

美洲黑杨×青杨派杂种无性系苗期抗寒性的鉴定与筛选

李晓东¹, 樊军锋^{1*}, 邱兴¹, 吕小锋²

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 陇县八渡林场, 陕西 陇县 721200)

摘要:以美洲黑杨×青杨派 7 个杂种无性系与中绥 12 和陕林 4 号 2 个对照无性系的 1 年生休眠苗为试验材料, 分别测定了各无性系枝条的失水率、半致死温度、丙二醛(MDA)与可溶性蛋白含量以及 SOD 与 POD 酶活性共 6 项指标, 依据各项测定指标对各无性系抗寒性进行综合分析鉴定。结果表明: 各无性系间抗寒性差异极显著($p<0.01$), 抗寒性大小依次为 07-69×青 1>06-57×川 1>06-69×卜 1>中绥 12>07-西大寨×卜 1>陕林 4 号>08-69×青 2>08-69×青 4>E24-01; 无性系 07-69×青 1 在 6 个抗寒鉴定指标的评价结果中均表现最好, 属于抗寒无性系, 可为杨树生产和育种提供参考。

关键词:美洲黑杨; 杂种; 半致死温度; 抗寒性; 鉴定; 筛选

中图分类号:S792.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2015)02-0100-05

Identification and Selection on the Cold Tolerance in the Hybrids of *Populus deltoids* × *Section tacamahaca*

LI Xiao-dong¹, FAN Jun-feng^{1*}, QIU Xing¹, LYU Xiao-feng²

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Badu Forest Farm of Longxian County, Longxian, Shaanxi 721200, China)

Abstract: Taking 7 hybrids of *P. deltoides* × *Section tacamahaca* and two control clones (Zhongsui 12, Shaanxi No. 4) as experimental materials, 6 indicators of the one-year-old seedlings were measured, including dehydration rate, LT₅₀, MDA and soluble protein contents, SOD, and POD activities. The cold tolerance of the clones was comprehensively compared according to those indicators. The results showed that there were obvious cold tolerance differences among the clones at 0.01 statistical level, and the order was 07-69×*P. cathayana* 1, 06-57×*P. szechuanica* 1, 06-69×*P. purdomii* 1, Zhongsui12, 07-Westda-zhai×*P. purdomii* 1, Shaanxi No. 4, 08-69×*P. cathayana* 2, 08-69×*P. cathayana* 4, E24-01. Among all the hybrid materials, 07-69×*P. cathayana* 1 showed the best cold tolerance for its six evaluated indicators, which belonged to the cold tolerance clone. The results would provide a theoretical support for the breeding and production of poplar.

Key words: *Populus deltoids*; hybrid; semi-lethal temperature (LT₅₀); cold tolerance; identification; selection

杨树, 杨柳科 (Salicaceae) 杨属 (*Populus* L.), 多年生木本植物, 乔木, 树体高大, 雌雄异株^[1], 是当今世界中纬度地区栽培面积最广的一个树种。杨树用途广泛, 既可作为加工业原料, 也可作为民用材,

还被广泛用作防护林树种^[2]、园林景观树种和能源树种^[3], 越来越受到人们的重视。近年来, 随着人工杂交优良杨树品种和丰产栽培技术的广泛应用, 我国杨树造林面积不断扩大, 现已成为世界上杨树人

收稿日期: 2014-05-29 修回日期: 2014-07-02

基金项目: 国家林业局林业公益性行业科研专项 (201404113)。

作者简介: 李晓东, 男, 在读硕士, 研究方向: 林木遗传育种林业生物技术。E-mail: lixiaodong268@163.com

* 通信作者: 樊军锋, 男, 博士, 研究员, 研究方向: 杨树新品种选育及油松遗传改良。E-mail: fanjf28@163.com

工林面积最大的国家^[4]。但是,在我国北方地区,特别是“三北”及更高纬度的地区,杨树生长过程中常会遭到低温胁迫,尤其是在晚秋和早春时期。由于现有的许多速生丰产系不耐低温,气温的骤降会对树木产生极大伤害^[5],造成减产甚至绝产,难以充分发挥其优良特性,低温寒害和冻害已成为我国北方扩大杨树栽种区域的主要限制因子。

