

宋 瑞,王洪睿,张军翔. 贺兰山东麓不同树龄赤霞珠、美乐葡萄的根系抗寒性[J]. 江苏农业科学,2018,46(16):105-107.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.16.026

贺兰山东麓不同树龄赤霞珠、美乐葡萄的根系抗寒性

宋 瑞,王洪睿,张军翔

(宁夏大学农学院,宁夏银川 750021)

摘要:分别对宁夏贺兰山东麓葡萄酒产区的15、10、3年生赤霞珠、美乐葡萄的根系进行-3、-6、-9、-12℃低温处理12 h,以4℃处理为对照,测定根系的相关电导率、可溶性糖含量、丙二醛含量,拟合相对电导率的Logistic方程,计算半致死温度,分析赤霞珠、美乐葡萄根系抗寒性随树龄的变化情况。结果表明,随着树龄的增加,贺兰山东麓赤霞珠、美乐葡萄根系的半致死温度降低,说明树龄大的葡萄根系抗寒性提高;随着处理温度的降低,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系相对电导率、丙二醛含量多呈上升趋势,可溶性糖含量呈先升后降趋势。

关键词:葡萄根系;低温处理;抗寒性;贺兰山东麓;赤霞珠;美乐

中图分类号: S663.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)16-0105-03

宁夏回族自治区贺兰山东麓属于葡萄冷凉产区,是一个天然的葡萄低温驯化带,酿酒葡萄品种赤霞珠、美乐已在当地栽种多年。目前,研究植物品种抗寒性及其鉴定方法的较多。牛锦凤等对鲜食葡萄与酿酒葡萄品种的抗寒性研究表明,抗寒性强的品种电导率相对较低,变化幅度较小,电导率可作为鉴定品种抗寒性的重要指标^[1]。李俊才等测定16个梨品种的枝条电导率发现,抗寒品种的电解质升高速度和幅度比不抗寒的品种要小^[2]。王淑杰等研究葡萄的抗寒性发现,抗寒性强的品种含糖量要比抗寒性弱的高;在低温锻炼过程中,各个葡萄品种的可溶性糖含量增加,其中抗寒性强的品种增加幅度更大^[3]。杨希等对美丽针葵研究发现,在低温胁迫下,美丽针葵的丙二醛含量增加,经过低温锻炼的美丽针葵丙二醛含量增加幅度比未经低温锻炼的小^[4]。付晓伟等认为,当植物受到低温胁迫时,细胞体内的一些物质会发生变化,如果温度持续降低,其变化具有一定的规律性,人们可测量这些物质的变化,鉴定不同品种的抗寒属性^[5]。本试验以经过多年天然低温驯化、种植在宁夏回族自治区贺兰山东麓的酿酒葡萄品种赤霞珠、美乐为材料,研究不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系的抗寒性,为当地赤霞珠、美乐葡萄的抗寒驯化工作提供

技术支持,同时为当地不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根部冬季防寒管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2016年11月20日至12月20日进行。3年生赤霞珠、美乐葡萄来自宁夏大学葡萄酒学院种植实训基地,10、15年生赤霞珠、美乐葡萄来自宁夏御马酒庄种植基地,选用当年生葡萄根系用于试验,根系分布范围为30~40 cm土层,直径为3~4 mm。

1.2 处理方法

将采集到的根系用自来水清洗2遍,再用去离子水清洗1遍,放入密封袋中,抽出空气,置于恒温冰箱中4℃保持,待测;在尽量保持根系不受到破坏的情况下,分别称取根系4 g,放入密封袋,抽出空气,分别放入-3、-6、-9、-12℃低温培养箱中进行处理,降温至目的温度后持续12 h,以4℃处理为对照;取出样品逐步升温至4℃,测定相关指标。

1.3 测定内容与方法

1.3.1 相对电导率及半致死温度 分别取低温处理的葡萄根系1 g,用剪刀剪取2~5 mm厚的薄片,置于装有去离子水10 mL、具塞的试管中,振荡3 min;多次振荡,6 h后测定初电导率值(C_1);将试样煮沸30 min,室温冷却,静置12 h,测定终电导率值(C_2),计算相对电导率,公式为

$$\text{相对电导率} = C_1 / C_2 \times 100\%$$

结合相对电导率拟合Logistic方程,计算各葡萄材料根系的半致死温度 LT_{50} 。

收稿日期:2017-02-15

基金项目:宁夏回族自治区重点研究计划(编号:2016BZ06)。

作者简介:宋 瑞(1989—),女,陕西靖边人,硕士研究生,从事葡萄与葡萄酒研究。E-mail:578071747@qq.com。

通信作者:张军翔,博士,教授,硕士生导师,从事葡萄栽培与葡萄酒酿造。E-mail:zhangjunxiang@126.com。

指标的影响[J]. 福建农业学报,2012,27(8):869-873.

