

低温与脱锻炼处理下 2 种绣线菊膜脂肪酸变化研究

刘慧民 邢艳秋 吕贵娥 朱玉涛 闫永庆*

(东北农业大学 园艺学院, 哈尔滨 150030)

摘要 试验应用气相色谱技术,以抗寒能力不同的园林树木华北和金山绣线菊为材料,通过低温与脱锻炼处理,研究低温诱导时其膜脂肪酸种类与含量的变化,探讨绣线菊细胞膜脂肪酸变化与抗寒能力的关系。结果表明:华北和金山绣线菊膜脂肪酸主要由豆蔻酸(14:0)、棕榈酸(16:0)、油酸(18:1)、亚油酸(18:2)、亚麻酸(18:3)等组成,约占膜脂总脂肪酸的90%以上;饱和膜脂肪酸以棕榈酸(16:0)为主,不饱和膜脂肪酸以亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)为主;低温处理下金山绣线菊不饱和膜脂肪酸含量变化显著,华北绣线菊不饱和膜脂肪酸含量变化不显著,其较高的抗寒能力可能与低温下较稳定的膜脂不饱和度(IUFA)水平有关,维持华北绣线菊较稳定的膜脂不饱和度水平,需要一定的低温水平;低温处理对华北和金山绣线菊饱和膜脂肪酸含量也有一定影响。

关键词 绣线菊; 低温锻炼; 脱锻炼; 膜脂肪酸; 抗寒能力

中图分类号 S 602.3

文章编号 1007-4333(2011)02-0052-06

文献标志码 A

Changes of membrane fatty acid in 2 species *Spiraea* L. under low-temperature and de-acclimation conditions

LIU Hui-min, XING Yan-qiu, LÜ Gui-e, ZHU Yu-tao, YAN Yong-qing*

(College of Horticulture, North-east Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract In order to understand the relationship between the changes of membrane fatty acid of *Spiraea* and its cold resistance, the garden trees *Spiraea fritschiana* Schneid. and *Spiraea bumalda* 'Goldmound' with different cold resistance were used as materials, applying gas chromatography technology, designing low-temperature and deacclimation treatment, studying the species and the contents changes of their membrane fatty acid under low-temperature treatment. The results showed that the membrane fatty acid in *S. fritschiana* Schneid. and *S. bumalda* 'Goldmound' were mainly composed of myristic acid (14:0), palmitic acid (16:0), oleic acid (18:1), linoleic acid (18:2) and linolenic acid (18:3). They composed more than 90% of total membrane fatty acid, saturated fatty acid was mainly composed by palmitic acid (16:0), unsaturated fatty acid was mainly composed by linoleic acid (18:2) and linolenic acid (18:3). The unsaturated membranes fatty acid contents in *S. bumalda* 'Goldmound' changed significantly under low temperature treatment, the unsaturated membrane fatty acid contents in *S. fritschiana* Schneid. changed non-significantly while the same treatment, its stronger cold-resistance might be related to the IUFA level that was more stable under low temperatures. A certain low-temperature level was needed in order to maintain a more stable unsaturation membrane fatty acid level to *S. fritschiana* Schneid. There was a certain influence to the saturated membrane fatty acid contents in *S. fritschiana* Schneid. and *S. bumalda* 'Goldmound' under low temperature treatment.

Key words *Spiraea* L.; cold acclimation; de-acclimation; membrane fatty acid; cold-resistance

收稿日期: 2010-06-02

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(C2007-11); 黑龙江省博士后基金项目(LBH-Z09288); 黑龙江省教育厅自然科学项目(11551040); 东北农业大学博士启动基金项目; 第48批中国博士后面上项目(415152)

