

恒定低温对不同品系关玉竹组织抗冷性的影响

王二欢¹, 许永华¹, 张忠宝², 徐殿文³, 奚广生^{2*}, 张连学^{1*}

(1. 吉林农业大学 中药材学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林农业科技学院 中药学院, 吉林 吉林 132101;

3. 沈阳军区洮南训练场, 吉林 洮南 137100)

[摘要] 文章以5种关玉竹为试验材料,对其不同部位过冷点、冰点、过冷度、过渡阶段时间、冷却时间及水分组成进行测定。运用灰色关联度法综合分析其组织抗冷性。结果表明,不同玉竹品系及部位的组织抗冷性有所差异;关玉竹组织含水量与冰点、过冷点有一定相关性,但含水量过低时无法测出过冷点和冰点;不同品系关玉竹组织抗冷性强弱顺序为紫茎长叶 > 大圆叶 > 小圆叶 > 长叶 > 吉竹1号。

[关键词] 关玉竹;抗冷性;过冷点;冰点

Effects of constant low temperature on cold resistance of different strains *Polygonatum odoratum*

WANG Er-huan¹, XU Yong-hua¹, ZHANG Zhong-bao², XU Dian-wen³, XI Guang-sheng^{2*}, ZHANG Lian-xue^{1*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. College of Chinese Traditional Medicine Science, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132101, China;

3. Taonan Training Ground, Shenyang Military Region, Taonan 137100, China)

[Abstract] In this paper, the five strains of *Polygonatum odoratum* were used as the experimental materials to test the supercooling point, freezing point, the degree of supercooling, the transition stage time, cooling time and water composition of the plant tissue. The cold resistance of *P. odoratum* was analyzed with the Gray Correlation Method. The results showed that the cold resistances of the five strains of *P. odoratum* were different, and the water content of plant tissue had some relevance with freezing point and supercooling point, whereas, it could not be measured when the moisture content was too low. The order of cold resistance of the five strains of *P. odoratum* was ZJCY, DYYZ, XYZZ, CYYZ and JZ I.

[Key words] *Polygonatum odoratum*; cold resistance; supercooling point; freezing point

doi:10.4268/cjcm20150113

玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill) Druce. 为百合科黄精属多年生草本植物,为食药兼用植物^[1]。根据其产地不同将玉竹分为关玉竹(分布于东北)和湘玉竹(分布于湖南湖北一带)^[2]。市场需求量十分巨大,据调查,我国医药行业对于玉竹的需求量约3 000~4 000 t,出口量约300万~500万 t,出品创汇每年近1亿美元^[3]。东北现已形成以清原、抚松、敦化、延吉为代表的

关玉竹种植区域。在栽培中,春季常常出现冻害症状,对关玉竹生产的稳定发展造成巨大影响,生产上迫切需求具有抗寒特性的关玉竹。本文以5种栽培关玉竹为试验材料,对其不同部位过冷点、冰点、过冷度及水分组成进行测定。运用灰色关联度法综合分析关玉竹组织抗冷性,从而筛选抗冷性关玉竹,为关玉竹引种、抗性育种及冰温技术提供基础数据。

[收稿日期] 2014-08-02

[基金项目] 公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303111);吉林省科技厅项目(20130303093YY)

[通信作者] *奚广生, Tel: (0432)63509060, E-mail: zyxyxgs@126.com; *张连学, Tel: (0431)84533087, E-mail: zlx863@163.com

1 材料

试验关玉竹为吉林农业科技学院药用植物种源圃种植的5种关玉竹。经吉林农业科技学院奚广生教授鉴定为关玉竹,其中推广品种1个(吉竹1号,吉林省2012年审定,JZ I),选育品系4个[大圆叶(DYYZ),小圆叶(XYYZ),紫茎长叶(ZJCY),长叶(CYYZ)]。于2014年4月20日对田间各种关玉竹进行随机采样,每种关玉竹采样40株,保鲜带回实验室进行组织抗冷性测定。试验所用水均为哇哈哈纯净水。

