

苹果一年生被迫休眠期枝条电解质渗出率测定影响因素评价

赵晨辉¹, 邵 静¹, 苏斯瑶², 冯 闯^{1,3}, 李粤渤¹, 王珊珊¹, 李红莲¹, 包振龙¹, 张冰冰^{1*}, 宋宏伟^{1*}

(1. 吉林省农业科学院果树研究所, 吉林 公主岭 136100; 2. 吉林省农业科学院财务处, 长春 130033; 3. 延边大学, 吉林 延吉 133002)

摘 要:本研究以金红一年生被迫休眠期枝条为试材, 评价摇动浸提时间、抽真空处理及煮后冷却时间对电解质渗出率的影响, 为苹果抗寒性评价鉴定提供参考。研究表明: 枝条摇动浸提 18 ~ 22 h, 电解质渗出率趋于稳定; 抽真空处理对电解质渗出率的影响不显著; 煮后冷却时间为 2 ~ 3 h, 电解质渗出率趋于一致。因此, 苹果一年生休眠期枝条电解质渗出率, 在 150 r/min、22℃条件下摇动浸提 20 h, 煮后冷却 2 ~ 3 h 测定较为适宜。

关键词: 苹果; 一年生枝条; 电解质渗出率; 评价

中图分类号: S661.1

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2020)04-0051-04

Evaluation of Influencing Factors on Determination of Electrolyte Leakage Rate of Apple Annual Branches during Forced Dormancy Period

ZHAO Chenhui¹, SHAO Jing¹, SU Siyao², FENG Chuang^{1,3}, LI Yuebo¹, WANG Shanshan¹, LI Honglian¹, BAO Zhenlong¹, ZHANG Bingbing^{1*}, SONG Hongwei^{1*}

(1. Pomology Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100; 2. Finance Office, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; 3. Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstracts: In this study, Jinhong annual branches in forced dormancy period were used as test materials to evaluate the effects of shaking extraction time, vacuum treatment and cooling time after cooking on electrolyte leakage rate, so as to provide reference for the evaluation and identification of cold resistance of apples. The results showed that the electrolyte leakage rate tended to be stable when the branches were shaken for 18 ~ 22 h. The effect of vacuum treatment on the electrolyte leakage rate is not significant. After boiling, the cooling time was 2 ~ 3 h, and the electrolyte leakage rate tended to be consistent. Therefore, it is more appropriate to determine the electrolyte leakage rate of apple shoots in annual dormant period under the condition of 150 r/min and 22℃ by shaking and extracting for 20 h, and then cooling for 2 ~ 3 h after boiling.

Key words: Apple; Annual branches; Electrolyte leakage rate; Evaluation

苹果是蔷薇科苹果属多年生落叶果树, 温度不仅影响苹果的生长发育, 也决定苹果的栽培分布^[1]。苹果越冬(极端)低温不同程度地威胁和为害我国苹果生产^[2], 特别是在我国东北、内蒙古等寒冷地区, 苹果抗寒性评价与鉴定对苹果种质资

源研究、苹果新品种选育与栽培具有重要意义。

苹果抗寒性评价主要为自然越冬后田间抗寒性评价。近些年研究表明, 通过测定枝条电解质渗出率, 从而计算枝条半致死温度, 能够较为准确评价果树抗寒性, 在苹果^[2-3]、梨^[4]、榛子^[5-7]、核桃^[8-9]、葡萄^[10-11]等果树抗寒性研究中有相关报道。而植物半致死温度需要测定电解质渗出率, 通过 Logistic 曲线方程计算结果, 参考模式植物拟南芥等测定方法和相关文献^[12], 认为抽真空有助于电解质充分渗出, 且在苹果一年生枝条电解质渗出率测定方法方面, 还未探讨摇动浸提时间及煮后冷却时间对试验结果的影响。因此, 本文以金红

收稿日期: 2018-11-07

基金项目: 吉林省农业科技创新工程杰出青年项目(CXGC2017JQ020、111821301354052004)

