

三叶橡胶树抗寒生理 资料汇编

8

广东省植物研究所
植物生理生化研究室

毛主席语录

思想上政治上的路线正确与否是决定一切的。

要认真总结经验。

一个正确的认识，往往需要经过由物质到精神，由精神到物质，即由实践到认识，由认识到实践这样多次的反复才能够完成。

马克思主义的哲学认为十分重要的问题，不在于懂得了客观世界的规律性，因而能够解释世界，而在于拿了这种对于客观规律性的认识去能动地改造世界。

子初
初
PDC

前 言

寒害是影响三叶橡胶树在我国南方大量种植的重要因素之一，多年来引起了各有关生产和科研部门普遍的重视。先后通过广泛的调查和试种，在植胶宜林地的选择、选育抗寒品系等方面已积累了不少经验，取得了一定的成效。

但是，现有的工作状况，还远不能满足三叶橡胶树种植业发展的需要。尤其是从抗寒生理的角度阐明寒害的成因、抗寒能力的本质、寻找提高抗寒力的有效技术措施以及提供早期鑑定抗寒力的方法等方面的工作更感缺乏。

伟大领袖毛主席教导我们说：“要认真总结经验。”“互通情报”。最近，我们把1960—1964年期间在华南热带作物研究所、广西热带作物研究所、华南热作所粤西试验站及化州育种站等兄弟单位大力支持和协助下，对三叶橡胶树抗寒生理研究的初步结果，重新加以校阅和整理，汇编成《三叶橡胶树抗寒生理研究资料汇编》，供有关部门参考。

在汇编过程中，为了如实反映我们当时的工作情况，仅在文字上稍加压缩外，对于主要内容未作深入分析批判和修改。特别是由于我们水平有限，试验时间不长，实践经验还很不足，缺点错误在所难免，请予批评指正。并借此对协助本项研究工作的单位的领导同志、工人、贫下中农和科技人员表示感谢。

植物生理生化研究室

一九七五年五月

目 录

一、三叶橡胶树抗寒生理研究工作总结	
(1960—1964)-----	1
I、我国橡胶树生产和寒害概况-----	1
II、国内外研究抗寒生理的概况-----	2
III、几年来我所橡胶树抗寒生理研究工作概况-----	5
二、研究专题报告-----	11
I、不全抗寒力三叶橡胶树生理生化特性的研究-----	11
II、零上低温对三叶橡胶树物质代谢的影响-----	38
III、零上低温对三叶橡胶树幼苗叶片的呼吸和 光合作用的影响。-----	61
IV、三叶橡胶树幼苗在零上低温下对 ^{32}P 、 ^{35}S 的吸收和转化-----	67
V、零上低温对喜温植物氧化磷酸化影响的 初步探讨-----	81
VI、零上低温对三叶橡胶树离体叶片生理活 动的影响-----	89
VII、零上低温对三叶橡胶树离体叶片中含氮 化合物的影响-----	99
VIII、几种热带木本植物越冬期淀粉的组织化 学观察-----	110
IX、三叶橡胶树细胞核的低温反应-----	114
X、几种鉴别三叶橡胶树死活细胞方法的 探讨-----	117
XI、喜温植物在零上低温下对 ^{32}P 、 ^{35}S 吸收与抗寒力的关系-----	145

