

以电导法配合 Logistic 方程确定茶梅 ‘小玫瑰’ 的抗寒性

徐 康¹ 夏宜平^{1*} 徐碧玉² 林 田² 杨 霞³

(¹浙江大学农业与生物技术学院园艺系, 杭州 310029; ²杭州花圃, 杭州 310007; ³杭州市农业科学研究院, 杭州 310008)

摘 要: 以不同处理时间、不同低温处理下茶梅 ‘小玫瑰’ 叶片的电解质外渗率 (REC) 变化作曲线, 并结合 Logistic 方程分别计算茶梅的半致死温度 (LT_{50}), 结果发现在低温处理 6 h 以上, 茶梅叶片的 REC 均随着处理温度的降低而呈 “S” 形上升, 由此计算出 “S” 形拐点对应的温度即为茶梅叶片的 LT_{50} , 其温度值在 -12.5 至 -14 之间, 这可认为是茶梅抗寒能力的重要指标。

关键词: 茶梅; 抗寒性; 回归方程; 电解质外渗率; 半致死温度

中图分类号: S 68 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2005) 01-0148-03

Measurement of Cold Tolerance Based on REC and the Logistic Equation in *Camellia hianalis* ‘Shishi Gashira’

Xu Kang¹, Xia Yiping^{1*}, Xu Biyu², Lin Tian², and Yang Xia³

(¹Department of Horticulture, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

²Hangzhou Flower Nursery, Hangzhou 310007, China; ³Hangzhou Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China)

Abstract: Regarding the relative electric conductivity (REC) as a physiological indicator for the cold tolerance in leaves of *Camellia hianalis* ‘Shishi Gashira’, the curves of REC against different treatment of temperatures and treatment periods were represented using Logistic equation. The results showed that REC increased as a S-curves with the decreased of temperature when the treatment time was longer than six hours. According to these S-shaped curves and the Logistic equation, we could calculate the semilethal temperature (LT_{50}). The LT_{50} of *C. hianalis* ‘Shishi Gashira’ was between -12.5 and -14, which may be an important index of cold tolerance in *C. hianalis*.

Key words: *Camellia hianalis*; Cold tolerance; Logistic equation; Relative electric conductivity (REC); Semilethal temperature (LT_{50})

1 目的、材料与方法

茶梅是江浙一带广泛应用于园林的重要冬季花灌木, 具有一定的抗低温能力, 但不甚耐严寒, 在长江流域的部分年份出现受冻落花, 严重影响了园林景观。耐寒性问题也是茶梅品种向北方地区推广的最大制约因素^[1], 但迄今尚未见对茶梅逆境生理的研究报道。研究茶梅低温胁迫下电解质外渗率 (REC) 的变化规律, 分析测定茶梅的半致死温度 (LT_{50}), 探讨作为快速测定茶梅不同品种抗寒性的重要指标, 为进一步研究和鉴定茶梅品种的抗寒性提供理论和实践依据。

供试茶梅 ‘小玫瑰’ (*Camellia hianalis* ‘Shishi Gashira’), 属冬茶梅群。原产中国, 是茶梅中抗寒性较弱, 且对温度变化较为敏感的品种之一, 适合作为抗寒性的研究试材。

试验自 2002 年 12 月 10 ~ 30 日在浙江大学园林研究所进行。选取长势一致的盆栽茶梅 ‘小玫瑰’ 2 年生扦插苗为试材, 塑料盆种植。冰柜温度的可控范围在 -20 和 0 之间。冰柜上掀门不密闭,

收稿日期: 2004 - 02 - 09; 修回日期: 2004 - 07 - 20

*通讯作者 Author for correspondence

可通风换气。冰柜中用普通白炽灯加光每天 8 h, 温控精度为 ± 1 。

随机取 3 盆植株放入冰柜, 温度分别设为 0、-5、-10、-15、-20。处理 0、1、2、3、6、12、24、48 h 后, 取完整、无病虫害的自秋梢顶向下数第 3 片叶进行分析测定, 3 次重复。每盆每次取 6 片叶。以上冰柜温度设置参考杭州花圃研究资料, 电导率取样测定时间参考黄华涛等^[2]的方法。