第一作者: 刘慧民, 教授, 博士, 主要从事园林植物逆境生理生态研究, E-mail: liuhm0423@163.com

通讯作者: 闫永庆, 教授, 博士, 主要从事园林植物逆境生理生态研究, E-mail: yanyongqing1966@163.com

黑龙江省位于高纬度高寒地带,绿化资源匮乏,绿化树种单调,绣线菊属植物(*Spiraea*)是蔷薇科(*Rosaceae*)中的著名资源,由于资源丰富、适应性强、观赏价值高,具有广泛的园林应用价值^[1];因此对绣线菊抗寒能力的研究是其能否在高寒地区应用的关键。大量研究表明,细胞膜系统的稳定性与植物抗逆性存在密切关系,其稳定性和流动性是细胞生命活动的基础,也是形成植物抗逆能力的关键^[2-6]。MacCarthy和Stumpf^[7]根据生物膜与抗寒性关系,提出了植物冷害的“膜脂相变”学说,认为低温引发的膜脂从液晶相变为凝胶相的过程引发膜脂的脂肪酸链由无序排列变为有序排列;孟庆瑞等^[8]在果树抗寒机制研究进展中指出,膜系统的稳定性与植物抗寒性成正相关,许多植物对低温反应的一种重要表现是增加不饱和度较高的脂肪酸在总脂肪酸中的比例^[8-10];孙中海等^[11]研究柑桔膜脂肪酸与抗寒性关系表明,亚油酸、亚麻酸、棕榈酸含量与抗寒性成显著相关。目前国内对绣线菊资源的抗寒机制研究尚未见报道。本项研究以抗寒能力不同的华北和金山绣线菊为试验材料,利用气相色谱技术,研究低温与脱锻炼处理2种绣线菊膜脂肪酸的变化,旨在深入分析抗寒能力不同的绣线菊低温处理后其膜脂肪酸种类与含量变化的差异,从细胞膜脂肪酸水平探讨绣线菊的抗寒机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料与取样方法

以抗寒力不同的华北绣线菊(*Spiraea fritschiana* Schneid.)、金山绣线菊(*Spiraea bumalda* ‘Goldmound’)为试验材料。刘慧民^[12]根据绣线菊抗寒生理指标隶属函数值和半致死温度的研究结果,认为毛果绣线菊(隶属函数值为4.38,半致死温度为 $-32.6\text{ }^{\circ}\text{C}$)的抗寒能力强于金山绣线菊(隶属函数值为2.11,半致死温度为 $-20.7\text{ }^{\circ}\text{C}$)。试验材料源于黑龙江省森林植物园标本园绣线菊资源圃,引种到东北农业大学园艺设施工程中心。在温室中将1年生扦插苗用普通园土栽植于 $13\text{ cm}\times 13\text{ cm}$ 的钵内,每种试验材料各取150钵,每钵土壤重达500 g。当绣线菊钵苗生长高度达 $15\sim 20\text{ cm}$ 、分枝数量达3~5条、叶片数量达20~30枚以上时,对绣线菊钵苗进行试验处理。试验设3次重复,按照对角线法随机取样,平行样测定,测定结果取平均值。采集枝条上第2~6片生长健壮的叶片和位于中上部的当年生枝条,枝条成熟木质化,整齐均匀,粗度相近,剪留长度10 cm。供试枝条和叶片用自来水和去离子水洗涤晾干后,用锡箔纸分装液氮封存(表1)。

表1 试验材料处理过程

Table 1 Treat processing to the tested materials

试验处理	处理温度/ $^{\circ}\text{C}$	持续时间/周	光照条件/ $(\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s}))$	取样及继续处理过程
露地自然低温	15~5	3	860~1 100	处理结束取样 一部分材料脱锻炼处理 一部分材料露地自然冰冻处理
持续恒低温	15	3	860~1 100	处理结束取样 一部分材料露地自然 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理 一部分材料露地自然冰冻处理
露地自然冰冻	$-20\sim -25$	3	720~900	处理结束取样 试验终点
低温后脱锻炼	20	1	860~1 100	处理结束取样

1.2 试验设计与材料处理

1.2.1 低温锻炼及脱锻炼处理

秋季露地昼夜自然平均温度达 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,开始处

理试验材料并取样,露地自然温度持续下降到昼夜平均达 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时再次取样,处理时间持续约3周。对露地中 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理结束后的部分试验材料置于光照培

养箱内恢复生长温度 20 ℃,脱锻炼处理 1 周后取样,其余试验材料继续露地自然冰冻处理。处理期间露地昼夜自然平均光照为 860~1 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光照培养箱内昼夜平均光照调为露地同水平,夜间采取黑暗处理。

1.2.2 持续恒低温处理

与露地处理平行处理,将试验材料置于光照培养箱中持续 15 ℃恒温条件下生长 3 周后取样。处理期间培养箱内昼夜平均光照调为露地水平(860~1 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$),夜间采取黑暗处理。3 周时一部分材料转入露地自然 5 ℃处理并取样,之后继续露地自然冰冻处理。