Ⅲ、土壤含水量对三叶橡胶幼树抗寒性影

响的初步研究 150

三 植物抗寒生理及生物化学研究方法 161

I 植物生理学方法 161

(一) 水份状况 161

1、橡胶叶片组织中束缚水的测定 161

2、定量滤纸法测定橡胶叶片的蒸腾
强度 163

(二) 光合作用 165

1、微量检压法 165

2、半叶法 166

(三) 呼吸作用 167

1、微量检压法 167

2、筒刃法 168

II 植物生物化学方法 170

(一) 植物体中碳水化合物的分离和测定 170

1、可溶性糖的测定(蒽酮法) 170

2、还原糖的测定(3,5-二硝基水杨酸
比色法) 171

3、碳水化合物的系统分析 172

4、糖的单相纸层析 174

5、五碳糖的测定 177

(二) 植物体中氮化合物的分离和测定 179

1 总氮量的测定 179

① 凯氏定氮法 179

② 康微皿定氮法 179

2	蛋白质氮和半蛋白质氮的测定	180
3	氨基氮的测定	181
4	酰胺氮和氨态氮的测定	182
5	硝态氮的测定	183
6	游离氨基酸的微量滴定法	184
7	氨基酸的单向纸层析	186
8	谷氨酸和谷氨酰胺合成和分解作用的测定	190
(三)	植物体中磷化合物的分离和测定	192
1.	全磷的测定	192
2.	酸溶性磷、磷脂和核蛋白磷的分离和测定	195
3.	核酸的分离和测定	196
①	核酸的分离和分光光度测定法	196
②	核酸的化学测定法(测磷的 Schmidt Thaumhauser 法)	202
(四)	有机酸的单向纸层析法	203
(五)	几种氧化酶的测定	205
1	采用 Warburg 氏微量呼吸计对几种酶活性的测定	205
	多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶、细胞色素C氧化酶、琥珀酸氧化酶和过氧化氢酶的活性测定	
2	利用比色法测定过氧化物酶的活性	206
3	过氧化氢酶活性的测定	210

① 滴定法	210
② 简易法	210
4 测定几种氧化酶活性的分光光度法	212
(六) 线粒体的制备及氧化磷酸化效率的测定	213
III 细胞学方法	218
(一) 橡胶叶片原生质膜透性测定	218
(二) 橡胶皮层棕色细胞原生质状况测定	218
(三) 细胞核的染色法	219
IV 同位素示踪法	220
(一) 利用 ^{32}P 、 ^{35}S 测定幼苗或枝条的吸收强度	220
(二) 测定叶片的外渗以表示透性的变化	221
(三) 研究磷、硫化合物的代谢	222

一、三叶橡胶树抗寒生理研究工作总结

(1960—1964)

I 我国橡胶树生产和寒害概况

橡胶是工业和国防上的重要原料，随着我国社会主义建设的蓬勃发展，橡胶的需要量与日俱增。解放以来，在党的领导下，我国的橡胶树种植事业得到了很大的发展。目前，除在海南岛大量种植橡胶树外，云南、粤西、粤东、广西和福建等地都有种植。为了增加橡胶的来源，在提高和扩大已发展胶园的基础上，还必须扩大橡胶树的栽培面积和区域，以充分发挥我国热带和亚热带地区的自然资源条件。

巴西三叶橡胶树原产于南美洲亚马逊河流域，是一喜高温高湿的热带雨林植物，它被引入我国种植以来，一般均能生长良好。解放以前，在海南岛、粤西的徐闻和云南为华侨所经营的一些老胶园，已有数十年生长历史，足以证明它适宜于在我国生长。1951年起在海南岛和华南六省大规模的进行考察、垦殖和试种，积累了更丰富的经验和资料，说明了这些地区发展三叶橡胶树有着广阔的前途。但是，按这些地区总的自然条件来看，虽然它的年平均温度和年平均雨量基本上适合橡胶树的生长发育，然而由于这些地区纬度较高，入冬期间，往往遭到北方不定期寒流的侵袭，对橡胶树的寒害颇为严重。海南岛和云南的西双版纳地区在一般的年份内，没有寒害的发生，但亦有例外的，如在1955年的特大寒流中，海南岛那大地区的气温亦低于零度左右，出现有霜冻现象。至于在大陆地区的橡胶树每年均遭受不同程度的寒害，轻的枯顶、枯梢和枯枝，重的枯

干和冻死至地下部分。根据广西农垦局的调查资料，在1955年罕见的寒流中，广西龙州地区最低气温降至零下 $1-3^{\circ}\text{C}$ 左右，持续时间达三天之久，全枯的橡胶树达92.2—99.7%，而在平常年份中，幼树幼苗因受寒流为害程度为3—5级的亦达20—30%。因此，寒害是当前威胁橡胶树在我国大陆发展的一个关键问题。这几年来，在党的领导下，各生产部门和科学研究单位分别从自然条件的选择、抗寒品系的试种和培育以及抗寒栽培措施等方面进行了大量的工作。近几年的生产实践证明，要解决橡胶树的寒害问题，必须从本质上深入加以研究，不论是农业栽培技术措施的制定或是抗寒品系的培育都必需建立于生理的基础上。为此，1960年国家科委在海南岛召开的热带作物会议上决定把橡胶树抗寒的问题列为国家的重点研究任务，抗寒生理是其中内容之一。

