

8 个白杨无性系抗寒性测定与评价

张海燕,樊军锋*,周永学,高建社

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

摘要:比较了低温胁迫下 8 个白杨派无性系抗寒性强弱,以 1 年生休眠苗为试验材料,测定-15~-35℃下的电导率、SOD、POD、CAT 活性、丙二醛含量、可溶性蛋白含量的变化,配合拟合的 logistic 方程并求出半致死温度,采用隶属函数法及聚类分析对其抗寒能力进行排序,并对 6 项测定指标进行相关性分析。结果表明,各无性系抗寒性差异明显,其半致死温度在-32.40~-23.53℃;无性系 A50 的隶属函数值最大,各项测定指标表现良好,抗寒性最强;依据相关性分析,相对电导率、POD、MDA 与无性系抗寒性综合评价值呈显著相关,可对 8 个无性系的抗寒能力评价提供一定的参考。依据综合评价方法对抗寒性的排序为 A50>秦白杨 1 号>84K>新疆杨>A46>I-101>毛白杨>A39。

关键词:白杨派;抗寒能力;半致死温度;生理指标;隶属函数

中图分类号:S792.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2020)02-0087-07

Determination and Evaluation on Cold-resistance of 8 Poplar Clones

ZHANG Hai-yan, FAN Jun-feng*, ZHOU Yong-xue, GAO Jian-she

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: In order to compare the cold resistance of eight poplar clones under low temperature stress, the annual dormancy seedlings were used as experimental materials to determine the change of conductivity, SOD, POD, CAT activity, malondialdehyde (MDA) content, soluble protein content at -15—-35℃. The cold resistance ability was ranked by membership function method and cluster analysis method, and the correlation analysis of six measured indicators was carried out. The results showed that the cold resistance of each clone was significantly different, and the semi-lethal temperature was -32.40—-23.53℃. The clonal A50 had the highest membership function value, and the measured indexes were good and the cold resistance was the strongest. According to the correlation analysis, the relative conductivity, POD, MDA and clonal cold resistance comprehensive evaluation values were significantly correlated, which could provide a reference for the evaluation of cold resistance of 8 clones. According to the comprehensive evaluation method, the cold resistance of 8 clones was in the order of A50>Qingbai Yang No. 1>84K>Xinjiang Yang>A46>I-101>*Populus tomentosa*>A39.

Key words: Sect. *Populus*; cold-resistance; semilethal temperature; physiological index; subordinate function

杨树生长迅速、适应力广,在人工林种植中居于重要地位。白杨派树种多为我国西北部乡土树种,其干型通直、材性优良,是工业用材、绿化防护林等

的主栽树种,但生长及分布常受到干旱、冻害等自然灾害的限制^[1-2]。目前极端天气频发等现象对杨树木材产量及地区生态建设产生严重不良影响。对杨

收稿日期:2019-05-30 修回日期:2019-07-31
基金项目:杨树工业资源林高效培育技术研究(SQ2016YFNC030041)。
作者简介:张海燕,女,硕士在读,研究方向:林木遗传育种林业生物技术。E-mail:zhhyest@163.com
*通信作者:樊军锋,男,博士,教授,研究方向:杨树新品种选育及油松遗传改良。E-mail:fanjf28@163.com

树抗寒性研究不仅有利于提高其环境适应能力,在新品种的选育及推广、缩短育种周期、减少农林经济损失等方面也具有重要意义^[3]。

植物抗寒性研究已取得众多成果,目前从植物形态及微观结构、生理调节机制、转基因和抗冻基因工程等方面逐渐深入探索^[4]。电导法是较为灵敏、简便的植物抗寒性测定方法,依据寒冷胁迫下细胞电解质渗透物的电导率值及半致死温度,可以准确反映植物忍耐的极限低温^[5-6]。通过测定多种生理生化指标,如渗透调节物、膜代谢产物、保护酶等,结合隶属函数法等综合评价方法,在杨树无性系抗寒性测定中已得到广泛应用^[7-8]。

本研究基于电导率、SOD、POD、CAT、丙二醛、可溶性蛋白等多项抗寒性相关指标和统计分析方法对白杨派中 8 个无性系的抗寒能力进行初步分析,依据半致死温度和隶属函数值对抗寒性进行比较排序,根据聚类分析对其抗寒性进行归类,以期进一步探寻杨树无性系抗寒性研究评价体系,为白杨无性系的选育推广及造林选择提供一定的理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试白杨无性系均采自西北农林科技大学渭河试验站种质资源库,其背景来源见表 1。于 2019 年 1 月底,选取生长状况基本一致的 1 年生休眠枝各 5 株。

