

# 桃树脱锻炼期间电阻抗参数与抗寒性关系研究

张海旺, 陈海江, 张学英, 郝建博

(河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071000)

**摘要:**以抗寒性较强的“燕红” [*Prunus persica* (L.) cv. Yanhong]和抗寒性较弱的“中华寿桃” [*Prunus persica* (L.) cv. Zhonghuashoutao] 2个品种为试材,在应用电解质渗透(EL)法测定桃树枝条抗寒性的基础上,研究了电阻抗(EIS)参数与抗寒性的关系。结果表明:电阻抗参数法与电解质渗透法测定抗寒性具有较高的一致性,“中华寿桃”EIS( $r_e$ )法一致性最高,达到0.982,“燕红”EIS( $r_e$ )法相关性达到0.856;未经冷冻处理枝条的电阻抗参数与抗寒性具有较高相关性,其中“燕红”胞外电阻率 $r_e$ 相关性最高,达到-0.983,而“中华寿桃”弛豫时间( $\tau$ )和胞外电阻率( $r_e$ )相关性分别达到0.935和-0.808;表明 $r_e$ 和 $\tau$ 可作为脱锻炼期间测定桃枝条抗寒性指标;同时通过比较各参数的通径分析测得 $t$ 值,表明 $r_e$ 为估测桃树枝条抗寒性最佳的参数。

**关键词:**桃;电阻抗图谱;抗寒性;脱锻炼

**中图分类号:**S 662.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)06-0011-04

桃是我国重要的果树之一。近年来,桃品种更新换代日趋加快,培育环境适应性强的新品种对于促进品种的更新具有重要意义。抗寒性是反映桃品种栽培性状优劣的重要指标之一。因此,建立一种桃树抗寒性的早期鉴定方法,对缩短育种年限以及实现适地适栽具有重

要的现实意义<sup>[1-2]</sup>。

近年来,桃园冻害时有发生,有些品种大面积减产,甚至死亡,种植者这才意识到这些品种的不抗寒缺陷,然而损失已在所难免。显然,在生产中进行抗寒性的验证需要的时间较长,而且会造成较大损失,因此研究桃树抗寒性的快速测定方法具有重要意义<sup>[3-4]</sup>。

已有研究表明,许多植物在抗寒锻炼期间,不同器官的某些电阻抗图谱参数,如胞外电阻率( $r_e$ ),胞内电阻率( $r_i$ )及弛豫时间( $\tau$ )随抗寒锻炼的进行发生改变,但关于脱锻炼期间 EIS 参数与抗寒性关系的相关性研究较少<sup>[5]</sup>,在桃树上至今尚鲜见相关报道。

近年来,在对不同树种的研究中发现,未经冷冻处理试材的某些 EIS 参数变化与试材冷冻处理后估测的

**第一作者简介:**张海旺(1987-),男,河北邯郸人,硕士研究生,研究方向为果树栽培生理与生态。E-mail: zhanghaiwang204@126.com.

**责任作者:**陈海江(1964-),男,硕士,教授,现主要从事桃树栽培生理与生态等研究工作。

**基金项目:**国家现代农业产业技术体系建设专项资助项目(CARS-31-3-02)。

**收稿日期:**2013-12-18

## Study on Effect of Mutation Induced by Laser on Physiological Indexes of Yellow Onion

PAN Tian-chun

(Xichang College, Xichang, Sichuan 615013)

**Abstract:** Taking two yellow onion varieties of ‘Jinqiu’ and ‘Yuli’ as materials, wet seeds of yellow onion were treated by He-Ne laser and CO<sub>2</sub> laser at three dosage levels respectively. The physiology effects of yellow onion L<sub>1</sub> generation caused by various treatments were observed in net assimilate rate, protein content, sugar content of leaf, sugar content of stem. The results showed that, variability of protein content, sugar content of leaf, sugar content of stem, net assimilate rate in onion generation induced mutation by He-Ne laser was larger than induced mutation by CO<sub>2</sub> laser. It was a good method for select the excellent breed under He-Ne laser irradiation on yellow onion, and could provide reference for practice and promotion of the laser mutation onion breeding method.

