

短日照对金叶女贞茎抗寒性和电阻 抗图谱参数的影响

刘 辉,张 钢

(河北农业大学 园艺学院,河北 保定 071001)

摘要:为探明短日照处理对金叶女贞(*Ligustrum vicaryi*)茎抗寒性和电阻抗图谱参数的影响,找出抗寒性和电阻抗图谱参数的关系,完善电阻抗图谱法测定植物抗寒性技术,在抗寒锻炼前,对金叶女贞当年生扦插苗进行短日照处理,对照为自然日照长度;然后分别用电阻抗图谱法和电导法估测其抗寒性,并进行比较分析。结果表明:短日照处理能在抗寒锻炼期间使金叶女贞茎的抗寒性提高3 左右,金叶女贞茎的抗寒性与未冷冻处理茎的弛豫时间、冷冻处理后茎的胞外电阻率 r_e 、含水量之间均存在较高的相关性。电阻抗图谱法是一种测定植物抗寒性,尤其是估测不经冷冻处理样本抗寒性的可行的方法。

关键词:短日照;抗寒性;电阻抗图谱;弛豫时间;胞外电阻率;含水量

中图分类号:S718.43 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2008)02-0173-07

The Influence of Short - day on the Frost Hardiness and Electrical Impedance Spectroscopy Parameters in Stems of *Ligustrum vicaryi* During Hardening

LIU Hui ,ZHANG Gang

(College of Horticulture ,Agricultural University of Hebei ,Baoding 071001 ,China)

Abstract :To study the influence of short - day(SD) treatment on the frost hardiness(FH) and the parameters of electrical impedance spectroscopy(EIS) in stems of *Ligustrum vicaryi* during the hardening ,as well as to find the relation between the EIS parameters and the FH ,and perfect EIS method for studying FH on plant ,the cutting plants of *Ligustrum vicaryi* was short - day treated before frost hardening on 6 September ,2006 ,and the natural photoperiod was used as control . Then the FH was assessed by methods of EIS and conventional electrolyte leakage (EL) ,and the FH results between the two methods were compared . The results indicated that the FH of the stem in plants treated with SD was harder about 3 than that in control plants during the hardening . The FH had high correlation with relaxation time () of stem without controlled freezing ,extracellular resistance (r_e) of stems after controlled freezing tests and the water content of the stems . The EIS is one of the most promising methods for assessing FH ,especially without employing a controlled freezing test .

Key words :Short day ;Frost hardiness ;Electrical impedance spectroscopy ;Relaxation time ;Extracellular resistance ;Water content

木本植物停止生长是抗寒锻炼开始的先决条件^[1],停止生长早的植物,抗寒性发育也早^[2]。光周期的长度是植物停止生长的一个重要信号,在北美和欧洲许多国家,短日照处理是增强苗木抗寒性的主要措施之一^[3-5],经过处理后,抗寒锻炼比对照可提前14~42 d^[6,7],但是我国关于这方面的研究不多。

测定植物组织和器官的电阻抗图谱(Electrical impedance spectroscopy,EIS)能够获得基本生理学信息^[8]。EIS法是用等效电路(Equivalent electrical circuit)来表示所感兴趣的组织样本,植物细胞由细胞壁和原生质体两部分组成,原生质体是由生命物质-原生质所构成,两个主要的电解内含物(Electrolyt-

收稿日期:2007-12-19

基金项目:国家自然科学基金(30640035);河北农业大学留学回国人员启动基金(2004-06)

作者简介:刘 辉(1982-),男,河北沧州人,硕士,主要从事观赏植物抗性生理生态研究工作。

通讯作者:张 钢(1959-),男,河北栾城人,博士,教授,博士生导师,主要从事观赏植物抗性生理生态研究工作。

ic interior):液泡(Vacuole)和细胞质(Cytoplasm)分别被液泡膜(Tonoplast)和原生质膜(Plasma membrane)包围。细胞质含有大量由特定膜包围的细胞器。液泡内的水溶性溶液主要含有无机离子和有机酸。电流通过细胞膜时产生电势差(Electrical potential difference),电势差由细胞膜的有效运输系统和可选择的渗透特性来保持。细胞器具有不同的电学特性^[9,10],液泡和细胞质类似于电阻器,而细胞膜具有电容特性。细胞在受冻害时以及受冻害后结构改变,而原生质膜和液泡膜可能是植物细胞对冻害最敏感的部分^[11,12],因而可以用电阻抗来研究植物对冻害胁迫的响应^[13]。最近的研究结果表明,不用对样本做人工冷冻处理直接测定电阻抗,在抽样的当天即可得出样本的抗寒性^[14],但这种新方法尚处于研究初期,需要对不同的植物种类和不同的植物组织进行深入探究,使该方法日益完善^[15]。

