

朱绍坤, 乔 军, 马 丽, 等. 外源钙对巨峰葡萄裂果及其代谢物质的影响[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(4): 163–168.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.04.024

外源钙对巨峰葡萄裂果及其代谢物质的影响

朱绍坤¹, 乔 军², 马 丽¹, 孙凌俊¹, 高圣华¹, 郭荐硕¹

(1. 辽宁省果树科学研究所, 辽宁营口 115009; 2. 辽宁农业职业技术学院, 辽宁营口 115009)

摘要:为了探究外源钙在巨峰葡萄裂果中的作用,以6年生巨峰葡萄为试材,在盛花后20、30、40 d整株喷施5 g/L氯化钙,直至有水滴滴下,以清水为对照,于盛花后45 d开展每10 d取样1次,定期测定葡萄裂果率、果实钙含量、总果胶、可溶性果胶、原果胶、纤维素含量及多聚半乳糖醛酸酶、 β -半乳糖苷酶、果胶裂解酶、果胶酯酶活性的动态变化情况,并进行相关性分析。结果表明,喷施氯化钙后巨峰葡萄果实裂果率降低,最高降低14.67个百分点,果实钙含量最高增加0.68个百分点,原果胶含量提升,最高可达51.6%,可溶性果胶含量最高降低54.1%;原果胶降解成可溶性果胶的过程被阻止或延缓;与细胞壁降解相关的多聚半乳糖醛酸酶和果胶裂解酶活性在8月16日明显降低。相关性分析表明,巨峰葡萄裂果率与果实钙含量呈极显著负相关,相关系数为-0.93,与原果胶、总果胶呈负相关性,与多聚半乳糖醛酸酶、果胶裂解酶呈显著正相关。综上,在盛花后对巨峰葡萄喷施外源钙可有效防治裂果,喷施外源钙可作为减少巨峰葡萄裂果的重要农艺措施。

关键词:外源钙;裂果;相关性分析;酶活性;巨峰葡萄

中图分类号:S663.101 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)04-0163-05

葡萄是世界上重要的水果之一,因其营养丰富、风味多样而广受消费者的欢迎。葡萄在我国种植范围广泛,目前鲜食葡萄的产量与面积已位居世界第一^[1]。但一直以来普遍发生的葡萄裂果问题^[2-3],不仅影响果实外观品质,还易引发酸腐病等病虫害,降低葡萄质量与商品性,造成果农严重的经济损失^[4]。辽宁为我国葡萄主要产区之一,截至2021年其葡萄栽培面积4.61万hm²,产量90.83万t,其中巨峰葡萄栽培面积与产量分别达2.59万hm²、54.39万t,占全省葡萄的56.18%、59.88%。但近年来巨峰葡萄栽培面积大幅减少,其中裂果严重是重要原因之一,在一般年份巨峰葡萄裂果率可达10%~20%^[5],特殊年份裂果率甚至高达50%~60%,裂果问题已成为巨峰葡萄产业发展的重要阻碍^[6]。

葡萄裂果是一种重要的生理性病害,水分供应失衡、果皮韧性降低等都是导致裂果的重要因

素^[7-8]。目前围绕矿质营养、激素等枣裂果原因的探索已较为全面^[9],但对于葡萄裂果的研究多集中在不同品种裂性与结构差异的比较^[10-11]、防裂技术的探究^[5]等方面,有关葡萄裂果与钙作用机制的研究仍需深入化、系统化,同时研究多围绕欧亚种等种皮较薄的葡萄品种^[12-13],关于巨峰葡萄裂果与钙的关系的研究尚属空白。本试验以辽宁露地主栽品种巨峰葡萄为试材,研究喷施外源钙后葡萄果实各时期裂果情况及物质变化,探究钙肥在巨峰葡萄果实膨大后期与成熟期对裂果及相关物质的作用规律。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于2022年在辽宁省果树科学研究所葡萄试验区内进行,以6年生的露地巨峰葡萄为试材,试验设2个处理:CaCl₂处理(5 g/L CaCl₂)、CK(清水),3次重复,每次重复5株。在盛花后20(6月21日)、30、40 d(果实迅速膨大期)对树体进行3次喷洒处理,从树体不同方向进行喷施,直至叶面、果面自然滴水为准(每处理喷施用量20 L)。盛花后45~95 d开展取样调查,每10 d采果调查1次,共6次。

