

白菜型油菜苗期低温胁迫响应试验 技术规程

Technical Regulation for Low-Temperature Stress Response Experiment at Seedling
Stage of *Brassica campestris*

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020给出的规则起草。

本文件由青海省标准化协会提出并归口。

本文件起草单位：门源回族自治县气象局、青海农牧科技职业学院、海北牧业气象试验站。

本文件主要起草人：李全平、王晓蒙、刘洁、杨晓龙、王春慧、虎文娟、杨静、高君元、陈香正、颜亮东、金显玲、苏索南、杨静、马扶林、王鹤、孙丰海。

白菜型油菜苗期低温胁迫响应试验 技术规程

1 范围

本标准规定了油菜低温胁迫环境的试验设计、试验方法等。

本标准适用于白菜型油菜低温条件生理响应研究。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

低温胁迫 cold stress

环境温度持续低于植物生长适宜温度，导致其生理损伤、生长受阻甚至死亡的非生物胁迫。

2.2

低温胁迫持续时间 duration of low temperature stress

油菜在生长发育过程中，持续处于低温胁迫环境的具体时间长度。

注：单位通常为小时（h）或天（d）

2.3

抗氧化酶 antioxidant Enzymes

植物体内能够清除活性氧、维持氧化还原平衡、保护细胞结构与功能完整性的防御性酶类。

注：主要包括超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT），是植物抵御低温、干旱、盐碱等逆境胁迫的重要物质基础。

2.4

超氧化物歧化酶 superoxide Dismutase; SOD

催化超氧阴离子自由基发生歧化反应，生成过氧化氢和氧气的金属酶。

2.5

过氧化物酶 peroxidase; POD

催化过氧化氢还原分解，并参与植物逆境响应、细胞壁代谢等生理生化过程的氧化还原酶。。

2.6

过氧化氢酶 catalase; CAT

高效催化过氧化氢分解为水和氧气，快速清除细胞内过量过氧化氢的抗氧化关键酶。

2.7

细胞膜透性 cell membrane permeability

物质通过细胞膜的难易程度，是反映细胞膜结构完整性与功能稳定性的重要指标。

注：逆境胁迫下细胞膜受损会导致通透性增大、细胞内电解质外渗增加，可通过相对电导率对其进行定量表征。

2.8

电解质渗漏率 electrolyte Leakage Rate

植物组织细胞内电解质向外渗透的量占总电解质含量的比例。

注：逆境胁迫下细胞膜受损会导致电解质渗漏率升高，该指标可用于表征细胞膜损伤程度与稳定性。

2.9

渗透调节物质 osmotic adjustment substances

植物体内用于调节细胞渗透压、维持细胞膨压、保护生物大分子结构稳定的一类可溶性物质。

注：该类物质常在逆境胁迫下被主动合成与积累，主要包括脯氨酸、可溶性糖等。

2.10

丙二醛 malondialdehyde

脂质过氧化作用的终产物之一，其含量可反映机体脂质过氧化程度与细胞膜氧化损伤水平，是评价植物抗逆性及氧化损伤程度的重要指标。

3 试验材料与仪器设备

3.1 试验材料

试验材料应明确来源、制备、保存及质量要求，保证均一稳定。

油菜种子：应明确白菜型油菜品种、来源及品种特性；种子应籽粒饱满、无破损、无病虫害，发芽率不应低于 90%。

育苗基质：应明确基质种类及配比（泥炭土、蛭石、珍珠岩等）；基质应进行灭菌处理，控制适宜湿度。

其他材料：应使用规格统一的育苗盘、配方及浓度明确的营养液，以及用于标识样品信息的标签。

3.2 仪器设备

培养设备：人工气候箱、育苗箱等。

测定仪器：电导仪、紫外分光光度计、高速离心机、电子天平、研磨仪、恒温水浴锅等。

辅助设备：烧杯、容量瓶、移液管、离心管、滤纸、剪刀、镊子等试验耗材，以及电脑、记录仪等数据记录设备。

仪器校准：所用仪器应按规定周期进行校准，校准结果应满足试验精度要求。

4 低温胁迫试验

4.1 试验设计

前期准备：前期准备：选择适宜主栽品种，按照 GB/T 3543.4 开展试验。种子发芽 7 d 后，将幼苗移栽至大田土与营养土按 1:1 混合的栽培基质中。各处理至少设置 3 次生物学重复。