目前评定林木抗寒性的主要指标为形态、生理生化和代谢指标^[6]。植物抗寒性是植物在对低温环境长期的适应中,通过自身的遗传变异和自然选择而获得的一种适应性^[7],而其低温适应的过程,与大量的生理生化反应密切相关^[8],通过对这些生理生化反应中关键生理指标的检测可以确定植物的抗寒性。本试验采用人工低温胁迫的方法对西北农林科技大学林学院杨树良种选育课题组经多年筛选的美洲黑杨(*Populus deltoids*)×青杨派(*Section tacamahaca*)7个优良杂种无性系进行处理,测定与抗寒有关的生理指标并进行分析,综合评价它们的抗寒性,筛选出抗寒力较强的无性系,以期为抗寒优良新品种的选育、推广和合理开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验以西北农林科技大学林学院杨树良种选育课题组经多年筛选的美洲黑杨(*Populus deltoids*)×青杨派(*Section tacamahaca*)7个优良杂种无性系为供试树种,以中绥12和陕林4号为对照。其中,中绥12号是中国林科院林研所及黑龙江省绥化林业局选育出的速生杨新品种,主干通直,树姿美观,稳定性好,适应广泛,材质优良,耐严寒;陕林4号是西北农林科技大学林科院选育出的优良品种,树干通直,生长迅速,材质好,适应性强,具有较强的抗寒性。9个样本均取自西北农林科技大学渭河试验站。于2014年1月中旬在试验站苗圃选取各无性系地径约2 cm、无病虫害的1年生休眠苗10株,挂牌标记后带回实验室,用于各项指标的测定。

1.2 试验处理

将各无性系试验材料剪成20 cm的枝段,先用自来水冲洗,再用去离子水漂洗3次,用滤纸吸干,分成2份,一份置于无暖气的室内用于枝条失水率的测定,另一份放入塑料自封袋,置于超低温冰箱,采用梯度降温法进行低温胁迫处理。设定的温度梯度分别为-15℃、-20℃、-25℃、-30℃与-35℃,并以常温(CK)为对照。降温速率为4℃·h⁻¹,达到所需温度后继续维持24 h,每间隔5℃取出一批

枝条用于相对电导率、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性和可溶性蛋白含量的测定。

1.3 测定方法

1.3.1 枝条失水率测定 将冲洗干净的各无性系材料,分别剪成长为10 cm的枝段,混合均匀,称重后置于无暖气的室内,每24 h称重1次,连续测定8 d^[9],计算公式为:枝条失水率=($T_1 - T_2$)/ $T_1 \times 100\%$,式中: T_1 为最初鲜重; T_2 为测定点重,各无性系重复3次。

1.3.2 相对电导率的测定 将低温处理后的各无性系材料截成0.5 cm的小段,混匀后用去离子水冲洗3次,分别称取约1 g放入锥形瓶中,加入去离子水25 mL,摇匀后浸提24 h,用雷磁DDS-307A型电导率仪测定其电导率;然后再将样品放入沸水浴中煮30 min,取出冷却后摇匀,再用电导率仪测定其电导率^[10]。计算公式为:相对电导率= $C_1/C_2 \times 100\%$,式中: C_1 为煮前电导率; C_2 为煮后电导率,各无性系重复3次。

1.3.3 丙二醛(MDA)含量测定 采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[11]、超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用NBT光化还原法^[12]、过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[12]、可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝G-250染色法^[11],各无性系重复3次。

1.4 数据处理

试验数据采用Excel 2003进行处理;采用SPSS17.0统计软件对试验数据进行方差分析和多重比较;半致死温度(LT₅₀)采用不同温度处理下的相对电导率与Logistic方程相结合的方法^[13],求出不同类型杨树的低温半致死温度(LT₅₀),Logistic方程的表达式为: $y=k/(1+ae^{-bx})$ (a, b, k 均>0),式中: y 为相对电导率(%), x 为处理温度(℃), k 为细胞伤害率的饱和容量, a, b 为方程参数,LT₅₀=(lna)/ b 。

2 结果与分析

2.1 不同无性系的枝条失水率与抗寒性

枝条失水率是树木越冬能力强弱的标志之一,在低温条件下抗寒性强的树种常常具有较高的保水能力^[14]。从表1可以看出,随着处理时间的延长,各无性系的枝条失水率均呈现增加的趋势,且不同无性系间的枝条失水率差异极显著($p<0.01$),无性系07-69×青1的枝条失水率最低,8 d后的枝条失水率为32.91%,说明其枝条在冬季保持体内水分能力最强,抗寒能力最强;无性系06-57×川1、06-69×卜1、中绥

