

木醋喷施对蓝莓植株抗寒性的影响

申健^{1,2}, 杨国亭^{1*}, 刘德江²

(1.东北林业大学生态研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2.佳木斯大学生命科学学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘 要:以喷施不同稀释倍数(0、100、200、300 倍)木醋的蓝莓叶片为材料,采用人工低温胁迫(4、0、-5、-10、-20 ℃)处理,研究蓝莓叶片电解质外渗率、可溶性总糖、可溶性蛋白质、脯氨酸含量和 SOD 活性的变化,分析木醋对蓝莓抗寒性的影响。结果表明,①与对照相比,稀释 100 倍木醋处理蓝莓叶片 4、0、-5、-10、-20 ℃下的电解质外渗率降低(0 ℃时的降幅最大,为 24.92%);能提高 -5、-10 ℃下叶片可溶性总糖含量(-5 ℃时的升幅最大,为 15.04%);提高 -5、-10、-20 ℃下叶片可溶性蛋白质含量(-20 ℃时的升幅最大,为 125.87%);提高 -5、-10、-20 ℃下叶片脯氨酸含量(-10 ℃时的升幅最大,为 63.69%);提高 4、0、-5、-10、-20 ℃下叶片 SOD 活性(-10 ℃时的升幅最大,为 12.42%)。②稀释 200 倍木醋处理 4、0、-5、-10、-20 ℃下蓝莓叶片的电解质外渗率降低(-5 ℃时的降幅最大,为 15.65%);提高 -5、-10、-20 ℃下可溶性总糖含量(-20 ℃的升幅最大,为 15.58%);提高 4、0 ℃下叶片脯氨酸含量(0 ℃时的升幅最大,为 20.32%);提高 4、0、-5、-10 ℃下叶片 SOD 活性(-5 ℃时的升幅最大,为 17.37%)。③稀释 300 倍木醋处理能减缓蓝莓叶片 -5 ℃下电解质外渗率的增加,提高 4、0 ℃下叶片可溶性蛋白质和脯氨酸含量,提高 4、0、-5、-10 ℃下叶片 SOD 活性。综合考虑,木醋喷施对蓝莓抗寒性的提高具有促进作用,其中稀释 100 倍处理的效果较好。

关 键 词: 蓝莓;木醋;电解质外渗率;渗透调节物质;抗寒性

中图分类号: Q945.78 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2013)03-0270-04

Influence of spraying wood vinegar on frost resistance of blueberry plant

SHEN Jian^{1,2}, YANG Guo-ting^{1*}, LIU De-jiang²

(1.Center for Ecological Research, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 2.Life Science College, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007, China)

Abstract: Different times of wood vinegar dilution were used to test frost resistance of blueberry leaves on various low temperature stress. The ion leakage percentage, content of soluble sugar, soluble protein and proline, and the change of SOD activity were measured for this purpose. Compared with the contrast, the results showed that, 1) Treatment with 100 dilution times could slow down the ion leakage percentage at all test temperature (the largest decline was 24.92% at 0 ℃), increase soluble sugar content at -5, -10 ℃ (the biggest increase was 15.04% at -5 ℃), increase soluble protein content at -5, -10, -20 ℃ (the biggest increase was 125.87% at -20 ℃), increase proline content at -5, -10, -20 ℃ (the biggest increase was 63.69% at -10 ℃), and increase SOD activity at 4, 0, -5, -10, -20 ℃ (the biggest increase was 12.42% at -10 ℃); 2) Treatment with 200 dilution times could also slow down the ion leakage percentage at all test temperature (the largest decline was 15.65% at -5 ℃), increase soluble sugar content at -5, -10, -20 ℃ (the biggest increase was 15.58% at -20 ℃), increase proline content at 4, 0 ℃ (the biggest increase was 20.32% at 0 ℃), increase SOD activity at 4, 0, -5, -10 ℃ (the biggest increase was 17.37% at -5 ℃); 3) Treatment with 300 dilution times could slow down the ion leakage percentage at -5 ℃, increase soluble protein and proline content at 4, 0 ℃, increase SOD activity at 4, 0, -5, -10 ℃. Wood vinegar could improve the capability of blueberry on frost resistance. Treatment with 100 dilution times

收稿日期: 2013-02-26

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(C201102); 黑龙江省教育厅项目(12531686)

作者简介: 申健(1979—), 女, 吉林辉南人, 博士, 主要从事经济植物栽培生理研究, mysj1234@yahoo.com.cn; *通信作者, guotingyang@163.com

was a better scheme.