[2]徐兵划,祁 婷,曹玉杰,等. 蚕豆人工春化诱导技术研究[J]. 湖北农业科学,2015,54(19):4673-4675,4681.

[3]石永峰. 蚕豆及其食品加工[J]. 西部粮油科技,1994,19(2):39-42.

[4]王旭强,赵 君,陈江辉,等. 鲜食蚕豆人工春化处理大棚促早栽培技术[J]. 长江蔬菜,2015(19):32-33.

[5]卞晓春,夏礼如,吴春芳. 鲜食蚕豆通鲜2号选育及设施栽培技术研究进展[J]. 江西农业学报,2017,29(4):26-31.

[6]刘汝敏,李正满. 蚕豆的田间管理[J]. 云南农业,2006(12):15.

[7]黄莉华. 蚕豆栽培管理和病虫害防治技术[J]. 中国果菜,2011(5):27.

[8]卞晓春,林晶晶,吴春芳. 不同春化处理对蚕豆表型的影响[J]. 安徽农业科学,2015,43(14):63-64.

1.3.2 可溶性糖含量 取0.2 g低温处理的根系,加去离子水研磨至糊状,倒入试管中,加入去离子水10 mL,盖好塞子,水浴中煮30 min;冷却,用漏斗过滤,多次冲洗残渣,并于50 mL容量瓶中定容;静置20 min,取上层澄清稀释液0.5 mL至试管中,依次加入蒸馏水1.5 mL、萘酚乙酸乙酯1 mL、浓硫酸4 mL,混匀,立即放入沸水中准确保温20 min;取出,冷却10 min,以水为对照,测量波长为620 nm的吸光度($D_{620\text{ nm}}$);根据标准曲线,计算可溶性糖含量,单位mg/g。可溶性糖含量计算公式为

$$\text{可溶性糖含量} = 8.166 \times (0.1071 D_{620\text{ nm}} - 0.0074)。$$

1.3.3 丙二醛(MDA)含量 取经过低温处理的葡萄根系0.1 g,加入10%三氯乙酸(TCA)1 mL,充分研磨至均浆;加入10% TCA 4 mL,倒入离心管中,6 000 r/min离心15 min;取上清液4 mL,加0.6%硫代巴比妥酸(TBA) 4 mL,摇匀,沸水浴30 min;冷却,6 000 r/min离心15 min;取上清液,以TBA 4 mL+水4 mL为对照,用分光光度计分别测定波长为450、532、600 nm处的吸光度,计算丙二醛含量,公式为

$$\text{MDA含量}(\mu\text{mol/L}) = 6.45 \times (D_{532\text{ nm}} - D_{600\text{ nm}}) - 0.56 \times D_{450\text{ nm}}。$$

2 结果与分析

2.1 低温处理对葡萄根系相对电导率的影响及半致死温度的确定

由图1可知,随着处理温度的下降,不同树龄葡萄的相对电导率整体呈“S”形上升趋势,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄间差异明显;4℃对照处理中,除15年生美乐葡萄的相对电导率较低外,其他样品的相对电导率在50%左右;处理温度由-9℃到-12℃,3年生赤霞珠、3年生美乐、15年生美乐葡萄的相对电导率增长率低于5%;-12℃处理中,不同树龄不同品种的相对电导率达到90%左右,说明这些样品均受到冻害,其细胞膜系统发生不可逆破坏。