表 1 试验材料背景来源

Table 1 Source and background of test materials

无性系	背景来源
A46	<i>Populus alba</i> (Italy); 由意大利引进银白杨无性系
A50	<i>P. alba</i> (Italy); 由意大利引进银白杨无性系
A39	<i>P. alba</i> (Italy); 由意大利引进银白杨无性系
I-101	<i>P. alba</i> (Italy); 由意大利引进银白杨无性系
秦白杨 1 号	I-101(<i>P. alba</i>) × 84K(<i>P. alba</i> × <i>P. glandulosa</i>); 西北农林科技大学选育的白杨无性系
84K	银白杨(<i>P. alba</i>) × 腺毛杨(<i>P. glandulosa</i>); 由南韓引进的银腺杨无性系
毛白杨	<i>P. tomentosa</i> ; 西北农林科技大学渭河试验站杨树种质资源库
新疆杨	<i>P. alba</i> ; 西北农林科技大学渭河试验站杨树种质资源库

1.2 试验处理

将采集的枝条自上而下剪至 1.5 m 处,冲洗表面后剪成 20 cm 左右枝段,去离子水冲洗,滤纸吸干,分为 6 组分装后放置于超低温冷冻储存箱,其中一份放置常温下作为对照(CK),各无性系每处理温度下设置 10 枝重复。采用人工梯度降温法设置温度梯度为-15、-20、-25、-30、-35℃。降温速率

为 4℃/h,降至目标温度后维持 24 h。

1.3 测定方法

1.3.1 相对电导率的测定 随机抽取低温处理后的枝段,用去离子水冲洗后剪成 0.5 cm 小段,置于装有适量去离子水的锥形瓶中,以封口膜封住。常温下于摇床震荡 12 h,测定其浸提液电导率 E_1 。将装有浸提液的锥形瓶于沸水浴中处理 30 min,冷却至室温后测定其电导率 E_2 ^[9]。各处理重复 3 次。

相对电导率=低温处理后电解质外渗液电导率(E_1)/煮沸后电解质外渗有电导率(E_2) × 100% (1)

1.3.2 生理指标的测定 1)酶液提取 称取研磨后的茎段 0.1 g,通过含有 0.5% Triton × 100 的 PBS (pH 7.8)提取粗酶液。

2)活性测定 POD、SOD、CAT 活性、MDA 含量参照高俊凤^[10]的方法。可溶性蛋白含量测定采用 BCA 蛋白定量试剂盒(康为世纪)。各无性系 3 次重复。

1.4 数据处理与分析

1.4.1 以各无性系电导率值 y 和相应处理温度 x 拟合 Logistic 回归方程(2),依据方程得到参数 a 、 b ,根据式(3)求出半致死温度 LT_{50} ^[11-12]。

$$\text{Logistic 方程: } y = k / (1 + ae^{-bx}) \quad (2)$$

$$LT_{50} = -\ln a / b \quad (3)$$

式中, y 为相对电导率, x 为处理温度(℃), a 、 b 为方程参数, k 为曲线渐近线,即细胞最大电解质透出率(a 、 b 、 $k > 0$)。

1.4.2 根据无性系各测定指标 X_i 求出其隶属函数值并对各无性系抗寒性排序(4),对负向指标采用反隶属函数式(5)转换^[13]。

$$\text{隶属函数: } U(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (4)$$

$$\text{反隶属函数: } U(X_i) = 1 - (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (5)$$

式中, $U(X_i)$ 为隶属函数值, X_i 为无性系某项指标测定值, X_{\max} 和 X_{\min} 为所有参试无性系中某一指标内的最大值和最小值。

1.4.3 使用 Excel2016 及 SPSS22.0 软件进行数据处理、作图、差异显著性分析及 Pearson 相关性分析。聚类分析采用 Q 法系统聚类,个体间距离采用欧氏距离计算^[14]。

2 结果与分析

2.1 各无性系 Logistic 回归方程与半致死温度

根据各无性系相对电导率建立 Logistic 回归方程并求出半致死温度 LT_{50} 。由表 2 可知,各无性系方程拟合度都达到极显著水平($P < 0.01$),最低达

0.932, 最高为 0.990, 表明各无性系半致死温度 (LT_{50}) 差异显著。其中 A50、秦白杨 1 号、84k 的抗寒性较强, LT_{50} 分别达到 -32.40°C 、 -31.78°C 、 -30.75°C , 而 A39 和毛白杨的抗寒性最弱, 其 LT_{50} 分别为 -23.53°C 和 -24.15°C , 新疆杨、A46、I-101 属于中抗寒无性系。各无性系依照半致死温度对抗寒性的排序由高到低依次为 $A50>$ 秦白杨 1 号 $>$ 84K $>$ 新疆杨 $>$ A46 $>$ I-101 $>$ 毛白杨 $>$ A39。