Key words: blueberry; wood vinegar; ion leakage percentage; osmotic adjustment substances; frost resistance

蓝莓(*Vaccinium uliginosum* Linn.)果实富含多种营养物质,其中维生素、氨基酸、矿物质元素和花色苷含量较高,具有抗衰老、保护视力、抗癌、防癌等多种功效^[1]。近年来,中国蓝莓种植得到迅速发展,种植生产的区域北起黑龙江,南至云南,在10多个省有商业化种植生产^[2]。目前,在黑龙江省栽培的蓝莓品种均需要采取人工防寒措施才能保证正常越冬,栽培操作不方便,且气温突降等异常天气常导致冻害发生,因此,提高蓝莓植株的抗寒性对黑龙江地区蓝莓生产意义重大。采用人工低温胁迫处理,通过分析离体叶片抗寒生理指标的变化来研究植物的抗寒性是目前较为常用的研究方法,并已在果树和林木抗寒性研究^[3-5]中广泛应用。竹醋可用作抗寒剂。木醋和竹醋的成分与作用相似,且木醋对玉米抗旱能力的提高有一定的促进作用^[6-7],但木醋对植物抗寒性的提高是否有促进作用目前尚未见报道。笔者研究木醋对蓝莓植株抗寒性的影响,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

供试木醋为硬杂木木醋液,pH 4.21。供试材料为露地栽培五年生‘美登’蓝莓植株。

1.2 方法

1.2.1 田间木醋喷施

2012年5—6月,采用随机区组设计,在蓝莓植株的展叶期、开花期、坐果期分别喷施不同稀释倍数的木醋2次,共计6次。设置木醋稀释倍数100、200、300倍共3个处理(分别记为T₁、T₂、T₃),以清水处理为对照。每处理重复3次。

1.2.2 叶片低温处理

2012年6月中旬,采集叶片带回实验室。将叶片用去离子水反复冲洗3次,用滤纸吸干叶表面水

分,再用保鲜膜包裹,放入高低温交替试验箱内进行低温胁迫处理。以2.5℃/h的速率降温到设定温度(4、0、-5、-10、-20℃),各处理12h。低温处理后,将样品放置于4℃的冰箱内解冻12h后取出,于室温下恢复12h后进行各生理、生化指标的测定。

1.2.3 测定指标及方法

各生理、生化指标参照文献^[4]中的方法进行测定。

电解质外渗率的测定采用相对电导率法;可溶性总糖含量测定采用蒽酮法;可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝G250法;脯氨酸含量测定采用茚三酮法;SOD活性测定采用NBT光还原法^[8-10]。

1.3 数据分析

用Excel 2003和DPSv 3.01处理试验数据;用Duncan多重比较法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对叶片电解质外渗率的影响

由表1可知各处理叶片电解质外渗率的变化:CK和T₂在4、0、-5℃的变化不大,在-10、-20℃迅速上升;T₁在4、0℃变化不大,在其余温度迅速上升;T₃变化较大,出现先升后降,然后又上升的趋势。在4、0、-5、-10、-20℃下,T₁、T₂叶片的电解质外渗率均显著低于CK,其中4、0℃下降幅度最大的处理均为T₁,分别下降了22.16%、24.92%,在-5、-10、-20℃下降幅度最大的处理均为T₂,分别下降了15.65%、14.82%、9.46%;T₃只在-5℃下显著低于CK,其余各处理均显著高于CK或与CK的差异无统计学意义,可见,T₁、T₂可使4、0、-5、-10、-20℃低温胁迫下蓝莓叶片的电解质外渗率显著降低,其中T₁在0℃的降低幅度最大(24.92%);T₂在-5℃的降低幅度最大(15.65%)。-20℃时各处理电解质外渗

率均大于 50%，说明此温度下植物受到严重伤害。

表 1 各处理叶片在不同温度下的电解质外渗率

Table 1 Ion leakage percentage of different treatments at different temperature

处理	电解质外渗率/%				
	4 °C	0 °C	- 5 °C	- 10 °C	- 20 °C
CK	33.26a	34.99b	38.03a	47.23b	62.17b
T ₁	25.89c	26.27d	33.54c	42.57c	56.38c
T ₂	27.03b	28.82c	32.08d	40.23d	56.29c
T ₃	33.41a	45.43a	37.17b	50.76a	68.45a

2.2 不同处理对叶片可溶性总糖、可溶性蛋白质和脯氨酸含量的影响

由表 2 可知：4 °C 时各处理叶片可溶性总糖含量差异无统计学意义；随着温度的降低，各处理均出现了先升后降的变化。CK 和 T₃ 在 0 °C 升至最高，T₁ 和 T₂ 在 - 5 °C 出现最高值。在 - 5、- 10 °C 下，T₁、T₂ 叶片的可溶性总糖含量均显著高于 CK，且 T₁ 显著高于 T₂ (T₁ 分别比 CK 高 15.04%、12.47%)；在 - 20 °C 下，T₂ 显著高于 CK (高 15.58%)；除此以外的各处理叶片的可溶性总糖含量均显著低于 CK 或与 CK 的差异无统计学意义 (T₂ 在 4 °C 下略高于 CK，除外)，可见，T₁、T₂ 可使 - 5、- 10、- 20 °C 低温胁迫下蓝莓叶片的可溶性总糖含量提高，其中 T₁ 在 - 5 °C 的提高幅度最大 (15.04%)；T₂ 在 - 20 °C 的提高幅度最大 (15.58%)。

