

唐克,单金友,吴雨蹊,等.电导法测定沙棘枝条半致死温度的研究[J].黑龙江农业科学,2020(8):78-80.

电导法测定沙棘枝条半致死温度的研究

唐克,单金友,吴雨蹊,周双,房磊,王蕊

(黑龙江省农业科学院乡村振兴科技研究所,黑龙江哈尔滨 150028)

摘要:为促进沙棘抗寒性育种,试验以 10 种沙棘一年生休眠枝条为试材,通过实验室模拟低温冻害胁迫,测定不同低温条件下细胞电解质外渗率,并结合 Logistic 方程得出半致死温度,对不同品种沙棘抗寒性进行研究。结果表明:随着温度降低,细胞电解质外渗率呈“S”形曲线,在 $-40\sim-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时枝条电解质渗出趋于稳定,植株细胞受到不可逆冻害。10 种沙棘抗寒性顺序依次为芬兰>杂 54>无刺丰>晚黄>2012-11>201319>巨人>深秋红>201307>201308。

关键词:沙棘;电导法;半致死温度

植物组织的半致死温度(LT_{50})是植物抗寒性研究中的重要指标^[1]。电导法由于方法比较简便、快速、灵敏,是人们常采用的一种测定方法。Sukumaran 等^[2]研究认为,使电解质外渗率达到 50% 的温度与组织半致死温度相一致从而提出以电解质外渗率达到 50% 时的温度为半致死温度。随后通过大量研究表明电导法配以 Logistic 方程求拐点温度能较准确地估计出植物组织的低温半致死温度,在多种植物上应用取得良好的结果^[1]。本文采用电导法拟合 Logistic 方程,对黑龙江省栽植的 10 种沙棘优良品种(系)的半致死温度进行测定,研究了低温胁迫不同沙棘亚种间枝条电导率变化规律及抗寒性。以期为沙棘的抗寒性育种,引种栽培及种质资源利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验材料取自黑龙江省农业科学院乡村振兴科技研究所沙棘种质资源圃。试材为 2012-11、无刺丰、晚黄、201308、深秋红、201307、巨人、杂 54、芬兰、201319 共 10 种,其中巨人、芬兰、201307、201308、201319、2012-11 为俄罗斯引进的大果沙棘;深秋红、晚黄、无刺丰、杂 54 为中国沙棘与俄罗斯大果沙棘杂交种。

收稿日期:2020-02-21

基金项目:黑龙江省农业科学院院级科研项目(2018 YYYF032);国家水利部沙棘开发管理中心“东北黑土区沙棘良种试验示范”(2018-zg-kj-004)。

第一作者:唐克(1984-),男,硕士,助理研究员,从事沙棘育种及栽培繁育技术研究。E-mail: tangke19841102@163.com。

1.2 方 法

1.2.1 低温处理 2018 年 11 月沙棘进入休眠期后,从树冠外围中层剪取粗细均匀的一年生休眠枝条,长度为 30 cm,塑封袋包装后保存于超低温冰箱中,模拟低温胁迫处理。试验设 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 共 6 个低温处理,降温速度为 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$,达到所要求的温度后,维持 12 h。

1.2.2 电导率测定 电导率测定参照时朝等^[3]的方法将低温处理过的沙棘枝条,用蒸馏水及双蒸馏水冲洗干净,吸干枝条表面水分,剪取 0.5 cm 小段放入三角瓶中加 20 mL 蒸馏水浸泡 12 h,用 FD-101 型电导仪测定浸泡液电导率 C1 即冷冻后枝条细胞电解质渗出值,再将盛有浸泡液的三角瓶置于沸水浴 1 h,冷却至室温,用同样方法测定细胞全部被破坏后浸泡液电导率 C2 用以代表离体茎细胞电解质总含量。以蒸水的电导率 C0 为对照,计算电解质外渗率。电解质外渗率($\%$)= $[(C1 - C0)/(C2 - C0)] \times 100$ 。式中,C1 为煮前外渗液的电导率,C2 为煮后外渗液的电导率,C0 为蒸溜水的电导率。

1.2.3 数据分析 半致死温度的计算参照李淑玲等^[4]的方法,根据初电导率(C1)和终电导率(C2),求出电解质渗出率(Y),并对其进行回归分析,将温度(T)和电解质渗出率(Y)间的关系用 Logistic 方程 $Y = K/(1 + ae^{-bt})$ 进行拟合,若拟合度(r)显著时,再计算半致死温度(LT_{50})。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫处理后细胞相对电导率变化

