植物资源与环境学报，2016，**25**(2)：72-79
Journal of Plant Resources and Environment

低温处理后4个越橘品种部分生理指标的比较及其抗寒性分析

魏　鑫，魏永祥，郭　丹，王　升，张　舵，刘　成[①]
（辽宁省果树科学研究所，辽宁 营口 115009）

摘要：以‘美登’(‘Blomidon’)、‘北陆’(‘Northland’)、‘蓝丰’(‘Bluecrop’)和‘密斯梯’(‘Misty’)4个越橘(*Vaccinium* spp.)品种为研究对象，对经-15 ℃、-20 ℃、-25 ℃、-30 ℃、-35 ℃和-40 ℃低温处理后各品种枝条的相对电导率(REC)、丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性以及各指标的增长量进行比较；在此基础上，建立各品种REC值与温度的Logistic方程并获得各品种的低温半致死温度(LT_{50})，初步确定各品种的抗寒性。结果表明：经不同低温处理后，各品种枝条的REC值以及POD和CAT活性总体上极显著($P<0.01$)高于对照(10 ℃)，MDA含量极显著或显著($P<0.05$)高于对照。随处理温度降低，各品种枝条的REC值和MDA含量逐渐升高，但不同品种间这2个指标的变幅不同；各品种枝条的POD和CAT活性随处理温度降低呈“单峰型”曲线，但不同品种枝条POD和CAT活性的峰值及其达到峰值的处理温度均存在差异，其中，经-25 ℃低温处理后品种‘密斯梯’枝条的POD和CAT活性最高，而其余3个品种的POD和CAT活性经-30 ℃低温处理后最高。总体上，品种‘密斯梯’枝条的REC值和MDA含量增长量处于较高水平，POD和CAT活性增长量处于较低水平；而品种‘美登’枝条的REC值和MDA含量增长量则处于较低水平，POD和CAT活性增长量处于较高水平。各品种的Logistic方程拟合度为0.862 2～0.977 8，且各品种间的拟合度差异均达到极显著或显著水平；REC值与温度的相关性极显著，其相关系数为0.928 5～0.988 8；品种‘密斯梯’、‘蓝丰’、‘北陆’和‘美登’的LT_{50}值分别为-18.87 ℃、-26.85 ℃、-27.52 ℃和-30.83 ℃。综合分析结果显示：LT_{50}值、MDA含量变化量、保护酶活性及其变化量均可作为越橘品种抗寒性的评价指标，据此初步确定供试4个越橘品种抗寒性由强至弱依次为‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’、‘密斯梯’。

关键词：越橘；低温胁迫；生理指标；Logistic方程；低温半致死温度(LT_{50})；抗寒性

中图分类号：Q948.112^{+}.2；S663.9.034　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674-7895(2016)02-0072-08
DOI：10.3969/j.issn.1674-7895.2016.02.09

Comparison on some physiological indexes of four cultivars of *Vaccinium* spp. after treated by low temperature and their cold resistance analysis

WEI Xin, WEI Yongxiang, GUO Dan, WANG Sheng, ZHANG Duo, LIU Cheng[①] (Liaoning Province Institute of Pomology, Yingkou 115009, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2016, **25**(2): 72-79

Abstract: Taking four cultivars of *Vaccinium* spp., i. e. ‘Blomidon’, ‘Northland’, ‘Bluecrop’ and ‘Misty’ as research objects, relative electric conductivity (REC), malondialdehyde (MDA) content, peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities and increment of each index in branch of different cultivars were compared after treated by low temperatures of -15 ℃, -20 ℃, -25 ℃, -30 ℃, -35 ℃ and -40 ℃. On the basis, Logistic equation between REC value and temperature of different cultivars was established, their semilethal low temperature (LT_{50}) was obtained, and also, cold resistance of different cultivars was preliminarily determined. The results show that after treated by different low temperatures, overall, REC value and POD and CAT activities in branch of different cultivars are

收稿日期：2015-09-15
基金项目：辽宁省自然科学基金资助项目(2014027028)；“十二五”国家科技支撑计划项目(2013BAD02B04-05)；辽宁省农业攻关计划项目(2014204007)
作者简介：魏　鑫(1982—)，男，河北沧州人，硕士，助理研究员，研究方向为越橘种质资源与栽培生理。
[①]通信作者 E-mail：stevecliu@hotmail.com