1.2 试验方法

裂果率调查:每个处理每次重复随机采摘50粒

收稿日期:2023-04-02

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-29-6);

辽宁省农业科学院院长基金(面上)项目(编号:2021MS0503)。

作者简介:朱绍坤(1989—),女,山东烟台人,硕士,助理研究员,从事葡萄栽培与育种工作。E-mail:shaokunzhu@163.com。

通信作者:马 丽,博士,研究员,从事葡萄栽培与育种工作。

E-mail:43845590@qq.com。

果粒,将其浸没于3 L蒸馏水中,浸泡24 h调查果实裂果数,并计算裂果率(裂果率=裂果数/总果粒数 \times 100%)。

果实物质含量及酶活性测定:每次处理每个重复随机采摘80粒果粒,分离果肉与种子,一部分105℃杀青30 min,80℃烘干;一部分液氮速冻,用于后续测定。果实钙含量的测定采用干灰化-酸溶-原子吸收法,步骤详见文献[14]。果实纤维素(C)、半纤维素(HC)、总果胶(TP)、原果胶(PP)、可溶性果胶(SP)含量及多聚半乳糖醛酸酶(PG)、 β -半乳糖苷酶(β -GAL)、果胶酯酶(PE)、果胶裂解酶(PL)活性的测定参照文献[15],委托苏州格瑞思生物科技有限公司进行测定。

1.3 数据分析

采用Excel 2016、SPSS 23.0、R语言进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 外源钙对巨峰葡萄裂果情况影响

由图1可知,钙处理后巨峰葡萄果实各阶段裂果率较对照有所降低。巨峰葡萄果粒裂果率呈“S”形增长,在7月26日至8月6日裂果率增长最快,8月26日裂果率增长逐渐变得平缓;随裂果率增长,CaCl₂处理与CK差异增大,9月6日达到最大,裂果率比对照降低了14.67个百分点。

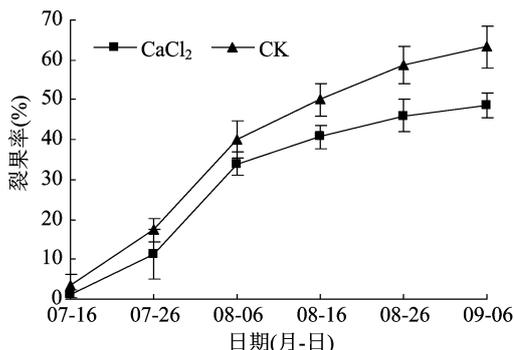


图1 钙处理后巨峰葡萄各时期裂果情况

2.2 外源钙对巨峰葡萄果实钙含量的影响

外源钙处理后,巨峰葡萄果实钙含量较对照增加(图2)。随着果实成熟,CaCl₂处理与CK果实钙含量呈现先上升后下降趋势,在7月26日达到最高值,分别为3.79%、3.11%。喷洒CaCl₂处理提升了果实钙含量,7月26日与CK差异最大,钙含量提升了0.68个百分点,随时间增加,果实钙含量差异逐渐缩小,且含量降低趋于稳定。