1.2.3 露地自然冰冻处理

当露地自然温度达到 -20~-25 ℃时,温度持续大约 3 周后,对经 1.2.1 和 1.2.2 处理后的试验材料取样。

1.2.4 试验方法

气相色谱法:参照刁丰秋等^[13]《植物生理学报》。称取 10 g 新鲜试验材料液氮研磨成粉末,氯仿-甲醇溶液提取,冰浴研磨成匀浆后 0.45 μm 微孔滤膜过滤、氮气吹干,加石油醚-苯、KOH-甲醇

溶液进行甲酯化,再加去离子水充分振荡,低温离心冰浴静置分层后取上清液待用,样品上机用外标法检测膜脂肪酸含量与种类。气相色谱条件:Shimadza GC-2010 色谱仪;检测器:FID;色谱柱:30QC2/AC10 0.25,中等极性柱,30.0 cm \times 0.22 mm(内径),薄膜厚度 0.25 μm ;柱温:200 ℃;进样口温度:250 ℃;检测器温度:250 ℃;载气为 H₂:40 mL/min,Air 为 400 mL/min,N₂ 为 4.9(10.1) mL/min,分流比 1:10。

2 结果与分析

2.1 不同水平低温处理绣线菊不饱和膜脂肪酸的变化

由表 2 中看出,华北、金山绣线菊膜脂肪酸主要由豆蔻酸(14:0)、棕榈酸(16:0)、油酸(18:1)、亚油酸(18:2)、亚麻酸(18:3)等组成,约占膜脂总脂肪酸的 90% 以上,饱和脂肪酸以棕榈酸(16:0)为主,不饱和脂肪酸以亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)为主。说明这 5 种脂肪酸在绣线菊膜脂的组成上以及膜与外界温度发生适应性变化方面要比其他膜脂肪酸更为重要。

表 2 露地自然低温与脱锻炼处理 2 种绣线菊膜脂肪酸组分及不饱和指数(IUFA)

Table 2 Membrane fatty acid composition and IUFA of 2 species *Spiraea* under the natural low temperature and de-acclimation treatment

供试材料	处理	膜脂肪酸组分					IUFA
		14:0	16:0	18:1	18:2	18:3	
金山绣线菊 (<i>S. bumalda</i> 'Goldmound')	低温锻炼前(15 ℃)	0.57	25.09	5.75	40.46	28.11	171.02
	低温锻炼后(5 ℃)	0.97	30.81	7.20	42.35	18.63	147.83
	脱锻炼处理(20 ℃)	1.90	24.69	6.47	46.70	20.22	160.54
	冰冻处理(-25 ℃)	0.42	19.95	6.60	50.77	22.23	174.86
华北绣线菊 (<i>S. fritschiana</i> Schneid.)	低温锻炼前(15 ℃)	11.07	25.22	3.65	23.44	36.60	160.35
	低温锻炼后(5 ℃)	1.54	26.36	3.99	23.08	31.12	143.52
	脱锻炼处理(20 ℃)	19.41	19.84	4.82	29.37	26.53	143.17
	冰冻处理(-25 ℃)	17.13	22.21	4.65	28.83	27.14	143.78

注:IUFA(脂肪酸不饱和指数)=(18:1)+(18:2) \times 2+(18:3) \times 3,下表同。

2 种绣线菊在持续露地低温处理结束后,IUFA 均有不同程度的下降,金山绣线菊下降幅度达 13.56%,华北绣线菊下降幅度达 10.50%,华北绣线菊下降幅度小,说明华北绣线菊膜脂不饱和度受

温度影响波动较小。脱锻炼处理和自然冰冻过程中金山绣线菊 IUFA 有所上升,说明金山绣线菊膜脂不饱和度受温度影响波动较大。在露地冰冻处理时 2 种绣线菊 IUFA 比低温锻炼结束时有所上升,金