金叶女贞(*Ligustrum vicaryi*)属木犀科(Oleaceae)女贞属(*Ligustrum*),由加州金边女贞与欧洲女贞杂交育成。自20世纪80年代末引入我国以来,已在全国广泛栽培。性喜光、稍耐荫、较耐寒,但幼苗抗寒性较差,在北京、河北一带冬季易受冻害,需采取防寒措施。本试验利用短日照诱导金叶女贞提前进行抗寒锻炼,探明短日照处理对抗寒性和电阻抗参数的影响,为我国观赏植物越冬防寒提供借鉴方法。

1 材料和方法

1.1 材料

金叶女贞当年生幼苗取自河北省定州市绿洲苗圃场(38°31'N,115°15'E),2006年6月6日,移栽到河北农业大学标本园(河北省保定市,38°50'N,115°26'E)。

1.2 方法

试验以自然日照长度(13 h)为对照、分别用10和8 h短日照处理(以A、B、C表示)。2006年9月6日开始用黑布对金叶女贞幼苗进行两种短日照处理,分别设定为10 h(8:00-18:00)/夜长14 h;8 h(9:00-17:00)/夜长16 h。处理21 d后,因为自然日照缩短(12 h),短日照分别改为9 h(8:30-17:30)/夜长15 h;7 h(9:30-16:30)/夜长17 h。9月6日测定一次对照A的各指标,处理完成7 d后^[16]开始测定3种处理的各指标,间隔为14~28 d,抗寒性变化越大间隔越短:即10-11月间隔期为14 d,2006年12月至2007年1月为28 d。

1.3 测定项目

1.3.1 EIS参数测定 首先如图1所示连接仪

器^[17],阻抗分析仪(HP4284A,USA) 由与通讯界面(HP-IB)连接的计算机驱动,Ag/AgCl电极连接电极凝胶和阻抗分析仪,样本的横切面与电极凝胶接触。样本和电极放在一个铝盒内。每处理16株幼苗,切取幼苗中部茎15 mm作为样本,测定样本的粗度。将样本放置在2个玻璃管之间。通过电极接触凝胶,再通过凝胶轻轻接触待测样本,在测定过程中保持样本的原初状态不动,以保证测定结果的稳定性。对阻抗分析仪进行开路和短路校正,校正后分别测定样本在42个频率下的电阻值和电抗值。测定频率为80 Hz~1 MHz。

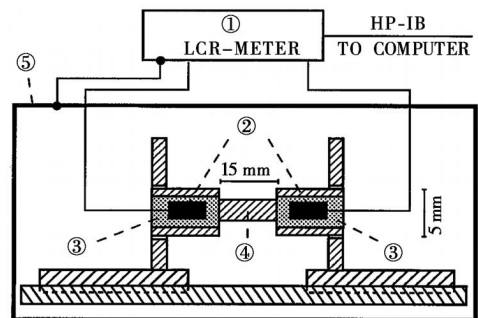


图1 植物组织阻抗测定示意图(引自 Burr et al. 2001^[17])

Fig.1 Schematic diagram of the experimental set-up for impedance measurement of plant tissues (from Burr et al. 2001^[17])

将上述频率下测定的样本电阻和电抗值分别作为实部和虚部,作出电阻和电抗随频率的变化曲线,即EIS。根据样本的EIS确定适用的等效电路。植物等效电路的确定一般分为2种类型:集总模型和分布模型,究竟应用哪种模型,取决于EIS弧的数量和图谱的偏度^[18]。金叶女贞用单-DCE模型(属于分布模型)。等效电路参数用T. Repo发展的LEVM8.06(Macdonald JR)^[19]软件进行拟合。在该模型中阻抗的计算公式为:

$$Z = R + \frac{R_1}{1 + (i \cdot \omega \tau)^n} \quad (1)$$

式中:Z为阻抗;R、R₁均为电阻;i = √-1,是复数算符;ω为角频率;τ = 2 × 10⁻⁶ s,其中f为频率;α为弛豫时间;β为弛豫时间的分布系数。

计算胞内、胞外电阻的公式如下:

$$R_e = R + R_1 \quad (2)$$

$$R_i = R \cdot (1 + \frac{R}{R_1}) \quad (3)$$

式中:R_e为胞外电阻;R_i为胞内电阻。

根据每一个样本的截面积和长度归一化,计算各电阻率参数:

$$r_x(m) = R_x \cdot \frac{A}{l} \quad (4)$$

式中: r_x 为各电阻的电阻率, 如 r_e 为胞外电阻率; r_i 为胞内电阻率; l 为样本的长度 (15 mm); A 为样本截面积。

弛豫时间和弛豫时间的分布系数不作归一化处理。采用 SPSS13.0 软件对试验数据进行处理和方差分析。

1.3.2 抗寒性测定 用电导法 (Electrolyte leakage, EL) 测定抗寒性时, 每处理随机抽取 56 株幼苗, 分别取中部茎段, 经去离子水洗净后, 分别装于 7 个塑料袋中, 放于冰箱内进行冷冻处理。设置 7 个温度 (包括使样本全部成活温度和使样本全部死亡温度), 每个处理温度 8 茎段, 最高温度设为 4℃, 剩余温度根据当时金叶女贞茎的抗寒性而设定, 降温速率为 6℃/h, 到达每个温度梯度时保持 4 h, 每处理取出 8 茎段, 置于 4℃ 冰箱中缓慢解冻 24 h。每冷冻温度茎段从中部切取 10 mm 小段, 再从中间纵向切开, 用去离子水清洗后, 置于盛有 10 mL 去离子水的试管中, 每试管放入 4 片剖开的茎段, 设重复 4 次。所有试管贴上标签, 用封口膜密封后, 放入摇床中振荡 24 h 直到电解质释放稳定。然后用数字电导率仪 (DDS-12A 型, 杭州东星仪器设备厂生产) 测定初电导值 (C_1), 封口后将试管置于水浴锅沸水中处理 20 min, 再放入摇床中振荡 24 h, 最后测终电导值 (C_2)。用公式 (5) 计算相对电解质渗出率 (Relative electrolyte leakage, REL) [20, 21]。

$$REL = \frac{C_1}{C_2} \cdot 100 \quad (5)$$

基于 REL 的 50% 正好与半致死温度 (LT_{50}) 一致, 以 REL 50% 时的温度作为半致死温度, 用以表示植物的抗寒性。由于测定时存在系统误差, REL 50% 时的温度与半致死温度有时会不一致, 为减小误差和简化测定程序, 测定植物在一系列冷冻温度下的 REL, 再配合 Logistic 方程 (6), 利用拐点温度表示组织半致死温度值 [20-23]。

$$y = \frac{A}{1 + e^{B \cdot (C - x)}} + D \quad (6)$$

式中: y = 相对电解质渗出率 (%); x = 冷冻处理温度 (℃); B = 斜率 (%/℃), REL 随冷冻温度变化的斜率; C = 拐点 (℃), 随测试冷冻温度的降低, 冻害变化率 (d_y/d_x) 达最大值时的温度值, 即为估测的抗寒性。当 $x \rightarrow -\infty$ 时, $y = D$, 为函数的下渐进线, 表示未受冻害时相对电解质渗出率的基础值。当 $x \rightarrow +\infty$ 时, $y = A + D$, 为函数的上渐进线, 表示受冻害时相对电解质渗出率的最大值。

用 EIS 法测定抗寒性时, 冷冻处理后, 每茎段切取中部 15 mm, 每冷冻温度设 8 个重复。用胞外电

阻率 r_e 配合 Logistic 方程 (6), 估测组织半致死温度值, 但式中: $y = r_e$; 当 $x \rightarrow -\infty$ 时, $y = D$, 函数的下渐进线, 表示受冻害时 r_e 的最小值; 当 $x \rightarrow +\infty$ 时, $y = A + D$, 函数的上渐进线, 表示未受冻害时 r_e 的基础值。

1.4 含水量的测定

测定时间和次数同抗寒性的测定。每次测定时, 每处理取 8 株苗木, 经去离子水洗净后, 每株苗木切取中部茎段 20 mm, 分别放入 8 个纸袋内 (8 次重复)。用电子天平分别称量茎样本的鲜质量后, 放入烘干箱中, 60℃ 保持 48 h, 取出样本放入干燥皿保持 24 h。最后用电子天平分别称量茎样本干质量。计算: 含水量 = (鲜质量 - 干质量) / 鲜质量 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 EIS 的变化

金叶女贞未冷冻茎的 EIS 的形状和 EIS 参数在抗寒锻炼期间都在发生变化。如图 2 所示, 茎的 EIS 只有一个弧。弧顶电抗值从 10 月 25 日到 11 月 22 日下降, 然后一直上升到 2007 年 1 月 17 日, 且弧顶在 10 月 25 日偏右, 而在其它时间则偏左。12 月 20 日前, 短日照处理与对照的 EIS 弧有明显差异, 之后趋于一致。