**Key words:** yellow onion; laser; mutation; physiology effect; variation

抗寒性明显相关<sup>[6]</sup>,某些参数可以直接估测抗寒性。这较常规的冷冻处理测定植物抗寒性的方法省时,在取样的当天即可计算试材的抗寒性。因此,开发 EIS 具有广阔的应用前景,是一种很有前途的方法<sup>[7]</sup>。

该试验在应用电解质渗透法测定桃树枝条抗寒性的基础上,同时利用电阻抗图谱法测定了冷冻处理和未经冷冻处理的 4 个参数(胞外电阻率( $r_e$ )、胞内电阻率( $r_i$ )、弛豫时间( $\tau$ )、弛豫时间的分布系数( $\psi$ ),并对其与抗寒性的关系进行了研究,旨在找到评价桃树抗寒性的简便方法,丰富和完善电阻抗图谱法测定植物抗寒性的技术。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为生产上抗寒性较强的“燕红”和抗寒性较弱的“中华寿桃”;树龄均为 5 年;每个品种选取树势中庸、生长势一致的 6 株桃树,在 4 个方向均匀取一年生枝条用于测定。试材均取自河北省保定市顺平县南台鱼村,位于保定市西部山区,地处北纬  $38^{\circ}10' \sim 40^{\circ}00'$ ,东经  $113^{\circ}40' \sim 116^{\circ}20'$ 。

### 1.2 试验方法

试验于 2013 年 1 月 15 日开始,每个月采样 1 次,2013 年 5 月 15 日采样结束。1、2、3、4、5 月为脱锻炼期间。参照张钢等<sup>[8]</sup>的方法,将所采样品进行冷冻处理。先将用于测定抗寒性的材料清洗干净,用去离子水分别清洗。然后将材料一部分进行冷冻处理,一部分不进行冷冻处理。进行冷冻处理的材料装在 7 个封口袋中,袋中喷少量去离子水防止材料过冷。试验设定 7 个温度梯度(表 1),设定的温度包括使样本全部成活和全部死亡的温度,以  $4^{\circ}\text{C}$  为对照。最初将材料全部置于  $4^{\circ}\text{C}$  环境中,4 h 后将其它冷冻温度处理的材料以  $1^{\circ}\text{C}/10\text{min}$  的速度降到设定的温度,冷冻 4 h。然后将冷冻好的材料放于  $4^{\circ}\text{C}$  环境中解冻 24 h,其它冷冻温度按照此步骤继

续冷冻,直至所有冷冻处理完成。待所有冷冻处理材料完全解冻后即可进行测定。通过电解质渗透法和电阻抗图谱法进行抗寒性估计。每个月份温度设定根据前 1 个月测定的温度进行设置。

表 1 冷冻处理时所设温度

Table 1 The temperatures used for freezing treatment								
采样日期	处理温度							
Sampling date/月-日	Temperature of treatment/ $^{\circ}\text{C}$							
1-15	4	-10	-22	-34	-45	-55	-65	
2-15	4	-8	-16	-25	-34	-45	-55	
3-15	4	-8	-15	-22	-34	-42	-50	
4-15	4	-8	-16	-22	-34	-42	-50	
5-15	4	-6	-10	-15	-25	-35	-45	

### 1.3 项目测定

电解质渗透(EL)法参照李亚等<sup>[6]</sup>的方法,每个温度处理设 4 次重复,利用电导仪测出初电导值 E1 和终电导值 E2。电阻抗图谱(EIS)法测定参照董胜豪等<sup>[9]</sup>的方法,每个温度处理 8 次重复。配合 Logistic 方程拟合求出该曲线出现拐点时的温度,得出各自测定的半致死温度。