II、国内外研究抗寒生理的概况

(一) 抗寒生理发展的历史过程

在植物生理学的范畴内，抗性生理学科的发展较之其它分支学科发展为迟。即以植物的越冬来说，早于十七世纪时已引起科学工作者的注意，而那时的工作一般多停留在寒害现象的描述方面。真正的抗寒生理工作始于十九世纪，当时一些著名的植物生理学家如德国的 Sachs 等进行了一些简单实验和观察来说明寒害的成因，但这些工作大都集中对北方植物遭受零下低温致死方面，提出了细胞内结冰，细胞间隙结冰和细胞脱水等学说。直至二十世纪初，植物生理工作者始应用现代的物理和化学技术，从低温影响下细胞原生质物理特性变化和代谢变化的角度进一步阐明寒害的成因。由于抗寒的本质是植物

内部各种生理机能的综合反应。它牵涉到植物生理学的各个分支学科，是一门综合性的而又未定型的学科。因此，抗寒生理的研究虽有近二百多年的历史，而总的发展却还不能跟上其他分支学科的发展。

(二) 研究抗寒上低温的途径

零上低温抗寒生理研究，在世界各国进行得更少。近年来，对零上低温致死原因才逐渐引起抗性生理工作者的注意，因为它与零下低温细胞内结冰等现象有着本质上的区别，研究工作者试图从生化代谢的观点来解释这些现象。但是，在不同研究者中各有不同的观点，如有人认为低温影响了根系的活力，而地上部分蒸腾并未减少，导致植物体内水分失去平衡；又有人认为植物的贮藏和结构物质的协调性遭到破坏，而使有害物质积累，以致植物中毒；亦有人认为低温影响了酶的适应性、呼吸过程和能量代谢的正常进行。另一方面，亦有些工作者试图从细胞原生质的物理特性变化来解释低温受害原因，例如从蛋白质结构特性、原生质膜的透性和细胞核的动态方面来加以深入研究。当前，发展的趋势是从细胞分子水平，以结构与功能观点，应用现代最新的物理和化学成就来研究抗寒的基础和寒害的成因。

抗寒生理的另一部份工作是属于比较生理学的范畴，即选择自然界已有的或经过人们培育的不同抗寒力的材料进行比较研究，以了解抗寒和不抗寒品种或品系的生理和生化特性的差异，藉此以找寻抗寒性的生理指标，作为生产部门选育抗寒品系和品种的标准，亦有助于阐明抗寒性和致死原因的本质。因此，世界各国产业部门的研究机构都较偏重于进行这方面的工作。

研究抗寒生理的最终目的是希望指出控制植物生长发育的途径，提高植物的耐寒力。现有的抗寒生理文献中这方面的工作较少。这是由于目前对寒害损伤和致死原因的规律摸得不夠透澈，难以提出相应有效措施之故。加上提高耐寒力的研究具有一定的艰巨性和探索性，使这方面工作没有受到应有的重视。

目前，很多工作只停留于一般实验室研究和多方面广泛的摸索过程，真正能应用在生产实践方面的措施极少，甚至有些已介绍的措施也很不稳定。然而，从已有的文献资料看来，开展这方面研究以提高植物的抗寒性是有一些依据的。

以上所述概括了抗寒生理研究的三大类内容。在具体研究对象方面，属于寻找低温致死和伤害原因研究中，大都采用一年生的草本为材料；抗寒生理指标和抗寒力措施的研究亦多以小麦、玉米等一年生作物为材料，对多年生木本植物的研究，仅局限于某些果树。随着人工气候室和冷库设备日益完善化，有关抗规律性的研究较偏重于实验室控制条件下进行，对某一生产上的研究对象，亦有在自然寒流影响下，进行大田试验。至于三叶橡胶树寒害问题的研究，国外文献尚没有报导过，因橡胶树主要产区集中于东南亚一带，其纬度较低，不存在寒害问题。

(三) 我国抗寒生理研究工作的现状

国内植物生理研究于解放后才得到发展。抗性生理的研究工作在过去更是毫无基础。近几年来，在党的科学为生产服务方针的指导下，提高农作物的适应性，向不良的自然环境作斗争的问题已列为抗性生理的主要研究内容。1955年南方罕见特大寒流后，上海植物生理研究所曾在华南垦区进行了一些调查，继之华南亚热带作物研究所亦在各垦区中进一步了解寒害

成因，并在实验室条件下，摸索了橡胶树受害的临界温度，抗寒生理指标和一些水分方面的试验。1960年国家科技热作会议以后，橡胶树抗寒研究更为各生产部门和科研单位所重视。目前、农垦部在南方的研究单位均没有生理专业人员进行这方面的研究。