作者简介: 赵晨辉(1968-), 男, 助理研究员, 主要从事果树资源及育种等研究工作。

通讯作者: 张冰冰, 女, 博士, 研究员, E-mail: Zbb4005@163.com
宋宏伟, 男, 硕士, 研究员, E-mail: songhw63@163.com

苹果一年生枝条为试材,从不同压力真空处理结合摇床摇动浸提时间及煮后冷却时间方面,研究影响苹果枝条电导率测定结果的因素,为苹果抗寒性评价鉴定提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为金红(5年生)苹果一年生被迫休眠期枝条,取自国家果树种质寒地果树资源圃(公主岭)。于1月末选取生长势一致、生长健壮、粗细和长度相近、无病虫害的一年生枝条。将采集的枝条迅速带回实验室进行测定。

1.2 仪器

XOYS-6050 程序控温低温恒温槽(南京先欧仪器制造有限公司)、DDBJ-350 电导率仪(上海精密科学仪器有限公司)、HZ-9211K B 恒温振荡器(太仓市科教器材厂)、电子天平(美国双杰兄弟有限公司)、HH-数显恒温水浴锅(江苏金坛晶玻仪器厂)、PC-3 真空泵(上海仪狮科技发展有限公司)等。

1.3 方法

1.3.1 冰冻处理

将采集的一年生被迫休眠期枝条带回实验室,用超纯水冲洗干净,晾干表面水分后,去除枝条顶端和末尾,量取粗度,挑选粗度相近的枝条,剪成 25 cm 的小段,用保鲜膜包好后置于低温恒温槽内。程序控温低温恒温槽实时控制槽内酒精介质温度, -20℃ 低温处理 12 h 后,将保鲜膜包裹的枝条放入有毛巾包裹冰袋的泡沫箱内进行预解冻,再置于 4℃ 冰箱内解冻 16 h 后取出,剪成 0.5 cm 的小段,称取 3 g 左右置于 100 mL 三角瓶中,加入去离子水 30 mL。

1.3.2 摇床摇动浸提处理

将未抽真空处理和已抽真空处理的枝段置于摇床上,分别摇动浸提 14、16、18、20、22 h,使用电导率仪测定初始电导值(C_1),利用 C_1 计算电解质渗出率,并分析抽真空对电解质渗出率的影响。将样品置于沸水浴 20 min。摇床摇动速度为 150 r/min,摇床温度为 22℃。

1.3.3 抽真空处理

在摇床摇动浸提前,分别在 0(CK), 0.015、0.025、0.035、0.045、0.055、0.065 MPa 压力下,抽真空处理浸于三角瓶中的枝段, 2 min/次,重复 3 次,利用初始电导率值(C_1)计算电解质渗出率,并分析抽真空对电解质渗出率的影响。

1.3.4 冷却时间处理

在沸水浴处理后,将样品置于室温下(22℃),分别冷却 1、2、3 h,测定终电导率值(C_2),分析冷却时间对电解质渗出率的影响。电解质渗出率计算公式如下:

$$\text{电解质渗出率} = \frac{C_1}{C_2} \times 100\%$$

1.4 数据处理

采用 Excel 2010 对试验数据进行柱形图等统计分析;利用 SPSS 22.0 软件进行方差分析和摇动浸提时间(14、16、18、20、22 h)与对应电解质渗出率的皮尔森相关系数分析。

Pearson 相关系数计算公式如下:

$$R = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}}$$

2 结果与分析

2.1 摇动浸提时间对电解质渗出率的影响

由图 1 可知,金红苹果一年生枝条电解质渗出率随摇动浸提时间增加而升高(14~20 h), 20 h 后略有降低,不同摇动时间下,电解质渗出率无显著性差异;但电解质渗出率表现出一定规律,在 18~22 h 电解质渗出率测定值表现较为稳定,分别为 49.75%、50.01%、49.79%。与 14 h 和 16 h 相比,细胞电解质渗出更趋于稳定,即在一定温度和摇动速度下,电解质渗出较为缓慢,且摇动时间与电解质渗出率皮尔逊相关系数 0.891,分析表明二者呈正相关,因此,电解质渗出率摇动浸提参考时间以 18~22 h 为宜,考虑浸提时间过长,对细胞产生水分渗透胁迫,易打破细胞内电解质平衡,即破坏细胞液生理浓度,本文选取摇