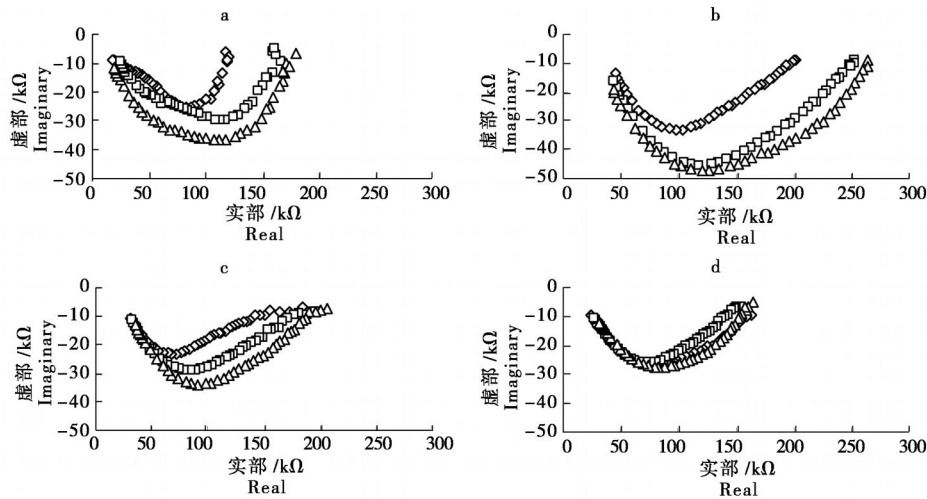
在短日照处理期间, 短日照处理与对照 A 的参数 r 均缓慢下降, 但处理 B 和 C 的下降速率明显快于对照 A; 之后不同处理变化趋势不同 (图 3 - a)。参数 r_1 在早期均呈上升趋势, 但处理 C 在 11 月 6 日出现下降趋势, 早于其他两处理 14 d, 然后均在 12 月 20 日开始上升 (图 3 - b)。胞外电阻率 r_e 和胞内电阻率 r_i 的变化趋势分别与参数 r_1 和参数 r 完全一样 (图 3 - c, d)。3 种处理茎的弛豫时间, 从 9 月到 12 月 20 日都呈下降趋势, 而后开始缓慢上升。在初期, 处理 B 和 C 的弛豫时间下降速度较快, 然后 A 的速度最快, 从 11 月 6 日开始它们以几乎相同的速度变化 (图 3 - e)。从 9 月 6 日起, 3 种处理茎的弛豫时间分布系数一直减小, 11 月 8 日后又有上升的趋势, 直到 12 月 20 日开始下降, 但从 11 月 22 日后, 处理 B 以和其他两处理相反的趋势变化 (图 3 - f)。

2.2 金叶女贞抗寒性的变化

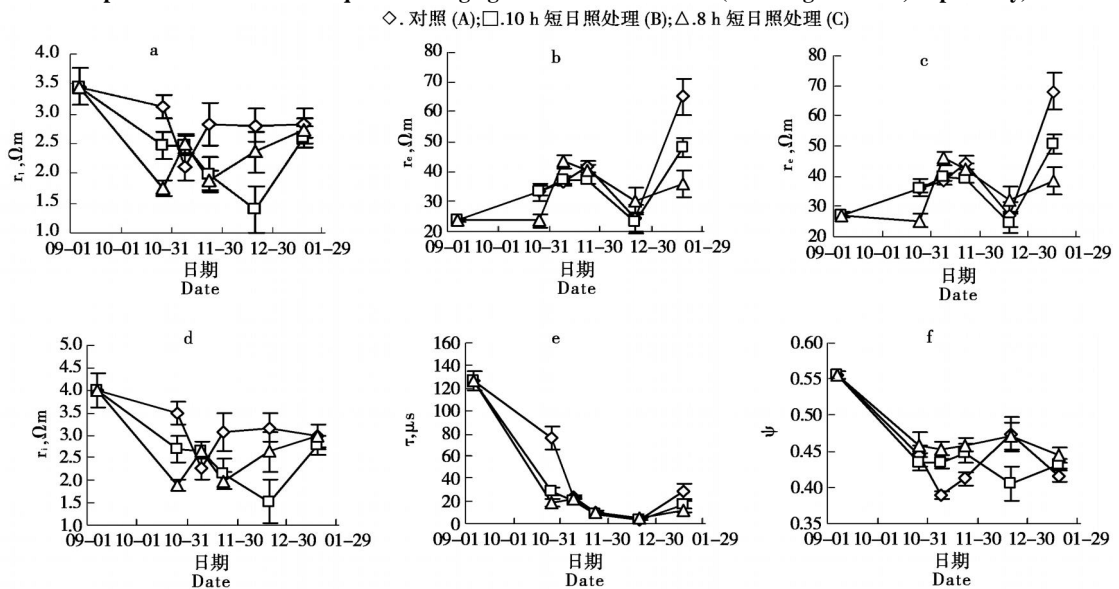
在同一时期, 2 种方法测定的抗寒性之间没有显著差异, 抗寒性在抗寒锻炼期间不断增强 (表 1)。用 EL 法测得的 2 种短日照处理后的抗寒性均在 11 月 8 日和 11 月 22 日与对照 A 有显著差异, 处理 B 比对照 A 分别提高 3.9℃, 3℃, 而处理 C 分别比对

照 A 提高 3.9 ,1.4 。到 1 月 17 日达到最大抗寒性时,3 种处理之间没有差异,在整个抗寒锻炼期间处理 B 和处理 C 之间的抗寒性都没有差异。对照 A 从 9 月 6 日到 11 月 8 日之间所测得的抗寒性均无显著差异,而处理 B 和 C 的抗寒性均在 11 月 8 日之

前就发生了显著变化。这些结果充分说明人为缩短日照时间可以加快木本植物的抗寒锻炼速度(表 1)。用 EIS 法测得的抗寒性,在 11 月 22 日,短日照处理的抗寒性比对照的高 2.6~3.2 (表 1)。



