

应用电导率法及 Logistic 方程 测试椰子幼苗耐寒性研究

曹红星¹, 宋唯一², 孙程旭^{1*}, 陈思婷¹, 唐龙祥¹, 赵松林¹

(1. 中国热带农业科学院 椰子研究所, 海南 文昌 571339; 2. 商丘师范学院 生命科学系, 河南 商丘 476000)

摘要: 以一年生椰子的叶片为材料, 在不同低温条件下处理 12 h 后, 对椰子 5 个品种叶片浸出液的电导率进行测定, 应用 Logistic 方程建立回归模型求出半致死温度。结果表明, 在低温胁迫过程中, 5 个椰子品种的相对电导率均随温度的下降而持续上升, 耐寒性大小顺序依次为: 海南高种椰子 > 黄矮椰子 > 红矮椰子 > 杂交种椰子 > 香水椰子, 其半致死温度在 7.34~12.44 °C 之间。研究结果为椰子的耐寒选育提供理论依据。

关键词: 椰子; 耐寒性; 电导率; Logistic 方程

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)04-0510-04

Measurement of coldness by electrical conductivity method in associated with the Logistic Equation in coconut seedlings

CAO Hong-Xing¹, SONG Wei-Yi², SUN Cheng-Xu^{1*}, CHEN Si-Ting¹,
TANG Long-Xiang¹, ZHAO Song-Lin¹

(1. Coconut Research Institute, CATAS, Wenchang 571339, China; 2. Department of
Life Science, Shangqiu Normal University, Shangqiu 476000, China)

Abstract: One-year-old leaves of 5 coconut cultivars were used to detect relative conductivity under different cold temperature treatment. The semi-lethal temperature (LT₅₀) was conducted by using conductance method with Logistic Equation. The results showed that the relative conductivity were increased as temperature decreased. The hardiness of the tested cultivars was listed as Hainan local tall coconut > Yellow Dwarf coconut > Red Dwarf coconut > Hybrid of coconut > Aromatic coconut, the semi-lethal temperature ranged from 7.34 °C to 12.44 °C. This result could provide the theory basis for cold tolerance breeding of coconut.

Key words: coconut; cold tolerance; relative electric conductivity (REC); logistic equation

椰子(*Cocos nucifera*)是热带亚热带地区重要的木本油料作物和食品能源作物, 具投资少、管理简单、易生长、收获期长、经济寿命长、投资风险小、抗自然灾害能力强、营养丰富、用途广泛等优点, 深受人们的喜爱。椰子全身是宝, 被称为热带地区的“生命之树”(高和琼等, 2007)。椰子是典型的热带喜光

作物, 在高温、高湿和阳光充足的低海拔地区生长发育良好, 最适生长温度 26~27 °C。一年中若有 1 个月的平均温度为 18 °C, 其产量则明显下降, 若平均温度低于 15 °C, 就会引起落花、落果和叶片变黄(王国烘, 1990)。低温寒害对椰子的产量有较大的影响, 2008 年 1~2 月份交替出现 10 °C 左右的低温,

收稿日期: 2008-12-10 修回日期: 2009-04-07

基金项目: 国家科技基础条件平台子项目(2005DKA21000-5-14); 中央级公益性科研院所基本科研业务费(ITBBKF081)[Supported by the National Facilities and Information Infrastructure Foundation for Science and Technology(2005DKA21000-5-14); Foundation for Basal Scientific Research of Central Public-interest Scientific Institutes(ITBBKF081)]

作者简介: 曹红星(1977-), 女, 河南南阳人, 博士, 副研究员, 从事植物资源与育种方面的研究, (E-mail) caohx@live.com。

* 通讯作者(Author for correspondence)

造成海南椰果减产 30% 左右, 约损失 4 000 万个。所以低温寒害是椰子的一种严重的自然灾害, 不同品种抗寒性鉴定是椰子种质资源鉴定工作中的一项重要内容, 抗寒品种在生产和育种中的应用都应当建立在对其抗寒性的鉴定和抗寒生理的认识基础上。但目前仅有在寒害之后的落裂果数等性状的调查(韩联健等, 2006; 冯美利等, 2008), 对椰子耐寒生理的研究还未见报道。

