	2
N	0.476	0.190	0.136	0.267	3

¹⁾ Z: ‘中山含笑’ *Michelia* ‘Zhongshanhanxiao’; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N: 台湾含笑无明显表型变异子代 Progeny without obvious phenotypic variation of *M. compressa*.

²⁾ CTR: 细胞结构紧密度 Cell tense ratio; PPT: 栅栏组织厚度 Palisade parenchyma thickness; LT: 叶片厚度 Leaf thickness.

度和栅栏组织厚度的隶属函数值在3种供试植物中均最大,分别为0.679和0.770;台湾含笑无明显表型变异子代的平均隶属函数值最小,为0.267。通过叶片典型解剖结构指标隶属函数值排序可知,中山含笑’的抗寒性最强,台湾含笑母树次之,台湾含笑无明显表型变异子代最弱。

3 讨论和结论

植物越冬适应性观察法是通过观察植株叶片受冻组织和未受冻组织的颜色,进而确定植物受冻害程度,能够很好地反映出植物在越冬期间的冻害情况^[17]。高驰等^[18]通过对7种重楼属(*Paris* Linn.)植物越冬观察发现,抗寒能力不同的树种叶片有不同的

外观表现。本研究中,与同龄的台湾含笑无明显表型变异子代相比,在自然越冬期间(2021年12月1日至2022年2月25日)的各个阶段,‘中山含笑’均表现出了更强的抗寒性,未出现叶缘卷曲泛黄、腐烂的现象,仅少数叶片受冻产生褐斑。‘中山含笑’作为台湾含笑自然变异种,其不仅长势明显高于同龄的台湾含笑无明显表型变异子代,且多数生理指标和叶片解剖结构指标的隶属函数值也最大,而台湾含笑无明显表型变异子代的多数生理指标和叶片解剖结构指标的隶属函数值最小。因此,综合3种供试植物的越冬表现以及各指标隶属函数分析结果可知:‘中山含笑’的抗寒性最强,台湾含笑母树次之,台湾含笑无明显表型变异子代最弱。

植物遭受低温胁迫会产生一定的适应能力,而抗寒性强的植物在面对低温冻害时具有强大的生理适应机制,可使自身的发育和生理代谢能够正常运转^[19]。研究表明:可溶性糖、可溶性蛋白质和脯氨酸是植物细胞内重要的渗透调节物质,能够促进细胞吸水 and 保水,其含量与植物的抗性呈正相关^[20-21]。本研究中,自然越冬期间,3种供试植物叶片的渗透调节物质(可溶性糖、可溶性蛋白质和脯氨酸)含量均随着时间的推移呈先升高后降低的变化趋势,Pociecha等^[22]认为这是一种普遍现象,说明3种供试植物在低温胁迫下可以通过增加可溶性糖等渗透调节物质的含量来调节细胞内电解质渗透压,防止细胞脱水。同时可溶性蛋白质含量的增加有助于合成逆境响应蛋白及保护性酶,这与曾光辉等^[23]在茶树 [*Camellia sinensis* (Linn.) O. Ktze.] 上的研究结果是一致的。抗寒性强的树种遭遇低温胁迫时渗透调节物质含量要高于抗寒性弱的树种,且增幅也较大^[24]。本研究中,‘中山含笑’叶片的渗透调节物质含量峰值均高于台湾含笑母树及其无明显表型变异子代,且增幅总体也较大,验证了‘中山含笑’抗寒性最强。王伟伟等^[8]研究发现,含笑属植物的半致死温度在-16℃~-11℃,而本试验中样品采集地的最低温度仅为-5℃,在2022年2月10日后随着自然平均温度升高,3种供试植物叶片的渗透调节物质含量均出现了一定程度的下降,说明-5℃的低温胁迫未能对植物细胞膜造成不可逆转的损伤。

Campos等^[11]研究认为,丙二醛含量的变化可以反映植物细胞膜的受损程度和逆境胁迫抵御能力。本研究中,自然越冬期间,3种供试植物叶片的丙二

醛含量均随着时间的推移呈先升高后降低的变化趋势,这与马娟娟等^[16]对北美冬青 [*Ilex verticillata* (Linn.) A. Gray] 的低温胁迫试验结果一致,说明 3 种供试植物细胞膜功能均受到了抑制。从 12 月份到翌年 2 月份,‘中山含笑’和台湾含笑母树叶片的丙二醛含量积累较慢,而台湾含笑无明显表型变异子代丙二醛含量迅速增加,其增幅最大且峰值最高,表明其活性氧自由基积累最多,细胞膜受损程度最大,抗寒性最差。植物在正常状态下时,体内活性氧自由基的生成与清除处于动态平衡,低温胁迫能够打破植物体内活性氧自由基的动态平衡,而植物为适应低温环境会提高超氧化物歧化酶活性来迅速清除体内积累的活性氧自由基,从而对自身进行保护^[25-26]。本研究结果显示:3 种供试植物叶片的超氧化物歧化酶活性随着时间的推移总体呈先升高后降低的变化趋势,且在 2022 年 2 月 10 日达到峰值,说明低温胁迫激发了植物体内抗氧化酶系统,对体内产生的活性氧自由基进行调节以抵御低温胁迫^[27]。Airaki 等^[28]在对五彩椒 (*Capsicum annuum* Linn.) 的研究中发现,抗氧化酶活性在一定范围内与植物抗寒性呈正相关。本研究中,‘中山含笑’的超氧化物歧化酶活性在整个越冬期间均高于台湾含笑母树及其无明显表型变异子代,即抗寒性强的植物保护酶活性相对较高。