对照(A); .10 h 短日照处理(B); .8 h 短日照处理(C); a:10 月 25 日, b:11 月 22 日, c:12 月 20 日, d:1 月 17 日
.Control (A); .10 h short - day(SD) treatment (B); .8 h SD treatment (C); a:25 th Oct. , b:22 th Nov. , c:20 th Dec. , d:17 th Jan
图 2 不同时期未冷冻茎的 EIS 图谱由每种处理的数据(从右至左,从 80 Hz 到 1 MHz 共 42 个频率)分别平均而得
Fig.2 Impedance spectra of non - frost - exposed stems, the spectra are the pooled data of each treatment and composed of 42 different frequencies ranging from 80 Hz to 1 MHz(from right to left, respectively)



r, r_1 为电阻率, r_e 为胞外电阻率, r_i 为胞内电阻率, τ 为弛豫时间, τ_c 为弛豫时间分布系数
 r and r_1 are specific resistances, r_e is specific extracellular resistance, r_i is specific intracellular resistance,
 τ is relaxation time, and τ_c is distribution coefficient of

图 3 抗寒锻炼期间未冷冻茎 EIS 参数的变化

Fig.3 The varieties of EIS parameters of non - frost - exposed stems during frost hardening

2.3 含水量的变化

如图 4 所示,金叶女贞含水量随着抗寒锻炼的进程不断下降,在 12 月 20 日,处理 A,B,C 的含水量达到最小值:44.7 %,44.9 %,46 %,比 9 月 6 日的最大值 62.7 %分别降低了 28.7 %,28.4 %,26.5 %。11 月 8 日之前,对照 A 的含水量最大,但 11 月 22 日

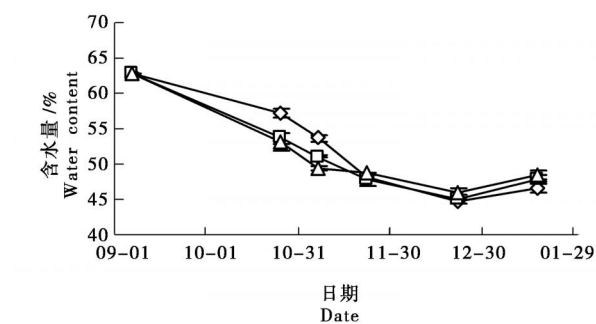
以后,它变为最小,其他两处理几乎相同。各处理含水量均在 12 月 20 日以后稍有上升,说明此时含水量已趋于稳定,略微上升可能是此时期多雪的气候造成的。10 月 25 日,2 种短日照处理之间的含水量无显著差异,但均与对照 A 有显著差异($p < 0.05$),11 月 8 日,3 种处理之间的含水量均有显著差异

($p < 0.05$) ,其中处理 C 和对照 A 有极显著差异($p < 0.05$) ,但处理 B 与前两者均无差异。3 种处理其他 0.01) 。1 月 17 日 ,处理 C 和对照 A 有差异 ($p < 0.05$) 时期的含水量之间均无差异。

表 1 EL 法与 EIS 法测定金叶女贞茎抗寒性的变化

Tab.1 The varieties of frost hardness(FH) in stems measured by the electrolyte leakage(EL) and the electrical impedance spectroscopy(EIS) methods					
处理 Treatment	日期 (月 - 日) Date	EL 法测定 抗寒性/ FH assessed by EL method	95 %置信区间 95 % confidence interval	EIS 法测定 抗寒性/ FH assessed by EIS method	95 %置信区间 95 % confidence interval
对照 A	09 - 06	- 8.3a	- 10.8 ~ - 5.7	- 5.7a	- 7.0 ~ - 4.4
	10 - 25	- 9.6aA	- 11.8 ~ - 7.4	- 12.0b	- 13.5 ~ - 10.5
	11 - 08	- 11.8aA	- 13.1 ~ - 10.5	- 13.6b	- 14.8 ~ - 12.5
	11 - 22	- 15.5bA	- 16.5 ~ - 14.4	- 15.5b	- 18.1 ~ - 12.9
	12 - 20	- 23.5cA	- 26.4 ~ - 20.6	- 21.1	-
	01 - 17	- 30.8dA	- 32.5 ~ - 29.1	- 25.6c	- 28.1 ~ - 23.1
处理 B	09 - 06	- 8.3a	- 10.8 ~ - 5.7	- 5.7a	- 7.0 ~ - 4.4
	10 - 25	- 12.1abA	- 14.2 ~ - 10.0	- 12.3b	- 13.1 ~ - 11.6
	11 - 08	- 15.7bB	- 18.0 ~ - 13.5	- 14.4b	- 15.6 ~ - 13.2
	11 - 22	- 18.5bB	- 19.6 ~ - 17.4	- 18.1c	- 18.3 ~ - 17.9
	12 - 20	- 27.6cA	- 30.4 ~ - 24.7	- 22.9	-
	01 - 17	- 32.5cA	- 37.8 ~ - 27.2	- 26.0	-
处理 C	09 - 06	- 8.3a	- 10.8 ~ - 5.7	- 5.7a	- 7.0 ~ - 4.4
	10 - 25	- 12.4bA	- 13.5 ~ - 11.3	- 13.1b	- 15.1 ~ - 11.2
	11 - 08	- 15.7cB	- 17.4 ~ - 14.1	- 15.3b	- 16.9 ~ - 13.7
	11 - 22	- 17.1cB	- 18.6 ~ - 15.6	- 18.7	-
	12 - 20	- 28.5dA	- 33.5 ~ - 23.6	- 24.2b	- 31.7 ~ - 16.8
	01 - 17	- 30.1dA	- 37.2 ~ - 23.0	- 26.1	-