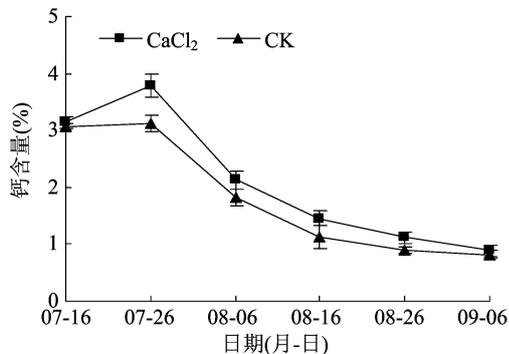


图2 钙处理后巨峰葡萄果实各时期钙含量情况

2.3 外源钙对巨峰葡萄果实细胞成分的影响

钙处理后巨峰葡萄果实细胞成分变化情况详见图3。由图3-A可知,钙处理后巨峰葡萄果实总果胶含量较CK明显升高。喷洒CaCl₂后总果胶含量呈现先升高后降低趋势,7月26日至8月6日总果胶含量明显高于CK,8月16日下降并趋于平缓。CK中总果胶含量呈降低趋势,8月6日含量变化平缓。

由图3-B可知,可溶性果胶(SP)含量随巨峰葡萄果实成熟整体呈上升趋势,钙处理降低了可溶性果胶含量;其中7月26日、8月6日、8月26日CaCl₂处理可溶性果胶含量与CK存在明显差异,且8月6日降低最多,为54.10%。

由图3-C可知,CaCl₂处理后果实原果胶(PP)含量比对照明显增多,在果实膨大后期(7月26日)含量呈增加趋势,增幅为72.87%,较CK增加51.60%。随着果实转色成熟,原果胶含量呈下降趋势,但原果胶含量依然表现为CaCl₂处理>CK。

由图3-D、图3-E可知,在果实成熟过程中,纤维素和半纤维素含量均呈下降趋势。但CaCl₂处理对纤维素和半纤维素含量影响趋势不明显。

2.4 外源钙对巨峰葡萄果实细胞酶活性的影响

由图4可知,巨峰葡萄果实不同酶对外源钙反应变化不同。图4-A可知,随果实成熟,多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性呈现升高趋势,CaCl₂处理PG活性升高时间点较CK延后10 d,CK在8月16日多聚半乳糖醛酸酶活性明显升高,后期呈下降趋势,CaCl₂处理PG活性在8月26日明显升高。

由图4-B可知,在巨峰葡萄果实成熟过程中, β -半乳糖苷酶(β -GAL)活性呈升高趋势,除8月6日CaCl₂处理 β -GAL活性略高于CK外,其余时间酶活性均低于CK,但二者差异不明显。