利用电导法测定果树耐寒性具有快速、简易、准确性高等特点, 已广泛应用, 成为判断电解质外渗与低温伤害程度关系最常用的方法(Wang, 1986; 陈长兰等, 1991; 许瑛等, 2008; 孙程旭等, 2009)。本试验采用电导法研究 5 个椰子品种在不同程度的低温胁迫后叶片原生质膜渗透性的变化, 配合 Logistic 方程, 确定不同椰子品种的半致死温度, 为确定不同椰子品种的抗寒性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料选择

研究材料取自中国热带科学院椰子研究所苗圃的“黄矮椰子”、“海南高种椰子”、“红矮椰子”、“杂交种椰子(香水椰子×海南高种椰子)”和“香水椰子”5 个椰子品种的一年生幼苗, 随机取样, 每品种 3 株, 选择生长基本一致(从底部起第 2 片叶)的样品带回实验室进行胁迫处理。

1.2 研究方法

样品擦洗干净, 每品种分成 5 组, 每组 3 片叶子, 其中 1 组于室温(25℃)下为对照(CK), 其余 4 组放入低温冰箱中, 分别做降温处理, 处理温度分别为: 15、10、5 和 0℃。处理温度误差为±0.5℃。当达到所需的冷冻温度时, 维持 12 h。冷冻和解冻速度为 1℃/h, 处理后的样品于室内静置 12 h 后进行观察、测定。

利用 DDS-11A 型电导率仪测定电导率值。每样品称重 0.50 g, 放入 50 mL 三角瓶中加入 40 mL 蒸馏水, 于室内静置 10 h, 测得为煮沸前外渗液的电导率值($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$)。然后沸水浴 15 min, 静置 2 h, 测得为煮沸后外渗液的电导率值($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$)。

用以下公式求得相对电导率: 电解质渗出率(相对电导率) = $\frac{\text{煮沸前电导率值}}{\text{煮沸后电导率值}} \times 100$

叶片伤害率(%) = $(L_t - L_{ck}) \times 100 / (1 - L_{ck})$

式中 L_t —处理叶片的相对电导度; L_{ck} —对照叶片的相对电导度。

耐寒研究中, 相对电导率拟合 Logistic 回归方程为: $y = K / (1 + ae^{-bx})$ 。其中 y 代表细胞伤害率, x 代表处理温度, K 为细胞伤害率的饱和容量, a 、 b 为方程参数。为了确定 a 、 b 的值, 将方程进行线性化处理, $\ln[(K - y)/y] = \ln a - bx$, 令 $y_1 = \ln[(K - y)/y]$, 则转化为细胞伤害率(y)与处理温度(x)的直线方程。通过直线回归的方法求得 a 、 b 值及相关系数 R , 半致死温度 $LT_{50} = \ln[(1/a)]/b$ 。

参照郭海林等(2006)的方法, 用电导法测定叶片细胞电解质渗出率, 配合 Logistic 方程, 确定不同椰子品种的耐寒性。

1.3 数据的统计分析

数据处理采用微软 Excel 2003 和 Origin7.5 软件。

2 结果与分析

2.1 叶片伤害率与处理温度的关系

从图 1 可知, 5 种椰子植物叶片的细胞伤害率随着温度的降低而增加, 叶片伤害率随处理温度的变化呈典型的“S”型变化。在不同的低温处理下, 香水椰子和杂交种椰子的叶片伤害率高, 耐寒性较差; 海南高种椰子和黄矮椰子的叶片伤害率较低, 耐寒性较强。尤其在 0℃ 处理时, 和对照相比, 伤害率变化非常明显。