山绣线菊上升幅度达 18.3%，华北绣线菊上升幅度仅为 0.18%，再次说明金山绣线菊膜脂不饱和度显著受温度影响。在低温处理过程中，华北绣线菊 IUFA 受温度影响不显著并始终低于金山绣线菊，说明其较稳定的膜脂不饱和度水平，可在较低温度下始终能保持膜的流动性，维持正常的生理功能。经脱锻炼处理金山绣线菊 IUFA 变化显著，华北绣线菊 IUFA 几乎没有变化，说明华北绣线菊较强的抗寒能力可能与低温下较稳定的膜脂不饱和度水平有关。

由表 3 中看出，持续 15℃ 恒温处理后再接受露地低温处理时，2 种绣线菊 IUFA 均有不同程度的下降，金山绣线菊下降幅度达 4.71%，华北绣线菊

下降幅度高达 21.27%，显著的数据变化说明未经低温锻炼处理，华北绣线菊直接处于低温环境中，膜脂不饱和度受温度影响变化很大。在露地自然冰冻过程中，2 种绣线菊 IUFA 均有上升，金山绣线菊上升幅度达 0.85%，华北绣线菊上升幅度达 24.3%，再次说明华北绣线菊未经过低温锻炼处理，直接处于低温环境中，膜脂不饱和度受温度影响变化显著。在低温处理过程中，华北绣线菊 IUFA 受温度影响显著并始终低于金山绣线菊。说明其较稳定的膜脂不饱和度水平的获得，需要经历一个相对的低温处理过程，需要一定的低温水平，来维持华北绣线菊较稳定的膜脂不饱和度水平。未经低温锻炼处理金山绣线菊膜脂不饱和度受温度影响不显著。

表 3 15℃ 恒低温处理 2 种绣线菊膜脂脂肪酸组分及不饱和指数

Table 3 Membrane fatty acid composition and IUFA of 2 species *Spiraea* under constant 15℃ low-temperature treatment

供试材料	处理	膜脂脂肪酸组分					IUFA
		16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	
金山绣线菊	恒温处理(15℃)	0.57	25.09	5.75	40.46	28.11	171.02
<i>S. bumalda</i> ‘Goldmound’	露地低温(5℃)	1.65	25.57	5.16	44.99	22.60	162.97
	露地冰冻(-25℃)	3.21	23.03	5.19	46.52	22.03	164.35
华北绣线菊	恒温处理(15℃)	11.07	25.22	3.65	23.44	36.60	160.35
<i>S. fritschiana</i> Schneid.	露地低温(5℃)	26.45	22.86	3.94	17.90	28.83	126.25
	露地冰冻(-25℃)	12.24	23.67	4.77	25.69	33.59	156.95

金山绣线菊低温锻炼处理结束与恒低温处理相比，不饱和膜脂脂肪酸含量显著上升，露地冰冻处理结束不饱和膜脂脂肪酸含量显著下降(图 1)。经低温锻炼处理，金山绣线菊不饱和膜脂脂肪酸含量总体呈上升变化，方差分析表明不同温度处理间差异显著，未经低温锻炼处理，金山绣线菊不饱和膜脂脂肪酸含量变化幅度小，方差分析表明不同温度处理间差异不显著(图 2)。说明低温锻炼处理对金山绣线菊不饱和膜脂脂肪酸含量有显著影响。金山绣线菊 IUFA 变化与不饱和膜脂脂肪酸含量变化趋势一致。

华北绣线菊低温锻炼处理结束与恒低温处理相比，不饱和膜脂脂肪酸含量显著下降，露地冰冻处理结束不饱和膜脂脂肪酸含量有所上升(图 1)。经低温锻炼处理，华北绣线菊不饱和膜脂脂肪酸含量总体呈下降变化，方差分析表明仅不同温度处理间差异显著，未经低温锻炼处理，华北绣线菊不饱和膜脂脂肪酸含

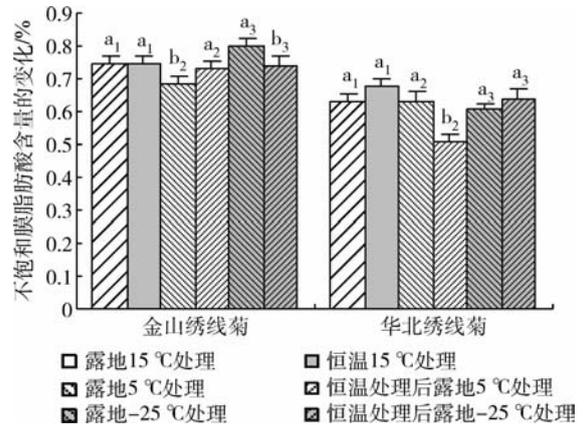


图 1 金山绣线菊和华北绣线菊低温处理不饱和膜脂脂肪酸含量的变化

Fig. 1 Contents changes of unsaturated membrane fatty acid of *S. bumalda* ‘Goldmound’ and *S. fritschiana* Schneid. under low temperature treatment