extremely significantly ($P<0.01$) higher than those of the control (10 ℃), MDA content is extremely significantly or significantly ($P<0.05$) higher than that of the control. With decreasing of treatment temperature, REC value and MDA content in branch of different cultivars increase gradually, but change ranges of these two indexes among different cultivars are different. POD and CAT activities in branch of different cultivars appear "single-peak type" curve with decreasing of treatment temperature, but there are differences in peak values of POD and CAT activities in branch of different cultivars and in their treatment temperatures reaching peak value, in which, POD and CAT activities in branch of cultivar 'Misty' is the highest after treated by low temperature of −25 ℃, while those of other three cultivars is the highest after treated by low temperature of −30 ℃. In general, increments of REC value and MDA content in branch of cultivar 'Misty' are at high level and those of POD and CAT activities are at low level, while increments of REC value and MDA content in branch of cultivar 'Blomidon' are at low level and those of POD and CAT activities are at high level. Fitting degree of Logistic equation of different cultivars is 0.862 2 − 0.977 8, and differences in fitting degree among different cultivars all reach extremely significant and significant level. Correlation between REC value and temperature is extremely significant, their correlation coefficient is 0.928 5 − 0.988 8. LT_{50} value of cultivar 'Misty', 'Bluecrop', 'Northland' and 'Blomidon' is −18.87 ℃, −26.85 ℃, −27.52 ℃ and −30.83 ℃, respectively. The comprehensive analysis result indicates that LT_{50} value, MDA content variation, protective enzyme activity and their variation all can be used as evaluation index for cold resistance of cultivars of *Vaccinium* spp. Hereby, it is preliminarily determined that cold resistance of four cultivars of *Vaccinium* spp. tested in order from strong to weak is 'Blomidon', 'Northland', 'Bluecrop', 'Misty'.

Key words: *Vaccinium* spp.; low temperature stress; physiological index; Logistic equation; semilethal low temperature (LT_{50}); cold resistance

越橘(*Vaccinium* spp.),又称蓝莓,为杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium* Linn.)多年生落叶或常绿灌木,为浆果类果树,因其果实具有多种营养保健功能而备受人们的关注[1-2]。截至 2013 年,中国越橘的商业化栽培面积已经达到 2×10^5 hm^2,较 2001 年增长了 833.33 倍,现今越橘已经成为最具开发前景的小浆果类果树之一。然而,虽然越橘产业发展快速,但是却存在一定的问题,如缺少区域化的主导品种、没有遵循适地适栽的原则以及没有根据种植区域的气候环境特点制定科学的种植和管理方案等[1-4]。

东北地区是中国越橘的主要产地之一,但该地区冬季气温很低,极易对越橘植株造成冻害。在东北地区,即使是抗寒性相对较强的半高丛越橘(*V. corymbosum* × *V. angustifolium*)和矮丛越橘(*V. angustifolium* Ait.)在越冬过程中若保护不当仍会发生冻害,主要表现为越冬抽条、花芽冻死、地上部死亡等现象,严重影响翌年的果实产量[5-6],因而,抗寒性已经逐渐成为限制东北地区越橘产业快速发展的主要因素之一,开展越橘抗寒性鉴定与抗寒机制研究对于明确不同品种抗寒性强弱、制定防寒措施、合理规划布局品种、加速选育抗寒品种、挖掘和推广抗寒性品种资源等具有重要意义。

植物抗寒性研究主要涉及生理指标、形态指标、细胞结构观察及功能基因表达等方面,其中,低温半致死温度(semilethal low temperature, LT_{50})是植物抗寒性评价的一种常用、便捷的研究方法[7]。目前,国内越橘抗寒性研究大多集中在田间冻害调查、枝条和芽的含水量测定、叶片组织细胞结构及其与抗寒性关系分析等方面[8-12],但并未在各项指标间建立有效的联系,并且,在生理生化水平评价越橘抗寒性的研究报道也较少。作者在前期通过人工模拟低温的方法,测定了6个北高丛越橘(*V. corymbosum* Linn.)品种 1 年生枝条的相对电导率并利用 Logistic 方程确定各品种的 LT_{50}值[5],同时测定枝条中的丙二醛含量,在此基础上综合评价各越橘品种的抗寒性,研究结果显示采用此方法可有效地对供试 6 个越橘品种的抗寒性进行排序。

为进一步评价不同类型越橘品种的抗寒性,作者从 4 个类型越橘中各选出 1 个品种,以各品种 1 年生枝条为研究对象,对不同模拟低温(−15 ℃、−20 ℃、−25 ℃、−30 ℃、−35 ℃和−40 ℃)条件下各品种枝条的相对电导率进行测定比较,并采用 Logistic 方程计算各品种的 LT_{50}值,同时测定各品种枝条中的丙二醛含量以及过氧化物酶和过氧化氢酶活性,以期明确低

温胁迫条件下上述生理指标的变化规律,确定不同类型越橘品种的抗寒性,为越橘的区域引种栽培、抗寒品种选育、防寒措施制定及抗寒机制研究提供基础研究数据。

1 材料和方法

1.1 材料

以矮丛越橘品种‘美登’(‘Blomidon’)、半高丛越橘品种‘北陆’(‘Northland’)、北高丛越橘品种‘蓝丰’(‘Bluecrop’)和南高丛越橘品种‘密斯梯’(*V. australe* ‘Misty’)的5年生健壮植株为研究对象。其中,‘美登’为中国北方地区越橘主栽加工品种,抗寒性较强;‘北陆’和‘蓝丰’为辽宁省露地和温室越橘主栽品种,抗寒性也较强;‘密斯梯’为辽宁省温室越橘主栽品种,抗寒性较弱。供试植株均定植于辽宁省果树科学研究所塑料大棚内,棚顶用遮阳网(透光率为30%)遮光,采取常规日常管理措施。