## 2 结果与分析

### 2.1 脱锻炼期间 EL 法和 EIS 法测定桃树枝条抗寒性的比较

由表 2 可知,脱锻炼期间随着外界温度的升高,2 个品种的抗寒性(电解质渗透法测定枝条半致死温度)均在下降。电解质渗透法测得“燕红”和“中华寿桃”的最低半致死温度为  $-41.28^{\circ}\text{C}$  和  $-36.26^{\circ}\text{C}$ ;EIS( $r_e$ )法测得“燕红”和“中华寿桃”为  $-37.97^{\circ}\text{C}$  和  $-29.76^{\circ}\text{C}$ ;在 5 月份抗寒性达到最低值,其中“燕红”的抗寒性始终强于“中华寿桃”,这与生产上表现一致。并且利用 EIS 法的  $r_e$  参数估测的半致死温度与电解质渗透法测得半致死温度最接近,二者之间相差范围,“燕红”为  $-10.33 \sim 4.33^{\circ}\text{C}$ ,”中华寿桃”为  $-6.5 \sim 2.26^{\circ}\text{C}$ 。

表 2 脱锻炼期间 EL 法和 EIS 法测定桃枝条半致死温度的变化

Table 2 Variations in semi-lethal temperatures of peach stems using electrolyte leakage (EL) and electrical impedance spectroscopy (EIS) measurements during dehardening

日期 Date/ 月-日	“燕红” ‘Yanhong’					“中华寿桃” ‘Zhonghua Shoutao’					$^{\circ}\text{C}$
	EL	$r_e$	$r_i$	$\tau$	$\psi$	EL	$r_e$	$r_i$	$\tau$	$\psi$	
1-15	-38.11	-36.01	-35.33	-42.07	-35.69	-36.26	-29.76	-35.26	-28.75	-19.37	
2-15	-33.64	-37.97	-22.36	-33.91	-27.34	-25.81	-21.42	-23.92	-27.68	-22.35	
3-15	-41.28	-30.95	-20.31	-12.82	-25.59	-25.98	-22.94	-37.84	-19.47	-19.58	
4-15	-22.56	-20.82	-32.98	-16.75	-34.24	-9.89	-12.15	-11.31	-8.62	-18	
5-15	-19.91	-9.8	-10.28	-7.52	-10.71	-11.26	-8.01	-7.93	-7.93	-10	
$r$		0.856 *	0.624	0.516	0.701		0.982 * *	0.923 * *	0.945 * *	0.620	
$R^2$		0.732	0.39	0.266	0.492		0.965	0.851	0.892	0.384	
通径系数 Path coefficient		2.776	0.541	1.031	0.865		7.718	3.507	4.757	1.358	

注: \* \*  $P < 0.01$ ; \*  $P < 0.05$ 。  $r$ : 相关系数。EL: 电解质渗透法,  $r_e$ : 胞外电阻率,  $r_i$ : 胞内电阻率,  $\tau$ : 弛豫时间,  $\psi$ : 弛豫时间分布系数。

Note: \* \* Correlation is significant at the 0.01 level; \* Correlation is significant at the 0.05 level.  $r$ : Correlation coefficient, EL: Electrolyte leakage,  $r_e$ : Specific extra cellular resistance,  $r_i$ : Specific intra cellular resistance,  $\tau$ : Relaxation time,  $\psi$ : Distribution coefficient of relaxation time.

针对 EIS 法估测脱锻炼期间抗寒性的进一步分析表明,EIS 参数  $r_e$ 、 $r_i$ 、 $\tau$ 、 $\psi$  估测的“燕红”抗寒性与 EL 法测得抗寒性有较高的一致性。并且 EIS( $r_e$ )法相关性最高,“燕红”为 0.856,“中华寿桃”为 0.982。4 个电阻抗参数法对 EL 法测得枝条抗寒性的响应存在差异(表 3),通过通径分析得出“燕红”EIS( $r_e$ )法响应最高,为 2.776;“中华寿桃”为 7.718。

2.2 未经冷冻处理桃枝条的 EIS 参数与 EL 测定抗寒性的相关分析

由图 1 可知,“燕红”和“中华寿桃”胞外电阻率( $r_e$ )呈现先下降、再上升、再下降的趋势;在 2013 年 1 月份“燕红” $r_e$  为 63.472  $\Omega\text{m}$ ,“中华寿桃”为 70.806  $\Omega\text{m}$ ;5 月