量 15 ℃与 -25 ℃处理间变化均不显著(图 2)。说明低温锻炼处理对华北绣线菊不饱和膜脂肪酸含量影响不很显著。华北绣线菊 IUFA 变化与不饱和膜脂肪酸含量变化趋势一致。

理,金山绣线菊饱和膜脂肪酸含量呈下降变化,方差分析表明不同温度处理间差异显著,未经低温锻炼处理,金山绣线菊饱和膜脂肪酸含量变化基本持平,方差分析表明不同温度处理间差异不显著(图 4)。说明低温锻炼处理对金山绣线菊饱和膜脂肪酸含量有一定影响。

图 2 金山绣线菊和华北绣线菊不同低温与恒低温处理不饱和膜脂肪酸含量的变化

Fig. 2 Contents changes of unsaturated membrane fatty acid of *S. bumalda* 'Goldmound' and *S. fritschiana* Schneid. under different low temperature and constant low-temperature treatment

图 4 金山绣线菊和华北绣线菊不同低温与恒低温处理饱和膜脂肪酸含量的变化

Fig. 4 Contents changes of saturated membrane fatty acid of *S. bumalda* 'Goldmound' and *S. fritschiana* Schneid. under different low temperature and constant low-temperature treatment

2.2 不同水平低温处理 2 种绣线菊饱和膜脂肪酸变化的分析

金山绣线菊低温锻炼处理结束与恒低温处理相比,饱和膜脂肪酸含量显著下降,露地冰冻处理结束饱和膜脂肪酸含量显著上升(图 3)。经低温锻炼处

华北绣线菊低温锻炼处理结束与恒低温处理相比,饱和膜脂肪酸含量显著上升,露地冰冻处理结束饱和膜脂肪酸含量显著下降(图 3)。经低温锻炼处理,华北绣线菊饱和膜脂肪酸含量总体呈上升变化,方差分析表明不同温度处理间差异显著,未经低温锻炼处理,华北绣线菊饱和膜脂肪酸含量变化 15 ℃与 -25 ℃处理基本持平,方差分析表明这 2 个温度处理间差异不显著(图 4)。说明低温锻炼处理对华北绣线菊饱和膜脂肪酸含量有一定影响。

图 3 金山绣线菊和华北绣线菊低温处理饱和膜脂肪酸含量的变化

Fig. 3 Contents changes of saturated membrane fatty acid of *S. bumalda* 'Goldmound' and *S. fritschiana* Schneid. under low temperature treatment

3 讨论

膜系统是细胞生命活动与环境的一个交流界面,生物膜最易受到伤害,研究表明细胞膜结构的稳定性是形成植物抗逆性的关键。许多植物对低温反应的一种重要表现是增加不饱和度较高的脂肪酸在总脂肪酸中的比例,不饱和脂肪酸含量增加,可防止膜相变,使膜在低温时维持流动性和正常的液晶态,以利于维系低温下正常生理功能和避免膜脂固化造

成的膜伤害。谢吉容^[14]在南方红豆杉抗寒研究中发现,随气温下降膜脂组分中饱和脂肪酸减少,不饱和脂肪酸特别是亚油酸大幅增加,使膜脂相变温度下降,对于维持膜脂低温下液晶态,保持膜流动性和正常生理功能有重要作用,认为膜脂肪酸不饱和度可作为抗寒鉴定的重要指标;抗寒性植物一般具有较高的膜脂不饱和度,李志辉^[15]分析巨桉12个种源家系细胞膜脂肪酸含量和组成表明,耐寒性不同的品种其叶片膜脂脂肪酸组分含量不同,耐寒性强的品种叶片不饱和脂肪酸含量较高,不饱和指数大,不饱和脂肪酸指数反映巨桉家系抗寒能力的强弱;本试验中发现低温处理使金山、华北绣线菊不饱和膜脂肪酸含量显著上升,不饱和脂肪酸含量增加,能维系低温下其正常生理功能,表明其低温下抗寒能力得到同步提高;华北绣线菊未经低温锻炼处理直接处于低温环境中,其膜脂不饱和度受温度影响变化幅度显著,说明其较稳定的膜脂不饱和度水平的获得,需要经历一个相对的低温过程,需要一定的低温水平,也说明其较稳定的膜脂不饱和度水平,可在较低温度下维持其正常生理功能,华北绣线菊较强的抗寒能力可能与低温下较稳定的膜脂不饱和度水平有关。