低温梯度设定：对照组（CK）：温度 10 °C，光照 8000 lx，光周期 10 h 光照 / 14 h 黑暗。低温处理组（TR）：采用逐步降温法，由 10 °C 缓慢降至目标低温（10 °C、5 °C、0 °C、-5 °C），每阶段温度保持 2 h，设置相应采样点，记录响应动态变化。

处理时间与降温速率：各温度阶段保持 2 h；降温速率不应大于 1 °C/h。

环境条件控制：光照强度 8000 lx，光周期 10 h 光照 / 14 h 黑暗；相对湿度 50 %~60 %。

4.2 试验方法

本部分所有试验操作均按 4.1 规定设置生物学重复，所用玻璃器皿均经灭菌处理，超纯水为无离子水，研钵、离心管等器具均经 4 °C 预冷处理。

4.2.1 细胞膜相对透性的测定

采用电导法测定，操作步骤如下：

- 1) 准确称取 0.5 g 新鲜叶片，剪成 1 cm×1 cm 的片段，置于 100 mL 洁净的烧杯中，加入 50 mL 超纯水，抽真空 20 min，至叶片完全沉到烧杯底部，室温放置 40 min，每隔 10 min 振荡 1 次。采用校准过的电导率仪，测电导率 C_1 。将烧杯密封置于沸水浴 15 min 杀死细胞组织，冰浴冷却至室温，测电导率 C_2 。测定超纯水的电导率 C_0 ；
- 2) 对烧杯进行抽真空处理 20 min，至叶片完全沉于烧杯底部，室温静置 40 min，每 10 min 振荡 1 次；
- 3) 采用经校准的电导仪测定上述溶液的电导率，记为 C_1 ；
- 4) 将烧杯密封后置于沸水浴中加热 15 min，杀死细胞组织，冰浴冷却至室温，测定电导率，记为 C_2 ；
- 5) 同时测定超纯水的电导率，记为 C_0 。

细胞膜相对透性按式（1）计算：

$$\text{细胞膜相对透性 (\%)} = \frac{C_1 - C_0}{C_2 - C_0} \times 100 \% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C_1 —— 叶片浸泡液的电导率，单位为微西门子每厘米（ $\mu\text{S/cm}$ ）；

C_0 —— 超纯水的电导率，单位为微西门子每厘米（ $\mu\text{S/cm}$ ）；

C_2 —— 叶片煮沸后浸泡液的电导率，单位为微西门子每厘米（ $\mu\text{S/cm}$ ）

4.2.2 丙二醛（MDA）含量的测定

采用硫代巴比妥酸法测定，操作步骤如下：

- 1) 称取待测叶片 0.5 g, 加入 5 mL 5% 三氯乙酸 (TCA), 冰浴条件下研磨至匀浆, 将匀浆液转移至 5 mL 离心管;
- 2) 离心管置于 4 °C 环境中, 以 3000 r/min 转速离心 10 min, 吸取上清液 2 mL 置于 5 mL 离心管;
- 3) 向离心管中加入 2 mL 0.67% 硫代巴比妥酸 (TBA), 密封后置于沸水浴中加热 30 min;
- 4) 反应液冰浴冷却至室温, 4 °C 环境中以 3000 r/min 转速离心 10 min, 去除沉淀;
- 5) 以 2 mL 5% TCA 替代上清液为空白对照调零, 采用酶标仪分别在 450 nm、532 nm、600 nm 波长下测定上清液吸光度, 记为 A450、A532、A600。

MDA 浓度按式 (2) 计算, MDA 含量按式 (3) 计算:

$$MDA \text{ 浓度 } \left(\frac{\mu\text{mol}}{L} \right) = 6.452 \times (OD_{532} - OD_{600}) - 0.559 \times OD_{450} \dots\dots\dots (2)$$

$$MDA \text{ 含量 } (\mu\text{mol/g FW}) = \frac{MDA \text{ 浓度} \times \text{样品研磨液总体积 mL}}{\text{测定时研磨液用量 mL} \times \text{样品鲜重 g}} \dots\dots\dots (3)$$