份“燕红” $r_e$  为 18.357  $\Omega\text{m}$ ,“中华寿桃”为 23.407  $\Omega\text{m}$ 。“燕红”胞内电阻率( $r_i$ )随着温度的升高而降低,“中华寿桃”胞内电阻率  $r_i$  呈先下降、再上升、再下降的趋势;弛豫时间( $\tau$ )随着温度的升高而升高。2013 年 1 月份“燕红” $\tau$  为 3.308  $\mu\text{s}$ ,“中华寿桃”为 2.731  $\mu\text{s}$ ;5 月份“燕红” $\tau$  为 57.831  $\mu\text{s}$ ,“中华寿桃”为 35.026  $\mu\text{s}$ 。

由表 3 可知,“燕红” $r_e$ 、 $r_i$  与抗寒性呈极显著和显著负相关, $\psi$ 、 $\tau$  与抗寒性呈正相关,“中华寿桃” $r_e$  与抗寒性呈显著负相关, $r_i$ 、 $\psi$  与抗寒性呈负相关, $\tau$  与抗寒性呈极显著正相关。“燕红” $r_e$  相关性最高,为-0.983,“中华寿桃” $r_e$  和  $\tau$  相关性分别为-0.808 和 0.935。

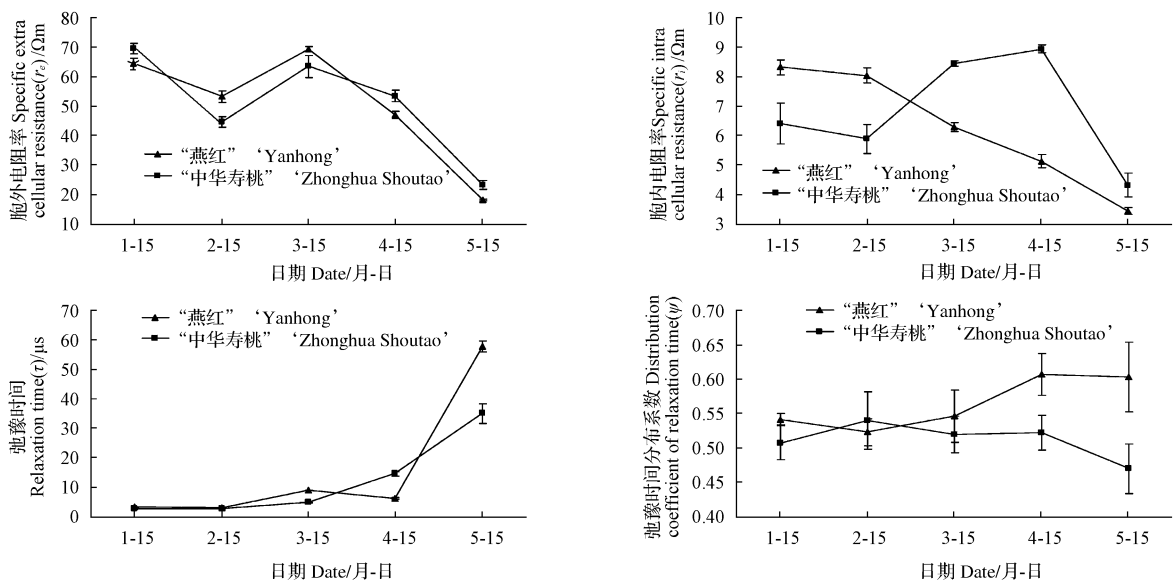


图 1 脱锻炼期间未经冷冻处理枝条的 EIS 参数的变化

Fig. 1 Variations of EIS parameters of non-frost-exposed stems during dehardening

表 3 脱锻炼期间未经冷冻处理桃枝条的 EIS 参数与 EL 测定半致死温度的相关分析

Table 3 Correlations between the semi-lethal temperatures using electrolyte leakage measurement and the parameters of EIS in non-frost-exposed peach shoots during dehardening

	“燕红” ‘Yanhong’			“中华寿桃” ‘Zhonghua Shoutao’		
	相关性 $r$	回归方程	$R^2$	相关性 $r$	回归方程	$R^2$
$r_e$ 与 EL 法	-0.983 **	$y = -0.0818x^2 - 6.9299x - 81.336$	0.9204	-0.808 *	$y = 0.0138x^2 - 0.6317x + 30.299$	0.5692
$r_i$ 与 EL 法	-0.805 *	$y = -0.0261x^2 - 1.7602x - 21.658$	0.8926	-0.568	$y = -0.0041x^2 - 0.2091x + 5.0135$	0.0565
$\tau$ 与 EL 法	0.662	$y = 0.4193x^2 + 27.981x + 457.15$	0.6786	0.935 **	$y = 0.0447x^2 + 3.3979x + 65.471$	0.4724
$\psi$ 与 EL 法	0.896 *	$y = 0.0003x^2 + 0.0213x + 0.9133$	0.8292	-0.488	$y = -0.0001x^2 - 0.0068x + 0.4415$	0.3065