图4-C可知,在果实成熟过程中,果胶裂解酶

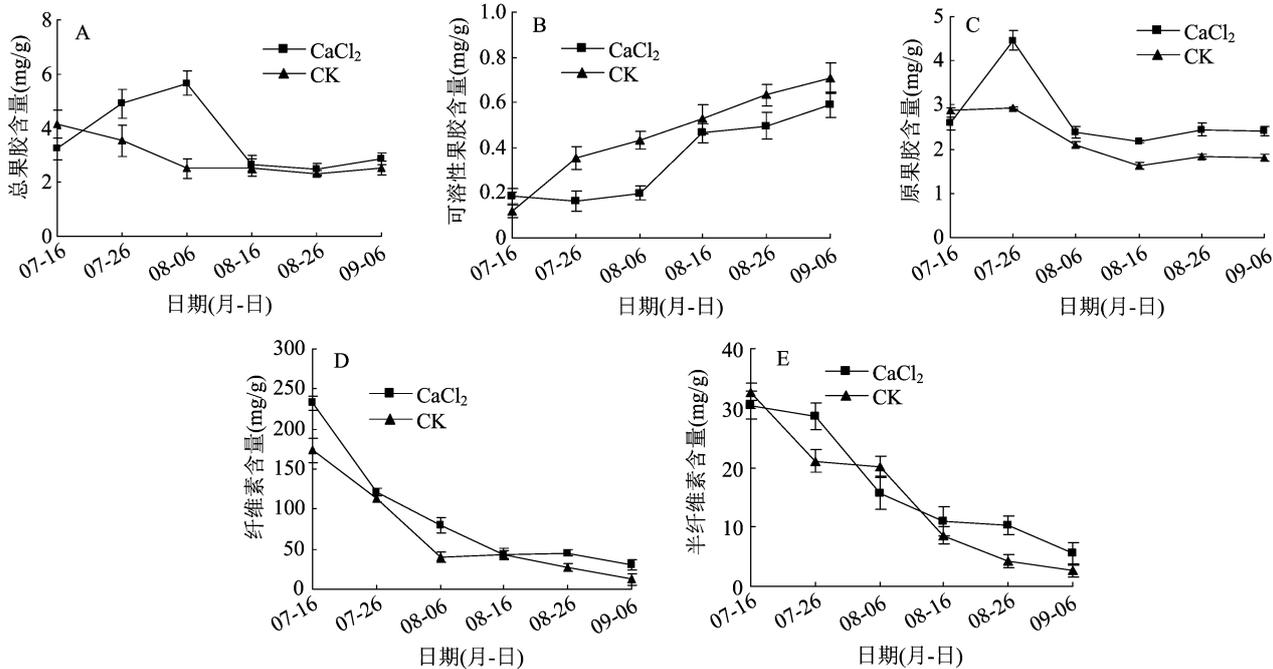


图3 钙处理后巨峰葡萄果实各时期细胞壁成分变化情况

(PL)活性升高,在8月6—26日期间酶活性增长较快,之后PL活性变化趋于平缓。8月16日开始PL活性表现为CaCl₂处理<CK,8月16日与CK差异最大,达27.43%。