4.2.3 抗氧化酶的测定

4.2.3.1 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定

采用氮蓝四唑 (NBT) 光还原法测定, 操作步骤如下:

- 1) 称取植物叶片 0.5 g (去除粗大叶脉), 置于预冷研钵中, 加入 1 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.8), 冰浴研磨成浆, 补加上述缓冲液至总体积 5 mL;
- 2) 匀浆液在 4 °C 环境中以 4000 r/min 转速离心 10 min, 上清液即为 SOD 粗提液;
- 3) 配制显色反应体系, 总体积 3.0 mL, 含 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.8) 1.5 mL、130 mmol/L 甲硫氨酸 (Met) 溶液 0.3 mL、750 μmol/L NBT 溶液 0.3 mL、100 μmol/L EDTA-Na₂ 溶液 0.3 mL、20 μmol/L 核黄素溶液 0.3 mL、SOD 粗提液 0.05 mL, 以蒸馏水补足体积;
- 4) 取 1 支反应管置于暗处作为空白对照, 其余反应管置于 4000 lx 日光下反应 20 min (可根据环境温度适当调整反应时间);
- 5) 以暗处空白对照管调零, 在 560 nm 波长下测定各管吸光度, 记为 A560 (样品)、A560ck (光对照)。

SOD 活性按式 (4) 计算, 以抑制 NBT 光化学反应的 50% 为 1 个酶活性单位 (U):

$$U_{SOD} = \frac{(A_{560CK} - A_{560}) \times v_1}{0.5 \times 560_{CK} \times v_2 \times m} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

U_{SOD} ——SOD 活性, 单位为单位每克鲜重 (U/g · FW) ;

A_{560ck} —— 光对照管在 560 nm 波长下的吸光度;

A_{560} —— 样品管在 560 nm 波长下的吸光度;

V_1 —— 样品酶提取液总体积, 单位为毫升 (mL) ;

V_2 —— 测定时所用酶提取液体积, 单位为毫升 (mL) ;

m —— 样品鲜重, 单位为克 (g) 。

4.2.3.2 过氧化物酶 (POD) 活性测定

采用愈创木酚法测定, 操作步骤如下:

- 1) 配制 POD 反应液: 由 50 mL 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.0)、28 μ L 愈创木酚、19 μ L 30% H_2O_2 混合配制, 4 $^{\circ}C$ 冷藏备用;
- 2) 取 20 μ L SOD 粗提液 (4.2.3.1) 与 3 mL 预冷 POD 反应液混匀, 置于 5 mL 离心管;
- 3) 以磷酸缓冲液替代酶液为空白对照调零, 采用酶标仪在 470 nm 波长下测定吸光度, 每 1 min 记录 1 次, 共测定 4 次, 记为 A_{470} ;
- 4) 计算反应时间内吸光度的变化值 ΔA_{470} 。

POD 活性按式 (5) 计算, 以每分钟内 A_{470} 变化 0.01 为 1 个酶活性单位 (U) :

$$U_{POD} = \frac{\Delta A_{470} \times V_1}{V_2 \times m \times 0.01} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

U_{POD} ——POD 活性, 单位为单位每克鲜重 (U/g · FW) ;

ΔA_{470} ——反应时间内 470 nm 波长下的吸光度变化值;

V_1 ——样品酶提取液总体积, 单位为毫升 (mL) ;

V_2 ——测定时所用酶提取液体积, 单位为毫升 (mL) ;

m ——样品鲜重, 单位为克 (g) 。

4.2.3.3 过氧化氢酶 (CAT) 活性测定

采用高锰酸钾滴定法测定, 操作步骤如下:

- 1) 称取叶片 2.5 g, 加入适量 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.8), 冰浴研磨至匀浆, 定容至 25 mL;