12 的枝条失水率较低,8 d 后的枝条失水率在 34%~37%,保水能力表现较强,抗寒性较强;另外 5 个无性系 8 d 后的枝条失水率都在 40%以上,保水能力表现较差,抗寒性较弱;保水能力最强的无性系 07-69×青 1 的枝条失水率比对照无性系陕林 4 号和中绥 12 分别低 9.70%和 2.91%。

表 1 不同时间处理对各无性系枝条失水率的影响

无性系	时间/d							
	1	2	3	4	5	6	7	8
07-69×青 1	9.42 g	15.91 g	19.93 g	23.33 g	26.17 g	28.84 g	31.10 g	32.91 g
06-57×川 1	10.17 f	18.64 d	20.84 f	26.67 d	27.52 f	31.70 e	33.62 e	36.94 d
08-69×青 4	13.90 a	22.10 a	28.75 a	31.96 b	36.96 a	37.63 c	41.01 b	42.33 b
E24-01	13.66 b	22.43 a	28.42 a	33.56 a	37.05 a	39.81 a	42.73 a	44.49 a
06-69×卜 1	11.21 e	16.33 f	21.77 e	24.71 f	29.16 e	30.23 f	33.21 f	34.48 f
07-西大寨×卜 1	12.30 c	19.90 c	25.31 c	29.99 c	33.33 d	36.17 d	38.81 c	40.88 c
陕林 4	14.10 a	21.77 b	27.76 b	32.19 b	34.98 c	38.04 b	40.85 b	42.61 b
08-69×青 2	12.51 c	22.13 a	27.68 b	33.33 a	35.31 b	39.55 a	42.63 a	44.71 a
中绥 12	11.87 d	17.91 e	23.21 d	25.91 e	28.95 e	31.88 e	34.06 d	35.82 e

注：同列数据后标不同小写字母表示在 0.01 水平下差异极显著。

2.2 不同低温处理下各无性系的半致死温度 (LT₅₀)

根据相对电导率的变化趋势结合 Logistic 方程,求出各无性系的 LT₅₀ 值(表 2)。结果表明,各无性系的 LT₅₀ 差异极显著($p<0.01$),LT₅₀ 在-45℃~-19℃之间。根据各无性系的 LT₅₀,可以将抗寒性大致分为 4 类:第 1 类为抗寒性最强的,LT₅₀ 在-40℃以下,包括无性系 07-69×青 1 和 06-57×川 1;第 2 类为抗寒性强的,LT₅₀ 在-30℃以下,包括无性系 06-69×卜 1、07-西大寨×卜 1 和中绥 12;第 3 类为抗寒性较强的,LT₅₀ 在-26℃左右,包括无性系陕林 4 号和 08-69×青 2;第 4 类为抗寒性较弱

的,LT₅₀ 在-20℃左右,包括无性系 08-69×青 4 和 E24-01。

各无性系按 LT₅₀ 从低到高的顺序依次为:07-69×青 1>06-57×川 1>06-69×卜 1>中绥 12>07-西大寨×卜 1>陕林 4 号>08-69×青 2>08-69×青 4>E24-01。其中无性系 07-69×青 1 的 LT₅₀ 最低,抗寒性最强;无性系 E24-01 的 LT₅₀ 最高,抗寒性最弱。07-69×青 1 与 E24-01 2 个无性系的 LT₅₀ 差值达到 25℃左右,可见,9 个无性系间抗寒性差异较大,可进行无性系间选择。

表 2 低温处理下各无性系的 Logistic 方程及其半致死温度

无性系	回归方程	半致死温度(LT ₅₀)/℃	拟合度 R ²
07-69×青 1	y=85.059 1/(1+2.203 1e ^{-0.017 7x})	-44.63 h	0.978 0**
06-57×川 1	y=102.143 3/(1+3.258 4e ^{-0.028 6x})	-41.30 g	0.961 9**
08-69×青 4	y=99.146 5/(1+2.439 0e ^{-0.039 5x})	-22.57 b	0.984 5**
E24-01	y=98.834 1/(1+2.648 8e ^{-0.049 8x})	-19.56 a	0.972 5**
06-69×卜 1	y=99.335 4/(1+2.950 3e ^{-0.029 7x})	-36.43 f	0.960 7**
07-西大寨×卜 1	y=102.864 1/(1+3.157 9e ^{-0.036 6x})	-31.42 d	0.977 1**
陕林 4 号	y=100.000 3/(1+2.450 0e ^{-0.034 1x})	-26.28 c	0.982 6**
08-69×青 2	y=98.384 0/(1+2.459 6e ^{-0.037 4x})	-26.06 c	0.977 4**
中绥 12	y=98.779 4/(1+2.993 0e ^{-0.032 7x})	-33.53 e	0.958 7**