2.2 低温处理下保护酶活性的变化

低温胁迫下, 各无性系 SOD 活性随着处理温度的降低呈先升高后降低的趋势 (图 1)。无性系 A50、A46 的 SOD 活性在 -30°C 达到峰值, A50 达到最大值 ($332.51\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$), 其余无性系在 -25°C 达到峰值。与常温对照相比, 无性系 A50 的 SOD 酶活性增幅最大, 达 107.0%, 表明其抗寒性较强, 无性系 I-101 的增幅最小, 为 26.4%, 表明其抗寒能力较弱。LSD 方差分析表明, A50 与秦白杨 1 号的

SOD 活性在常温下与其他无性系差异显著 ($P<0.05$), 但二者间差异不显著, -25°C 下各无性系 SOD 活性差异总体显著。

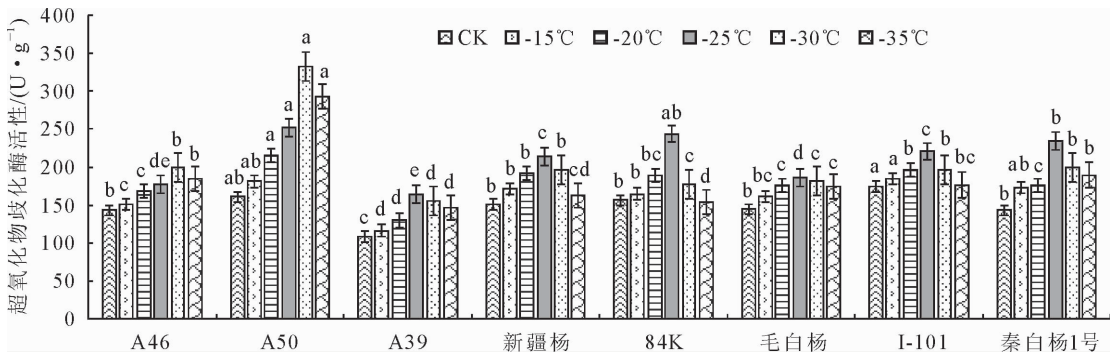
由图 2 可知, 低温胁迫下, 各无性系 POD 活性均呈现先升高后降低的变化趋势。无性系 A46 和 A50 的 POD 活性在 -30°C 达到峰值, A50 达到最大值 ($14\,543.64\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 其余无性系在 -25°C 达到峰值。A50 及秦白杨 1 号的 POD 活性增幅分别达 115.3% 和 110.3%, 表明其细胞能够有效清除活性氧自由基的积累, 新疆杨的初始 POD 活性最强 ($7\,157.64\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) 但其增幅最小, 为 32.4%。LSD 分析表明, -15°C 、 -20°C 、 -35°C 下各无性系 POD 活性差异显著 ($P<0.05$), CK 及 -25°C 下, A46 分别与毛白杨、新疆杨差异不显著, 与其余无性系差异显著; -30°C 下, 秦白杨与 84K 差异不显著, 与其余无性系差异显著。

表 2 低温处理下各无性系的 Logistic 方程及半致死温度 LT_{50}

Table 2 Logistics equation and estimation of LT_{50} of poplar clones under low temperatures

无性系	回归方程	半致死温度/ $^{\circ}\text{C}$	拟合度 R^2	抗寒性排序
A50	$100.026\,2/(1+2.757\text{e}^{-0.031x})$	-32.40	0.990^{**}	1
秦白杨 1 号	$100.650\,7/(1+4.112\text{e}^{-0.045x})$	-31.78	0.961^{**}	2
84K	$99.881\,1/(1+2.508\text{e}^{-0.030x})$	-30.75	0.955^{**}	3
新疆杨	$100.065\,7/(1+3.720\text{e}^{-0.0467x})$	-28.13	0.973^{**}	4
A46	$97.383\,3/(1+7.182\text{e}^{-0.073x})$	-27.12	0.987^{**}	5
I-101	$97.718\,8/(1+4.670\text{e}^{-0.059x})$	-26.21	0.978^{**}	6
毛白杨	$97.256\,9/(1+3.281\text{e}^{-0.049x})$	-24.15	0.932^{**}	7
A39	$99.066\,5/(1+3.001\text{e}^{-0.047x})$	-23.53	0.977^{**}	8

注: * 和 ** 分别表示拟合度呈显著或极显著水平。表 4 同。



注: 不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平下差异显著, 图 2~图 5 同。

图 1 低温处理下各无性系 SOD 酶活性变化

Fig. 1 Changes of SOD enzyme activities in different clones under different low temperature treatments