于2013年12月15日至2014年1月10日期间,分别在经过抗寒锻炼的上述4个越橘品种中各选出6株作为样株,剪取这些样株不同方向上完全木质化且直径0.3~0.5 cm的1年生枝条,用于低温胁迫实验。

1.2 方法

1.2.1 低温胁迫方法 将供试枝条依次用自来水和蒸馏水洗净后吸干表面水分,用封口塑料袋分装后分别置于低温冰箱中进行低温胁迫实验。共设置6个低温胁迫处理组:-15 ℃、-20 ℃、-25 ℃、-30 ℃、-35 ℃和-40 ℃,对照组(CK)温度为10 ℃。各处理组初始温度均为-15 ℃,以4 ℃·h^{-1}的速率降温,降至设定温度后保持24 h,然后将各处理组枝条在4 ℃条件下解冻,将解冻枝条置于4 ℃冰箱中保存、备用。每品种各处理组均选取24个枝条,每个处理组均设置3次重复。

1.2.2 生理指标测定方法 分别称取不同处理组的枝条各1 g进行各项生理指标的测定。采用电导仪法[13]175-180测定相对电导率(REC);采用碘量法[13]101-103测定过氧化氢酶(CAT)活性;采用愈创木酚法[14]100-103测定过氧化物酶(POD)活性;采用硫代巴比妥酸法[14]154-155测定丙二醛(MDA)含量。每个生理指标均重复测定3次,结果取平均值。

1.3 数据处理和统计分析

参照赵蕾等[15]的方法,采用Logistic方程“$y=k/(1+a\cdot e^{-bT})$”计算各越橘品种的低温半致死温度(LT_{50})。式中,y为枝条的相对电导率;T为胁迫温度;k为枝条煮沸后的相对电导率;a和b均为方程参数;e为自然常数。

采用EXCEL 2003软件对实验数据进行预处理并制表;应用DPS 7.05统计分析软件对相关实验数据进行统计分析;采用Duncan's新复极差法对实验数据进行差异显著性分析。

2 结果和分析

2.1 低温处理对4个越橘品种枝条部分抗寒生理指标的影响

2.1.1 对相对电导率的影响 比较结果(表1)表明:经不同低温处理后供试4个越橘品种枝条的相对电导率均极显著($P<0.01$)高于对照(10 ℃),且均随处理温度的降低而逐渐增大。品种‘美登’、‘北陆’

表1 经不同低温处理后4个越橘品种枝条相对电导率(REC)的比较($\bar{X}\pm SD$, $n=3$)[1)]

Table 1 Comparison on relative electric conductivity (REC) in branch of four cultivars of *Vaccinium* spp. after treated by different low temperatures ($\bar{X}\pm SD$, $n=3$)[1)]

处理温度/℃ Treatment temperature	不同品种枝条的REC值/% REC value in branch of different cultivars			
	美登 Blomidon	北陆 Northland	蓝丰 Bluecrop	密斯梯 Misty
10(CK)	39.17±2.91Df	31.80±1.00Fe	37.39±1.03Ee	34.26±1.54Ff
-15	43.97±0.31Ce	46.96±0.44Ed	46.62±0.32Dd	44.04±0.37Ee
-20	46.17±0.24BCd	47.82±0.66DEd	47.32±0.04CDd	47.36±0.10Ee
-25	47.42±0.16Bcd	48.78±0.40CDc	48.35±0.58Cc	65.29±1.14Dd
-30	48.54±0.49Bc	49.60±0.09Cc	51.17±0.30Bb	71.12±0.38Cc
-35	51.69±0.26Ab	51.10±0.29Bb	52.09±0.05Bb	78.09±4.48Bb
-40	54.43±0.48Aa	55.53±0.34Aa	55.95±0.67Aa	84.19±1.69Aa

1) 同列中不同的小写和大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$) Different small letters and capitals in the same column indicate the significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$) differences, respectively.

和‘蓝丰’的枝条经-15 ℃至-40 ℃低温处理后相对电导率均平稳升高；而品种‘密斯梯’的枝条经-15 ℃至-20 ℃低温处理后其相对电导率平稳升高，但经-25 ℃至-40 ℃低温处理后其相对电导率均则迅速升高。其中，经-15 ℃低温处理后品种‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’枝条的相对电导率分别较对照提高了 12.25%、47.67%、24.69% 和 28.55%；而经-25 ℃低温处理后这 4 个越橘品种枝条的相对电导率分别较-20 ℃低温处理组提高了 2.71%、2.01%、2.18% 和 37.86%，并且，经-30 ℃至-40 ℃低温处理后仅品种‘密斯梯’枝条的相对电导率明显升高，而其他3个越橘品种枝条的相对电导率均平稳升高。经-40 ℃低温处理后品种‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’枝条的相对电导率分别较对照组提高了 38.96%、74.62%、49.64% 和 145.74%，较-15 ℃低温处理组分别提高了 23.79%、18.25%、20.01% 和 91.17%，差异均达到极显著水平。