注：*、** 分别表示拟合度达显著或极显著水平。

2.3 不同低温胁迫对各无性系生理指标的影响

2.3.1 不同温度处理下各无性系生理指标的变化
分别测定不同温度下各无性系枝条中丙二醛(MDA)和可溶性蛋白(SP)的含量以及 SOD 和 POD 的酶活性,取其平均值列于表 3。由表 3 可知,不同低温处理下各无性系枝条中的丙二醛(MDA)、可溶性蛋白(SP)、SOD 和 POD 这 4 个生理指标差距明显,无性系 07-69×青 1 枝条中的可溶性蛋白(SP)含量及 SOD 和 POD 活性始终明显高于其他 8 个无性系,丙二醛(MDA)含量则始终低于其他无性系。其中无性

系 07-69×青 1 枝条中的丙二醛(MDA)含量比对照无性系陕林 4 号和中绥 12 分别低 35.84%和 17.66%,可溶性蛋白(SP)含量比对照无性系陕林 4 号和中绥 12 分别高 70.60%和 12.90%;SOD 活性比对照无性系陕林 4 号和中绥 12 分别高 19.49%和 8.05%;POD 活性比对照无性系陕林 4 号和中绥 12 分别高 39.82%和 23.55%。丙二醛(MDA)的含量与植物抗寒性呈负相关^[15],抗寒性强的无性系 SOD 和 POD 等酶活性较高^[16],由此可以推断,无性系 07-69×青 1 的抗寒性较其他强。

表 3 低温处理对各无性系生理指标的影响

Table 3 Effects of different temperature stress on physiological indicators of nine poplar clones

无性系 Clones	MDA/(mmol · g ⁻¹)	SP/(mg · g ⁻¹)	SOD/(U · g ⁻¹ · h ⁻¹)	POD/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹)
07-69×青 1	6.48±0.26 e	15.32±0.56 a	282±5.3 a	4 884±82 a
06-57×川 1	6.75±0.47 e	12.79±0.34 b	269±3.5 ab	3 665±27 e
08-69×青 4	14.21±0.77 a	8.45±0.25 d	206±5.2 d	2 953±32 h
E24-01	13.87±0.54 a	10.97±0.15 c	203±2.0 d	2 770±64 i
06-69×卜 1	8.13±0.20 d	14.66±0.75 a	276±2.5 ab	4 488±78 b
07-西大寨×卜 1	10.30±0.23 c	11.34±0.69 c	229±8.1 c	4 165±57 c
陕林 4 号	10.10±0.33 c	8.98±0.20 d	236±8.5 c	3 493±37 f
08-69×青 2	12.17±0.51 b	8.06±0.17 d	209±5.5 d	3 274±43 g
中绥 12	7.87±0.26 d	13.57±0.34 b	261±7.8 b	3 953±64 d

注：同列数据后标不同小写字母表示在 0.01 水平下差异极显著。

2.3.2 不同温度处理下抗寒无性系 07-69×青 1 生理指标的变化 在低温胁迫下,无性系 07-69×青 1 枝条中丙二醛(MDA)和可溶性蛋白(SP)含量、SOD 和 POD 活性如表 4 所示,通过对不同温度处理后各项生理指标的方差分析可知,低温胁迫下无性系 07-69×青 1 枝条中丙二醛(MDA)和可溶性蛋白(SP)含量、SOD 和 POD 活性在各温度处理条件下差异极显著($p<0.01$)。

无性系 07-69×青 1 枝条中,丙二醛含量变化趋势表现为丙二醛含量随着处理温度的降低而升高,呈现为“S”型曲线,在-35℃处理时丙二醛的含量达到峰值,为 9.89 mmol · g⁻¹,与对照相比,其相对增幅为 289.37%;可溶性蛋白含量随着处理温度的降低,呈现先升高后下降的趋势,在-25℃处理时可