本试验温度数据采集系统使用多点生物温度仪(Yaxin-0233,北京雅欣理仪科技有限公司),其测温范围 $-40 \sim 100 \text{ }^{\circ}\text{C}$,精度 $\pm 0.1 \text{ }^{\circ}\text{C}$,各传感器提前经过二等标准水银温度计校准;降温冰箱为医用低温保存箱(DW-25L-92,海尔集团);徒手切片器(27009,余姚市学友教学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 组织抗冷性测定 参照 Meng Q R 等^[4]的方法有改动,选取无病斑,无外伤的关玉竹,利用多点生物温度仪在线绘制关玉竹芽孢、1年根状茎、2年根状茎、3年根状茎的冻结曲线。多点生物温度仪与电脑相连接,启动工作站,设定数据采集间隔为200 ms,温度传感器分出2根探针(测量端、参考端):用测量端刺于测定部位;将参考端放入有冰水混合物的保温桶中,并保持参考端温度为 $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。将测量端及关玉竹从室温移至 $-30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,重复10次。关玉竹突然降温过程通过软件实时显示在计算机上。为减少误差,每次插针标准相同。

2.2 关玉竹水分组成测定 关玉竹组织进行切片,片厚0.6 mm,切片后迅速按照张治安等^[5]测定组织含水量、自由水(free water, FW)及束缚水(bound water, BW)含量方法进行测定。

2.3 数据处理 采用 Excel (2007) 软件对数据进行初步筛选;利用 SPSS 19.0 中的单因素方差分析(One-way ANOVA)结合 LSD 法($\alpha = 0.05$)对统计结果进行显著性方差分析,运用 SPSS 19.0 中的双变量相关分析对数据进行相关性分析,运用 DPS 7.05 中的灰色关联分析法对数据进行综合分析,采用 Graphpad Prism 5 作图。

3 结果与分析

3.1 冻结曲线的绘制 相同冻结温度($30 \text{ }^{\circ}\text{C}$)下^[6],关玉竹冻结曲线见图1。关玉竹置于冷空气

中,各器官温度迅速下降,达到成核温度(nucleation temperature, NT_{em});随着时间的推移,当晶核尺寸超过成核临界尺寸时,冷却过程停止,同时依靠向系统中释放热量的方式形成冰核,达到初始冷冻温度(initial freezing temperature, IFT);温度在经过一段斜率近似为0的阶段后,到达瞬时斜率最大时结束冷却。此图与王伟^[7]、P Comandini^[8]所绘制曲线有所差异。

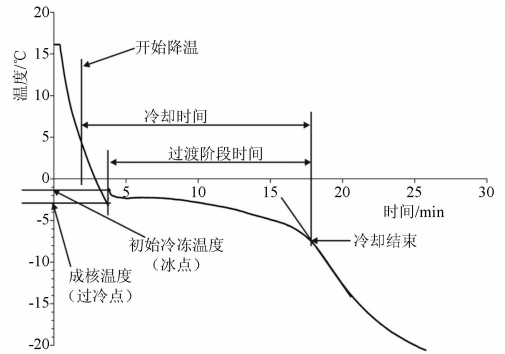
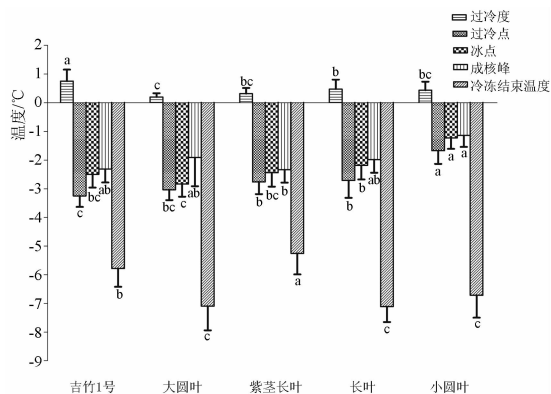


图1 关玉竹冻结温度曲线及冻结评价指标

Fig. 1 Freezing curve of *Polygonatum odoratum* sample and freezing parameters evaluated