沙棘枝条在受到低温胁迫后,细胞电解质渗

出率随着温度降低而上升,变化趋势基本上符合温度越低对细胞膜造成的损伤越大及细胞膜的透性增大将导致细胞内电解质渗出率也增大这一电导法测定抗寒力的基本理论^[5]。试验材料在不同低温条件下电解质外渗率由图 1 所示,随着温度的逐渐降低,电解质外渗率逐渐升高呈“S”曲线

趋势,在-20~-30℃时电解质外渗率显著增加,所有品种的电解质外渗率均超过 50%,说明低温胁迫对细胞损伤严重,-35~-40℃电解质外渗率增幅缓慢,此时细胞膜已经被破坏,电解质大量外泄,植株出现不可逆损伤。

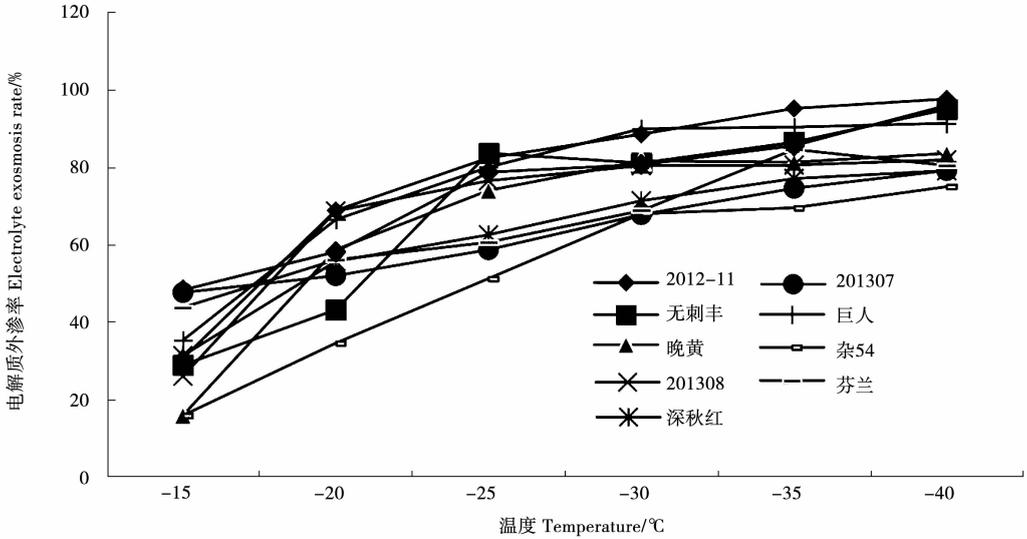


图 1 不同低温胁迫下细胞电解质外渗率变化曲线

Fig. 1 Change curve of cell electrolyte exosmosis rate under different low temperature stress

2.2 细胞电解质外渗率配以 Logistic 方程求低温半致死温度(LT₅₀)

沙棘枝条在不同低温胁迫处理下,电解质渗出率与温度曲线基本符合 Logistic 方程变化曲线,Logistic 方程变化曲线为典型的“S”型曲线,配合方法^[3]如下:

$$Y = K / (1 + ae^{-bx})$$

$$K = [Y_2^2(Y_1 + Y_3) - 2Y_1Y_2Y_3] / [Y_2^2 - Y_1Y_3]$$

其中,Y 为电解质外渗率,a、b 为常数,Y₁、Y₂、Y₃为测定结果中等距离的 3 点。在数学上,拐点即:d²Y/dx²=0 时的 x 值,经求导简化可得:x = lna/b,此即为半致死温度(LT₅₀)值^[1,3]。用 SPSS 软件处理数据,10 种沙棘一年生枝条的低温半致死温度结果如表 1 所示,沙棘枝条半致死

表 1 低温胁迫后沙棘枝条半致死温度

Table 1 Half lethal temperature of seabuckthorn branches after low temperature stress