由表 1 还可见：经同一低温处理后不同越橘品种间枝条的相对电导率也有一定差异。在对照条件下，品种‘美登’和‘蓝丰’枝条的相对电导率极显著高于品种‘北陆’；品种‘密斯梯’枝条的相对电导率显著低于‘美登’，但与品种‘蓝丰’和‘北陆’的差异不显著。对经不同低温处理后 4 个越橘品种枝条相对电导率的增长量进行比较，结果（数据未显示）显示：经-15 ℃低温处理后下，品种‘北陆’枝条相对电导率的增长量极显著大于其他 3 个越橘品种，而品种‘蓝丰’和‘密斯梯’间则无显著（$P>0.05$）差异，但均极显著高于品种‘美登’；经-25 ℃和-40 ℃低温处理后，4 个越橘品种枝条相对电导率的增长量均有极显著差异。总体来看，经不同低温胁迫处理后，品种‘美登’枝条的相对电导率增长量均处于较低水平，而品种‘密斯梯’枝条的相对电导率增长量则处于较高水平，供试 4 个越橘品种枝条相对电导率增长量由高至低依次为‘密斯梯’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘美登’。

2.1.2　对丙二醛（MDA）含量的影响　比较结果（表 2）表明：经不同低温处理后供试 4 个越橘品种枝条的 MDA 含量均随处理温度的降低而逐渐升高，并且总体上均极显著高于对照，仅经-15 ℃低温处理后枝条的 MDA 含量略高于或显著（$P<0.05$）高于对照。经-15 ℃至-40 ℃低温处理后品种‘美登’、‘北陆’和‘蓝丰’枝条的 MDA 含量均平稳升高；而品种‘密斯梯’经-15 ℃和-20 ℃低温处理后枝条 MDA 含量平稳升高，但经-25 ℃至-40 ℃低温处理后其 MDA 含量则迅速升高。与对照（10 ℃）相比，经-15 ℃低温处理后，品种‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’枝条的 MDA 含量分别提高了 9.86%、11.86%、16.67% 和 34.76%，其中仅品种‘北陆’枝条的 MDA 含量与对照无显著差异，其他 3 个越橘品种枝条的 MDA 含量均显著或极显著高于对照。经-25 ℃低温处理后 4 个越橘品种枝条的 MDA 含量分别较-20 ℃低温处理组提高了 2.42%、7.38%、5.38% 和 54.63%，其中，仅品种‘密斯梯’枝条的 MDA 含量与-20 ℃低温处理组有极显著差异，其他 3 个越橘品种枝条的 MDA 含量均与-20 ℃处理组无显著差异。经-30 ℃至-40 ℃低温处理后，品种‘密斯梯’枝条的 MDA 含量随温度降低迅速升高，而其他 3 个越橘品种枝条的 MDA 含量均随温度降低平稳升高；其中，-40 ℃低温处理组品种‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’枝条的 MDA 含量分别较对照提高了 42.25%、57.63%、62.38% 和 184.76%，较-15 ℃低温处理组分别提高

表 2　经不同低温处理后 4 个越橘品种枝条丙二醛（MDA）含量的比较（$\bar{X}\pm SD$，$n=3$）[1)]

Table 2　Comparison on malondialdehyde (MDA) content in branch of four cultivars of *Vaccinium* spp. after treated by different low temperatures ($\bar{X}\pm SD$, $n=3$)[1)]

处理温度/℃ Treatment temperature	不同品种枝条的 MDA 含量/μmol·g^{-1}　MDA content in branch of different cultivars			
	美登 Blomidon	北陆 Northland	蓝丰 Bluecrop	密斯梯 Misty
10（CK）	1.42±0.06Cd	1.18±0.13De	2.10±0.10Ee	1.64±0.17Ee
-15	1.56±0.09BCc	1.32±0.03CDde	2.45±0.29DEd	2.21±0.23Dd
-20	1.65±0.16BCbc	1.49±0.06BCcd	2.60±0.07CDcd	2.27±0.06Dd
-25	1.69±0.03Bbc	1.60±0.09Bbc	2.74±0.16CDbc	3.51±0.10Cc
-30	1.71±0.14Bbc	1.68±0.08ABab	2.94±0.13BCb	4.01±0.27Bb
-35	1.79±0.08ABb	1.69±0.08ABab	3.29±0.15ABa	4.52±0.10Aa
-40	2.02±0.09Aa	1.86±0.14Aa	3.41±0.10Aa	4.67±0.13Aa

1) 同列中不同的小写和大写字母分别表示差异显著（$P<0.05$）和极显著（$P<0.01$）Different small letters and capitals in the same column indicate the significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$) differences, respectively.