通常过冷点(SCP)是指关玉竹体内液体在液态状态下的最低温度,即成核温度(NT_{em});冰点(FP)是关玉竹在冷却过程中冰生长时候的温度,即初始冻结温度(IFT);温度曲线斜率最大时为冷却温度(global freezing process temperature, FT_{em});冰点与过冷点之间的差值即为过冷度(supercooling degree, SCD),过冷度越大,过冷点越低,植物的抗冷性越强;过渡阶段时间(transition phase time, TP_{time})为到达冰点后,温度曲线斜率近似为0时所持续的时间,同时也是冷却时间(global freezing process time, F_{time})与成核时间(nucleation time, N_{time})之间的差值;过渡阶段时间内的成核高峰即为成核峰(nucleation peak, NP);冷却时间(F_{time})是整个降温过程所持续的时间,即从开始降温,经过冰点到达温度曲线瞬时斜率最大时所持续的时间^[7]。由于室温变化大,故本试验拟定 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 为初始降温点。

3.2 关玉竹芽孢抗冷性比较 关玉竹具有茎秆当年不可再生性。对5种关玉竹芽孢各冻结评价指标进行比较见图2、表1。不同品系关玉竹芽孢冻结评价指标有所差异。小圆叶具有较高的过冷点、冰点、成核峰;吉竹1号具有较大的过冷度;大圆叶、长叶和小圆叶的冻结结束温度较低。



同一参数不同小写字母间差异显著 ($P < 0.05$)。

图2 部分关玉竹芽孢的冻结参数 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 A part of freezing parameters of bud of *Polygonatum odoratum* sample ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表1 部分关玉竹芽孢的冻结参数 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 A part of freezing parameters of bud of *Polygonatum odoratum* sample ($\bar{x} \pm s, n = 10$) min

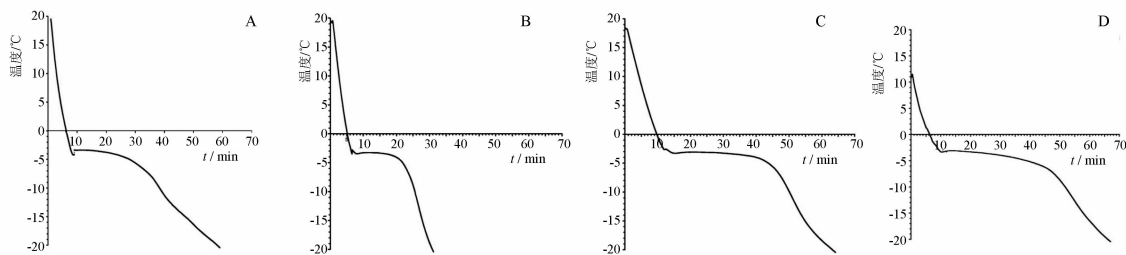
种类	成核时间	过渡阶段时间
吉竹1号	1.3 ± 0.2 ^b	5.4 ± 0.5 ^c
大圆叶	2.0 ± 0.3 ^b	14.7 ± 1.1 ^b
紫茎长叶	3.4 ± 1.1 ^a	21.1 ± 2.2 ^a
长叶	2.2 ± 0.5 ^b	15.4 ± 5.2 ^b
小圆叶	1.9 ± 0.1 ^b	16.9 ± 2.9 ^{ab}

注:同列不同小写字母间差异显著, $P < 0.05$ (表2同)。

表2 一年生关玉竹根状茎冻结参数 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Freezing parameters of one-year rhizome of *Polygonatum odoratum* sample ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

种类	过冷点/°C	成核时间/min	冰点/°C	过冷度/°C	成核峰/°C	冷却温度/°C	过渡阶段时间/min
吉竹1号	-1.8 ± 0.1 ^{ab}	1.9 ± 0.9 ^b	-1.7 ± 0.2 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	-1.4 ± 0.2 ^a	-4.2 ± 0.2 ^a	10.46 ± 0.8 ^d
大圆叶	-1.4 ± 0.1 ^a	4.9 ± 0.7 ^a	-1.3 ± 0.2 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	-1.2 ± 0.1 ^a	-7.0 ± 0.5 ^d	42.8 ± 2.0 ^a
紫茎长叶	-2.9 ± 0.1 ^{bc}	7.1 ± 0.6 ^a	-2.8 ± 0.1 ^b	0.1 ± 0.1 ^a	-2.6 ± 0.2 ^b	-6.5 ± 0.3 ^c	29.7 ± 2.2 ^b
长叶	-3.1 ± 1.0 ^c	5.5 ± 2.6 ^a	-3.1 ± 1.0 ^b	0.2 ± 0.5 ^a	-3.1 ± 1.0 ^b	-7.4 ± 0.3 ^d	23.6 ± 5.0 ^{bc}
小圆叶	-1.1 ± 0.2 ^a	1.4 ± 0.3 ^b	-1.0 ± 0.2 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	-0.7 ± 0.1 ^a	-5.6 ± 0.1 ^b	13.7 ± 1.6 ^c



