

应用 Logistic 方程确定五种苹果枝条的半致死温度的研究

时 朝^{1,2}, 王亚芝², 刘国杰¹

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193; 2. 北京市农林科学院 农业综合发展研究所, 北京 100097)

摘 要:以“龙丰”、“龙冠”、“海棠优系 1”、“海棠优系 2”、“富士”5 种苹果的 1 a 生休眠枝条为试材, 采取人工模拟外界环境的方法进行不同梯度的低温处理, 测定 5 种苹果枝条的电解质外渗率, 并配合 Logistic 方程对各品种枝条的低温半致死温度(LT₅₀)进行了拟合。结果表明: 随处理温度的不断降低, 5 种苹果枝条的电解质外渗率变化趋势呈现明显的“S”型曲线; 在 -36.4~-44.7℃ 时, 各品种枝条的半致死温度(LT₅₀)先后出现, 抗寒力强弱顺序为: “龙丰”(M. pumila ‘Longfeng’) > “海棠优系 1”(M. spectabilis ‘I’) > “龙冠”(M. pumila ‘Longguan’) > “海棠优系 2”(M. spectabilis ‘II’) > “富士”(‘Fuji’ Apple)。

关键词:电解质外渗率; 膜透性; Logistic 方程; 半致死温度

中图分类号:S 661 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0036-03

在植物抗寒性研究中, 准确地确定植物组织的半致死温度(LT₅₀)无论在理论研究还是在实践应用上都具有重要意义^[1]。Sukumaran 等^[2]通过对马铃薯研究后认为, 使电解质外渗率达到 50% 的温度与组织半致死温度相一致, 提出以电解质外渗率达到 50% 时的温度为半致死温度。随后大量研究结果表明, 电解质外渗率配以 Logistic 方程进行回归分析, 以拐点温度表示植物组织的半致死温度更为准确^[1,3-8]。

现以北京山区 5 种苹果的 1 a 生枝条为试材, 通过人工低温处理, 探讨低温胁迫与电解质外渗率之间的关系, 并配合 Logistic 方程确定各个品种的低温半致死温度, 研究其枝条在不同低温处理下电解质渗出率的变化规律及不同品种的抗寒性, 以期苹果抗寒育种的早期鉴定、引种栽培和种质资源保护利用等提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试苹果分别为“龙丰”(M. pumila ‘Longfeng’)、“龙冠”(M. pumila ‘Longguan’)、“海棠优系 1”(M.

spectabilis ‘I’)、“海棠优系 2”(M. spectabilis ‘II’) 4 种抗寒小苹果以及普通“富士”苹果(‘Fuji’ Apple), 5 种试材均取自北京延庆县。其中, “龙丰”、“龙冠”引种自黑龙江省牡丹江市, “海棠优系 1”、“海棠优系 2”、“富士”来源于延庆当地。

1.2 试验方法

1.2.1 不同品种苹果枝条的前期低温处理 将不同品种苹果枝条取出剪成 40 cm 左右的段, 冲洗干净后放入超低温冰箱中, 进行不同低温处理。试验共设 -10、-20、-30、-33、-36、-39、-42、-45、-48℃ 9 个处理, 并设置 3 个恒温时间, 分别是 24、48、72 h, 以未进行低温处理前测定值为对照(CK)。

1.2.2 不同品种苹果枝条的电解质外渗率测定 将低温处理后的不同品种苹果枝条用蒸馏水和双蒸水各冲洗 2 遍, 用洁净的滤纸吸净枝条表面水分, 避开芽眼, 用无菌消毒剪刀将枝条剪成 0.2 cm 左右的小段, 称取 1.0 g 放入三角瓶中, 加 6 mL 双蒸水在室温下浸泡 12 h 后待测。采用 DDS-307 型电导仪测定浸泡液的电导率 C₁, 以代表冷冻后的离体茎细胞电解质的外渗值。再将盛有浸泡液的三角瓶置于沸水浴 45 min, 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。以双蒸水的电导率 C₀ 为对照, 计算电解质外渗率。电解质外渗率 = [(C₁ - C₀) / (C₂ - C₀)] × 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 为双蒸水的电导率。将电解质外渗率曲线配以 Logistic 方程进行回归分析, 求得拐

第一作者简介:时朝(1980-), 男, 博士, 助理研究员, 现主要从事植物生理生化与林果资源利用等研究工作。E-mail: shizhao_bj@126.com.