29.49%、40.91%、39.18%和111.12%,并且-40 ℃低温处理组4个越橘品种枝条的MDA含量与对照和-15 ℃低温处理组均有极显著差异。

由表2还可见:经同一低温处理后不同越橘品种间枝条的MDA含量也有一定差异。在对照条件下,品种'蓝丰'枝条的MDA含量极显著高于品种'密斯梯'、'北陆'和'美登',品种'密斯梯'枝条的MDA含量极显著高于品种'北陆',显著高于品种'美登',而品种'美登'枝条的MDA含量显著高于品种'北陆'。对经低温处理后4个越橘品种枝条MDA含量的增长量进行比较,结果(数据未显示)显示:经-15 ℃低温处理后品种'密斯梯'枝条的MDA含量增长量显著高于品种'北陆'和'美登',但与品种'蓝丰'无显著差异,而品种'蓝丰'、'北陆'和'美登'枝条的MDA含量增长量无显著差异;经-25 ℃和-40 ℃低温处理后品种'密斯梯'枝条的MDA含量增长量极显著高于其他3个越橘品种,品种'蓝丰'枝条的MDA含量增长量分别极显著或显著高于品种'美登'和'北陆',而品种'美登'和'北陆'枝条的MDA含量增长量无显著差异。总体来看,经不同低温胁迫处理后,品种'美登'枝条的MDA含量增长量均处于较低水平,而品种'密斯梯'枝条的MDA含量增长量则均处在较高水平,供试4个越橘品种枝条MDA含量增长量由高至低依次为'密斯梯'、'蓝丰'、'北陆'、'美登'。

2.1.3 对过氧化物酶(POD)活性的影响 比较结果(表3)表明:经不同低温处理后供试4个越橘品种枝条的POD活性均极显著高于对照,且变化趋势基本一致,均随温度降低呈"单峰型"曲线,仅POD活性达到峰值时的处理温度有所不同。其中,经-25 ℃低温处理后品种'密斯梯'枝条的POD活性达到峰值,而经-30 ℃低温处理后品种'美登'、'北陆'和'蓝丰'枝条的POD活性达到峰值,并且各品种枝条POD活性的峰值均极显著高于对照及其他处理组。从实验结果看,当胁迫温度低于各品种的可耐受范围时,由于细胞的组织结构遭到破坏,导致细胞内的POD活性下降。

表3 经不同低温处理后4个越橘品种枝条过氧化物酶(POD)活性的比较($\bar{X}\pm SD$, $n=3$)[1)]

Table 3 Comparison on peroxidase (POD) activity in branch of four cultivars of *Vaccinium* spp. after treated by different low temperatures ($\bar{X}\pm SD$, $n=3$)[1)]

处理温度/℃ Treatment temperature	不同品种枝条的POD活性/U·g^{-1}·min^{-1} POD activity in branch of different cultivars			
	美登 Blomidon	北陆 Northland	蓝丰 Bluecrop	密斯梯 Misty
10(CK)	7.39±0.37Ee	2.37±0.13Ff	2.10±0.05Ff	0.50±0.07Gg
-15	12.23±0.20Dd	3.66±0.21Dd	3.08±0.12Ee	1.44±0.17Dd
-20	19.39±0.80Cc	4.72±0.11Cc	4.55±0.12Cc	2.44±0.01Bb
-25	26.68±0.65Bb	5.64±0.18Bb	5.01±0.21Bb	3.06±0.01Aa
-30	34.49±1.77Aa	7.51±0.31Aa	5.83±0.12Aa	2.23±0.06Cc
-35	27.97±0.87Bb	5.74±0.24Bb	3.82±0.28Dd	1.19±0.07Ee
-40	18.58±1.98Cc	2.97±0.20Ee	3.03±0.16Ee	0.94±0.20Ff

1) 同列中不同的小写和大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$) Different small letters and capitals in the same column indicate the significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$) differences, respectively.

由表3还可见:经同一低温处理后不同越橘品种间枝条的POD活性也有一定差异。在对照条件下,品种'美登'枝条的POD活性极显著高于其他3个越橘品种;品种'北陆'与'蓝丰'枝条的POD活性无显著差异,但均极显著高于品种'密斯梯'。对经低温处理后4个越橘品种枝条POD活性的增长量进行比较,结果(数据未显示)显示:经-15 ℃和-25 ℃低温处理后,品种'美登'枝条的POD活性增长量极显著高于其他3个越橘品种,品种'北陆'与'蓝丰'间枝条的POD活性增长量无显著差异但显著高于品种'密斯梯',品种'蓝丰'与'密斯梯'间枝条的POD活性增长量也无显著差异;经-30 ℃低温处理后,品种'美登'枝条的POD活性增长量极显著高于其他3个越橘品种,品种'北陆'与'蓝丰'间枝条的POD活性增长量无显著差异但极显著高于品种'密斯梯',且品种'蓝丰'与'密斯梯'间枝条的POD活性增长量差异显著;经-40 ℃低温处理后,品种'美登'枝条的POD活性增长量极显著高于其他3个越橘品种,而品种'北陆'、'蓝丰'和'密斯梯'枝条的POD活性增长量无显著差异。总体来看,经不同低温胁迫处理后,品种'美登'枝条的POD活性增长量均处于较高水平,而品种'密斯梯'枝条的POD活性增长量则均处于较低

水平，供试 4 个越橘品种枝条 POD 活性增长量由高至低依次为‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’、‘密斯梯’。