叶片在植物生长发育过程中会形成与当地环境相适应的外部形态和解剖结构^[29],植物抗寒性与叶片解剖结构存在密切关系^[7,30-31]。李瑞雪等^[13]认为,含笑属植物叶片栅栏组织越厚,栅海比越大,抗寒性越强。本研究通过聚类分析和相关性分析,从 9 个解剖结构指标中筛选出细胞结构紧密度、栅栏组织厚度和叶片厚度作为 3 个典型指标,以消除冗余信息的影响。细胞结构紧密度为栅栏组织厚度与叶片厚度的比值,栅栏组织为薄壁细胞,有利于各种物质的进出,栅栏组织越厚,细胞结构紧密度越大,表现出的抗寒性也越强^[32]。本研究发现,3 种供试植物叶片解剖结构中,‘中山含笑’细胞结构紧密度和栅栏组织厚度均大于台湾含笑母树及其无明显表型变异子代,与抗寒性评价一致。谭殷殷等^[33]研究发现,叶片厚度可以作为抗寒性鉴定的典型指标。本研究中叶片厚度虽然也作为反映抗寒性的主要指标之一,但 3 种供试植物的叶片厚度以台湾含笑母树最厚,这与其抗寒性评价结论略有不同,这可能与本研究中叶片厚度变异系数较小有关。‘中山含笑’具有枝叶茂密、花

大量多、叶大增厚等优良特性,其角质层厚度、海绵组织厚度、栅海比和细胞结构疏松度均大于台湾含笑母树。但‘中山含笑’上、下表皮在 3 种供试植物中最薄,与其抗寒性评价结果相反,这可能是由于含笑属植物抗寒性不仅与上、下表皮有关,还与表皮上的气孔密度有关^[34]。

综上所述,自然越冬期间 3 种供试植物均出现了一定程度的冻害,其中台湾含笑无明显表型变异子代受冻程度最重,‘中山含笑’受冻程度最轻。‘中山含笑’除丙二醛含量外的其余生理指标的峰值均为 3 种供试植物中最高,台湾含笑无明显表型变异子代叶片丙二醛含量的增幅最大且峰值最高,台湾含笑母树各生理指标介于二者之间。3 种供试植物中,‘中山含笑’细胞结构紧密度和栅栏组织厚度均最大,台湾含笑无明显表型变异子代的栅栏组织厚度和叶片厚度均最小。综合自然越冬表现及各指标隶属函数分析结果可知:‘中山含笑’的抗寒性最强,台湾含笑母树次之,台湾含笑无明显表型变异子代最弱。低温对植物的影响是一个复杂的过程,植物的耐寒性是受多因子调控的,后续将对植物自然越冬期间内源激素变化和抗寒相关基因表达开展进一步的研究。

参考文献:

- [1] 刘玉壶. 中国木兰[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2004: 210-335.
- [2] CHEN S Y, WU T, FU Y P, et al. Complete chloroplast genome sequence of *Michelia champaca* var. *champaca* Linnaeus, an ornamental tree species of Magnoliaceae [J]. Mitochondrial DNA Part B, 2020, 8(3): 2845-2847.
- [3] 刘兴剑, 孙起梦, 黄 斌, 等. 台湾含笑在南京的引种表现及嫁接繁殖试验[J]. 江苏农业科学, 2008, 36(2): 152-154.
- [4] YANG Y, YAO N, JIA Z K, et al. Effect of exogenous abscisic acid on cold acclimation in two *Magnolia* species [J]. Biologia Plantarum, 2016, 60(3): 555-562.
- [5] 陈 辉, 周成玲, 胡来宝, 等. 苏北地区 4 种常绿阔叶树种引种栽培适应性分析[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2019, 39(4): 149-154.
- [6] 元白岩, 周冬琴, 於朝广, 等. 8 种含笑属植物的抗寒性研究[J]. 江苏农业科学, 2010, 38(5): 258-263.
- [7] 元白岩, 殷云龙, 於朝广, 等. 木兰科含笑属 8 种植物叶片解剖结构性状与抗寒性的关系[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(4): 150-153.
- [8] 王伟伟, 窦全琴, 万丹丹. 锦绣含笑耐寒性研究[J]. 江苏林业科技, 2017, 44(4): 1-7.
- [9] 殷云龙, 王芝权, 杨 颖, 等. 台湾含笑变异株群‘中山含笑’的形态特征和遗传变异分析[J]. 植物资源与环境学报, 2022,