电导率测定采用李振国^[3]的方法, 将供试茶梅叶片包在湿纱布内, 放在带盖的搪瓷盆中。用自来水冲洗后, 再用去离子水冲洗 1~2 次, 用干纱布吸干表面水分, 然后保存在湿纱布中。避开大叶脉用打孔器打取圆片, 充分混匀后备用。每处理分甲乙两组, 每组 3 次重复, 每重复 10 个圆片, 放入小玻璃杯中, 加入 20 mL 重蒸去离子水。甲组在 20~30℃ 下振荡 2~3 h。乙组在沸水浴中加温 10~15 min, 以完全破坏质膜。将甲乙两组样品的组织外渗液分别倒入洁净小玻璃杯中, 用电导仪测其电导率。电解质外渗率 (REC) = 甲组组织外渗液 / 乙组组织外渗液 $\times 100\%$ 。

2 结果与讨论

2.1 不同低温胁迫下茶梅叶片 REC 的动态变化

处理 48 h 后取样, -15 和 -20℃ 胁迫下茶梅的叶片变硬、稍变色, 而 0、-5、-10℃ 处理下茶梅叶片基本正常, 呈深绿色。

测定不同低温胁迫下茶梅叶片 REC (图 1) 可以看出, 48 h 以内随着处理时间的延长, 茶梅叶片的 REC 从 12% 左右逐渐增高, 处理前期呈快速上升而后期呈缓慢递增的趋势, 其中 0 和 -5℃ 处理 48 h 后 REC 变化, 与处理前差异不显著; -20 和 -15℃ 处理, 短期内 REC 急剧增加; -10℃ 处理 48 h 后 REC 变化居中。

结果表明茶梅叶片在低温胁迫下随时间的延长原生质膜透性逐渐增大。可以预计, 随着处理时间的延长, 叶片 REC 将继续增大, 直至接近 100%, 质膜完全被破坏。不同低温处理叶片 REC 的变化趋势明显不同, 处理温度越低 REC 变化越快, 叶片质膜所受的冻害越严重。试验结果与形态观察结果相符。

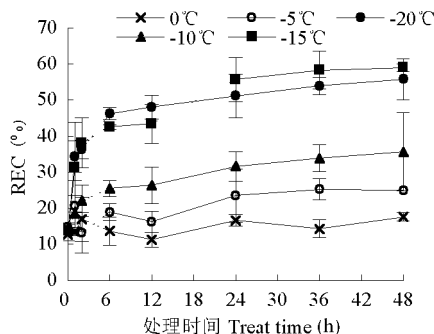


图 1 不同低温下茶梅叶片电解质外渗率变化

Fig 1 The changes of REC with different low temperature in leaves of *Camellia hiemalis*

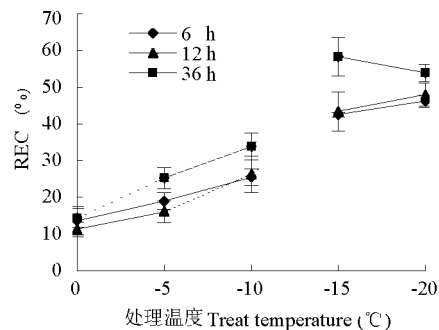


图 2 不同处理时间对茶梅叶片 REC 变化的影响

Fig 2 The effects of cold treatment on REC of leaves of *Camellia hiemalis*

2.2 处理时间对茶梅叶片 REC 变化的影响

参考同属植物茶树的抗寒性研究^[2] (测定 LT_{50} 时处理时间多采用 10~15 h), 设置了 8 个处理时间梯度。结果表明 (图 2), 不同处理时间随着茶梅处理温度的逐渐降低, 叶片 REC 值逐渐增加。但是 0、1 和 2 h 处理时间 REC 变化曲线较平缓, 而 6 h 以上处理时间里 REC 变化显著, 曲线呈明显的“S”形。

2 h 以下处理, REC 变化幅度不大或无规律, 不能用来计算拐点。6 h 以上的各个处理, REC 变化幅度较大, 对应曲线呈明显的“S”形, 出现明显的峰值。低温处理 6 h, 从 0 时叶片 REC

13.6%，增加到 - 10 时的 25.4%，- 15 时高达 42.5%，是 0 时的 3 倍；低温处理 36 h，0 时叶片 REC 14.3%，- 5 时增加到 25.2%，- 10 时 33.8%，- 20 高达 53.9%，是 0 时的 3 倍多。6 h 以上处理的 REC 变化均在 - 15 时出现峰值。