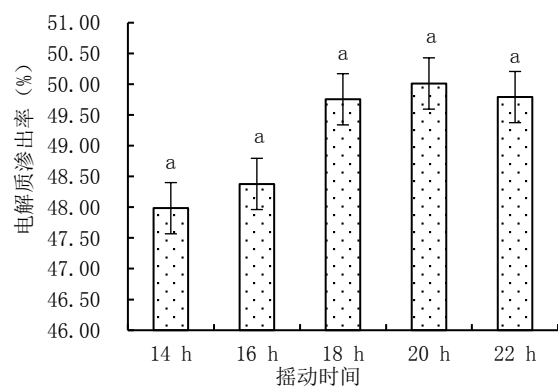


图 1 不同摇动时间对电解质渗出率的影响

动 20 h,继续开展抽真空和冷却处理试验。

2.2 抽真空处理结合摇动浸提对电解质渗出率的影响

如图2可知,不同压力抽真空处理后摇动浸提20 h,对苹果枝条电解质渗出率无明显影响,电解质渗出率未随压力增大而明显提高。在0 MPa下,电解质渗出率为50.01%,不同压力下电解质渗出率平均值为50.94%,最大值为55.74%,最小值47.41%。经方差分析,不同压力抽真空处理下,电解质渗出率差异不显著,即在测定苹果枝条初始电导率时,不抽真空条件下摇床摇动20

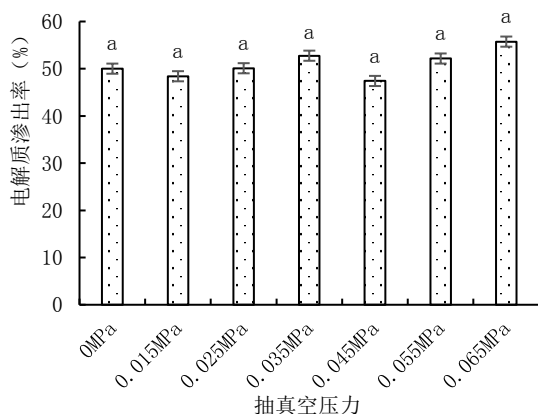


图2 不同压力处理对电解质渗出率的影响

h,可以较好满足电解质渗出率测定要求。

2.3 煮后冷却时间对电解质渗出率的影响

由图3可知,在沸水浴后,22℃室温冷却浸提液1、2、3 h,苹果枝条电解质渗出率分别为28.44%、27.95%和28.06%,其中冷却1 h电导率值偏高,为389.83,这是因为浸提液未完全冷却(电解质浸提液温度为30.50℃),电导率值测定受到了温度的影响。为了保证实验结果的可靠性,在测定电解质渗出率时,煮后冷却时间应适当延长,一般需要在2~3 h稳定到室温后再测定电导率,亦应注意不同批次测定时浸提液温度是否恒定,可依据电导率仪数显温度进行测定结果的实