2.1.4　对过氧化氢酶(CAT)活性的影响　比较结果(表 4)表明：经不同低温处理后供试 4 个越橘品种枝条的 CAT 活性基本上均极显著高于对照，且变化趋势基本一致，均随温度降低呈“单峰型”曲线，仅 CAT 活性达到峰值时的处理温度有所不同。其中，经 -25 ℃低温处理后品种‘密斯梯’枝条的 CAT 活性达到峰值，而经 -30 ℃低温处理后品种‘美登’、‘北陆’和‘蓝丰’枝条的 CAT 活性达到峰值，并且各品种枝条 CAT 活性的峰值均极显著高于对照及其他低温处理组。从实验结果看，当胁迫温度低于各品种的可耐受范围时，由于细胞的组织结构遭到破坏，导致细胞内的 CAT 活性下降，与各品种枝条 POD 活性对低温胁迫的响应规律相似。

由表 4 还可见：经同一低温处理后不同越橘品种间枝条的 CAT 活性也有一定差异。在对照条件下，品种‘密斯梯’枝条的 CAT 活性极显著低于其他 3 个越橘品种；品种‘美登’枝条的 CAT 活性极显著高于品种‘蓝丰’，但与品种‘北陆’无显著差异；品种‘蓝丰’枝条的 CAT 活性极显著高于品种‘密斯梯’，但与品种‘北陆’无显著差异。对经低温处理后 4 个越橘品种枝条 CAT 活性的增长量进行比较，结果(数据未显示)显示：经不同低温处理后品种‘密斯梯’枝条的 CAT 活性增长量变化幅度小于其他 3 个越橘品种。经 -15 ℃低温处理后，4 个越橘品种枝条的 CAT 活性增长量无差异显著；经 -25 ℃至 -40 ℃低温处理后，品种‘美登’枝条的 CAT 活性增长量均极显著高于其他 3 个越橘品种，而品种‘北陆’和‘蓝丰’枝条的 CAT 活性增长量无显著差异，但均极显著高于品种‘密斯梯’。总体来看，经不同低温胁迫处理后，品种‘美登’枝条的 CAT 活性增长量均处于较高水平，而品种‘密斯梯’枝条的 CAT 活性增长量则均处于较低水平，供试 4 个越橘品种枝条 CAT 活性增长量由高至低依次为‘美登’、‘蓝丰’、‘北陆’、‘密斯梯’。

2.2　4 个越橘品种低温半致死温度的比较

以温度为自变量 T、枝条的相对电导率为因变量 y 对供试越橘品种进行 Logistic 方程拟合回归分析，并计算各品种枝条相对电导率与温度间的相关系数以及各品种的低温半致死温度(LT_{50})，结果见表 5。由表 5 可见：品种‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’的 Logistic 方程分别为 $y = 348.05/(1+1.64e^{-0.016T})$、

表 4　经不同低温处理后 4 个越橘品种枝条过氧化氢酶(CAT)活性的比较($\bar{X}\pm SD$, $n=3$)[1)]

Table 4　Comparison on catalase (CAT) activity in branch of four cultivars of *Vaccinium* spp. after treated by different low temperatures ($\bar{X}\pm SD$, $n=3$)[1)]

处理温度/℃ Treatment temperature	不同品种枝条的 CAT 活性/mg·g^{-1}·min^{-1}　CAT activity in branch of different cultivars			
	美登 Blomidon	北陆 Northland	蓝丰 Bluecrop	密斯梯 Misty
10(CK)	1.22±0.15Ee	0.97±0.09Ff	0.87±0.09Fg	0.56±0.09De
-15	1.73±0.09Dd	1.33±0.09Ee	1.22±0.15Ef	1.07±0.15Cc
-20	2.96±0.09Cc	1.79±0.09Dd	2.14±0.15Cd	1.38±0.15Bb
-25	3.83±0.15Bb	2.81±0.09Bb	2.75±0.15Bb	1.99±0.15Aa
-30	4.59±0.15Aa	3.83±0.15Aa	3.57±0.09Aa	1.02±0.09Ccd
-35	3.83±0.15Bb	2.30±0.15Cc	2.40±0.09Cc	0.82±0.09CDd
-40	2.75±0.15Cc	1.63±0.09Dd	1.68±0.15Dg	0.56±0.09De

1) 同列中不同的小写和大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$) Different small letters and capitals in the same column indicate the significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$) differences, respectively.

表 5　4 个越橘品种的 Logistic 方程和低温半致死温度(LT_{50})[1)]

Table 5　Logistic equation and semilethal low temperature (LT_{50}) of four cultivars of *Vaccinium* spp.[1)]

品种 Cultivar	Logistic 方程 Logistic equation	拟合度 Fitting degree	相关系数 Correlation coefficient	LT_{50}/℃
美登 Blomidon	$y=348.05/(1+1.64e^{-0.016T})$	0.969 0**	0.984 4**	-30.83
北陆 Northland	$y=345.86/(1+1.40e^{-0.012T})$	0.862 2*	0.928 5**	-27.52
蓝丰 Bluecrop	$y=400.29/(1+1.48e^{-0.015T})$	0.935 6**	0.967 2**	-26.85
密斯梯 Misty	$y=427.13/(1+4.53e^{-0.810T})$	0.977 8**	0.988 8**	-18.87

1) **：$P<0.01$；*：$P<0.05$.