2.3 不同时间处理下的茶梅 LT_{50} 分析

朱根海等^[4]报道在不同低温处理下，盆栽小麦 REC 曲线呈“S”形，认为应用电导法配合 Logistic 方程求出“S”形曲线的拐点温度能较准确地估计出植物组织的低温半致死温度，并且致死温度 (LT_{50}) 可作为植物抗寒性的重要指标之一。

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： $Y = K / (1 + ae^{-bx})$ ； $K = [y_2^2(y_1 + y_3) - 2y_1y_2y_3] / (y_2^2 - y_1y_3)$ (y 为 REC， y_1 ， y_2 ， y_3 为测定结果中等距离的 3 点)。

在数学上，拐点即： $d^2y/dx^2 = 0$ 时的 x 值，即为半致死温度 (LT_{50}) 值。本试验采用电导法配合 Logistic 方程计算半致死温度 (LT_{50})，通过 4 个不同处理时间的分别计算，茶梅‘小玫瑰’的半致死温度 (LT_{50}) 为 - 12.5 和 - 14 之间 (表 1)，结果重复性较好。

为确定理想的处理时间，本试验对茶梅电导法配合 Logistic 方程计算半致死温度 (LT_{50}) 的低温处理时间进行了比较分析。从图 2 可以看出，6 h 以上处理时间里 REC 变化曲线呈明显的“S”形，可以计算 LT_{50} 。所以为了方便测定，可以采取 6~10 h，不应采用 2 h 以下的处理时间。

电导法配合 Logistic 方程计算半致死温度 (LT_{50}) 的测定方法简便、灵敏，现已有应用于多种植物材料^[5,6]，但在茶梅抗寒性的研究上尚是首次。本试验证实可用该法测定茶梅的半致死温度 (LT_{50})，并以此作为茶梅品种抗寒性鉴定的重要指标。

参考文献：

- 庄瑞林. 山茶的抗寒性问题. 经济林研究, 1993, 11 (2): 79~80
Zhuang R L. Discussion about the chilling-resistance in *Camellia*. Economic Forest Researches, 1993, 11 (2): 79~80 (in Chinese)
- 黄涛涛, 刘祖生, 庄晚芳. 茶树抗寒生理的研究. 茶叶科学, 1986, 6 (1): 41~48
Hua H T, Liu Z S, Zhuang W F. The physiological researches on the hardening response of tea. Journal of Tea Science, 1986, 6 (1): 41~48 (in Chinese)
- 李振国. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999. 302~303
Li Z G. Experimentation guides for modern plant physiology. Beijing: Science Press, 1999. 302~303 (in Chinese)
- 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研究. 南京农业大学学报, 1986, (3): 11~16
Zhu G H, Liu Z Q, Zhu P R. A study on determination of lethal temperature with logistic function. Journal of Nanjing Agricultural University, 1986, (3): 11~16 (in Chinese)
- 刘建辉, 崔鸿文. 电导法鉴定黄瓜抗寒性的研究. 西北农业大学学报, 1995, 23 (4): 74~77
Liu J H, Cui H W. Electrical conductivity method for chilling-resistance evaluation in cucumber. Acta University Agricultural Boreali-occidentalis, 1995, 23 (4): 74~77 (in Chinese)
- 伊华林, 邹志远, 鲁忠芳, 张志钰. 鄂柑 1 号抗寒力测定与 Logistic 方程的应用. 湖北农业科学, 1996, (3): 46~48
Yi H L, Zhou Z Y, Lu Z F, Zhang Z Y. Determination on cold hardness of citrus E Gan Na 1 and application of logistic equation. Hubei Agricultural Sciences, 1996, (3): 46~48 (in Chinese)

表 1 不同处理时间的茶梅半致死温度 LT_{50} 计算
Table 1 Calculation of LT_{50} in different treatments of temperature in *Camellia hiemalis*

处理时间 Treat time (h)	b	ln a	回归方程 Logistic equation	半致死温度 LT_{50} Semilethal temperature (°C)
0	—	—	—	—
1	—	—	—	—
2	—	—	—	—
6	0.07	0.99	$y = 0.99 + 0.07x$	- 14.19
12	0.12	1.46	$y = 1.46 + 0.12x$	- 12.47
24	0.10	1.34	$y = 1.34 + 0.1x$	- 13.63
36	0.15	1.85	$y = 1.85 + 0.15x$	- 12.50
48	0.12	1.58	$y = 1.58 + 0.12x$	- 13.24