Ⅲ 几年来我所橡胶树抗寒生理研究工作概况

我所自1960年海南热作会议后才开展橡胶树等植物抗寒生理工作，当时我们对橡胶树的寒害问题一无所知，为了使此项工作迅速开展，首先必须从熟悉寒害情况着手，因而组织科技人员到粤西、粤东、广西、云南、贵州等地进行调查研究，初步掌握生产上的一些感性认识，了解到形成橡胶树寒害的某些因素。与此同时抓紧时间查阅有关文献和准备试验材料，我们利用当时仅有的橡胶树种子和幼苗作初步探索性的试验，通过这些工作来建立一些抗寒生理的实验方法。1960年底起为了贯彻实验室研究与大田相结合的方针，我们每年均派出部分科技人员去橡胶树寒害严重地区——广西龙州、粤西、化州、与广西热作所和化州育种站合作进行大田研究。1961年，我们相继地还作了不同抗寒力橡胶树在周年生长中一些生理生化比较观察以及土壤水分和施肥处理对提高橡胶树幼苗耐寒力的试验。通过近两年的调查和初步的摸索，我们体会到解决橡胶树寒害问题是一长期的任务，有必要在直接研究生产性课题的同时，掌握和了解橡胶树特性和寒害形成的机理。

从1962年起，我们在实验室人工低温条件下开展一些寒害形成机理的试验，但由于试验材料和设备条件的限制，仅以橡胶树等植物的离体叶片和枝条为材料，探讨碳水化合物和合

氮化合物代谢；应用细胞生理的方法，了解低温对细胞致死敏感度和原生质膜的影响；同时也采用了 ^{35}S 和 ^{32}P 来了解橡胶幼苗在低温下对营养元素吸收、运输和转化。

1963年通过对我所研究任务进一步的调整，该项工作人员有所增加。从坚持理论结合生产的原则出发，我们进行了下述三方面的研究：

(1) 零上低温下喜温植物伤害和死亡的机理探讨。

(2) 橡胶树抗寒的生理生化基础及抗寒力的生理指标的研究。

(3) 提高植物耐寒力方法及其生理基础的探讨。

橡胶树是多年生的木本植物，而我们研究的问题又是一个变化无常的气候因子，为了要使我们在1963年工作中所获得的初步结果予以肯定，重复试验很为必要。因此，1964年基本上重复1963年的工作。

通过几年来的工作，我们对橡胶树在大陆上的寒害情况有所认识，建立一些抗寒生理的研究也获得了初步的结果，今后尚须重复并进一步探讨论证。现将一些主要的结果简述于下：

(一) 呼吸代谢：

1. 橡胶树在越冬过程或低温处理下，随温度的降低和持续时间的延长，其呼吸强度随之而减弱。经连续低温处理数天后，呼吸强度出现高峰，此时往往随着叶片或枝条上有可见的寒害象征。由此可见，低温对橡胶树呼吸代谢有着一定程度的影响，特别是南方冬季气温突然下降和回升，促使呼吸剧烈

的变化，扰乱植物正常呼吸代谢，以致植物受害。

2. 在以黄瓜为材料的研究中，发现低温引起氧化磷酸化的解偶联，特别是磷酸化的下降比耗氧量的增加更为剧烈。由此亦可初步推测，喜温植物遭受地上低温受害，很可能是呼吸所释放的能量得不到合理的和有效的利用，使整个有机体中可利用的有效能（例如：ATP）处在极低的水平，引起正常的一切需能合成、转化过程受到阻碍。

（二）物质代谢：

1. 低温影响下，橡胶树叶片内碳水化合物的总量、可溶性糖和还原糖的含量下降，而淀粉和蔗糖下降更显著，说明了低温使橡胶叶片内碳水化合物的分解加强，合成受阻。

2. 低温使氮的代谢也趋向分解，叶片中蛋白质含量减少，非蛋白质成份增加，表现在非蛋白质氮中氨基氮、酰胺氮、氨态氮均有不同程度的增加，其中以氨态氮的增加最为显著，特别是当橡胶树出现寒害时上述现象更为明显。