A. 芽; B. 一年生根茎; C. 二年生根茎; D. 三年生根茎。

图3 不同部位紫茎长叶玉竹的冻结曲线

Fig. 3 Freezing curve of different part of *Polygonatum odoratum* sample

表1表明,紫茎长叶的成核时间较其余关玉竹有显著性延长,过渡阶段时间上吉竹1号较其余关玉竹有显著性缩短。

3.3 一年生关玉竹根状茎组织抗冷性比较 关玉竹芽孢生长在一年生根状茎前端,一年生根状茎保证了芽孢在返青时期的养分供给,所以研究关玉竹一年生根状茎的组织抗冷性对关玉竹抗冷研究有重要意义。紫茎长叶及长叶的过冷点低、冰点低、成核峰低和成核时间长,各种关玉竹过冷度无明显差异;大圆叶和长叶冷却温度较低,大圆叶过渡阶段时间长,见表2。

3.4 不同部位关玉竹组织抗冷性比较 紫茎长叶关玉竹的各部位冻结曲线各有差异,芽孢具有一个明显的突越点,而其余部位突越点不明显;关玉竹根状茎随年限增加突越点越来越不明显,冷冻时间增长,其可能与不同部位关玉竹水分组成及组织中溶液浓度有关,见图3。

3.5 水分组成与关玉竹组织抗冷性的关系 鉴于3.4研究,对紫茎长叶芽孢及一年生根茎水分组成进行测定,并分析水分与抗冷性之间的相关性,见表3,4。芽孢的过冷点、冰点和过冷度与其含水量、自由水含量成正相关。过冷点与含水量、自由水含量的相关系数分别为0.487,0.491;冰点与含水量、自

由水含量的相关系数分别为 0.700, 0.703; 过冷度与含水量、自由水含量具有强相关性, 相关系数高达 0.993。

表 3 紫茎长叶芽孢水分与冻结参数的相关系数

Table 3 Correlation index of water and freezing parameters in bud of ZJCY

项目	过冷点	冰点	过冷度	含水量	自由水
过冷点	1.000				
冰点	0.965	1.000			
过冷度	0.381	0.611	1.000		
含水量	0.487	0.700	0.993	1.000	
自由水	0.491	0.703	0.993	1.000 ¹⁾	1.000

注: ¹⁾ 在 0.01 水平(双侧)上显著相关。

表 4 紫茎长叶一年生根茎水分与冻结参数的相关系数

Table 4 correlation index of water and freezing parameters in one-year rhizome of ZJCY

项目	过冷点	冰点	过冷度	含水量	自由水
过冷点	1.000				
冰点	0.469	1.000			
过冷度	0.348	0.991	1.000		
含水量	-0.119	-0.933	-0.972	1.000	
自由水	-0.663	0.350	0.471	-0.664	1.000

由表 4 可见, 一年生根茎中水分与其抗冷性之间的相关性和芽孢不同。含水量与过冷点、冰点、过

冷度之间存在负相关性, 相关系数分别为 -0.119, -0.933, -0.972; 自由水含量与过冷点之间存在负相关性, 相关系数为 -0.663, 而与冰点、过冷度之间存在正相关性, 但相关系数不及过冷点, 自由水与含水量存在负相关性。

3.6 关玉竹抗冷性综合分析 根据关玉竹的育种目标及生产实际要求, 设定一个理想品系 X_0 , 以其性状数值与 5 个参试关玉竹各性状数值作比较, 有利或正表指标取比最大值稍大一点的数值, 不利或负表指标取比最小值稍小一点的数值, 形成参考数列。在本试验中, 理想品系 X_0 各性状值分别见表 5。