- 2) 匀浆液在 4 °C 环境中以 4000 r/min 转速离心 15 min, 上清液即为 CAT 粗提液;
- 3) 取 4 个 50 mL 三角瓶, 分为测定组与对照组, 每组 2 个平行; 测定组加入 2.5 mL CAT 粗提液, 对照组加入 2.5 mL 煮沸失活的 CAT 粗提液;
- 4) 向所有三角瓶中加入 2.5 mL 0.1 mol/L H₂O₂, 30 °C 恒温水浴保温 10 min, 立即加入 2.5 mL 10% H₂SO₄ 终止反应;
- 5) 用 0.1 mol/L KMnO₄ 标准溶液滴定至溶液呈粉红色, 且 30 min 内不褪色即为滴定终点, 记录滴定体积, 记为 V_测 (测定组)、V_对 (对照组)。

CAT 活性按式 (6) 计算:

$$U_{CAT} = \frac{(V_{对} - V_{测}) \times \frac{V_1}{V_2} \times 1.7}{m} \dots\dots\dots (6)$$

式中:

U_{CAT} ——CAT 活性, 单位为毫克每克每分钟 (mg/(g·min));

$V_{对}$ ——对照组 KMnO₄ 标准溶液滴定体积, 单位为毫升 (mL);

$V_{测}$ ——测定组 KMnO₄ 标准溶液滴定体积, 单位为毫升 (mL);

V_1 ——样品酶提取液总体积, 单位为毫升 (mL);

V_2 ——反应时所用酶提取液体积, 单位为毫升 (mL);

m ——样品鲜重, 单位为克 (g);

1.7——1 mL 0.1 mol/L KMnO₄ 标准溶液相当于 1.7 mg H₂O₂ 的换算系数。

4.2.4 脯氨酸

采用酸性茚三酮比色法测定, 含标准曲线绘制和样品测定两部分, 操作步骤如下:

4.2.4.1 标准曲线绘制

- 1) 配制脯氨酸标准原液: 精确称取脯氨酸 25 mg, 用蒸馏水溶解并定容至 250 mL, 浓度为 100 μg/mL;
- 2) 配制系列标准液: 分别吸取标准原液 0.5 mL~3.0 mL, 用蒸馏水定容至 50 mL, 配制成 1 μg/mL~6 μg/mL 的系列标准液;
- 3) 显色反应: 取系列标准液 2 mL, 加入 2 mL 冰醋酸、2 mL 酸性茚三酮溶液 (1.25 g 茚三酮溶于 30 mL 冰醋酸与 20 mL 6 mol/L 磷酸), 沸水浴加热 30 min;
- 4) 萃取与测定: 反应液冷却后加入 4 mL 甲苯, 振荡 30 s, 静置分层; 以甲苯为空白对照, 在 520 nm 波长下测定吸光度, 记为 A₅₂₀;
- 5) 以脯氨酸浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 建立回归方程 $y=ax+b$ (y 为吸光度, x 为脯氨酸浓度, μg/mL)。

4.2.4.2 样品测定

- 1) 称取待测叶片 0.5 g, 加入 5 mL 3% 磺基水杨酸溶液, 沸水浴提取 10 min, 冷却后过滤, 取滤液 2 mL;
- 2) 按 4.2.4.1 步骤 3~4 进行显色、萃取和吸光度测定, 记为 A_{520} 样;
- 3) 根据回归方程计算样品滤液中脯氨酸浓度, 记为 C_{Pro} 。

游离脯氨酸含量按式 (7) 计算:

$$W_{Pro} = \frac{C_{Pro} \times V_1}{V_2 \times m} \dots\dots\dots (7)$$

式中:

W_{Pro} —— 游离脯氨酸含量, 单位为微克每克鲜重 ($\mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{FW}$);

C_{Pro} —— 从标准曲线查得的脯氨酸浓度, 单位为微克每毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V_1 —— 样品研磨液总体积, 单位为毫升 (mL);

V_2 —— 测定时所用研磨液体积, 单位为毫升 (mL);

m —— 样品鲜重, 单位为克 (g)。

4.2.5 可溶性糖含量的测定

采用蒽酮法测定, 含标准曲线绘制和样品测定两部分, 操作步骤如下:

4.2.5.1 标准曲线绘制

- 1) 取 6 支试管编号, 分别加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 蔗糖标准液 0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL, 用超纯水补足至 2 mL, 对应蔗糖含量为 0 μg 、20 μg 、40 μg 、60 μg 、80 μg 、100 μg ;
- 2) 向各试管中加入 0.5 mL 蒽酮 - 乙酸乙酯试剂, 缓慢加入 5 mL 浓硫酸, 充分混匀;
- 3) 试管密封后沸水浴加热 1 min, 冰浴冷却至室温, 在 620 nm 波长下测定吸光度, 记为 A_{620} ;
- 4) 以蔗糖含量为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 建立回归方程 $y=ax+b$ (y 为吸光度, x 为蔗糖含量, μg)。

4.2.5.2 样品测定

- 1) 称取待测叶片 0.5 g, 加入 5 mL 超纯水, 冰浴研磨至匀浆, 转移至 10 mL 试管并密封;
- 2) 试管沸水浴加热 60 min, 冰浴冷却至室温, 滤纸过滤, 用超纯水将提取液定容至 25 mL, 充分混匀;
- 3) 吸取定容后提取液 0.5 mL, 按 4.2.5.1 步骤 2~3 进行显色和吸光度测定, 记为 A_{620} 样
- 4) 根据回归方程计算样品提取液中可溶性糖含量, 记为 $m_{糖}$ 。

可溶性糖含量按式 (8) 计算:

$$W_{糖} = \frac{m_{糖} \times V_1 \times D}{V_2 \times m \times 1000} \dots\dots\dots (8)$$

式中:

w_糖——可溶性糖含量，单位为毫克每克鲜重（mg/g·FW）；

m_糖——从标准曲线查得的糖含量，单位为微克（μg）；

V₁——样品研磨液总体积，单位为毫升（mL）；

D——样品稀释倍数；

V₂——测定时所用研磨液体积，单位为毫升（mL）；

m——样品鲜重，单位为克（g）；

1000——微克转换为毫克的换算系数。

5 数据记录与处理

5.1 数据记录

记录要求：专人负责数据记录，采用统一的记录表格，记录内容真实、完整、清晰，不得涂改；

记录内容：包括试验基本信息（品种、苗期、试验日期）、试验条件（温度、光照、湿度）、原始测定数据、标准曲线数据、幼苗生长状态、异常情况及处理措施等；

记录保存：数据记录表格需签字确认，妥善留存，便于后续核查、追溯，保存期限不少于3年。

5.2 数据处理

数据预处理：核查原始数据，剔除异常值，标注剔除原因，进行数据换算、整理；

统计分析：进行描述性统计、差异显著性分析、相关性分析、综合评价，明确指标变化规律及差异；

数据可视化：绘制柱状图、折线图、相关性热图等，直观呈现试验结果；

数据修约：所有数据按GB/T 8170要求进行修约，保留规范的小数位。

6 试验报告撰写

6.1 报告结构

封面、声明页、首页、前言、试验材料与方法、试验结果与分析、试验结论、讨论（可选）、附录。

6.2 内容要求

报告内容需真实、详实，重点突出试验设计、操作步骤、试验结果及分析，附录需包含原始数据、标准曲线、仪器说明书等相关资料。

6.3 报告审批

报告需经编制人、审核人、批准人签字确认，确保报告的科学性、准确性，符合检验检测报告编制要求。

7 质量控制与质量保证

7.1 人员要求

试验操作人员需经过专业培训，熟悉试验规程、仪器操作方法，具备相应的试验能力。

7.2 材料质量控制

严格筛选试验材料，确保种子、基质、试剂等符合试验要求，避免因材料问题影响试验结果。

7.3 操作质量控制

严格按照试验操作步骤进行操作，规范仪器使用，减少操作误差，每个操作环节需专人负责、签字确认。

7.4 数据质量控制

建立数据核查机制，对原始数据、处理后数据进行双重核查，确保数据真实、准确、可追溯。

7.5 试验重复性控制

同一试验需设置足够的重复组，确保试验结果具有可重复性，若重复组数据离散度较大，需查找原因并重新测定。

8 安全要求

8.1 仪器安全

严格按照仪器操作说明书使用仪器，避免违规操作造成仪器损坏或人员伤害。

8.2 试剂安全

妥善保管试验试剂，标注试剂名称、浓度、有效期，避免试剂泄漏、误食，有毒试剂需单独存放、规范处理。

8.3 操作安全

试验过程中佩戴手套、口罩等防护用品，避免样品、试剂接触皮肤、黏膜，操作结束后及时清洗双手。

8.4 环境安全

试验废弃试剂、样品按环保要求妥善处理，避免污染土壤、水源、空气。

9 附录

附录A：试验数据记录表格（含原始数据、预处理数据、统计分析数据）

附录 A 试验数据记录表格

表 A.1 白菜型油菜苗期低温胁迫试验原始数据记录表

试验编号：_____ 试验地点：_____ 试验日期：_____ 试验执行人：_____ 复核人：_____ 白菜型油菜品种：_____ 育苗条件：基质配比_____ 发芽天数_____ 移栽苗龄_____ 低温胁迫条件：光照强度_____ lx 光周期_____ h 光照 /h 黑暗 相对湿度% 降温速率_____ °C/h。

序号	处理组	采样时间	重复组	细胞膜相对透性测定原始值 $C_0/C_1/C_2$	MDA测定吸光度值 $A_{450}/A_{532}/A_{600}$	超氧化物歧化酶(SOD) A_{560} (样品) / A_{560ck} (光对照)	过氧化物酶(POD)吸光度变化值 (ΔA_{470}) 1min/2min/3min/4min	过氧化氢酶, 对照组 / 测定组	脯氨酸测定吸光度值 (A_{520})	可溶性糖测定吸光度值 (A_{620})	幼苗生长状态描述	异常情况 及处理
1	CK(10)		1									
2	CK(10)		2									
3	CK(10)		3									
4	TR (5)		1									
5	TR (5)		2									
6	TR (5)		3									
7	TR (0)		1									
8	TR (0)		2									
9	TR (0)		3									
10	TR(-5)		1									
11	TR(-5)		2									
12	TR(-5)		3									

表 A.2 白菜型油菜苗期低温胁迫试验数据预处理表

试验编号：_____ 预处理人：_____ 预处理日期：_____ 复核人：_____

序号	处理组	重复组	细胞膜相对透性(%)计算	丙二醛(MDA)浓度计算	丙二醛(MDA)含量计算	SOD活性计算	POD活性计算	CAT活性计算	脯氨酸含量计算	可溶性糖含量计算	数据有效性判定(合格/剔除)	剔除原因说明
1	CK(10)	1										
2	CK(10)	2										
3	CK(10)	3										
4	TR(5)	1										
5	TR(5)	2										
6	TR(5)	3										
7	TR(0)	1										
8	TR(0)	2										
9	TR(0)	3										
10	TR(-5)	1										
11	TR(-5)	2										
12	TR(-5)	3										

表 A.3 白菜型油菜苗期低温胁迫试验统计分析数据表

试验编号：_____ 统计分析人：_____ 分析日期：_____ 复核人：_____ 统计方法：描述性统计（均值 / 标准差 / 变异系数）、差异显著性分析（P 值）、相关性分析。

序号	测定指标	处理组	有效样本数	均值	标准差 (SD)	变异系数	与CK 组差异显著性 (P 值)	指标变化趋势描述 (与温度 / 时间的关系)	备注
1	细胞膜相对透性 (%)	CK (10)							
		TR (5)							
		TR (0)							
		TR (-5)							
2	丙二醛 (MDA) 含量	CK (10)							
		TR (5)							
		TR (0)							
		TR (-5)							
3	超氧化物歧化酶 (SOD) 活性	CK (10)							
		TR (5)							
		TR (0)							
		TR (-5)							
4	过氧化物酶 (POD) 活性	CK (10)							
		TR (5)							
		TR (0)							
		TR (-5)							
5	过氧化氢酶 (CAT) 活性	CK (10)							
		TR (5)							
		TR (0)							
		TR (-5)							
6	脯氨酸含量	CK (10)							
		TR (5)							
		TR (0)							
		TR (-5)							
7	可溶性糖含量	CK (10)							
		TR (5)							
		TR (0)							
		TR (-5)							