- 31(3): 44-53.
- [10] 丹曲, 张艳福, 方江平, 等. 西藏林芝不同居群桃儿七表型多样性分析[J]. 南方农业学报, 2017, 48(3): 386-392.
- [11] CAMPOS P S, QUARTIN V N, RAMALHO J C, et al. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2003, 160: 283-292.
- [12] MENG P, BAI X F, LI H D, et al. Cold hardiness estimation of *Pinus densiflora* var. *zhangwuensis* based on changes in ionic leakage, chlorophyll fluorescence and other physiological activities under cold stress[J]. Journal of Forestry Research, 2015, 26(3): 641-649.
- [13] 李瑞雪, 金晓玲, 胡希军, 等. 6种含笑属植物抗寒性分析与综合评价[J]. 应用生态学报, 2017, 28(5): 1464-1472.
- [14] 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, 2000.
- [15] 周杰, 刘艳, 张桂荣, 等. 石蜡切片技术改进及细胞生物学实验的统筹[J]. 实验室研究与探索, 2014, 33(5): 167-170.
- [16] 马娟娟, 赵斌, 陈颖, 等. 4个北美冬青品种苗对低温胁迫的生理响应及抗寒性比较[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, 44(5): 34-40.
- [17] 刘志英, 李西良, 李峰, 等. 紫花苜蓿秋眠性对低温驯化过程与越冬耐寒适应的作用机理[J]. 植物生态学报, 2015, 39(6): 635-648.
- [18] 高驰, 赵灵, 王庆鹤, 等. 基于自然生长期和越冬期叶片解剖结构特征的7种重楼属植物抗寒力[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28(1): 111-121.
- [19] 赵建涛, 岳亚飞, 张前兵, 等. 不同秋眠级紫花苜蓿品种抗寒性对新疆北疆地区覆雪厚度的响应[J]. 草业学报, 2022, 31(8): 24-34.
- [20] 杨振亚, 赵建诚, 袁金玲, 等. 5个观赏雷竹变型对低温胁迫的生理响应[J]. 林业科学研究, 2021, 34(2): 131-140.
- [21] ABOUZARI A, SOLOUKI M, GOLEIN B, et al. Screening of molecular markers associated to cold tolerance-related traits in *Citrus*[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 263: 109145.
- [22] POCIECHA E, DZIURKA M. *Trichoderma* interferes with cold acclimation by lowering soluble sugars accumulation resulting in reduced pink snow mould (*Microdochium nivale*) resistance of winter rye[J]. Environmental and Experimental Botany, 2015, 109: 193-200.
- [23] 曾光辉, 周琳, 黎星辉. 自然越冬期间茶树叶片生理生化指标和解剖结构的变化[J]. 植物资源与环境学报, 2017, 26(1): 63-68.
- [24] 孟诗原, 吕桂云, 张明忠, 等. 5种卫矛属植物对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 西北植物学报, 2020, 40(4): 624-634.
- [25] JAVADIAN N, KARIMZADEH G, MAHFOOZI S, et al. Cold-induced changes of enzymes, proline, carbohydrates, and chlorophyll in wheat[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2010, 57(4): 540-547.
- [26] HE S L, ZHAO K T, MA L F, et al. Comparison of cold resistance physiological and biochemical features of four *Herba Rhodiola* seedlings under low temperature[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2016, 23(2): 198-204.
- [27] 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, 2017, 37(2): 12-18.
- [28] AIRAKI M, LETERRIER M, MATEOS R M, et al. Metabolism of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under low temperature stress[J]. Plant Cell and Environment, 2012, 35: 281-295.
- [29] TODARO T M, DAMI I E. Cane morphology and anatomy influence freezing tolerance in *Vitis vinifera* Cabernet franc[J]. International Journal of Fruit Science, 2017, 17(4): 391-406.
- [30] 何子华, 杨成行, 王沛, 等. 高寒地区6种禾本科牧草对低温胁迫的生理响应及耐寒性评价[J]. 草业科学, 2021, 38(10): 2019-2028.
- [31] CENTENO A, MEMMI H, MORENO M M, et al. Water relations in olive trees under cold conditions[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 235: 1-8.
- [32] 许少祺, 刘浩地, 李雪, 等. 两种野豌豆属植物叶片形态结构及其生态适应性研究[J]. 东北农业大学学报, 2021, 52(3): 26-33.
- [33] 谭殷殷, 金晓玲, 余秋岫, 等. ‘玉霞’含笑与其亲本抗寒生理特性比较[J]. 植物生理学报, 2019, 55(11): 1721-1728.
- [34] ARIAS N S, SCHOLZ F G, GOLDSTEIN G, et al. The cost of avoiding freezing in stems: trade-off between xylem resistance to cavitation and supercooling capacity in woody plants[J]. Tree Physiology, 2017, 37: 1251-1262.

(责任编辑: 郭严冬)