各无性系 CAT 变化趋势与 SOD、POD 基本一致 (图 3), 低温处理下 CAT 活性差异总体显著 ($P<0.05$)。无性系 A46 及 A50 在 -30°C 达到峰值, A50 达到最大值 ($72.51\text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 其余无性系在 -25°C 达到峰值。无性系 A50 的 CAT 增幅最大, 达 98.8%, 表明其具有较强的御寒能力, 而

A46、I-101 的增幅均较小, 其余增幅在 50% 以上, 表明其具有一定抗寒能力。

2.3 低温处理下丙二醛 (MDA) 含量的变化

丙二醛 (MDA) 作为植物抗逆生理过程的重要产物之一, 可以间接反应植物的抗寒能力。随着低温胁迫加剧, 各无性系的丙二醛含量表现出先增高

后降低的趋势,但不同无性系的变化幅度及达到峰值时的温度不同。无性系 A50、84K、A46 的丙二醛含量在-30℃达到峰值,其余无性系在-25℃达到峰值。与对照温度相比,A39 的 MDA 增幅最大,达 139.8%,表明其细胞膜脂过氧化程度严重,细胞膜

透性增加,而无性系 A50 的增幅最小,为 42.4%,表明其细胞膜受伤程度较小,抗寒能力较强,秦白杨 1 号的 MDA 含量维持在相对较高水平但增幅较小,为 52.7%。

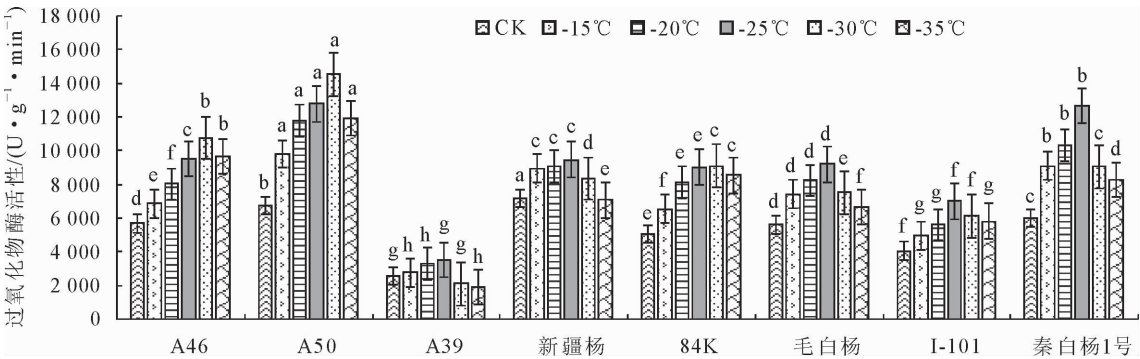


图 2 低温处理下各无性系 POD 酶活性变化

Fig. 2 Changes of POD enzyme activities in different clones under different low temperature treatments

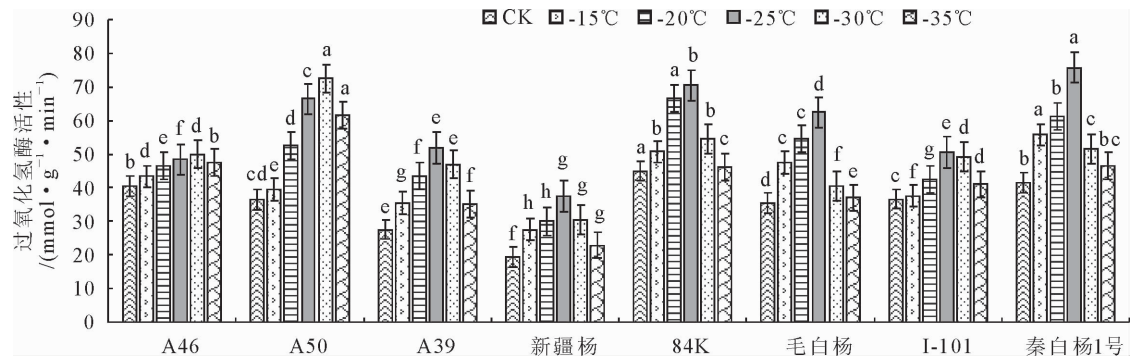


图 3 低温处理下各无性系 CAT 酶活性变化

Fig. 3 Changes of CAT enzyme activities in different clones under different low temperature treatments