华北和金山绣线菊膜脂肪酸主要由豆蔻酸(14:0)、棕榈酸(16:0)、油酸(18:1)、亚油酸(18:2)、亚麻酸(18:3)等组成,约占膜脂总脂肪酸的90%以上,饱和膜脂肪酸以棕榈酸(16:0)为主,不饱和膜脂肪酸以亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)为主。低温处理下金山绣线菊不饱和膜脂肪酸含量变化显著,华北绣线菊不饱和膜脂肪酸含量变化不显著,其较高的抗寒能力可能与低温下较稳定的膜脂不饱和度(IUFA)水平有关,维持华北绣线菊较稳定的膜脂不饱和度水平,需要一定的低温水平;低温处理对华北和金山绣线菊饱和膜脂肪酸含量也有一定影响。

参 考 文 献

- [1] 刘慧民,李丽,邢艳秋,等. 18种绣线菊花粉形态及其分类学意义[J]. 中国农业大学学报,2010,15(5):42-48
- [2] Qi Q, Huang Y F, Cutler A J, et al. Molecular and biochemical characterization of an amino alcohol phosphotransferase (AAPT1) from *Brassica napus*: effects of low temperature and abscisic acid treatments on AAPT expression in *Arabidopsis* plants and effects of over-expression of BnAAPT1 in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Planta*,2003,217:547-558
- [3] 毛志滨,谢晓金,汤庚国. 7种青树种耐低温能力比较[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2006,30(1):33-36
- [4] Palma M D, Grillo S, Massarelli I, et al. Regulation of desaturase gene expression, changes in membrane lipid composition and freezing tolerance in potato plants[J]. *Mol Breed*,2008,21:15-26
- [5] 杨亚军,郑雷英,王新超. 低温对茶树叶片膜脂脂肪酸和蛋白质的影响[J]. 亚热带植物科学,2005,34(1):5-9
- [6] 王萍,张成军,陈国祥,等. 低温对水稻剑叶膜脂过氧化和脂肪酸组分的影响[J]. 作物学报,2006,32(4):568-572
- [7] MacCarthy J J, Stumpf P K. The effect of different temperature on fatty acid synthesis and polyunsaturation in cell suspension cultures[J]. *Planta*,1980,147:389-395
- [8] 孟庆瑞,杨建民,樊英利. 果树抗寒机制研究进展[J]. 河北农业大学学报,2002,25(5):87-91
- [9] 徐呈祥,马艳萍,徐锡增,等. 盐胁迫下外源硅调节金丝小枣根和叶片膜脂肪酸的研究[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2006,30(2):89-93
- [10] 武玉璧,张进献,高玉军,等. 不同品种桑树抗寒特性的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2000,31(2):196-199
- [11] 孙中海,章文才,区胜祥,等. 柑桔抗寒性与其膜脂脂肪酸组分的关系研究[J]. 武汉植物学研究,1990,8(2):79-85
- [12] 刘慧民. 6种绣线菊(*Spiraea* Linn.)对低温和干旱逆境的适应性研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2007
- [13] 刁丰秋,章文华,刘友良. 盐胁迫对大麦叶片类囊体膜组成和功能的影响[J]. 植物生理学报,1997,23(2):105-110
- [14] 谢吉容,向邓云,梅虎,等. 南方红豆杉抗寒性的变化与内源激素的关系[J]. 西南师范大学学报:自然科学版,2002,27(2):231-234
- [15] 李志辉,汤兆华,孙汉州,等. 耐寒性桉树早期选择Ⅲ巨桉种源和家系膜脂肪酸组成、含量与抗寒性关系[J]. 中南林学院学报,2000,20(3):80-85

(责任编辑:袁文业)