$y = 345.86/(1 + 1.40e^{-0.012T})$、$y = 400.29/(1 + 1.48e^{-0.015T})$和$y=427.13/(1+4.53e^{-0.810T})$，上述4个越橘品种Logistic方程的拟合度为0.862 2～0.977 8，均达到极显著($P<0.01$)或显著($P<0.05$)水平；各越橘品种枝条的相对电导率与温度间的相关系数为0.928 5～0.988 8，均达到极显著水平。

由表5还可以看出：根据Logistic方程，品种‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’枝条的LT_{50}值分别为-30.83 ℃、-27.52 ℃、-26.85 ℃和-18.87 ℃，据此推断4个越橘品种抗寒性由强至弱依次为‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’。

3 讨论和结论

在抗寒性研究中，常常采用比较植物组织的相对电导率并运用Logistic方程计算低温半致死温度(LT_{50})的方法来判定植物的抗寒性[7,16]，此方法已应用于越橘[5]、火龙果(*Hylocereus* spp.)[17]和葡萄(*Vitis vinfera* Linn.)[18]的抗寒性评价研究并取得良好效果；在低温胁迫过程中，植物细胞的膜脂过氧化程度加剧，其终产物丙二醛(MDA)能够对酶和膜系统造成严重伤害，且MDA含量及其变幅可反映植物受低温过氧化伤害的程度，体现质膜的过氧化作用强度[19-20]；同时，植物体内的酶促防御系统能够清除低温胁迫产生的有害物质，维持膜系统的稳定性，因此也可通过植物体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等的活性来衡量植物对逆境的适应能力[21-23]。经不同低温处理后，供试4个越橘品种枝条的MDA含量增长量间存在差异；4个越橘品种枝条的POD和CAT活性及其增长量均有差异，其中，品种‘美登’枝条的POD和CAT活性增长量均处于较高水平，而品种‘密斯梯’枝条的POD和CAT活性增长量则一直处于较低水平；依据各越橘品种的Logistic方程，计算获得品种‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’的LT_{50}值分别为-30.83 ℃、-27.52 ℃、-26.85 ℃和-18.87 ℃。因此，可以将低温胁迫后枝条的MDA含量变化量、保护酶活性及其变化量和LT_{50}值作为评价不同越橘品种抗寒性的指标。

植物的抗寒性受遗传基因和环境因素的双重影响，但由于遗传基因调控具有复杂性，而环境因素则具有多变性，因此，应采用多个指标进行综合评价才能准确反映植物的抗寒性。本研究中，供试4个越橘品种枝条的LT_{50}值和MDA含量增长量由低至高均依次排序为‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’；同时，从低温胁迫后枝条的POD和CAT活性及其增长量看，品种‘美登’枝条的这些指标均较高，而品种‘密斯梯’枝条则较低，品种‘北陆’和‘蓝丰’枝条的这些指标处于中等水平。因此，通过综合分析可确定供试4个越橘品种的抗寒性由强到弱依次为‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’，这一结果与各品种的田间表现和相关研究结果[1,24-25]一致。

在受到低温胁迫时，植物细胞内的自由基代谢平衡被破坏，大量的自由基引发或加剧了细胞的膜脂过氧化作用并对膜系统造成损伤，导致电解质外渗、相对电导率增大、MDA含量增加，并最终导致植物体内的生理代谢紊乱；同时，低温胁迫也激发了植物体内的保护酶系统，以清除或减轻活性氧对细胞的损害，抑制膜脂过氧化作用[16,26]。本研究中，随处理温度的降低，4个越橘品种枝条的相对电导率和MDA含量均逐渐升高，其中，经-25 ℃至-40 ℃低温处理后，抗寒性较弱的品种‘密斯梯’枝条的相对电导率和MDA含量明显升高，其增长量也极显著高于其他3个越橘品种，而抗寒性较强的品种‘美登’、‘北陆’和‘蓝丰’枝条的相对电导率和MDA含量增长量则相对较小；另外，4个越橘品种枝条的POD和CAT活性变化则随温度降低呈“单峰型”曲线，经-25 ℃至-40 ℃低温处理后，品种‘美登’枝条的POD和CAT活性的增长量极显著高于其他3个越橘品种，品种‘密斯梯’枝条的POD和CAT活性的增长量则明显低于其他3个越橘品种；此外，品种‘密斯梯’枝条的POD和CAT活性达到峰值的处理温度也均高于其他3个越橘品种。从以上实验结果看出，品种‘密斯梯’的抗寒性较差，当处理温度低于其可耐受的“阈值”时，机体内产生一系列膜脂过氧化反应，高浓度的活性氧自由基破坏了酶蛋白分子，致使保护酶活性下降，膜结构和功能受到破坏，细胞严重受损[27-28]；而品种‘美登’、‘北陆’和‘蓝丰’的抗寒性较强，在受到低温伤害时其体内的保护酶活性迅速升高，有效清除细胞内超量的活性氧，使相对电导率和MDA含量维持在相对较低水平，降低细胞膜系统的破坏程度，维持细胞结构的完整性和生理功能的稳定性，减弱低温对细胞的伤害，从而表现出较强的抗寒能力。

综上所述，供试4个越橘品种的抗寒性由强到弱依次为‘美登’、‘北陆’、‘蓝丰’和‘密斯梯’；利用丙

二醛含量变化量、保护酶活性及其变化量和低温半致死温度可以综合判定越橘品种的抗寒性。

参考文献：

[1] 李亚东，刘海广，唐雪东. 蓝莓栽培图解手册[M]. 北京：中国农业出版社，2014：5.