品种 Varieties	Logistic 方程	k	相关系数 R ²	LT ₅₀ /℃
2012-11	$Y = 102.8182 / (1 + 2.4874e^{-0.1422x})$	102.81819	0.9411	-17.49
无刺丰	$Y = 98.31534 / (1 + 3.0937e^{-0.518x})$	98.315373	0.9066	-19.58
晚黄	$Y = 83.73384 / (1 + 5.2303e^{-0.2817x})$	83.733814	0.944	-18.57
201308	$Y = 102.8182 / (1 + 2.4874e^{-0.1423x})$	82.120355	0.9437	-15.58
深秋红	$Y = 98.31534 / (1 + 3.0937e^{-0.519x})$	84.03358	0.9732	-16.88
201307	$Y = 83.73384 / (1 + 5.2303e^{-0.2818x})$	93.308962	0.9866	-15.93
巨人	$Y = 102.8182 / (1 + 2.4874e^{-0.1424x})$	91.43144	0.9684	-17.08
杂 54	$Y = 98.31534 / (1 + 3.0937e^{-0.520x})$	75.834987	0.9722	-21.19
芬兰	$Y = 83.73384 / (1 + 5.2303e^{-0.2819x})$	114.88313	0.9183	-22.20
201319	$Y = 102.8182 / (1 + 2.4874e^{-0.1425x})$	110.45442	0.9535	-17.45

温度在 $-15.58 \sim -22.20$ °C, 相关系数 R^2 在 0.9066~0.9866, 说明低温胁迫下枝条细胞电解质外渗浓度符合 Logistic 方程变化曲线, 证明了沙棘枝条的抗寒性研究中此方法准确、可行。

3 结论

参试 10 种沙棘枝条细胞电解质外渗率符合经典“S”型变化曲线, 与前人的植物抗寒性研究结果相符。

不同沙棘品种的抗寒性不同, 10 种沙棘抗寒性顺序依次为芬兰 > 杂 54 > 无刺丰 > 晚黄 > 2012-11 > 201319 > 巨人 > 深秋红 > 201307 > 201308, 其中芬兰、杂 54、无刺丰、晚黄、2012-11 和深秋红为晚熟沙棘品种, 201307 和 201308 为俄罗斯引进大果沙棘品种, 相较其他品种其抗寒性较差, 冬季遇到无雪、寒冷天气时容易出现低温冻害, 第二年春季表现为枝条抽干, 萌动困难、花期推迟甚至植株死亡。

虽然电导法检测植物半致死温度可以反映出植株抗寒特性, 但植物生长过程错综复杂, 其抗寒性也受到各种因素影响, 单一的抗寒性指标不能

完全代表植物的抗寒特性^[6-7], 实际生产中应结合田间实际情况, 综合考量使结果更加准确。

参考文献:

- [1] 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, 9(3):11-16.
- [2] Sukumaran N P, Weiser C J. Method of determining cold hardiness by electrical conductivity in potato[J]. Hort Science, 1972(7):467-468.
- [3] 时朝, 王亚芝, 刘国杰. 应用 Logistic 方程确定五种苹果枝条的半致死温度的研究[J]. 北方园艺, 2013(2):36-38.
- [4] 李淑玲, 冯景玲, 冯建荣, 等. 不同苹果品种抗寒性的研究[J]. 石河子大学学报:自然科学版, 2014(32):284.
- [5] 房义福, 吴晓星, 李长贵, 等. 电导法对 11 种常绿阔叶树种抗寒性的测定[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35(12):11-12.
- [6] 刘祖祺. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [7] 张军科, 桑春果, 李嘉瑞, 等. 杏品种资源抗寒性主成分分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 1999, 27(6):79-84.

Study on Semi-lethal Temperature of *Hippophae rhamnoides* Branches by Conductivity Method

TANG Ke, SHAN Jin-you, WU Yu-xi, ZHOU Shuang, FANG Lei, WANG Rui

(Institute of Rural Revitalization Science and Technology, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150028, China)

Abstract: In order to promote the cold resistance breeding of *Hippophae rhamnoides* L., ten varieties of *Hippophae rhamnoides* annual dormant branches were used as test materials. The cell electrolyte exosmosis rate was measured under different low temperature conditions by simulating freezing stress in laboratory. Semi-lethal temperature was obtained by combining Logistic equation. The cold resistance of different varieties of *Hippophae rhamnoides* was studied. The results showed that with the decrease of temperature, the cell electrolyte exudation rate showed a ‘S’ curve, and the branch electrolyte exudation tended to be stable at $-40 \sim -35$ °C, and the plant cells were subjected to irreversible freezing injury. The order of cold resistance of 10 varieties of sea-buckthorn was Finland > Za54 > Wucifeng > Wanhuang > 2012-11 > 201319 > Juren > Shenqihong > 201307 > 201308.

Keywords: sea-buckthorn; conductivity method; semi-lethal temperature