责任作者:王亚芝(1963-), 女, 本科, 高级工程师, 研究方向为林果资源评价与利用。E-mail: yazhiwang1111@126.com.

基金项目:北京市科委资助项目(D101105046210001)。

收稿日期:2012-09-17

点温度即为组织的半致死温度。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫和处理时间对电解质外渗率的影响

植物在低温胁迫下,细胞膜的膜透性受到伤害,胞内电解质的外渗量会大量增加,且不同植物细胞受伤害的程度不同,电解质外渗量的变化就不一样,所以电解质渗出率可用于反映组织的植物细胞的抗性大小和受伤害程度,是评价植物抗寒性的一个重要指标,植物细胞电解质的大量外渗,通常被认为是膜伤害或变性的重要标志^[9-10]。不同温度下 5 种苹果枝条的电解质外渗率变化趋势见图 1~3。由图 1、2 可知,短时间低温胁迫下,5 种苹果枝条电解质外渗率的变化趋势大体相同,随温度的降低而升高,并且呈明显的“S”曲线(慢-快-慢)。在降温初期,外渗率表现出不同程度的下降,其原因是

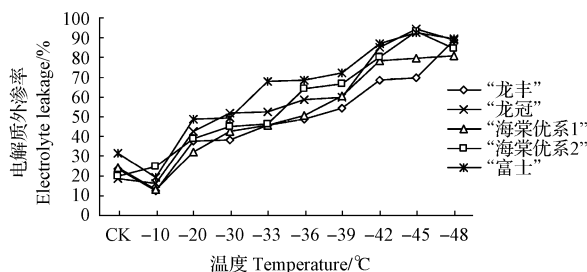


图 1 24 h 处理后低温胁迫对电解质外渗率的影响

Fig. 1 Effect of low temperature stress on electrolyte leakage under 24 hours treatment

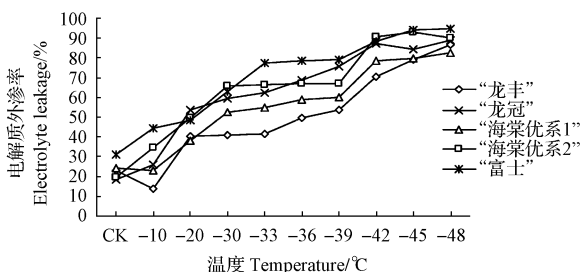


图 2 48 h 处理后低温胁迫对电解质外渗率的影响

Fig. 2 Effect of low temperature stress on electrolyte leakage under 48 hours treatment

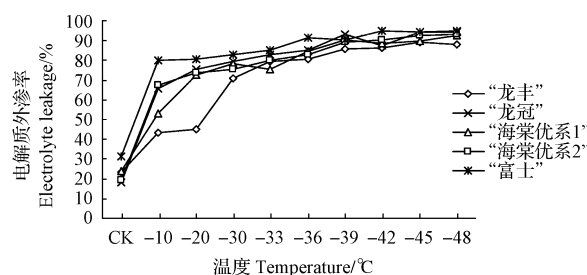


图 3 72 h 处理后低温胁迫对电解质外渗率的影响

Fig. 3 Effect of low temperature stress on electrolyte leakage under 72 hours treatment