由图4-D可知,果胶酯酶(PE)活性变化随果

实成熟呈现波动状态。在8月16日PE活性均达到最高,且CaCl₂处理的PE活性低于CK。

2.5 葡萄裂果各因素相关性分析

巨峰葡萄果实各物质相关性分析(图5)发现,裂果率(FC)与果实多种物质具有相关性,其中与

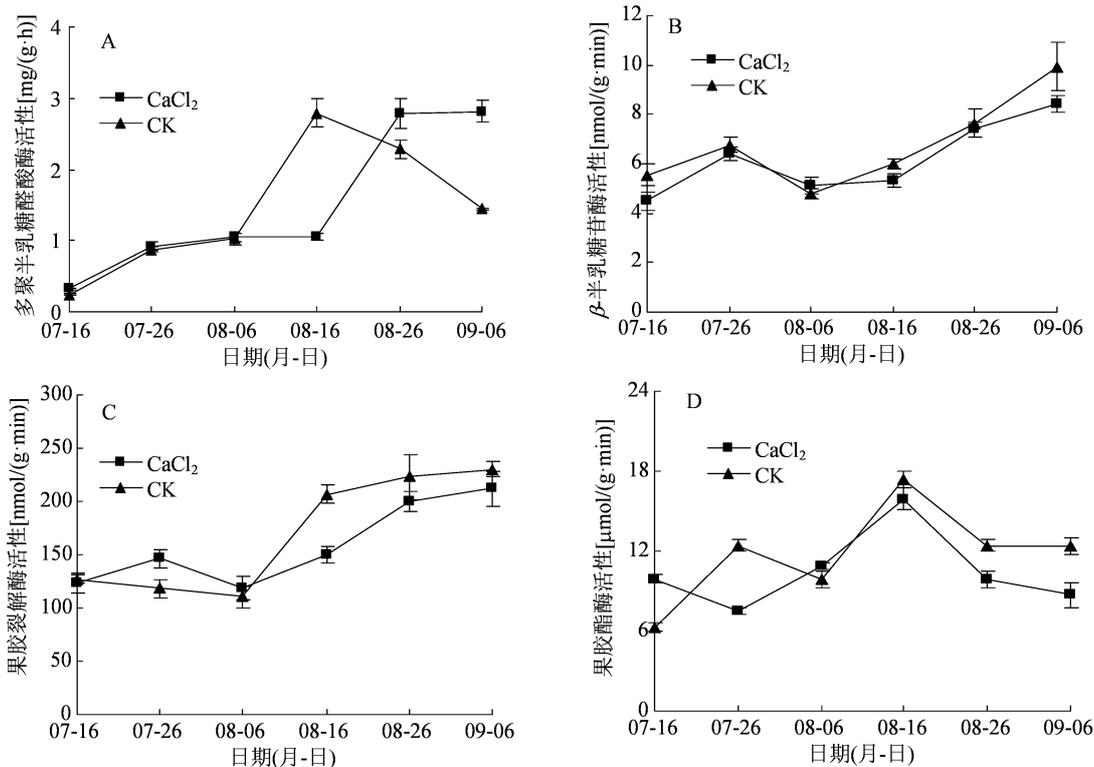


图4 钙处理后巨峰葡萄果实酶活性变化情况

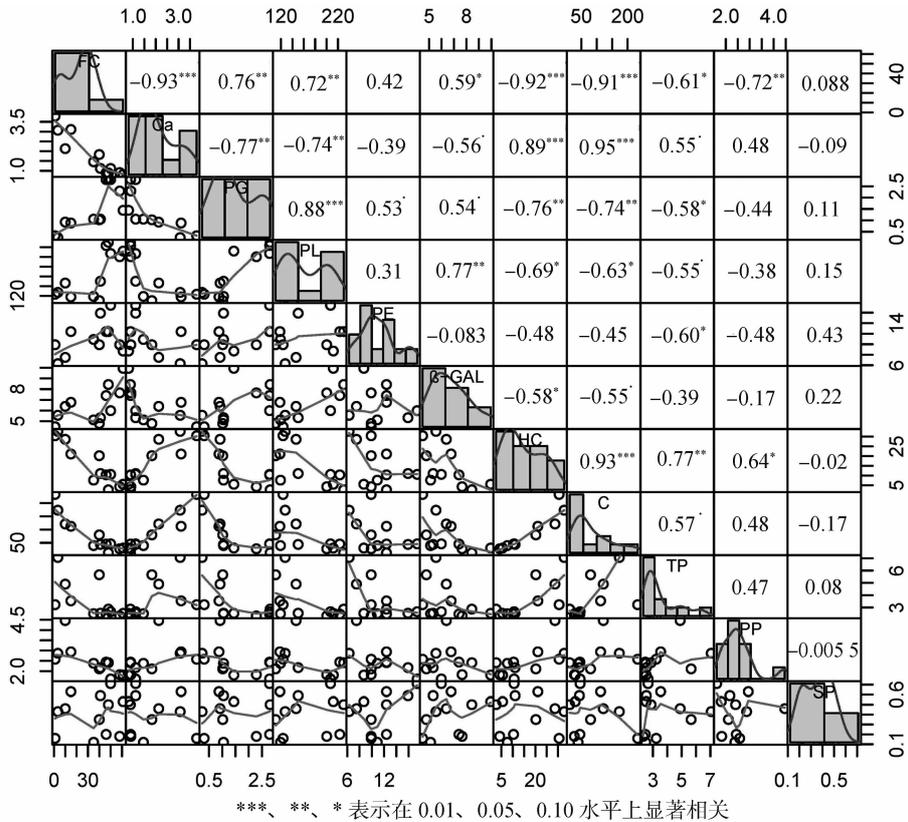


图5 钙处理后巨峰葡萄裂果各因素相关性分析

果实钙、半纤维素和纤维素含量在 0.01 水平呈显著负相关, 相关系数分别为 -0.93 、 -0.92 、 -0.91 ; 与 PG、PL 活性在 0.05 水平上显著正相关, 与原果胶 (PP) 含量显著负相关性, 相关系数分别为 0.76 、 0.72 、 -0.72 ; 总果胶 (TP) 含量在 0.10 水平上显著负相关, 相关系数为 -0.61 。说明果实钙含量越高, 裂果发生越少; 细胞半纤维素、纤维素、原果胶、总果胶含量越高, 或多聚半乳糖醛酸酶、果胶裂解酶活性越低, 果实裂果率越低。果实钙含量与 C、HC 含量在 0.01 水平上显著正相关, 相关系数为 0.95 、 0.89 ; 与 PG、PL 活性在 0.05 水平上显著负相关, 相关系数为 -0.77 、 -0.74 。说明果实钙含量对细胞纤维素、半纤维素含量以及多聚半乳糖醛酸酶、果胶裂解酶活性产生影响。此外, HC 含量与 C 含量、PG 活性与 PL 活性、PG 活性与 β -GAL 活性在 0.01 水平上显著正相关, PL 活性与 β -GAL 活性在 0.05 水平上显著正相关, 相关系数分别为 0.93 、 0.88 、 0.77 。

3 讨论

裂果问题在苹果、梨、枣、樱桃、葡萄等许多果树中均有存在, 裂果不仅影响果实品质, 还会产生

次生病害, 给果农造成严重的经济损失。钙作为植物生长发育的必需元素, 在果实防裂中也发挥着重要作用。有研究发现, 番茄、枣抗裂品种的果实钙含量明显高于易裂品种^[16-17], 而补充外源钙肥可显著减少枣^[18]、枇杷^[19]、锦橙^[20]、樱桃^[21]、杏^[22]的裂果。本试验发现, 巨峰葡萄随着果实成熟, 其裂果率逐渐增加, 但喷施外源钙可大幅降低巨峰葡萄裂果率。这与前人关于钙与裂果关系的研究结论^[6,23]一致。