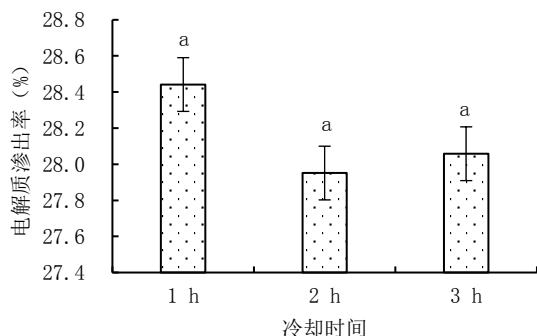


图3 冷却时间对电解质渗出率的影响

时校正和分析。

3 讨论与结论

3.1 植物细胞电解质外渗与电导率测定

细胞膜是细胞与外界环境的天然屏障,也是细胞与外界物质发生交换的主要通道^[13-14]。植物细胞处于低温等逆境胁迫时,生物膜脂物相变化,膜的透性增加,使膜内可溶性物质、电解质大量向膜外渗漏,破坏细胞内外的离子平衡,出现电解质外渗,借助这样的细胞活动,判断细胞生理状态^[15]。在模式植物拟南芥中,受到极端低温胁迫后,电解质渗出率最高可达90%以上^[16],而在木本植物中电导率测定值最高可达70%左右^[17-18],一方面是草本与木本植物细胞组织、结构和胁迫作用机制不同,另一方面,可参照草本植物相关测定方法,探索木本植物电解质渗出率测定的影响因素,更真实地反映细胞电解质外渗程度。

研究发现浸泡时间对植物电解质渗出率有一定的影响,且不同植物在不同浸提时间下电解质渗出率不同。曾丽蓉等^[19]研究发现浸泡(不摇动)24~36 h范围内测定电解质渗出率代表性最强,而本研究结果表明,在22℃,150 r/min摇动浸提18~22 h,苹果一年生休眠期枝条电解质外渗趋于稳定,这与拟南芥及木本植物相关研究结论基本一致^[16,20]。

3.2 木本植物电解质渗出率测定与抽真空处理

有研究报道在测定电解质渗出率时,采用抽真空处理有利于细胞组织内电解质的渗出^[21]。Sutinen等^[22]对松树抗寒性研究时发现采用0.15 Pa压力抽真空,2 min/次,重复三次,摇动20 h,能更准确地测定其电解质渗出率,但在本研究中,使用了较大压力0.065 MPa,未发现其电解质渗出率与不抽真空处理枝条电解质渗出率有显著性差异,关于抽真空处理与植物细胞结构及其对电解质渗出率的影响有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 宋洪伟,林凤起.苹果种质资源抗寒性鉴定评价[J].吉林农业科学,1998(3):87-90.
- [2] 刘国成,马怀宇,吕德国,等.寒富苹果及亲本越冬期生理特性研究[J].湖北农业科学,2012,51(21):4819-4822,4829.
- [3] 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(3):279-284.
- [4] 阿依古丽·铁木儿,玉苏甫·阿不力提甫,帕提曼·阿布都热合曼,等.新疆地方梨品种抗寒性评价[J].中国农学通报,