注: \*\*  $P < 0.01$ ; \*  $P < 0.05$ 。  $r_i$ : 相关系数。  
Note: \*\* Correlation is significant at the 0.01 level; \* Correlation is significant at the 0.05 level.  $r_i$ : Correlation coefficient.

3 讨论与结论

冷冻处理后用 EIS 法和 EL 法估测桃枝条抗寒性结果表明,EIS( $r_e$ )法与 EL 法测定结果间有很高的相关性,“燕红” ( $R^2 = 0.732$ )、“中华寿桃” ( $R^2 = 0.965$ )。虽然不同树种之间存在差异,但是 EIS 法和 EL 法二者估测抗寒性存在明显相关性,EIS 法可以用来估测桃树的

抗寒性,且胞外电阻率  $r_e$  是植物冷冻处理后测定其抗寒性的最佳参数。前人研究结果也表明,用 EIS 法和 EL 法测定白皮松抗寒性时抗寒性结果非常相似<sup>[10]</sup>。并且对白皮松抗寒性研究发现,在脱锻炼初期,抗寒性较强的时候,用 EIS 法和 EL 法测定的抗寒性值相差较大,而随着脱锻炼的进行,后期 2 种方法测得的抗寒性差异较

小<sup>[9]</sup>。该研究结果与前人研究结果一致。

该研究发现,脱锻炼期间“燕红”和“中华寿桃” $r_e$ 、 $r_i$ 在5月份达到最小值, $\tau$ 和 $\psi$ 达到最大值;脱锻炼初期,外界气温逐渐回升,枝条的 $r_e$ 和 $r_i$ 均随之降低,可能是由于抗寒性逐渐降低。植物的抗寒性与植物体内含水量高度相关<sup>[11]</sup>,体内含水量增加, $\tau$ 和 $\psi$ 会随之增加, $r_e$ 和 $r_i$ 会随之减低。在3月中旬时,2个品种桃枝条的 $r_e$ 和 $r_i$ 呈一定程度的上升趋势,可能与2013年3月中旬来的倒春寒有关,致使一部分抵御低温的蛋白合成及淀粉向可溶性糖转变;脱锻炼后期,各参数均趋于平稳状态,说明树体也顺利越冬,进入正常的营养生长。Repo等<sup>[12]</sup>认为弛豫时间长短反映了细胞膜组成的变化、细胞内离质体和共质体中离子的迁移率及它们对频率变化的响应,从分子水平上反映了细胞膜脂肪酸的过氧化程度,这或许就能够解释该研究中弛豫时间 $\tau$ 的变化趋势。

未经冷冻处理的样本的某些参数变化与样本冷冻处理后估测的抗寒性明显相关,胞外电阻率 $r_e$ 、弛豫时间 $\tau$ 及胞内电阻率 $r_i$ 与抗寒性的相关性较高<sup>[6-7,9,12]</sup>。在该试验中,与Repo等<sup>[13]</sup>对挪威云杉和张洁等<sup>[14]</sup>对欧美杨×大青杨F<sub>1</sub>子代的研究结果一致,未经冷冻处理枝条的EIS参数的变化与EL法测定的抗寒性呈正相关或负相关,相关性较高的是胞外电阻率 $r_e$ 和弛豫时间 $\tau$ 。

综上所述,冷冻处理条件下,胞外电阻率 $r_e$ 可以作为桃树枝条抗寒性参数;未经冷冻处理条件下,胞外电阻率 $r_e$ 可以作为预测抗寒性强的桃树枝条抗寒性参数;弛豫时间 $\tau$ 可以作为预测抗寒性弱的桃树枝条抗寒性参数。