对芽孢、一年生根状茎、二年生根状茎及三年生根状茎分别用灰色关联度分析法进行关玉竹组织抗冷性综合评价。分辨系数为 0.5, 各部位等权关联度见表 6。根据关联度分析的原则, 关联度大的数列与理想数列最为接近, 也就是说, 关联度大的品系最接近理想品系。表 6 表明, 芽孢的等权关联度最大值出现在紫茎长叶为 0.959 6, 一年生根茎等权关联度最大值在大圆叶为 0.973 9, 二年生根状茎等权关联度是紫茎长叶为 0.966 4, 三年生根茎等权关联度为大圆叶 0.978 1, 对各部位等权关联度进行求平均数, 紫茎长叶表现出过冷点、冰点及成核峰温度低等特点, 是抗冷性最好的关玉竹品系, 其次是大圆叶和小圆叶。

表 5 理想关玉竹 X_0 冻结评价指标

Table 5 Freezing parameters of X_0

部位	过冷点/℃	成核时间/min	冰点/℃	过冷度/℃	成核峰/℃	冷冻结束温度/℃	过渡阶段时间/min
芽孢	-3.30	3.40	-1.38	0.80	-1.20	-6.80	22.00
一年根茎	-3.20	7.20	-0.80	0.70	-0.70	-7.50	43.00
二年根茎	-3.10	5.50	-1.00	0.80	-1.00	-6.70	43.00
三年根茎	-3.00	6.50	-1.50	0.30	-1.50	-6.60	40.00

表 6 关玉竹不同部位关联度及位次

Table 6 Correlation degree and rank in different part of *Polygonatum odoratum*

种类	芽孢		1 年根茎		2 年根茎		3 年根茎		平均数	
	关联度	排序	关联度	排序	关联度	排序	关联度	排序	关联度	排序
吉竹 1 号	0.733 3	4	0.657 9	5	0.815 2	3	0.662 3	5	0.717 2	5
大圆叶	0.680 7	5	0.973 9	1	0.863 0	2	0.978 1	1	0.873 9	2
紫茎长叶	0.959 6	1	0.929 1	2	0.966 4	1	0.825 7	3	0.920 2	1
长叶	0.806 7	3	0.796 9	4	0.753 5	4	0.847 9	2	0.801 3	4
小圆叶	0.945 6	2	0.846 4	3	0.686 7	5	0.756 8	4	0.808 9	3



4 结论与讨论

4.1 水分组成与药用植物抗冷性之间的关系 低温导致植物体内水分由液态向固态转变,造成细胞受到不可逆机械伤害^[9]。植物体内含水量降低,固形物质浓度相对提高,细胞液浓度升高,使得其冰点及过冷点降低。本试验结果表明,关玉竹芽孢中冰点与其含水量和自由水含量存在正相关性,这与祁娇娇等^[10]对核桃枝条的研究和韩瑞东等^[11]对赤松毛虫幼虫进行研究结论相同。但对一年生玉竹根茎进行分析,冰点与组织水含量呈负相关,与自由水含量呈正相关。笔者认为植物冰点不仅与其水分含量及组成有关,而且与植物组织内成核剂(细菌性和非细菌性)和遗传有一定关系,可能是造成一年生玉竹根茎冰点与其水分组成之间相关性发生改变的原因。另对二年生及三年生根茎的水分组成与其抗冷性进行分析发现,含水量过低难以测定植物冰点,其临界含水量的确定还需进一步研究。

4.2 药用植物抗寒品种的筛选及抗寒品种分析

近年来对药用植物抗寒品种筛选方法主要是依靠低温处理(交变试验箱或程控冰箱),对其生物膜透性、渗透调节物质、植物生长物质、保护酶活性、植物次生代谢产物变化进行测定,综合分析得出药用植物抗冷性的强弱,筛选具有抗寒特性的药用植物,此方法虽能间接测定药用植物抗冷性,但由于工作量大、试验数据多等因素,造成试验数据不准确^[12]。祁娇娇等^[10]提出依靠测定植物过冷点来反映植物抗冷性的强弱后,王玮等^[7]对测定指标进行扩展,认为需要结合植物的过冷点、冰点及过冷度来确定其抗冷性,笔者认为植物抗冷性是由多因素共同引起的,故推测评价植物抗冻能力需要依靠其冰点、过冷点、过冷度及冷却温度等温度型指标配合相对应时间进行综合确定,植物的过冷点越低,过冷度越大,冷却温度越低,过冷时间越长,冷却时间越长的植物其抗寒能力越强。在试验中观察发现这些指标与植物的形态有密切关系,这将在日后做进一步研究。