注：“-”表示 95 %置信区间无穷大 ;在抗寒性一栏 ,小写字母不同表示同处理不同日期抗寒性差异显著 ,大写字母不同表示同日期不同处理抗寒性差异显著 (95 %置信区间不重合)。
Note:“-”Indicates that the Wald 95 % confidence intervals were infinite. In the column of FH ,in the same treatment the differences of FH were taken as significant and marked with different small letters when the values of the Wald 95 % confidence intervals do not overlap. On the same date the differences of FH were taken as significant between treatments and marked with different capital letters when the values of the Wald 95 % confidence intervals do not overlap.



. 对照 (A) ; . 10 h 短日照处理 (B) ; . 8 h 短日照处理 (C)
. Control (A) ; . 10 h SD treatment (B) ; . 8 h SD treatment (C)

图 4 抗寒锻炼期间茎含水量的变化

Fig.4 The varieties of water content of stems during frost hardening

2.4 抗寒性、EIS 参数和含水量之间的相关性

抗寒性与 EIS 参数弛豫时间 和含水量之间都存在极强的相关性。其中 ,冷冻处理后用 EL 法与 EIS 法 (r_e) 测定金叶女贞茎抗寒性之间的决定系数达到 0.97 (图 5 - a) 。在 12 月 20 日之前 ,随着抗寒锻炼的进行 ,含水量不断下降 ,金叶女贞茎的抗寒性与含水量之间的决定系数为 0.90 (图 5 - b) ,此时可

以用含水量估测金叶女贞茎的抗寒性。在金叶女贞整个抗寒锻炼期间 ,弛豫时间 和含水量总是以相同的趋势变化 ,决定系数达到 0.89 (图 5 - c) 。在 12 月 20 日之前 ,金叶女贞茎的弛豫时间 与其抗寒性的决定系数为 0.86 (图 5 - d) ,可以用来估测金叶女贞茎的抗寒性。

3 讨论与结论

3.1 短日照处理对金叶女贞茎抗寒性的影响

木本植物抗寒锻炼的先决条件是停止生长 ,而短日照可诱导植物提前停止生长 ,进而较早进行抗寒锻炼^[3] ,在抗寒锻炼初期 ,2 种短日照处理后的抗寒性均在 11 月 8 日和 11 月 22 日与对照 A 有显著差异 ,抗寒性提高幅度达 1.4 ~ 3.9 。但在抗寒锻炼完成后 ,3 种处理的抗寒性趋于一致 ,这和对前人不同树种的研究结果一致^[3 - 5] 。在本研究中 ,短日照处理 B 和处理 C 在 10 月 25 日的抗寒性比对照 A 在 11 月 8 日的抗寒性还要强 ,说明 2 种短日照处理后均能使抗寒锻炼提前 14 d 以上 ,这和以前的研究