表 2 各处理叶片在不同温度下的可溶性总糖含量

Table 2 Soluble sugar content of different treatments at different temperature

处理	可溶性总糖含量/(mg·g ⁻¹)				
	4 °C	0 °C	- 5 °C	- 10 °C	- 20 °C
CK	52.85	63.27a	59.04c	53.73c	48.06b
T ₁	52.11	58.20c	67.92a	60.43a	47.78b
T ₂	52.90	60.06b	60.48b	56.67b	55.55a
T ₃	52.06	54.94d	49.32d	41.13d	36.71c

由表 3 可知：随着温度的降低，CK、T₁ 和 T₂ 的可溶性蛋白质含量呈先升后降变化，最高值出现在 - 5 °C；T₃ 出现了先升后降再上升的变化，最高值出现在 0 °C。在 4、0 °C 下，T₃ 叶片的可溶性蛋白质含量均显著高于 CK (分别高 37.69%、48.60%)；在 - 5、- 10、- 20 °C 下，T₁ 叶片的可溶性蛋白质

含量均显著高于 CK (分别高 35.37%、51.49%、125.87%)；除此以外的各处理叶片的可溶性蛋白质含量均显著低于 CK。可见，T₃ 可使 4、0 °C 下蓝莓叶片的可溶性蛋白质含量提高，在 0 °C 的提高幅度 (48.60%) 最大；T₁ 可使 - 5、- 10、- 20 °C 低温胁迫下蓝莓叶片的可溶性蛋白质含量提高，在 - 20 °C 的提高幅度最大 (125.87%)。这说明 T₁ 对低温条件下叶片可溶性蛋白质含量提高的作用尤其明显。

表 3 各处理叶片在不同温度下的可溶性蛋白质含量

Table 3 Soluble protein content of different treatments at different temperature

处理	可溶性蛋白质含量/(mg·g ⁻¹)				
	4 °C	0 °C	- 5 °C	- 10 °C	- 20 °C
CK	1.178b	2.288b	6.288b	5.178b	3.178b
T ₁	0.734d	1.622c	8.512a	7.844a	7.178a
T ₂	0.956c	1.400c	2.956c	3.178c	2.288d
T ₃	1.622a	3.400a	1.844d	2.288d	2.734c

由表 4 可知：随着温度的降低，CK 的脯氨酸含量出现先升后降再上升的现象，最高值出现在 0 °C；其他 3 个处理均呈先升后降变化，T₁ 最高值出现在 - 10 °C，T₂ 和 T₃ 最高值出现在 0 °C。在 4 °C 下，T₁、T₂、T₃ 叶片的脯氨酸含量均显著高于 CK，且 T₂ 显著高于 T₁、T₃ (T₂ 比 CK 高 9.74%)；在 0 °C 下，T₂、T₃ 叶片的脯氨酸含量均显著高于 CK，且 T₂ 显著高于 T₃ (T₂ 比 CK 高 20.32%)；在 - 5、- 10 °C 下，T₁、T₂ 显著高于 CK，且 T₁ 显著高于 T₂ (T₁ 比 CK 分别高 55.56%、63.69%)；在 - 20 °C 下，T₁ 显著高于 CK (高 19.72%)；除此以外各处理叶片的脯氨酸含量均显著低于 CK 或与 CK 的差异无统计学意义。可见，T₂ 对提高 4、0 °C 下蓝莓叶片脯氨酸含量的作用最明显；T₁ 对提高 - 5、- 10、- 20 °C 下蓝莓叶片脯氨酸含量的作用最大。

表 4 各处理叶片在不同温度下的脯氨酸含量

Table 4 Proline content of different treatments at different temperature

处理	脯氨酸含量/(μg·g ⁻¹)				
	4 °C	0 °C	- 5 °C	- 10 °C	- 20 °C
CK	30.017d	35.225c	25.783c	27.083c	28.058b
T ₁	30.667c	35.225c	40.108a	44.333a	33.592a
T ₂	32.942a	42.383a	31.967b	31.317b	28.708b
T ₃	31.642b	39.125b	26.108c	23.825d	22.200c