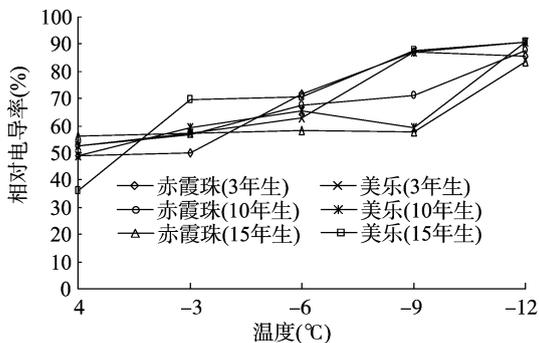


图1 低温处理对赤霞珠、美乐葡萄根系相对电导率的影响

对赤霞珠、美乐葡萄根系相对电导率与温度进行 Logistic 方程拟合,拟合度均大于0.85,说明该拟合度较好,结果可信^[6]。由表1可知,随着葡萄树龄的增大,赤霞珠、美乐的根系抗寒性增强,且两者抗寒性增强的程度有一定差异;3、10、15年生赤霞珠葡萄根系的半致死温度分别为-3.12、-6.30、-12.16℃,3~15、3~10、10~15年生树龄的半致死温度增加速度分别为0.75、0.45、1.17℃/年,而3、10、15年生美乐葡萄的半致死温度分别为-3.26、-5.14、-5.57℃,3~15、3~10、10~15年生树龄的半致死温度增加速度分别为0.19、0.27、0.09℃/年,说明栽种在贺兰山东麓的赤霞珠

葡萄根系的半致死温度受树龄影响较大,影响持续时间较长,而美乐葡萄根系的半致死温度也受树龄的影响较小,且随树龄的增加而减弱。

表1 赤霞珠、美乐葡萄根系相对电导率与温度的 Logistic 方程及半致死温度

品种	回归方程	拟合度	LT ₅₀ (°C)
赤霞珠(3年生)	$y = 1 / (1 / 79.8 + 0.008 \times 1.146^x)$	0.852	-3.12
赤霞珠(10年生)	$y = 1 / (1 / 66.3 + 0.008 \times 1.111^x)$	0.868	-6.30
赤霞珠(15年生)	$y = 1 / (1 / 58.2 + 0.008 \times 1.066^x)$	0.903	-12.16
美乐(3年生)	$y = 1 / (1 / 82.9 + 0.008 \times 1.153^x)$	0.879	-3.26
美乐(10年生)	$y = 1 / (1 / 64.1 + 0.009 \times 1.120^x)$	0.933	-5.14
美乐(15年生)	$y = 1 / (1 / 42.3 + 0.009 \times 1.197^x)$	0.966	-5.57

注:y为相对电导率,x为温度。

2.2 低温处理对赤霞珠及美乐葡萄根系可溶性糖含量的影响

可溶性糖含量与植物抗寒性有一定的关系^[7]。在低温逆境下,可溶性糖可以促进细胞分泌脱落酸(ABA)、合成脂肪和蛋白质,而脂肪和蛋白质可以结合细胞中的自由水,ABA可以调节细胞的渗透率,促进抗寒基因的表达,产生大量的抗寒物质抵御逆境以保持细胞内外环境的平衡。由图2可知,随着处理温度的下降,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系的可溶性糖含量呈先升后降趋势,除15年生赤霞珠葡萄根系可溶性糖含量在-9℃达到峰值外,其他处理均在-6℃时达到峰值,其中3年生美乐葡萄根系可溶性糖含量相对最高,达到2.57 mg/g,其他处理的峰值在1.54~1.84 mg/g之间;-3、-6℃处理的不同树龄赤霞珠葡萄根系可溶性糖含量差别较小,但随着温度的进一步降低,3年生赤霞珠葡萄根系的可溶性糖含量下降明显,-12℃处理的可溶性糖含量与对照处理大致相同,而10、15年生赤霞珠葡萄根系的可溶性糖含量下降不明显,且维持在较高水平;-3、-6℃处理的不同树龄美乐葡萄根系可溶性糖含量差别较大,-6℃温度处理下,3年生美乐葡萄根系可溶性糖含量明显高于其他树龄的美乐葡萄,随着温度的进一步降低,不同树龄美乐葡萄根系的可溶性糖含量均有明显下降,说明温度过低时美乐葡萄根系细胞死亡,无法合成可溶性糖。