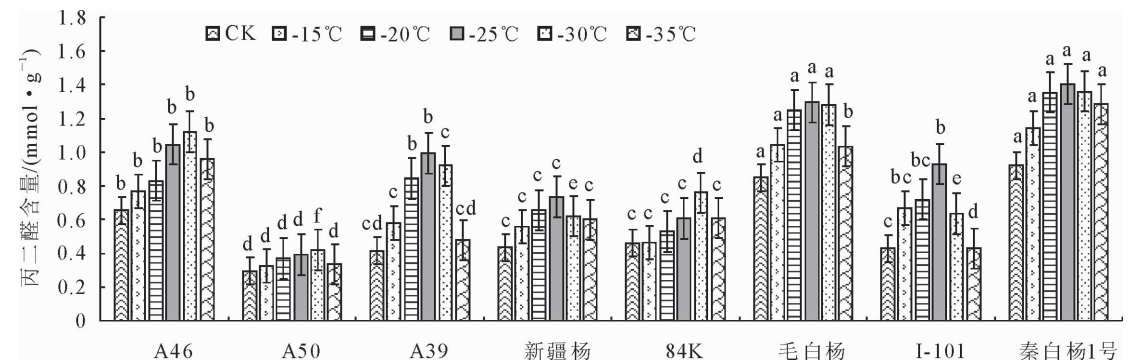


图 4 低温处理下各无性系 MDA 含量的变化

Fig. 4 Changes of MDA contents in different clones under different low temperature treatments

2.4 低温处理下各无性系可溶性蛋白含量变化

可溶性蛋白的积累能够增强细胞持水能力,减少细胞质结冰带来的伤害^[15]。由图 5 可知,各无性系可溶性蛋白含量呈现先增高后降低的趋势,无性系 A46、A50、A39 均在-30℃达到峰值,其余无性系在-25℃达到峰值,其中新疆杨的蛋白含量达到最大值(20.35 mg·g⁻¹)。无性系 A50 的可溶性蛋

白含量增幅最大,达 50.1%,毛白杨的增幅最小,为 17.2%。

2.5 隶属函数分析

采用隶属函数法对测定的 6 种抗寒性相关指标进行统一量化,根据隶属函数值对各无性系的抗寒性强弱进行排序。结果表明,8 个无性系的平均隶属函数值在 0.221 7~0.876 3,其中 A50 的平均隶

属函数值最大(0. 876 3),其次为秦白杨 1 号(0.586 2)、84K(0.572 9),A39 的隶属函数值最小(0.221 7)。各无性系隶属函数值由大到小排序为 A50>秦白杨 1 号>84K>新疆杨>A46>I-101>

毛白杨>A39,这一排序与通过 logistic 方程推算出的半致死温度的排序相一致,表明无性系 A50 抗寒性较强,而 A39 抗寒性最弱。

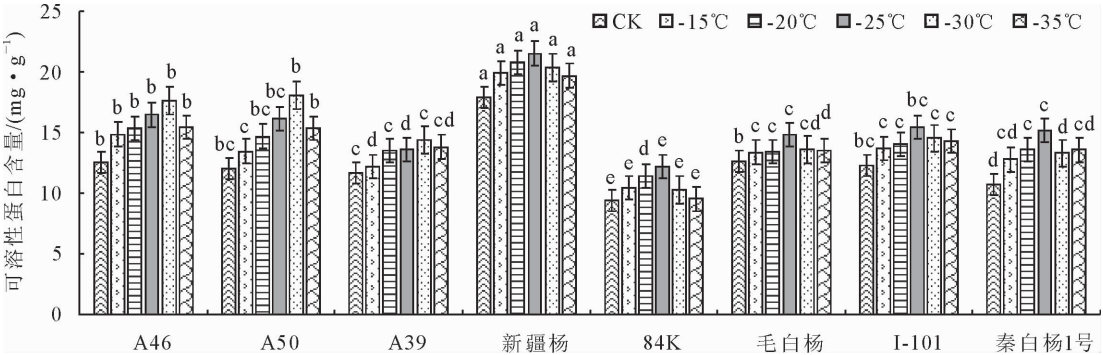


图 5 低温处理下各无性系可溶性蛋白含量的变化

Fig. 5 Changes of soluble protein contents in different clones under different low temperature treatments

表 3 平均隶属函数值及抗寒类型

Table 3 Average membership function values and cold resistance types of 8 clones

无性系	POD	SOD	CAT	可溶性蛋白	MDA	相对电导率	$\overline{T_{ij}}$	抗寒类型
A50	1.000 0	1.000 0	0.972 8	0.465 7	1.000 0	0.819 1	0.876 3	强抗
秦白杨 1 号	0.763 3	0.482 3	0.992 7	0.278 9	0.000 0	1.000 0	0.586 2	强抗
84K	0.587 9	0.431 3	1.000 0	0.000 0	0.761 6	0.656 7	0.572 9	强抗
新疆杨	0.659 3	0.436 2	0.000 0	1.000 0	0.730 3	0.546 7	0.562 1	中抗
A46	0.667 1	0.282 1	0.654 6	0.510 4	0.397 9	0.580 8	0.515 5	中抗
I-101	0.338 7	0.535 9	0.540 1	0.370 1	0.690 1	0.372 0	0.474 5	中抗
毛白杨	0.553 8	0.333 8	0.662 4	0.320 0	0.139 5	0.068 7	0.346 4	弱抗
A39	0.000 0	0.000 0	0.438 5	0.280 1	0.611 4	0.000 0	0.221 7	弱抗