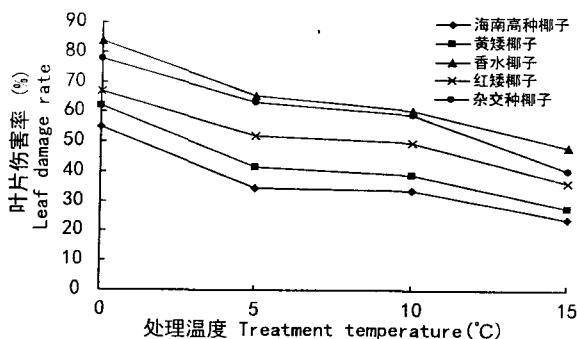


图 1 低温胁迫下不同椰子品种叶片伤害率的变化
Fig. 1 Effect of cold treatments on leaf damage rate of different coconut varieties

2.2 叶片外渗液的电导率与处理温度的关系

当植物受到逆境低温影响时, 细胞膜遭到破坏, 膜透性增大, 从而使细胞内电解质外渗, 导致植物细

胞浸出液的电导率增大。5 种椰子叶片外渗液的电导率随着温度的降低而升高,在 5℃ 和 0℃ 处理时,电导率变化明显,其中香水椰子和杂交种的叶片外

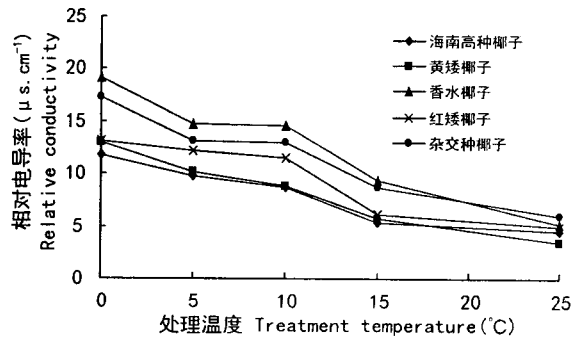


图 2 低温胁迫下不同椰子品种叶片外渗液相对电导率的变化

Fig. 2 Effect of cold treatments on relative conductivity of different coconut varieties

渗液的电导率较大,耐寒性较差(图 2)。

2.3 低温处理下椰子不同品种半致死温度的确定

朱根海等(1984)报道在不同低温处理下,植物

组织浸出液的相对电导率曲线呈“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,并且半致死温度(LT₅₀)可作为植物抗寒性的重要指标之一。

据表 1 半致死温度的比较结果,5 个椰子品种的抗寒性由强到弱依次为海南高种椰子(7.34℃)>黄矮椰子(8.74℃)>(8.86℃)红矮椰子>杂交种椰子(11.74℃)>香水椰子(12.44℃)。

3 讨论

膜系统是植物遭受低温伤害和抗低温伤害的关键结构。低温对膜的伤害可以导致电解质透出率的增加。本研究中随着温度降低,植物细胞膜选择透性丧失,细胞内物质大量外渗,电导率变化的总趋势升高,与鲍思伟(2005)与许瑛等(2008)的研究结果相类似。本研究首次对椰子主栽品种的耐寒性进行初步评价,结果耐寒性顺序依次为:海南高种椰子>

表 1 5 个椰子品种低温胁迫过程中相对电导率回归方程及半致死温度 (LT₅₀)

Table 1 Logistic equation of the relative electric conductivity of 5 coconut cultivars and the median lethal temperature (LT₅₀) during a low temperature stress

品种 Cultivar	拟合方程 Fitting equation	拟合度 R ²	半致死温度 LT ₅₀ (°C)	抗寒性顺序 Order of cold resistance ability
海南高种椰子	$Y=10.87-7.06/(1+e(0.65x-4.50))$	0.99	7.34	1
红矮椰子	$Y=4.81+8.09/(1+e(0.34x-4.12))$	0.99	8.86	3
香水椰子	$Y=-12.8+50.47/(1+e(0.05x-0.57))$	0.97	12.44	5
黄矮椰子	$Y=3.52+10.43/(1+e(x-9.47))$	0.98	8.74	2
杂种椰子	$Y=7.29+8.89/(1+e(0.24x-2.00))$	0.99	11.74	4