结果也是一致的^[6,7]。Repo 等^[20]报道,影响欧洲赤松南部种源移植到北部的关键不是它的最大抗寒性,而是它进入抗寒锻炼的时期过晚,因此在我国一

些第一次秋季霜冻发生较早的地区,短日照处理可以作为提高木本植物初期抗寒性的有效措施。

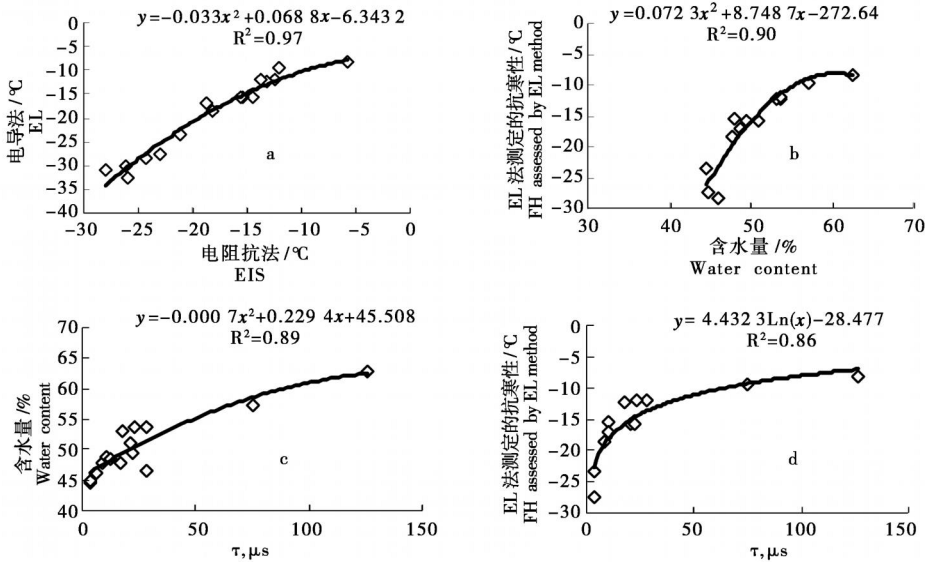


图5 抗寒锻炼期间茎 EIS、抗寒性和含水量之间的相关性

Fig. 5 Relation between the non - frozen EIS parameters, frost hardness and the water content

3.2 未经冷冻处理 EIS 参数与抗寒性的相关性

随着抗寒锻炼的深入, EIS 各参数均有变化, 但与抗寒性决定系数较大的只有 τ , 在 12 月 20 日之前, 弛豫时间 τ 持续减小, 与抗寒性变化趋势相反, 并有很强的相关性 ($R^2 = 0.86$)。这与 Repo 等^[14]和 Zhang 等^[18]关于欧洲赤松茎和针叶的研究结果一致。12 月 20 日以后, 3 种处理茎的弛豫时间 τ 均有不同程度的增加, 而此时抗寒性仍在增强, 这与抗寒锻炼初期两者的关系不同。以上结果表明, 在抗寒锻炼初期, 不用冷冻处理样本, 参数 τ 可以用来估测金叶女贞的抗寒性。

3.3 冷冻处理的 EIS 参数与抗寒性的相关性

经过冷冻处理后, 金叶女贞茎 EIS 各参数均发生一系列的变化, 根据它们的变化趋势, 发现样本经过冷冻处理后测定的胞外电阻率 r_e 是确定金叶女贞茎抗寒性最合适的一个参数, 再配以 Logistic 方程计算出的抗寒性与 EL 法测得的抗寒性有很强的相关性 ($R^2 = 0.97$), 这在前人的研究中也得到试验证明^[20, 22, 24]。由于原生质膜受冻害后胞内离子外渗到细胞间隙, 使胞外电阻下降, 所以胞外电阻随冻害增强而下降^[19, 24]。在抗寒锻炼后期样本抗寒性较强时, EIS 法测得的金叶女贞抗寒性比 EL 法弱 2.4 ~ 6.5, 这也与 Repo 等^[19, 24]的试验结果一致。但 Mancuso 等^[25]用 EIS 法和 EL 法测定 4 种 *Callistemon* 属和 2 种 *Grevillea* 属植物的抗寒性的结果非常类似。

3.4 含水量与抗寒性的关系

抗寒锻炼初期, 随着含水量的下降, 金叶女贞茎抗寒性逐步增强, 但含水量的降幅小于抗寒性的增幅, 两者有很强的相关性 ($R^2 = 0.90$), 这和以前的研究结果部分一致^[26]。此时, 含水量可以被用来估测金叶女贞的抗寒性。但是在 12 月 20 日以后, 含水量趋于平稳略有上升, 这说明在抗寒锻炼后期, 虽然抗寒性仍在发展, 但含水量已趋于稳定, 两者已没有相关性, 不能做为估测抗寒性的有效方法。

3.5 EIS 参数和含水量的关系

在抗寒锻炼期间, EIS 参数和含水量都发生变化, 其中弛豫时间 τ 和含水量的相关性较高 ($R^2 = 0.89$)。在 12 月 20 日之前, 随着含水量的不断下降, 弛豫时间 τ 持续减小, 这和 Repo 等^[14]对欧洲赤松茎的研究是一致的。在这之后, 含水量稍有上升, 而弛豫时间 τ 则增大, 所以含水量可能是影响弛豫时间 τ 的一个因子。

在抗寒锻炼初期, 短日照处理能使金叶女贞茎的抗寒性有较大提高; 样本不经冷冻处理情况下, 可通过茎的弛豫时间 τ 估测抗寒性; 样本经冷冻处理后, 可通过茎的胞外电阻率 r_e 测定抗寒性; 在抗寒锻炼初期, 用含水量估测抗寒性也是一种有效的方法。

参考文献:

- [1] Weiser C J. Cold resistance and injury in woody plants [J]. Science, 1970, 169: 1269 - 1278.