本试验发现, 喷钙可以大幅增加巨峰葡萄果实钙含量, 延缓果实成熟过程中钙的减少。田慧芳对骏枣喷施钙肥后, 发现其果皮、果肉中钙含量显著增加^[24]; 王引等在枇杷中喷钙使果皮、果肉钙含量分别较对照提高 1.68 、 1.69 倍^[19]。这证实了本研究结果。同时, 本研究经过相关性分析发现, 果实钙含量与裂果率呈极显著负相关, 这表明喷施外源钙可通过增加巨峰葡萄果实钙含量降低葡萄裂果率。

钙作为植物生长发育重要元素, 研究发现其可增加果皮的耐压性和延展性, 提高果实的抗裂性^[25-26], 同时果胶、纤维素作为细胞壁主要组分, 其含量与代谢也会影响果皮机械强度, 进而影响果实

的抗裂性^[27-28]。本研究发现,与对照相比,钙处理后葡萄果实原果胶含量升高,可溶性果胶含量降低。说明喷施外源钙可以提高巨峰葡萄果实细胞壁成分含量,尤其显著提高了原果胶含量,阻止或延缓果胶降解成可溶性果胶。这可能是钙改善巨峰葡萄裂果的重要原因之一。

另外, Ca^{2+} 作为植物细胞的第二信使,可与细胞中的钙调蛋白结合调节酶的活性,参与调控植物的生长发育^[29]。Yu等发现,钙可能通过降低葡萄中ABA含量而降低细胞壁中酶活性^[6,30]。本研究发现,钙处理后葡萄果实多聚半乳糖醛酸酶活性增强得以延后,果胶裂解酶活性降低。多聚半乳糖醛酸酶和果胶裂解酶主要参与细胞果胶的降解^[31]。由此认为,外源钙可通过增加巨峰葡萄果实钙含量,降低果胶相关降解酶活性,达到延缓果胶降解、阻止巨峰葡萄裂果的效果。

裂果是一个复杂的生理过程,钙对裂果各个生理过程的作用是相互影响的^[32]。本研究相关分析进一步证实了巨峰葡萄裂果率、细胞钙含量与总果胶、多聚半乳糖醛酸酶等物质的关系,细胞钙含量增加,提高原果胶、总果胶等含量,降低多聚半乳糖醛酸酶、果胶裂解酶活性,有利于防止巨峰葡萄裂果的发生。同时,本研究发现巨峰葡萄果实细胞各物质、酶之间以及物质与酶之间都存在一定相关性,但其具体的相互影响、调控机制还需要进一步细化研究。