溶性蛋白的含量达到峰值,为 17.87 mg · g⁻¹,与对照相比,其相对增幅为 30.72%;在低温处理下,SOD 活性随着处理温度的降低先升高后下降,在-25℃处理时 SOD 活性达到峰值,为 335 U · g⁻¹ · h⁻¹,与对照相比,其相对增幅为 43.16%;在低温处理下,POD 活性随着处理温度的降低先升高后下降,在-25℃处理时 POD 活性达到峰值,为 6010 U · g⁻¹ · min⁻¹,与对照相比,其相对增幅为 77.71%。由此推断,低温胁迫造成了无性系 07-69×青 1 枝条细胞内的剧烈损伤,细胞膜脂过氧化作用增强,使得膜质过氧化产物丙二醛(MDA)含量增加,并导致了枝条细胞内可溶性蛋白(SP)含量及 SOD 和 POD 等保护酶活性的变化。

表 4 低温处理对 07-69×青 1 生理指标的影响

Table 4 Effects of different temperature stress on physiological indicators of 07-69×*P. cathayana* 1

温度/℃	MDA/(mmol · g ⁻¹)	SP/(mg · g ⁻¹)	SOD/(U · g ⁻¹ · h ⁻¹)	POD/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹)
CK	2.54±0.07 f	13.67±0.19 d	234±4.7 e	3 382±36 e
-15	3.35±0.11 e	14.34±0.23 c	254±9.0 d	4 425±93 d
-20	5.74±0.13 d	15.85±0.15 b	278±7.6 c	4 646±28 c
-25	8.04±0.17 c	17.87±0.39 a	335±8.3 a	6 010±124 a
-30	9.32±0.05 b	15.66±0.30 b	307±3.2 b	5 484±56 b
-35	9.89±0.21 a	14.52±0.11 c	284±8.0 c	5 355±70 b

注：同列数据后标不同小写字母表示在 0.01 水平下差异极显著。

2.4 不同鉴定指标间的相关性分析

表 5 反映了半致死温度(LT₅₀)、枝条失水率、MDA、SOD、POD 和可溶性蛋白共 6 个生理指标的相关系数矩阵,从表 5 得知,半致死温度(LT₅₀)、枝条失水率都与 MDA 含量呈极显著正相关,但与可溶性蛋白、SOD 和 POD 均呈极显著负相关,相关系数均达 0.75 以上,由此说明,半致死温度(LT₅₀)和枝条失水率这两项指标能较大程度反映出材料的抗寒能力,且各个生理指标间具有较大的相关性。

3 结论与讨论

细胞膜作为细胞对外界的屏障,在植物遭受低温胁迫时,其膜脂物相会发生变化^[17],同时,植物为

了避免冻害,提高自身的抗寒能力,会使机体的保水力、渗透调节物质、细胞膜透性、膜质过氧化产物以及抗氧化物酶系等产生一系列相应的变化^[18]。本研究结果表明:各无性系的枝条失水率、丙二醛(MDA)含量与其半致死温度(LT₅₀)呈现极显著正相关,这与杨敏生^[14]等的研究结果相一致。一般认为可溶性蛋白作为一种低温诱导蛋白,随着低温锻炼的进行,其含量与植物的抗寒性呈正比^[19],本研究也证实了这种结果;此外,SOD 和 POD 酶活性与其半致死温度(LT₅₀)也呈极显著负相关,这说明,运用上述这些指标均可以准确反映和鉴定无性系的抗寒力,可以作为杨树抗寒性评价的有效指标。

表 5 各抗寒指标间的相关系数矩阵

Table 5 Correlation matrix

项目	半致死温度 LT ₅₀	枝条失水率	MDA	SOD	POD	可溶性蛋白
半致死温度 LT ₅₀	1.000 0					
枝条失水率	0.892 7**	1.000 0				
MDA	0.937 9**	0.867 0**	1.000 0			
SOD	-0.919 4**	-0.941 2**	-0.942 4**	1.000 0		
POD	-0.854 7**	-0.850 0**	-0.820 5**	0.841 6**	1.000 0	
可溶性蛋白	-0.800 8**	-0.916 4**	-0.785 6**	0.865 2**	0.791 9**	1.000 0