- [2] Cannell M G R, Murray M B, Sheppard L J. Frost hardiness of red alder (*Alnus rubra*) provenances in Britain [J]. Forestry, 1987, 60: 57 - 67.
- [3] Turner J, Mitchell S J. The effect of short day treatments on containerised Douglas - fir morphology, physiology and phenology [J]. New Forests, 2003, 26: 279 - 295.
- [4] Li B, Howe G T, Wu R. Developmental factors responsible for heterosis in aspen hybrids (*Populus tremuloides* × *P. tremula*) [J]. Tree Physiology, 1998, 18: 37 - 43.
- [5] Yu Q, Tigerstedt P M A, Haapanen M. Growth and phenology of hybrid aspen clones (*Populus tremula* L. × *Populus tremuloides* Michx.) [J]. Silva Fennica, 2001, 35: 15 - 25.
- [6] Hawkins B J, Henry G, Whittington J. Frost hardiness of *Thuja plicata* and *Pseudotsuga menziesii* seedlings when nutrient supply varies with season [J]. Canadian Journal of Forest Research, 1996, 26: 1509 - 1513.
- [7] Bigras F J, D'Aoust A L. Hardening and dehardening of shoots and roots of container black spruce and white spruce seedlings under short and long days [J]. Canadian Journal of Forest Research, 1992, 22: 388 - 396.
- [8] Ackmann J J, Seitz M A. Methods of complex impedance measurements in biological tissue [J]. CRC Critical Review in Biomedical Engineering, 1984, 11: 281 - 311.
- [9] Smith J R. The tonoplast impedance of Chara [J]. Journal of Experimental Botany, 1983, 34: 120 - 129.
- [10] Zhang M I N, Willison J H M. Electrical impedance analysis in plant tissues: the effect of freeze - thaw injury on the electrical properties of potato tuber and carrot root tissues [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1992, 72: 545 - 553.
- [11] Steponkus P L, Lynch D V, Uemura M. The influence of cold acclimation on the lipid composition and cryobehaviour of the plasma membrane of isolated rye protoplasts [J]. Philos Trans R Soc London Ser B, 1990, 326: 571 - 583.
- [12] Leborgne N, Dupou - Cezanne L, Teulieres C, et al. Lateral and rotational mobilities of lipids in specific cellular membranes of *Eucalyptus gunnii* cultivars exhibiting different freezing tolerance [J]. Plant Physiology, 1992, 100: 246 - 254.
- [13] Gerum C. Electrical impedance techniques in physiological studies [J]. New Zealand Journal of Forestry Science, 1980, 10: 196 - 207.
- [14] Repo T, Zhang G, Ryypä A, et al. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots in relation to cold acclimation [J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51: 2095 - 2107.
- [15] 张 钢, 肖建忠, 陈段芬. 测定植物抗寒性的电阻抗图谱法[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(1): 19 - 26.
- [16] Hawkins C D B, Shewan K B. Frost hardiness, height, and dormancy of 15 short - day, nursery - treated interior spruce seed lots [J]. Canadian Journal of Forest Research, 2000, 30: 1096 - 1105.
- [17] Burr K E B, Hawkins C D B, L'Hirondelle S J L, et al. Methods for Measuring Cold Hardiness of Conifers. [C]// Bigras F J, Colombo S J. Conifer Cold Hardiness. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001, 369 - 401.
- [18] Zhang G, Ryypä A, Repo T. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine needles during cold acclimation [J]. Physiologia Plantarum, 2002, 115: 385 - 392.
- [19] Repo T, Zhang M I N, Ryypä A, et al. Effects of freeze - thaw injury on parameters of distributed electrical circuits of stems and needles of Scots pine seedlings at different stages of acclimation [J]. Journal of Experimental Botany, 1994, 45: 823 - 833.
- [20] Repo T, Zhang G, Ryypä A, et al. The relation between growth cessation and frost hardening in Scots pines of different origins [J]. Trees, 2000, 14: 456 - 464.
- [21] Zhang G, Ryypä A, Vapaavuori E, et al. Quantification of additive response and stationarity of frost hardiness by photoperiod and temperature in Scots pine [J]. Canadian Journal of Forest Research, 2003, 33: 1772 - 1784.
- [22] Repo T, Lappi J. Estimation of standard error of impedance - estimated frost resistance [J]. Scandinavian Journal of Forest Research, 1989, 4: 67 - 74.
- [23] 朱根海, 朱培仁. 小麦抗冻性的季节变化以及温度对脱锻炼的效应[J]. 南京农学院学报, 1984, 12(2): 9 - 15.
- [24] Ryypä A, Repo T, Vapaavuori E. Development of freezing tolerance in roots and shoots of Scots pine seedlings at non-freezing temperatures [J]. Canadian Journal of Forest Research, 1998, 28: 557 - 565.
- [25] Mancuso S, Nicese F P, Masi E, et al. Comparing fractal analysis, electrical impedance and electrolyte leakage for the assessment of cold tolerance in *Callistemon* and *Grevillea* spp [J]. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2004, 79: 627 - 632.
- [26] Junttila O, Stushnoff C. Dehardening in flower buds of Saskatoon - berry, *Amelanchier alnifolia*, in relation to temperature, moisture content, and spring bud development [J]. Canadian Journal of Botany, 1983, 61: 164 - 170.