2.6 聚类分析

参照马文广等^[14]依据无性系在不同低温胁迫下 SOD、POD、CAT、MDA、可溶性蛋白含量平均值及半致死温度进行聚类分析。由图 6 可知,8 个无性系可以归为 3 类:A50、秦白杨 1 号、84K 属于抗寒性较强的无性系,A46、I-101、新疆杨为中抗寒无性系,毛白杨及 A39 为弱抗寒无性系。

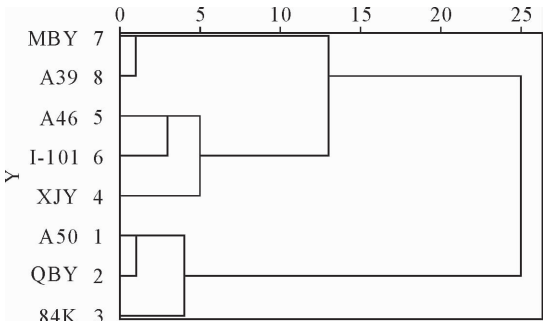


图 6 8 个无性系抗寒性聚类图

Fig. 6 Dendrogram of 8 polar clones

2.7 各指标相关系数及显著性分析

将不同温度下 6 项测定指标的平均值与隶属函

数综合评价进行相关分析,由表 4 可以看出,各指标的抗寒性相关系数在 0.236~0.618。POD 与隶属函数综合评价值呈显著正相关($P<0.05$),相关系数达到 0.546;相对电导率、MDA 与抗寒综合评价值呈显著负相关($P<0.05$),相关系数绝对值分别为 0.618、0.536;SOD、CAT 与供试无性系抗寒性呈正相关,可溶性蛋白与之负相关,但均未达到显著性水平。由此,与 8 个白杨无性系抗寒能力测定相关性较高的为相对电导率、POD、MDA 3 项指标。

表 4 各测定指标相关系数及显著性分析

Table 4 Correlation coefficients and significance analysis of each measurement index

生理指标	相关系数	显著性
相对电导率	-0.618 *	0.017
POD	0.546 *	0.031
MDA	-0.536 *	0.045
SOD	0.409	0.354
CAT	0.255	0.191
可溶性蛋白	-0.236	0.287

3 结论与讨论

测定细胞外渗液的电导率值可以反映苗木受害程度,因此电导率法可以作为杨树无性系抗寒性初期研究的一种手段^[16]。本研究中不同无性系经低温处理后电导率均有所升高,表明细胞膜系统受到了不同程度的损伤,这与李晓宇等^[17]的研究相一致。由电导率拟合 Logistics 方程并求出无性系 A50、秦白杨 1 号、84K、新疆杨、A46、I-101、毛白杨、A39 的半致死温度分别达到 -32.40、-31.78、-30.75、-28.13、-27.12、-26.21、-24.15、-23.53℃,表明各无性系的抗寒性存在一定差异。

多数研究表明,杨树的抗寒性与多种生理生化指标相关,其中 SOD、POD、CAT 等作为重要的酶保护系统组成成分,其活性在逆境胁迫中发生动态变化,酶活性的增加有利于植物细胞清除多余活性氧自由基,维持细胞功能的稳定^[18-19]。随着胁迫加剧,保护酶活性呈现降低趋势,表明保护酶防御系统遭到破坏^[20]。本研究中不同无性系的抗寒相关指标的变化幅度不同,表明其抵抗寒冷胁迫的能力不同。无性系 A50 的 SOD、POD、CAT 酶活性增幅都达到最大,表明其保护酶系统的调节能力较强,使其对寒冷刺激产生抗性。丙二醛含量与植物抗寒性呈负相关,是反映细胞膜透性的指标,本研究中无性系 A50 的丙二醛含量增幅最小且维持在较低水平,表明其细胞膜脂过氧化程度较低。随着低温加剧,各无性系的丙二醛含量有所降低,此时植物细胞透性的不断增加导致部分细胞死亡,代谢产物有所减少。此外,本研究中 SOD、POD、CAT 3 种抗氧化酶活性与抗寒性综合评价指标呈正相关关系,相对电导率、MDA、可溶性蛋白与之呈负相关关系;相对电导率与抗寒性综合评价值的相关系数绝对值最大,其次为 POD、MDA,且均达到显著相关水平,这与杨慧菊^[21]、刘旭梅等^[22]的研究结果相一致。