植物组织对低温胁迫能产生一定的防御反应,使细胞膜得以修复,说明适时的低温锻炼对苹果枝条的抗寒性有一定的增强作用。随着温度的进一步下降(-10~-42℃),电解质外渗率表现出快速增加的趋势,-39℃时各个品种的电解质外渗率都超过了 50%,说明此时离子渗透已经相当严重;当温度继续下降到-42℃以下时,电解质外渗率虽然仍有上升,但速度缓慢,说明此时植物体内细胞膜已基本被破坏,离子大都渗透到细胞外面。由图 3 可知,较长时间的低温胁迫对离子主动运输机制有严重的伤害,膜透性易遭到不可逆转的破坏。

2.2 电解质外渗率变化的 Logistic 模拟及 LT₅₀ 的确定

苹果枝条在不同处理温度和时间下的电解质外渗率曲线基本符合 Logistic 变化规律,Logistic 方程是一个典型的“S”曲线方程,在抗寒研究中其拟合方法如下。

Logistic 方程: $y = \frac{k}{1 + ae^{-bx}}$, $k = \frac{y_2^2(y_1 + y_3) - 2y_1y_2y_3}{y_2^2 - y_1y_3}$ 。

其中, y 为电解质外渗率, y_1 、 y_2 、 y_3 为测定结果中等距离的 3 点。

在实际应用中,常令 $y' = (k - y)/y$, 则 $\bar{y}' = \ln a - bx$, 转换成 y' 后,与处理温度 x 之间的关系可线性表示,故可按一般的直线相关法求出 a 和 b 。 y' 与 Logistic 方程的拟合度可用 y' 与 x 的相关系数 $r_{y'x}$ 表示。 $r_{y'x} =$

$$\frac{\sum xy' - 1/n(\sum x) \cdot (\sum y')}{[\sum x^2 - 1/n(\sum x)^2][\sum (y')^2 - 1/n(\sum y')^2]}。$$

在数学上,拐点即: $d^2y/dx^2 = 0$ 时的 x 值,经求导简化可得: $x = \ln a/b$, 此即为半致死温度(LT₅₀)值。用 SAS 软件处理数据,5 种苹果的低温半致死温度(LT₅₀)结果见表 1。由表 1 可以看出,5 种苹果枝条的低温半致死温度(LT₅₀)为 -36.4 ~ -44.7℃。相关系数 R^2 为 0.9298~0.9848,均大于相关系数显著性临界值 0.7084,说明低温胁迫下电解质外渗率遵循 Logistic 方程的变化规律。此外,方差分析结果显著或极显著,表明在该抗寒研究中 Logistic 方程的拟合结果是十分可靠的,精确

表 1 低温处理后 5 种苹果枝条的半致死温度

Table 1 LT₅₀ of five varieties of apple branches with low temperature treatment

品种	Logistic 回归方程	相关系数 R^2	LT ₅₀ /℃
“龙丰”	$y = \frac{126.4187}{1 + 72.2095e^{0.0957x}}$	0.9649 *	-44.7
“龙冠”	$y = \frac{113.2941}{1 + 65.6924e^{0.1006x}}$	0.9724 *	-41.6
“海棠优系 1”	$y = \frac{118.5392}{1 + 69.4759e^{0.0991x}}$	0.9848 *	-42.8
“海棠优系 2”	$y = \frac{109.2503}{1 + 57.9242e^{0.1028x}}$	0.9298 *	-39.5
“富士”	$y = \frac{98.6429}{1 + 51.0476e^{0.1081x}}$	0.9389 *	-36.4

注: * 和 ** 表示相关系数达显著和极显著水平。

度也比较高。

3 结论

该试验结果表明,随着温度的下降,5种苹果枝条的电解质外渗率增大,并且呈“慢-快-慢”的趋势,呈典型的“S”型变化,这与前人的研究结果相吻合^[11-12]。降温初期,电解质外渗率出现下降的现象,高爱农等^[13]解释逆境伤害的初期或轻度伤害(亚致死剂量)时,普遍有一个外渗电导值下降或没有明显变化的阶段,这就是植物的自我保护功能。