2.3 不同处理对叶片 SOD 活性的影响

由表 5 可知：随着温度的降低，各处理 SOD 活性均出现了先升后降的变化规律，从 4 °C 降到 -10 °C 时呈上升趋势；从 -10 °C 降到 -20 °C 时呈下降趋势。在 4、0、-5、-10 °C 下，T₁、T₂、T₃ 叶片的 SOD 活性均显著高于 CK，在 4、-10 °C 下 T₁ 的增幅最大(分别比 CK 高 3.97%、12.42%)；在 0、-5 °C 下，T₂ 的增幅最大(分别比 CK 高 6.98%、17.37%)；-20 °C 下，T₁ 显著高于 CK(高 1.97%)，T₂ 与 CK 差异无统计学意义，T₃ 显著低于 CK。可见，T₁、T₂ 对提高各温度下蓝莓叶片脯氨酸含量的作用更加明显，其中，T₁ 在 -10 °C 的提高幅度最大(12.42%)；T₂ 在 -5 °C 的提高幅度最大(17.37%)。

表 5 各处理叶片在不同温度下的 SOD 活性

Table 5 SOD activity of different treatments at different temperature

处理	SOD 活性/(U·g ⁻¹)				
	4 °C	0 °C	-5 °C	-10 °C	-20 °C
CK	65.25c	87.55d	100.42d	107.27c	100.45b
T ₁	67.84a	90.67c	110.62b	120.59a	102.43a
T ₂	66.45b	93.66a	117.86a	120.21a	98.96b
T ₃	66.28b	92.78b	107.45c	110.56b	90.22c

3 结论与讨论

a. 电解质外渗率是用以评价植物低温伤害的常用指标。本试验结果表明，随着处理温度的降低，各处理电解质外渗率出现先缓慢变化后迅速变化的现象。这表明在低温时植物启动应对机制，减缓不良伤害，但温度过低超过了植物的耐受能力时会给植物造成巨大的伤害。本试验中 T₃ 表现异常，与前人研究结果^[11-12]不太一致。文献^[11-12]报道的是随着温度的降低，相对电导率均呈上升趋势。本试验中 T₃ 在 -5 °C 出现了明显的下降现象，其原因有待研究。从电解质外渗率的变化看，T₁ 和 T₂ 能够减缓低温条件下电解质外渗率的增加，能够增强蓝莓对低温的抵抗能力。

b. 可溶性总糖、可溶性蛋白质和脯氨酸是参与植物细胞抗寒的主要渗透调节物质，能够提高细胞液浓度，从而改变细胞保水能力，使植物能够忍受一定程度的低温伤害。本研究中发现，不同温度处

理叶片中的可溶性总糖、可溶性蛋白质和脯氨酸的含量均随低温胁迫的加剧表现出先升后降的变化趋势，只是不同处理对低温的应对反应不同，最高值出现的温度不完全相同。在前人的研究^[13-16]中，不同植物经低温处理后，这 3 种物质的变化规律不完全相同：竹柏的可溶性总糖和脯氨酸含量随温度的降低呈先降后升又降的变化现象；铁皮石斛脯氨酸含量随着温度降低呈上升趋势；观光木幼苗离体叶片脯氨酸和可溶性糖含量随温度的降低不断升高；卫矛属植物可溶性总糖和脯氨酸含量随温度的降低出现先升后降的变化规律。以上结果的差异可能是由不同植物种类对低温的应对机制不同以及采用的胁迫温度及试验方法不同所导致。本试验中 T₁ 和 T₂ 能够提高可溶性总糖和脯氨酸含量，T₁ 能够提高可溶性蛋白质含量，增强蓝莓对低温的抵抗能力。

c. SOD 对保护膜系统具有重要作用，其大小在一定程度上可反映植物抗寒能力的强弱。本试验研究结果表明，各处理蓝莓叶片 SOD 活性在 -10 °C 时达到最大，在 -20 °C 时下降，说明在 -10 °C 时植物组织内保护酶已经受到严重破坏。这种先升后降的变化趋势与邓化冰等^[17]和张京等^[18]的研究结果相一致。

综合分析以上 5 种抗寒性指标后可得知，喷施木醋对提高蓝莓的抗寒性起到了一定的促进作用，在一定温度范围内，能减缓电解质外渗率的增加，提高可溶性总糖、可溶性蛋白质、脯氨酸含量及 SOD 活性。在不同温度下，各处理表现不同，综合考虑，稀释 100 倍的处理对于提高蓝莓抗寒性所起的作用较明显。

参考文献：

- [1] 刘海军，代艳梅．黑龙江省寒地特色浆果的开发及优势浅析[J]．北方园艺，2004(5)：8-9．
- [2] 李亚东，刘海广，张志东，等．我国蓝莓产业现状和发展趋势[J]．中国果树，2008(6)：67-71．
- [3] Mustapha Arbaoui, Wolfgang Link．Effect of hardening on frost tolerance and fatty acid composition of leaves and stems of a set of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes[J]．Euphytica, 2008, 162: 211-219．

(下转第 303 页)