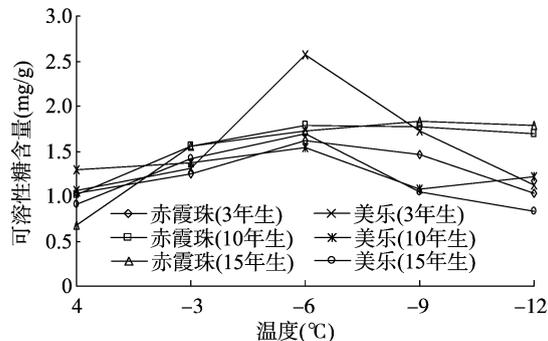


图2 低温处理对赤霞珠、美乐葡萄根系可溶性糖含量的影响

2.3 低温处理对赤霞珠及美乐葡萄根系丙二醛含量的影响

由图3可知,4℃对照处理下,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系的丙二醛含量差异较大,10年生美乐葡萄根系的丙二醛含量相对最高,为0.289 μmol/L,3年生赤霞珠葡萄相对最

低,为0.158 $\mu\text{mol/L}$;随着处理温度的降低,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系的丙二醛含量多呈上升趋势;赤霞珠葡萄根系-12 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理与4 $^{\circ}\text{C}$ 对照处理相比,不同树龄根系的丙二醛含量增长率均超过25%,受温度影响较为明显,而美乐葡萄根系-12 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理与4 $^{\circ}\text{C}$ 对照处理相比,3年生美乐根系的丙二醛含量由对照处理的0.171 $\mu\text{mol/L}$ 增长至-12 $^{\circ}\text{C}$ 处理的0.210 $\mu\text{mol/L}$,增长率为22.8%,而10、15年生美乐葡萄根系丙二醛含量增长率仅约为2%。

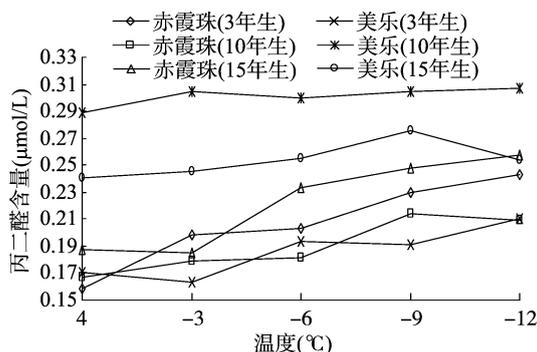


图3 低温处理对赤霞珠、美乐葡萄根系丙二醛含量的影响

3 结论与讨论

一般认为,植物在低温胁迫下细胞的质膜透性会增大,细胞液会有不同程度的外渗,导致细胞外电解质浓度升高,电导率会有不同程度的增大^[8],而葡萄根系煮沸前后电导率的比值(相对电导率)能够真实反映不同品种的抗寒性差异^[9]。对根据相对电导率和温度拟合的 logistic 方程进行求导,所得函数峰值即为电导率变化最快的温度,当外界温度低于此温度,植物将受到不可逆的破坏,该温度被称为植物的半致死温度,是用来鉴定植物抗寒性的经典方法^[10]。本试验分别对生长于宁夏回族自治区贺兰山东麓的15、10、3年生赤霞珠、美乐葡萄根系进行-3、-6、-9、-12 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理12 h,以4 $^{\circ}\text{C}$ 处理作为对照,测定根系的相对电导率、可溶性糖含量、丙二醛含量,并对测定的相对电导率和温度拟合 logistic 方程,计算葡萄根系的半致死温度。结果表明,随着处理温度的降低,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系相对电导率多呈“S”形曲线上升,其上升幅度与树龄有明显关系,且以 Logistic 方程 $y = 1/(1/k + b_0 \times b_1^x)$ 来描述相对电导率与温度的关系时具有较好的拟合度,达到85%以上,具有较高的可信度;随着树龄的增加,栽种在宁夏贺兰山东麓的赤霞珠、美乐根系半致死温度降低,3、10、15年生赤霞珠葡萄根系半致死温度分别为-3.12、-6.30、-12.16 $^{\circ}\text{C}$,3、10、15年生美乐葡萄根系半致死温度分别为-3.26、-5.14、-5.57 $^{\circ}\text{C}$,3~15年生赤霞珠、美乐葡萄根系半致死温度下降速度分别为0.75、0.19 $^{\circ}\text{C}/\text{年}$,经过多年低温驯化的赤霞珠、美乐葡萄根系抗寒性得到增强,而这种根系抗寒性的提升与可溶性糖、丙二醛含量变化有关。