植物抗寒性受到多种因素的影响^[23-24],不同测定指标间也具有一定协同作用,仅采用单一指标对抗寒性进行分析过于片面,难以反映其本质^[21,25]。隶属函数法是目前应用较为广泛的植物抗逆性综合评价方法之一,多数研究表明隶属函数法对多项抗寒指标进行定量分析评价是可行的^[26-27]。本研究依据隶属函数法对 8 个无性系的抗寒性比较排序与按照半致死温度的结果相一致,结合聚类分析,最终结果表明无性系 A50、秦白杨 1 号、84K 为抗寒性较强的无性系,各无性系依据半致死温度及隶属函数值的抗寒性排序为 A50>秦白杨 1 号>84K>新疆杨>A46>I-101>毛白杨>A39。本研究对供试白杨

无性系的抗寒性测定可为杨树新无性系抗寒性评价指标的选择及抗寒性研究体系的探究提供一定的理论依据。

参考文献:

[1] 刘文国,张旭东,黄玲玲,等. 我国杨树生理生态研究进展[J]. 世界林业研究,2010,23(1):50-55.
LIU W G,ZHANG X D,HUANG L L,*et al.* Research progress on physiologic and ecologic characteristics of popular[J]. World Forestry Research,2010,23(1):50-55. (in Chinese)

[2] 杨成超. 杨树越冬死亡的有效冻融伤害累积效应[J]. 西北林学院学报,2017,32(6):12-17.
YANG C C. Mechanism underlying overwintering death in poplar: the cumulative effect hypothesis involving effective freeze-thaw damage [J]. Journal of Northwest Forestry University,2017,32(6):12-17. (in Chinese)

[3] 徐呈祥. 提高植物抗寒性的机理研究进展[J]. 生态学报,2012,32(24):7966-7980.
XU C X. Research progress on the mechanism of improving plant cold hardiness[J]. Acta Ecologica Sinica,2012,32(24):7966-7980. (in Chinese)

[4] ZHANG B Q,YANG L T,LI Y R. Physiological and biochemical characteristics related to cold resistance in sugarcane[J]. Sugar Tech,2015,17(1):49-58.

[5] 李文明,辛建攀,魏驰宇,等. 植物抗寒性研究进展[J]. 江苏农业科学,2017,45(12):6-11.
LI W M,XIN J P,WEI C Y,*et al.* Research progress on cold resistance of plants [J]. Journal of Jiangsu Agricultural Science,2017,45(12):6-11. (in Chinese)

[6] 王长柱,高京草,李新岗,等. 西北地区枣树主栽品种抗寒性研究[J]. 果树学报,2011,28(5):898-902.
WANG C Z,GAO J C,LI X G,*et al.* Study on cold resistance of major jujube in northwest China[J]. Journal of Fruits Science,2011,28(5):898-902. (in Chinese)

[7] 藕丹,樊军锋,周永学,等. 10 个白杨派无性系抗寒性的比较与评价[J]. 东北林业大学学报,2017,45(1):16-19.
OU D,FAN J F,ZHOU Y X,*et al.* Comparison and evaluation on cold-tolerance of ten varieties in Sect. *Leuce*[J]. Journal of Northeast Forestry University,2017,45(1):16-19. (in Chinese)

[8] ZHENG M,ZHAO G H,SUN X Y,*et al.* Comparative analysis of cold resistance ability of *Larix olgensis* clones[J]. Bulletin of Botanical Research,2018,38(5):682-687,696.

[9] 史清华,高建社,王军. 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 evaluation of cold resistance of 5 poplar clones[J]. Acta Bot. Boreal-Occident. Sin.,2003,23(11):1937-1941. (in Chinese)

[10] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006:208-230.

[11] 朱根海,刘祖祺,朱培仁. 应用 Logistic 方程确定植物组织低温半致死温度的研究[J]. 南京农业大学学报,1986(3):11-16.