- 2014, 30(28): 217-225.
- [5] 梁锁兴, 田海滨, 侯东梅, 等. 电导率法测定榛子枝条抗寒性[J]. 山西农业科学, 2013, 41(6): 554-556.
- [6] 刘彬听, 张桂琴, 陈显锋, 等. 利用电导率法测定7个品种(系)榛子枝条的抗寒性[J]. 林业科技, 2017, 42(5): 25-27.
- [7] 梁锁兴, 席海源, 王文平, 等. 电解质渗出率配合 Logistic 方程鉴定7个平欧杂种榛品种(系)的抗寒性[J]. 农学报, 2017, 7(4): 34-38.
- [8] 刘杜玲, 张博勇, 孙红梅, 等. 早实核桃不同品种抗寒性综合评价[J]. 园艺学报, 2015, 42(3): 545-553.
- [9] 田景花, 王红霞, 高 仪, 等. 核桃属植物休眠期的抗寒性鉴定[J]. 园艺学报, 2013, 40(6): 1051-1060.
- [10] 王 依, 靳 娟, 罗强勇, 等. 4个酿酒葡萄品种抗寒性的比较[J]. 果树学报, 2015, 32(4): 612-619.
- [11] 何 伟, 艾 军, 范书田, 等. 葡萄品种及砧木抗寒性评价方法研究[J]. 果树学报, 2015, 32(6): 1135-1142.
- [12] Ishitani M, Xiong L, Lee H, et al. HOS1, a genetic locus involved in cold responsive gene expression in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Cell, 1998, 10: 1151-1161.
- [13] Maximov N A. Chemische Schutzmittel der Pflanzen gegen Erfrieren [J]. Ber Deutsch Bot Gesell. 1912, 30: 52-65.
- [14] 程军勇, 郑京津, 窦坦祥, 等. 植物抗寒生理特性综述[J]. 湖北林业科技, 2017, 46(5): 16-20.
- [15] Lyons, Siminovitch D. The relation between frost resistance and the physical state of protoplasm[J]. Canadian Journal of Research, 1940(18): 550.
- [16] 林 强, 陈麒民, 田 磊, 等. 表达外源 DsCOR 转基因拟南芥的筛选及其抗寒性[J]. 应用与环境生物学报, 2016, 22(2): 184-188.
- [17] 缴丽莉, 路丙社, 白志英, 等. 四种园林树木抗寒性的比较分析[J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 667-670.
- [18] 于立洋, 李 政, 韩佩尧, 等. 8个新疆野苹果优良无性系抗寒性比较[J]. 核农学报, 2017, 31(9): 1827-1835.
- [19] 曾丽蓉, 郑 鑫, 张 婷, 等. 电导法协同 Logistic 方程进行6种苹果砧木抗寒性的比较[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(10): 119-121.
- [20] 张 钢. 国外木本植物抗寒性测定方法综述[J]. 世界林业研究, 2005(5): 16-22.
- [21] Leena Lindén. Measuring cold hardiness in woody plants [D]. Helsinki: University of Helsinki, 2002.
- [22] Sutinen M L, P Palta J, B Reich P. Seasonal differences in freezing stress resistance of needles of *Pinus nigra* and *Pinus resinosa*: evaluation of the electrolyte leakage method[J]. Tree Physiology, 1992, 11: 241-254.

(上接第26页)

2.3 品质

2013年10月经中国农科院甘薯研究所对吉徐薯3号(1159-9)进行品质分析: 淀粉含量60.47%; 还原糖含量0.78%; 可溶性糖含量13.74%; 蛋白质含量8.44%。鲜食用品种, 蒸烤均佳, 馨香清甜, 食味综合评价4.3分。

3 品种特征特性

吉徐薯3号为中熟品种, 齿状叶, 叶片绿色, 大小中等, 茎绿色, 叶柄绿色, 基部分枝少, 蔓长中等, 株型匍匐; 薯皮粉红色, 薯肉白色, 薯形短粗, 薯块整齐, 单株结薯4~5个, 结薯部位浅且集中, 适合机械化收获。

4 栽培技术要点

育苗: 萌芽性好, 育苗时种薯排放要稍稀些。排种量控制在23~25 kg/m², 保持苗床较适宜的温度, 及时将足龄(苗高22~25 cm)薯苗栽入采苗圃。

选地与施肥: 每公顷施有机肥45 t; 施基肥(尿素、磷酸二铵、硫酸钾等)600 kg左右, 要求土壤肥力中等, 通气性好。

栽植时间与密度: 吉林省中部地区5月18日, 终霜期过后即可栽植, 其它地区可参照当地气候与栽植习惯选择最佳栽植期^[2]每667 m²栽插3 000~3 500株, 坐水沟栽或淹栽。该品种返青快, 苗期生长迅速, 成活率高。深受种植者喜爱。

防病注意事项: 不宜在根腐病重病地或低洼地种植, 栽插时使用高剪苗, 种薯贮藏入窖时进行高温愈合^[3]。

参考文献:

- [1] 李宝树, 齐 心. 寒地甘薯栽培讲座(1)[J]. 吉林蔬菜, 2005(1): 4.
- [2] 孙志超, 郭 琦, 刘小丹, 等. 基于综合气候因素聚类方法的吉林省种植区域简明划分探析[J]. 东北农业科学, 2018, 43(3): 13-19.
- [3] 王 凤, 刘 峰, 王忠伟, 等. 甘薯新品种吉徐紫2号选育及栽培技术[J]. 辽宁农业科学, 2014(5): 89-90.

(责任编辑: 王 昱)