当植物受到寒害时,可溶性糖含量的增加可使细胞渗透浓度提高,渗透压、冰点降低^[11],在低温逆境下植物体内多糖被水解,并主要以可溶性糖形式存在,而可溶性糖作为细胞保护物质,其含量变化与植物抗寒性呈正比。本试验研究发现,

随着处理温度的降低,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系可溶性糖含量呈先升后降趋势,除15年生赤霞珠葡萄根系可溶性糖含量在-9 $^{\circ}\text{C}$ 达到峰值外,其他处理均在-6 $^{\circ}\text{C}$ 时达到峰值,且在更低温度处理时,可溶性糖含量下降与树龄关系明显;-12 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理时,3年生赤霞珠葡萄根系的可溶性糖含量与对照大致相同,而10、15年生赤霞珠根系可溶性糖含量明显高于对照处理,且维持在较高水平,在1.69 mg/g以上,这说明在-12 $^{\circ}\text{C}$ 低温下,随着树龄的增大,赤霞珠葡萄根系水解生成可溶性糖的能力增强,从而其抗寒性增强。

丙二醛是细胞膜中一些物质发生化学反应的最终产物,可以毒害生物膜,抑制一些抗寒脂肪、蛋白的合成,其含量高可判定生物膜的损伤程度。本试验结果表明,在4 $^{\circ}\text{C}$ 对照处理下,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系的丙二醛含量差异较大,10年生美乐葡萄根系的丙二醛含量相对最高,为0.289 $\mu\text{mol/L}$,3年生赤霞珠葡萄相对最低,为0.158 $\mu\text{mol/L}$;随着处理温度的降低,不同树龄赤霞珠、美乐葡萄根系的丙二醛含量多呈上升趋势,这是赤霞珠、美乐葡萄抗寒胁迫的重要反应机制;赤霞珠葡萄根系-12 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理与4 $^{\circ}\text{C}$ 对照处理相比,不同树龄根系的丙二醛含量增长率均超过25%,受温度影响较为明显,而美乐葡萄根系-12 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理与4 $^{\circ}\text{C}$ 对照处理相比,3年生美乐根系的丙二醛含量由对照处理的0.171 $\mu\text{mol/L}$ 增长至-12 $^{\circ}\text{C}$ 处理的0.210 $\mu\text{mol/L}$,增长率为22.8%,而10、15年生美乐葡萄根系丙二醛含量增长率仅约为2%,较高树龄的美乐葡萄根系丙二醛含量增长率远低于较低树龄的增长率,这是高树龄美乐葡萄抗寒性提高的重要原因之一。

参考文献:

- [1] 牛锦凤,王振平,李国,等. 几种方法测定鲜食葡萄枝条抗寒性的比较[J]. 果树学报,2006,23(1):31-34.
- [2] 王家珍,李俊才,刘成,等. 16个砂梨品种的引种筛选试验[J]. 北方园艺,2008(10):56-58.
- [3] 王淑杰,王家民,李亚东,等. 可溶性全蛋白、可溶性糖含量与葡萄抗寒性关系的研究[J]. 北方园艺,1996(2):77-78.
- [4] 杨希,隆学武,曾华浩,等. 美丽针葵耐寒性试验[J]. 福建林业科技,2002,29(2):56-57.
- [5] 付晓伟,张倩,刘崇怀,等. 评价葡萄根系抗寒性指标的确定[J]. 果树学报,2014,31(1):52-59.
- [6] 张倩,刘崇怀,郭大龙,等. 5个葡萄种群的低温半致死温度与其抗寒适应性的关系[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2013,41(5):149-154.
- [7] 张倩. 葡萄根系抗寒性研究[D]. 洛阳:河南科技大学,2013.
- [8] 艾琳,张萍,胡成志. 低温胁迫对葡萄根系膜系统和可溶性糖及脯氨酸含量的影响[J]. 新疆农业大学学报,2004,27(4):47-50.
- [9] 郭修武,博望衡,王光洁. 葡萄根系抗寒力研究[J]. 园艺学报,1989,16(1):17-22.
- [10] 姜云天,曲柏宏,陈艳秋. 果树冻害机理及防寒农业措施研究进展[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版),2006,3(1):38-40.
- [11] 谢丽芬. 葡萄砧木抗寒性鉴定及抗寒机理的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2007.