[12] 石永红,万里强,刘建宁,等. 多年生黑麦草高温半致死温度与耐热性研究[J]. 草业科学,2010,27(2):104-108.
SHI Y H,WAN L Q,LIU J N,*et al.* Semi-lethal high temperature and heat tolerance of twelve varieties of *Lolium perenne* [J]. Acta Prataculuturæ Sinica, 2010, 27 (2): 104-108. (in Chinese)

[13] 田星,樊军锋,张锦梅. 8 种美洲黑杨无性系抗寒性评价[J]. 西南林业大学学报,2018,38(3):80-86.
TIAN X,FAN J F,ZHANG J M,*et al.* Evaluation of cold resistance of 8 *Populus deltoids* Clones[J]. Journal of Southwest Forestry University,2018,38(3):80-86. (in Chinese)

[14] 马文广,崔华威,李永平,等. 20 个烟草品种低温逆境下发芽和苗期生理生化特性的变化及耐寒性评价[J]. 浙江农业学报,2011,23(2):232-238.
MA W G,CUI H W,LI Y P,*et al.* Effects of low temperature stress on physiological and biochemical characteristics of 20 tobacco cultivars and assessment of their cold tolerance at germination and seedling stages [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis ,2018,38(3):80-86. (in Chinese)

[15] 玉苏甫·阿不力提甫,阿依古丽·铁木儿,帕提曼·阿布都热合曼,等. 利用隶属函数法综合评价梨砧木抗寒性[J]. 中国农业大学学报,2014,19(3):121-129.
YUSUPU A,AYIGULI T,PATIMAN A,*et al.* Comprehensive evaluation on cold hardiness of pear rootstocks by the subordinate function [J]. Journal of China Agricultural University,2014,19(3):121-129. (in Chinese)

[16] 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)

[17] 李晓宇,杨成超,彭建东,等. 杨树苗期抗寒性综合评价体系的构建[J]. 林业科学,2014,50(7):44-51.
LI X Y,YANG C C,PENG J D,*et al.* Establishment of an integrated assessment system on cold resistance of poplars at the seedling stage [J]. Scientia Silvæ Sinicae, 2014, 50 (7): 44-51. (in Chinese)

[18] NETO A D,PRISCO J T,ENEAS-FILHO,*et al.* Hydrogen Peroxide pre-treatment induces salt stress acclimation in maize plant[J]. Journal of Plant Physiology,2005,162(10):1114-1122.

[19] 李晓东,樊军锋,邱兴,等. 美洲黑杨×青杨派杂种无性系苗期抗寒性的鉴定与筛选[J]. 西北林学院学报,2015,30(2):100-104.
LI X D,FAN J F, QIU X,*et al.* Identification and selection on the cold tolerance in the hybrids of *Populus deltoids* × *Section tacamahaca* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2015,30(2):100-104. (in Chinese)

[20] 曹佳乐,延娜,樊军锋,等. 4 个白杨派新无性系抗寒性鉴定和综合评价[J]. 西北林学院学报,2016,31(2):130-134,139.
CAO J L,YAN N,FAN J F,*et al.* Identification and comprehensive evaluation on cold resistance of four new popular clones [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2016, 31(2):130-134,139. (in Chinese)

[21] 杨慧菊,郭华春. 马铃薯不同品种抗寒性综合评价[J]. 分子植物育种,2017,15(2):716-724.
YANG H J, GUO C H. Comprehensive evaluation of cold resistance of potato varieties [J]. Molecular Plant Breeding, 2017,15(2):716-724. (in Chinese)

[22] 刘旭梅,赵冰,申惠翡,等. 低温胁迫下二十个杜鹃花品种的抗寒性评价[J]. 北方园艺,2017(5):60-66.
LIU X M,ZHAO B,SHENG H F,*et al.* Comprehensive evaluation of cold resistance of twenty rhododendron cultivars under cold stress[J]. Northern Horticulture,2017(5):60-66. (in Chinese)

[23] JIANG H Y,GAO Y H,WANG W T,*et al.* Evaluation of cold resistance in grapevines via photosynthetic characteristics,carbohydrate metabolism and gene expression levels[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2016,38(10):251.

[24] 李妍,李金禹,张巍. 小兴安岭林区新能源树种竹柳的耐寒性测定[J]. 森林工程,2018,34(5):27-30.

[25] 苏李维,李胜,马绍英,等. 葡萄抗寒性综合评价方法的建立[J]. 草业学报,2015,24(3):70-79.
SU L W,LI S,MA S Y,*et al.* A comprehensive assessment method for cold resistance of grapes vines[J]. Acta Prataculuturæ Sinica,2015,24(3):70-79. (in Chinese)

[26] YAN X Y,SHI M,MA Y T,*et al.* Screening and research cyathula officinalis in cold hardy physiological characteristics [J]. Journal of Chinese medicinal materials,2016,39(5):962-966.

[27] 李鹏,田嘉,唐开文,等. 基于隶属函数评估法的扁桃花蕾抗寒性研究[J]. 中南林业科技大学学报,2017,37(2):39-43.
LI P,TIAN J,TANG K W,*et al.* Study on cold resistance of almond flower buds based on the subordinate function method [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2017,37(2):39-43. (in Chinese)