3. 低温影响下，橡胶树叶片中游离氨基酸及有机酸在种类上没有差异，但数量上有变化。磷化合物也趋向分解，抑制了合成过程，特别是核蛋白的合成。

从物质代谢的变化可看出：低温对橡胶树物质代谢有明显的影响，随着温度的不断下降和持续时间延长，改变了植物体内的正常代谢过程，由此而引起了植物体内一系列生化反应的不协调，并积累了一些对植物有毒害的物质如氢。大陆垦区冬季不定期的寒流常常使橡胶树发生伤害，低温的持续时间长，特别是气温变幅大，寒害就严重，而橡胶树内部物质代谢的失调表现也更为明显。

(三) 细胞生理：

1. 苏联金继里研究抗性生理的一些指标，如原生质的粘性和弹性等在橡胶抗寒的研究上不能应用。

2. 找出了橡胶树各器官和组织低温致死的敏感温度和持续的时间。

3. 肯定了电导、电阻、中性红和三苯四唑氯化物的染色以及质壁分离等方法可被利用来作为鉴别橡胶树细胞死活和抗寒力之用。

4. 看到橡胶树叶片表面细胞的核，在低温影响下形态上发生了显著的变化。这也为我们指出了细胞结构和功能与寒害有联系的。

(四) 不同抗寒力的橡胶树比较生理研究：

1. 橡胶树抗寒性与其在越冬期间的生长状态、生理特性有一定的关系。抗寒树越冬期间较少落叶，且处于停止生长的稳定状态，呼吸强度和过氧化氢酶活性等均较弱；植物体内的总含水量较低，束缚水含量较高、自由水含量较少，蒸腾强度亦低；在贮藏和结构物质方面，抗寒的橡胶树含有的淀粉、蔗糖、蛋白质、叶绿素也都较不抗寒的为多。

2. 在比较某些无性品系的研究中，发现较抗寒的品系如青湾坡、天任31—45等与不抗寒的PB 86和RRIM 501相比，上述的一些生理特性有同样的规律，特别是呼吸强度，表现更为明显。

3. 橡胶树由越冬期转入春季生长期后，抗寒的比不抗寒的植株恢复生长过程的速度较快，相应地呼吸作用亦较强。不同抗寒力的橡胶树在夏秋生长季节中，呼吸和含水量没有发现一定的规律性，仅能初步观察到，碳氮比在抗寒的植株中要

较不抗寒的为高，可溶性糖和淀粉有同样的趋势。

(五) 提高耐寒力措施的研究：

1、越冬期以前适当地控制土壤水分，可促进植株生长健壮，在一定范围内能使生理活动朝向有利于越冬方面发展。冬季来临前不施氮肥，多施磷钾肥，在一定低温程度下，对橡胶树的耐寒力稍有提高的作用。

2、萌动的橡胶种子用锰或铜处理，在一定的低温范围和持续期内能减轻寒害，当温度过低，持续时间长，则无明显的差异。

此项工作我们曾进行了多种多样的无数次的试验，但一直未能找到理想的有效措施，上述的两方面的试验也仅仅在减轻寒害上初步看到一点效果。

： X X X

通过总结过去几年的工作，使我们对今后橡胶树抗寒生理的研究有一些粗浅的看法，提出来与大家共同讨论。

1、广东、广西、云南、福建等四省(区)是我国发展热带经济作物的主要基地，由于冬季常常遭受不定期的寒潮的侵袭，在一定程度上大大地影响着热带经济作物种植事业的发展。例如解放以来四次(1955、1963、1967、1968)特大寒潮造成了橡胶树等热带经济作物的严重伤害和死亡。因此，在我国南方开展提高橡胶树等植物抗寒力的研究，不仅具有一定的理论意义，亦是生产实践中迫切需要的课题。

2、近几年来各生产单位和科研部门，在与寒害作斗争中积累了不少的好经验，培育出一些抗寒力较强的橡胶树品系。

但是，目前在抗寒育种和寻找抗寒栽培技术措施的工作中，尚存在一定的盲目性，其根本原因在于对造成寒害和死亡的机理了解不够，热作科研部门有必要开展一些抗寒生理等方面的基础理论的研究。实践证明：选育种工作是提高植物抗寒力行之有效的途径，而在橡胶树的抗寒育种工作中迫切要解决早期预测抗寒力的方法。通过选用不同抗寒力的品系（或品种）为材料，从比较生理角度来探讨低温下橡胶树等植物生理生化变化规律，从中找出差异，以作为鑑定植物抗寒力的生理指标，亦可找出寒害形成的机理，为寻找提高植物耐寒力的途径提供理论依据。