## 参考文献

- [1] 汪祖华,庄恩及.中国果树志-桃卷[M].北京:中国林业出版社,2001.
- [2] 唐绶宸.桃树抗寒栽培新技术[J].北京农业,2007(1):15.
- [3] 张素敏.二十一世纪桃冻害预防综合管理技术[J].中国果树,2012(1):75.
- [4] 张文宝,郭继英.北京市平谷区桃树冻害情况分析[J].北京农业,2010(10):52.
- [5] 李亚青,张钢,御书鹏,等.白皮松枝条和针叶的电阻抗参数与抗寒性的相关性[J].林业科学,2008,44(4):28-34.
- [6] 李亚,张钢,张玉星,等.水杨酸对大叶黄杨枝条抗寒性和电阻抗图谱参数的影响[J].生态学杂志,2010,29(3):460-466.
- [7] 金明丽,徐继忠,张钢.苹果砧木枝条电阻抗参数与其抗寒性的关系[J].园艺学报,2011,38(6):1045-1051.
- [8] 张钢,肖建忠,陈段芬.测定植物抗寒性的电阻抗图谱法[J].植物生理与分子生物学报,2005,31(1):19-26.
- [9] 董胜豪,张钢,御书鹏,等.脱锻炼期间白皮松针叶的电阻抗图谱参数和生理指标的相关性[J].园艺学报,2009,36(6):891-897.
- [10] Zhang G, Li Y Q, Dong S H, Assessing frost hardiness of *Pinus bungeana* shoots and needles by electrical impedance spectroscopy with and without freezing tests [J]. J Plant Ecol, 2010, 3(4):285-293.
- [11] 刘辉,张钢.短日照对金叶女贞枝条抗寒性和电阻抗参数图谱参数的影响[J].华北农学报,2008,23(2):173-179.
- [12] Repo T, Leinonen I, Ryyppö A, et al. The effect of soil temperature on the bud phenology, chlorophyll fluorescence, carbohydrate content and cold hardiness of Norway spruce seedlings [J]. Physiol Plant, 2004, 121 (1): 93-100.
- [13] Repo T, Sutinen S, Nöjd P, et al. Implications of delayed soil thawing on trees; a case study of a *Picea abies* stand [J]. Scand J Forest Res, 2007, 22: 118-127.
- [14] 张洁,张钢,张振英,等.电导法和电阻抗图谱法测定脱锻炼期间欧美杨×大青杨F<sub>1</sub>子代抗寒性[J].植物生理学报,2012,48(1):44-50.

## Study on Relationship Between Electrical Impedance Spectroscopy Parameters and Frost Hardiness in Peach Stem During Dehardening

ZHANG Hai-wang, CHEN Hai-jiang, ZHANG Xue-ying, HAO Jian-bo

(Horticultural Department, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000)

**Abstract:** Taking ‘Yanhong’ [*Prunus persica* (L.) cv. Yanhong] and ‘Zhonghua Shoutao’ [*Prunus persica* (L.) cv. Zhonghua Shoutao] that showing stronger and weaker anti-cold abilities as materials respectively, electrolyte leakage (EL) method were utilized to determine frost hardiness on peach stem, the relationship between electrical impedance spectroscopy (EIS) parameters and frost hardiness were studied. The results showed that, the frost hardiness using EIS measurement was more consistent than EL measurement. The relevance of  $r_e$  was the highest for ‘Zhonghua Shoutao’, reached to 0.982, the relevance reached to 0.856 for ‘Yanhong’. Non-frost-exposed parameters and frost hardiness had higher relevance, the relevance of extracellular resistance ( $r_e$ ) was the highest, ‘Yanhong’, which reached to -0.983, while the relevance of relaxation time ( $\tau$ ) and extracellular resistance ( $r_e$ ) reached to 0.935 and -0.808 for ‘Zhonghua Shoutao’, while indicating that  $r_e$  and  $\tau$  was the best parameter to measure the frost hardiness in peach stem during dehardening and  $r_e$  was the best parameter by comparing the parameters of path coefficient measured  $t$ .

**Key words:** *Prunus persica* (L.) Batsch; electrical impedance spectroscopy (EIS); frost hardiness; dehardening