黄矮椰子>红矮椰子>杂交种椰子>香水椰子。海南高种椰子的耐寒能力强,可选做杂交亲本,以改良杂交后代的耐寒能力,香水椰子和杂交种椰子在低温处理的过程中,叶片的伤害率值、电导率值、低温半致死温度都比较大,耐寒性较差,在生产中要注意加强这两个品种的防寒措施。杂交种椰子为海南高种椰子和香水椰子的杂交组合,可能耐寒性更倾向于亲本香水椰子,耐寒性较差。

海南省地处热带的边缘,每年冬季的寒害和次年春季的低温阴雨对椰子的产量和外观品质都会有不同程度的影响,冬季的极端低温可达 8~10℃。不同椰子品种的半致死温度在 7.34~12.44℃ 之间,容易受到寒害的影响。在生产上选育和培育耐寒的品种对降低寒害对产量的影响至关重要。韩联健等(2006)认为不同的椰子品种的落裂果程度受低

温影响表现有所不同;落裂果最严重的是黄矮椰子,在所调查的海南高种椰子、马哇椰子和黄矮椰子品种中,以海南高种椰子的落裂果最少。说明海南高种椰子的耐寒性较强,与本研究结果相类似。

植物耐寒性的强弱受许多因素的影响。取样时期不同,测定半致死温度的结果可能不同。鲍思伟(2005)研究表明,云锦杜鹃的抗寒适应性随气温下降逐渐增强,并在最冷月份到来之前达最强,其低温半致死温度与气候密切相关。李俊才等(2007)认为,田间梨枝条抗寒性比室内离体情况下更强。一般成株期植株的耐寒能力强于幼苗期,本试验研究了不同品种椰子幼苗期胁迫条件下的耐寒性,着重于电导率法以及拟合 Logistic 方程的方法相结合的一种尝试性研究,其他方面研究还有待于加强,比如大田方面的研究,耐寒相关等生理指标的验证等。

参考文献:

- Bao SW(鲍思伟). 2005. The adaptation of rhododendron fortunei semi lethal temperature to natural temperature falling(云锦杜鹃低温半致死温度对自然降温的适应)[J]. *J Southwest Univ Nationalities*(西南民族大学学报), 31(1): 99—102
- Chen CL(陈长兰), Jia JX(贾敬贤), Gong X(龚欣). 1991. The initial study on the identification of coldness on Pear(*Pyrus*)(梨属植物抗寒性鉴定初报)[J]. *Northern Hort*(北方园艺), 1: 1—3
- Feng ML(冯美利), Liu LY(刘立云), Li J(李杰). 2008. Investigation and analysis of coldness on dehiscent fruit and fruit-dropping of coconut in Hainan(海南椰子寒害落(裂)果调查初报)[J]. *South China Fruits*(中国南方果树), 37(5): 49—51
- Guo HL(郭海林), Liu JX(刘建秀), Zhu XH(朱雪花), et al. 2006. Evaluation of cold resistance of *Zoysia hybrids*(结缕草属杂交后代抗寒性评价)[J]. *Acta Agrestia Sin*(草地学报), 14(1): 24—28
- Gao HQ(高和琼), Zhuang NS(庄南生), Wang Y(王英). 2007. Research survey of coconut breeding(椰子及其育种研究概况)[J]. *China Trop Agric*(中国热带农业), 1: 24—25
- Han LJ(韩联健), Xu YF(徐月发). 2006. Investigation and Analysis of situation dehiscent fruit and fruit-dropping of coconut under coldness in Hainan(海南岛椰子寒害落裂果情况的调查与分析)[J]. *Chin J Trop Agric*(热带农业科学), 6: 1—2
- Li JC(李俊才), Liu C(刘成), Wang JZ(王家珍). 2007. Study on the semi-lethal temperatures for European pear cultivars(洋梨枝条的低温半致死温度)[J]. *J Fruit Sci*(果树学报), 24(4): 529—532
- Sun CX(孙程旭), Cao HX(曹红星), Chen ST(陈思婷), et al. 2009. Study on cold resistance of snake fruit by application of electrical conductivity and Logistic Equation(应用电导率法及 Logistic 方程测试蛇皮果抗寒性研究)[J]. *Acta Agric Jiangxi*(江西农业学报), 21(4): 33—35
- Wang CY. 1986. Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress[J]. *Hortscience*, 21(1): 172—175
- Wang GH(王国洪). 1990. The present condition and potential of coconut production in our country(我国的椰子生产现状与潜力)[J]. *J Trop Crops Tech*(热带作物科技), 6: 39—40
- Xu Y(许瑛), Chen FD(陈发棣). 2008. The LT₅₀ and cold tolerance adaptability of *Chrysanthemum* during a natural drop in temperature(菊花 8 个品种的低温半致死温度及其抗寒适应性)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), 35(4): 559—564
- Zhu GH(朱根海), Zhu PR(朱培仁). 1984. Seasonal variations of cold hardiness under natural conditions and the effects of temperature on dehardening in wheat(小麦抗冻性的季节变化以及温度对脱锻炼的效应)[J]. *J Nanjing Agric Univ*(南京农业大学学报), 2(2): 9—16
- 虺属蛇类的 RAPD 分析[J]. *Acta Zoologica Sin*(动物学报), 45(1): 40—48
- Sun LN(孙丽娜), Yan YZ(严一字), Wu JR(吴基日), et al. 2007. Optimization of RAPD conditions of *Platycodon grandiflorus*(桔梗 RAPD 反应体系的优化)[J]. *Guihaia*(广西植物), 27(5): 410—413
- Sun WJ(孙文娟), Li J(李晶), Lan FY(兰凤英), et al. 2003. Antitumor effect of Zhongjiefeng injection on mice liver cancer Hep-A-22 and its toxicity(肿节风注射液抗小鼠肝癌 Hep-A-22 的作用及毒性)[J]. *Chin Trad Patent Med*(中成药), 25(4): 313—315
- Wang XQ(汪小全), Zou YP(邹喻苹), Zhang DM(张大明), et al. 1996. Problems in the use of RAPD the study of genetic diversity and systematics(RAPD 应用于遗传多样性和系统学研究中的问题)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), 38(12): 954—962
- Wei W(魏伟), Wang HX(王洪新), Hu ZA(胡志昂), et al. 1999. Primary studies on molecular ecology of *Caragana* spp. populations distribution over Maowusu sandy grassland: from RAPD data(毛乌素沙地柠条群体分子生态学初步研究: DAPD 证据)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报), 19(1): 16—22
- Yu JS(郁建生), Yu JP(郁建平). 2007. Study on extraction tech-
- tics and variety trends of the flavonoids in *Sarcandra glabra*(珊瑚树总黄酮提取工艺及其含量动态变化)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), 32(4): 307—309
- Zhang RB(张仁波), Dou QL(窦全丽), He P(何平), et al. 2007. Analysis of genetic diversity in *Thuja sutchuenensis* populations as revealed by morphological and molecular data(濒危植物崖柏遗传多样性研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 27(5): 687—691
- Zhang YF(张益锋), He P(何平), Wang F(王芳), et al. 2007. Study on the community characteristics of *Sarcandra glabra* in Mt. Jinyun(缙云山草珊瑚群落特征研究)[J]. *J Southwest Univ (Nat Sci Edi)*(西南大学学报·自然科学版), 29(10): 87—91
- Zhang YF(张益锋), He P(何平), Wang F(王芳), et al. 2007. A study of the niches of main species in communities with *Sarcandra glabra* populated in Mt. Jinyun(缙云山草珊瑚群落主要种群生态位研究)[J]. *J Southwest Univ(Nat Sci Edi)*(西南大学学报·自然科学版), 29(8): 102—106
- Zhang ZY(张志勇), He P(何平), Ji HC(冀花存), et al. 2007. A study of plant species diversity of *Sarcandra glabra* communities in the Jinyun Mountains(缙云山草珊瑚群落植物物种多样性研究)[J]. *J Southwest Univ(Nat Sci Edi)*(西南大学学报·自然科学版), 29(2): 86—90

(上接第 458 页 Continue from page 458)