本试验结果表明,不同品系关玉竹组织抗冷性有所差异,紫茎长叶玉竹芽孢的抗冷性最强,具有抗寒特性。遗传特性决定不同植物的抗冷性差异,由于抗寒植物长期生活在温度相对较低的环境下,长期的自然选择使得其具有特定的基因型^[13]。紫茎长叶玉竹芽孢具有强抗冷性的原因可能与此有关,需进一步研究。

4.3 药用部位保鲜贮藏 随着中药现代化的发展,人们对食药兼用类植物越来越热衷,对食药兼用植物的保鲜也越来越关注。人们运用冰温技术(零度至冰点温度之间保鲜)对果蔬进行保存,能有效提高其保鲜时间^[14]。低温逆境能够诱导药用植物中某种药用成分含量的增加,使得食药兼用植物功能增强。

4.4 药用植物防寒减灾 东北地区冬季具有气温低、持续时间长等特点,在雪融化时常常会造成缓阳冻,对药用植物越冬造成困难,加之药用植物大田栽培中防寒措施不够完善,冻害一直是北方部分药用植物减产的重要影响因素。绘制植物生长关键部位与弱抗寒部位的冷冻曲线,测定其与水分之间的关系,结合现代化物联网信息技术,可对药用植物防寒减灾进行预测预报,减少损失,提高产量。

[参考文献]

- [1] 严仲恺,王永明,范惠明. 中国长白山药食兼用植物资源种志[M]. 长春:吉林科学技术出版社,2013:512.
- [2] 肖凤艳,奚广生. 2年生栽培关玉竹的多糖与矿质元素含量测定[J]. 贵州农业科学,2011(1):61.
- [3] 晏春耕,曹瑞芳. 玉竹的研究进展与开发利用[J]. 中国现代中药,2007,9(4):33.
- [4] Meng Q R, Liang Y Q, Wang W F, et al. Study on supercooling point and freezing point in floral organs of apricot[J]. Agr Sci China, 2007, 11: 1330.
- [5] 张治安,陈展宇. 植物生理学实验技术[M]. 长春:吉林大学出版社,2008:22.
- [6] James C, Seignemartin V, James S J. The freezing and supercooling of garlic (*Allium sativum* L.) [J]. Int J Refrig, 2009, 32(2):253.
- [7] 王玮,张旭东,施江,等. 不同品种牡丹萌芽过程中组织抗冷性的变化[J]. 北方园艺,2013(6):52.
- [8] Comandini P, Blanda G, Soto-Caballero M C, et al. Effects of power ultrasound on immersion freezing parameters of potatoes [J]. Innov Food Sci Emerg Technol, 2013, 18: 120.
- [9] 武维华. 植物生理学[M]. 2版. 北京:科学出版社,2008:462.
- [10] 祁娇娇,崔如海,李保国,等. 5个核桃品种结果母枝过冷点及结冰点的研究[J]. 林业实用技术,2012(11):13.
- [11] 韩瑞东,孙绪良,许永玉,等. 赤松毛虫越冬幼虫生化物质变化与抗寒性的关系[J]. 生态学报,2005,6(25):1352.
- [12] 王二欢,刘双利,宋治,等. 药用植物抗寒生理研究进展[J]. 中国农学通报,2014,30(16):79.
- [13] 高振,霍衡,孙鲁龙,等. 基于温度-伤害度关系分析酿酒葡萄根系及芽抗寒性[J]. 应用生态学报,2014,4(25):1.
- [14] 王颀,李里特,丹阳,等. 果品蔬菜冰点同可溶性固形物含量关系的研究[J]. 制冷学报,2005(1):14.