[2] 韦继光，曾其龙，姜燕琴，等. 水分胁迫及恢复正常水分供应后兔眼蓝浆果生长及光合特性的变化[J]. 植物资源与环境学报，2015，24(3)：77-84.

[3] 顾　姻，贺善安. 蓝浆果与蔓越橘[M]. 北京：中国农业出版社，2001：3.

[4] SUN L Q，DING X P，QI J，et al. Antioxidant anthocyanins screening through spectrum-effect relationships and DPPH-HPLC-DAD analysis on nine cultivars of introduced rabbiteye blueberry in China[J]. Food Chemistry，2012，132：759-765.

[5] 魏　鑫，刘　成，王兴东，等. 6 个高丛越橘品种低温半致死温度的测定[J]. 果树学报，2013，30(5)：798-802.

[6] 吴　林，刘洪章，文连奎，等. 我国果树冻害及抗寒性研究进展[J]. 特产研究，1997(3)：23-27.

[7] 王宏辉，顾俊杰，房伟民，等. 10 个红掌品种的抗寒性与耐热性评价[J]. 植物资源与环境学报，2015，24(2)：40-47.

[8] 吴　林，李亚东，张志东，等. 高丛、半高丛和矮丛越橘越冬冻害研究[J]. 果树学报，2004，21(4)：341-345.

[9] 吴　林，刘海广，刘雅娟，等. 越橘叶片组织结构及其与抗寒性的关系[J]. 吉林农业大学学报，2005，27(1)：48-50，54.

[10] 黄国辉，姚　平，赵凤军，等. 越橘越冬伤害机理的初步研究[J]. 东北农业大学学报，2012，43(10)：45-49.

[11] 乌凤章，王贺新，韩　慧，等. 防寒措施对越橘越冬微环境和越冬性的影响[J]. 果树学报，2012，29(2)：278-282.

[12] 裴嘉博，康立敏，李亚东，等. 蓝莓的冻害调查[J]. 落叶果树，2013，45(3)：8-11.

[13] 郝建军，刘延吉. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳：辽宁科学技术出版社，2001.

[14] 曹健康，姜微波，赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京：中国轻工业出版社，2007.

[15] 赵　蕾，廖　康，王　瑾，等. 野生欧洲李抗寒性研究初探[J]. 中国农学通报，2009，25(6)：97-100.

[16] LYONS J M. Chilling injury in plants[J]. Annual Review of Plant Physiology，2003，24：445-466.

[17] 邓仁菊，范建新，王永清，等. 低温胁迫下火龙果的半致死温度及抗寒性分析[J]. 植物生理学报，2014，50(11)：1742-1748.

[18] 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.

[19] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯，1991，27(2)：84-90.

[20] 严寒静，谈　峰. 栀子叶片生理特性与抗寒性的关系[J]. 植物资源与环境学报，2005，14(4)：21-24.

[21] GUSTA L V，WISNIEWSKI M，NESBITT N T，et al. Factors to consider in artificial freeze tests[J]. Acta Horticulturae，2003，618：493-507.

[22] CHINNYSAMY V，SCHUMAKER K，ZHU J K. Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants[J]. Journal of Experimental Botany，2004，55：225-236.

[23] 魏　鑫，魏永祥，刘　成，等. 蓝莓抗寒性研究进展及越冬防寒措施[J]. 上海农业学报，2015，31(3)：147-151.

[24] ROWLAND L J，OGDEN E L，EHLENFELDT M K，et al . Cold hardiness，deacclimation kinetics，and bud development among 12 diverse blueberry genotypes under field conditions[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science，2005，130：508-514.

[25] ROWLAND L J，DHANARAJ A L，NAIK D，et al. Study of cold tolerance in blueberry using EST libraries，cDNA microarrays，and subtractive hybridization[J]. HortScience，2008，43：1975-1981.

[26] 李迎春，陈双林，郭子武，等. 模拟低温或自然低温条件下牡竹属 3 种类抗寒性及生理指标的比较[J]. 植物资源与环境学报，2012，21(3)：13-19.

[27] 沈洪波. 杏品种抗寒性研究[D]. 泰安：山东农业大学园艺学院，2002：25-26.

[28] CHEN L J，XIANG H Z，MIAO Y，et al. An overview of cold resistance in plants[J]. Journal of Agronomy and Crop Science，2014，200：237-245.

（责任编辑：佟金凤）