以电解质外渗率配以 Logistic 方程回归分析后得到 5 种苹果的低温半致死温度,由低到高依次是:“龙丰”<“海棠优系 1”<“龙冠”<“海棠优系 2”<“富士”,则 5 种苹果的抗寒力强弱顺序为:“龙丰”>“海棠优系 1”>“龙冠”>“海棠优系 2”>“富士”,小苹果类资源的抗寒性明显大于“富士”苹果。在华北地区海拔较高的山区,冬季极端气温低且持续时间较长,大型苹果如“富士”等由于遭受冻害容易出现产量下降甚至植株死亡的现象,在这些地区,引进种植小苹果资源是一个很好的选择。

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(3):11-15.

- [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] 潘晓云,王根轩,曹琴东.兰州地区引种的美国扁桃的越冬伤害与临界致死低温[J].园艺学报,2002,29(1):63-65.
- [4] 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.
- [5] 宣继萍,郭海林,刘建秀.中国假俭草种质资源抗寒性初步鉴定[J].草业学报,2003,12(6):110-114.
- [6] 刘冰,王有科.应用 Logistic 方程确定花椒枝条低温半致死温度[J].甘肃农业大学学报,2005(4):475-479.
- [7] 徐康,夏宜平,徐碧玉,等.以电导法配合 Logistic 方程确定茶梅‘小玫瑰’的抗寒性[J].园艺学报,2005,32(1):148-150.
- [8] 杨华,唐茜,黄毅,等.用电导法配合 Logistic 方程鉴定茶树的抗寒性[J].福建茶叶,2006(3):30-32.
- [9] Lyons J M. Chilling injury in plant[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1973, 24:445-466.
- [10] Chan H J. Electrolyte leakage and Ethylene production induced by chilling injury of papayas[J]. Hort Science, 1985, 20(6):1070-1072.
- [11] Tomasz A, Orville M L. Seasonal changes in cold hardiness of *Rhododendron* L. catwbiense boursauh, grown under continuous and periodic water stress[J]. Journal American Society Horticultural Science, 1996, 121:301-306.
- [12] 谢晓金,郝日明.南京地区引种的 24 种常绿阔叶树种耐寒性比较[J].浙江林学院学报,2006,23(3):285-289.
- [13] 高爱农,姜淑荣,赵锡温,等.苹果品种抗寒性测定方法的研究[J].果树科学,2000,17(1):17-21.

Application of Logistic Equation on Determination of the Semi-lethal Temperature of Five Different Varieties of Apple Branches

SHI Zhao^{1,2}, WANG Ya-zhi², LIU Guo-jie¹

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193; 2. Institute of Integrated Development of Agriculture, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097)

Abstract: Taking *M. pumila* ‘Longfeng’, *M. pumila* ‘Longguan’, *M. spectabilis* ‘I’, *M. spectabilis* ‘II’, ‘Fuji’ apple five different varieties 1-year-old dormant branches of apple as test materials, annual dormant branches from the changes of leakage ratio of electrolyte and the influence of the semi-lethal temperature (LT_{50}) were investigated. The changes of leakage ratio of electrolyte of the branches which were treated under different artificial simulated low temperature were studied. The semi-lethal temperature (LT_{50}) was obtained on the basis of conductivity and Logistic equation. The results showed that leakage ratio of electrolyte increased like ‘S’ curve concomitant with temperature reducing. The semi-lethal temperature for apple was from -36.4°C to -44.7°C . The sequence of the cold resistance was *M. pumila* ‘Longfeng’ > *M. spectabilis* ‘I’ > *M. pumila* ‘Longguan’ > *M. spectabilis* ‘II’ > ‘Fuji’ Apple.

Key words: leakage ratio of electrolyte; membrane permeability; Logistic equation; the semi-lethal temperature