注：* 为差异显著，** 为差异极显著。

本研究利用枝条失水率、半致死温度、丙二醛含量、可溶性蛋白含量、超氧化物歧化酶活性和过氧化物酶活性等 6 项生理指标对 9 个供试杨树无性系抗寒性进行综合评价,结果表明:9 个供试杨树无性系的抗寒能力由大到小依次为 07-69×青 1 > 06-57×川 1 > 06-69×卜 1 > 中绥 12 > 07-西大寨×卜 1 > 陕林 4 号 > 08-69×青 2 > 08-69×青 4 > E24-01。其中,无性系 07-69×青 1 在 9 个供试的杨树无性系中具有最强的抗寒能力,其半致死温度(LT₅₀)更是达到-45℃左右,对低温的适应能力要远强于抗寒性较好的对照品种陕林 4 号和中绥 12,表明无性系 07-69×青 1 可作为杨树耐寒品种,在我国北方地区或“三北”及其以外更高纬度的地区进行推广栽培;亦可作为优良种质资源,进行抗寒新品种的选育。

参考文献：

[1] 张志毅,于雪松. 杨树生殖生物学研究进展[J]. 北京林业大学学报,2000,22(6):69-74.
ZHANG Z Y, YU X S. Advances in reproduction biology of poplars [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2000, 22 (6):69-74. (in Chinese)

[2] 张德强,张志毅,杨凯. 杨树分子标记研究进展[J]. 北京林业大学学报,2000,22(6):79-84.
ZHANG D Q, ZHANG Z Y, YANG K. Advances of molecular marker researches in poplar [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2000, 22(6):79-84. (in Chinese)

[3] HASEGAWA P M, BRESSAN R A, PARDO J M. The dawn of plant salt tolerance genetics [J]. Trends in Plant Science, 2000, 5(8):317-319.

[4] 林善枝, 张志毅. 杨树抗冻性的研究现状[J]. 植物学通报, 2001,18(3):318-324.

[5] 胡建芳, 陈建中, 姚延椿. 杨树抗寒性研究进展[J]. 世界林业研究, 2011,24(3):32-36.
HU J F, CHEN J Z, YAO Y T. Research progress of cold resistance of poplar [J]. World Forestry Research, 2011, 24 (3):32-36. (in Chinese)

[6] 史清华, 高建社, 王军, 等. 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.
SHI Q H, GAO J S, WANG J, *et al.* Determination and eval-

uation of cold resistance of 5 poplar clones [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica , 2003, 23 (11): 1937-1941. (in Chinese)

[7] 陈立松,刘星辉. 果树逆境生理[M]. 北京:中国农业出版社, 2003.

[8] HUGHES M A, DUNNN M A. The molecular biology of plant acclimation to low temperature [J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47(3):291-305.

[9] 李夷平,孙慧珍,李海朝. 移栽兴安落叶松幼树水分饱和和亏缺及保水力初步研究[J]. 林业科技,2009,34(6):11-13.

[10] 周永学,龚月桦,樊军锋. 4 种松树抗寒性的比较[J]. 西北林学院学报,2011,26(5):69-71.
ZHOU Y X, GONG Y H, FAN J F. Comparison on cold resistance of 4 pine conifers [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(5):69-71. (in Chinese)

[11] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.

[12] 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,2004.

[13] 王飞,陈登文,高爱琴,等. 杏品种一年生休眠枝、花、幼果抗寒的相关分析[J]. 西北植物学报,1999,19(4):618-622.

[14] 杨敏生,王春荣,裴保华. 白杨杂种无性系的抗寒性[J]. 东北林业大学学报,1997,25(4):20-23.
YANG M S, WANG C R, PEI B H. Cold resistance of hybrid clone of white poplar [J]. Journal of Northeast Forestry University, 1997, 25(4):20-23. (in Chinese)

[15] 任建伟. 引进优良杨树杂种无性系组培繁殖及抗寒性研究[D]. 保定:河北农业大学,2011.

[16] 杨敏生,裴保华,程志鹏. 白杨杂种无性系抗寒性生理指标动态分析[J]. 植物生态学报,1997,21(4):367-375.
YANG M S, PEI B H, CHENG Z P. Physiologic indexes of cold resistance in hybrid white poplar clones [J]. Acta Phytocologica Sinica,1997, 21(4):367-375. (in Chinese)

[17] 沈漫,王明麻,黄敏仁. 植物抗寒机理研究进展[J]植物学通报,1997,14(2):1-8.

[18] 邱乾栋,吕晓贞,臧德奎,等. 植物抗寒生理研究进展[J]. 山东农业科学,2009,8:53-57.

[19] 高京草,王长柱,王进国,等. 枣树抗寒性测定方法研究[J]. 西北林学院学报,2011,26(5):72-75.
GAO J C, WANG C Z, WANG J G, *et al.* Determination methods of cold resistance of Chinese jujube [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26 (5): 72-75. (in Chinese)