4 结论

本研究发现,喷施外源钙可有效降低巨峰葡萄果实裂果率,其主要作用途径是通过增加巨峰葡萄果实细胞钙含量,提高原果胶含量,使多聚半乳糖醛酸酶活性增强得以延后、果胶裂解酶等果胶降解酶活性降低,阻止或延缓果胶降解为可溶性果胶,从而减少巨峰葡萄的裂果。

参考文献:

- [1] 刘寅婧,于祎飞,刘俊,等. 葡萄产业现状与发展对策研究[J]. 河北林业科技,2019(2):50-56.
- [2] 赵常青,蔡之博,吕冬梅. 现代设施葡萄栽培[M]. 北京:中国农业出版社,2011:4-8.
- [3] 房经贵,章镇,陶建敏,等. 江苏发展葡萄的条件和策略[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2001(3):7-8.
- [4] 任国慧,陶然,文习成,等. 重要果树果实裂果现象及防治措施的研究进展[J]. 植物生理学报,2013,49(4):324-330.
- [5] 马小雪,周晏起. 营口地区巨峰葡萄裂果的原因及预防[J]. 北方果树,2014(3):45.
- [6] Yu J, Zhu M T, Wang M J, et al. Effect of nordihydroguaiaretic acid on grape berry cracking[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 261:108979.
- [7] 王保明,丁改秀,王小原,等. 枣果实裂果的组织结构及水势变化的原因[J]. 中国农业科学,2013,46(21):4558-4568.
- [8] 曹一博,孙帆,刘亚静,等. 枣果实组织结构及果皮中矿质元素含量对裂果的影响[J]. 果树学报,2013,30(4):621-626.
- [9] Bolaños M M, Bolaños L M, Denez A G, et al. Calcium and gibberellic acid in litchi fruits cracking (*Litchi chinensis* Soan.) cultivar Mauritius [J]. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 2017,8(4):837-848.
- [10] 王敏,韩守安,张雯,等. 不同裂性葡萄品种果皮结构及代谢物质差异分析[J]. 新疆农业科学,2022,59(7):1642-1649.
- [11] 王旭梵,樊秀彩,李傲,等. 葡萄品种资源裂果性状调查与分析[J]. 园艺学报,2016,43(11):2099-2108.
- [12] 张伟龙,梁发辉,杨静慧,等. 营养元素与植物生长调节剂对葡萄裂果及果实品质的影响[J]. 北方园艺,2021(5):34-41.
- [13] 龙鹏,段铸轩,朱明涛. 外源钙肥对瑞都早红葡萄裂果和果实品质的影响[J]. 农业科技通讯,2022(4):199-201.
- [14] 鲍士旦. 土壤化学分析[M]. 3版. 北京:中国农业出版社,2000:264-271.
- [15] 曹建康,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,2007:84-155.
- [16] Yang Z, Wu Z, Zhang C, et al. The composition of pericarp, cell aging and changes in water absorption in two tomato genotypes: mechanism, factors, and potential role in fruit cracking [J]. Acta Physiol Plant, 2016, 38(9):215.
- [17] 曹一博,孙帆,刘亚静,等. 枣果实组织结构及果皮中矿质元素含量对裂果的影响[J]. 果树学报,2013,30(4):621-626.
- [18] 杨双双,鲁晓燕,王青凤,等. CaCl_2 浸果对新疆枣裂果率及钙钾镁含量的影响[J]. 西北植物学报,2014,34(4):761-768.
- [19] 王引,倪海枝,颜帮国,等. 白沙枇杷裂果的钙素调控生理研究[J]. 果树学报,2022,39(5):826-835.
- [20] 温明霞,石孝均. 锦橙裂果的钙素营养生理及施钙效果研究[J]. 中国农业科学,2012,45(6):1127-1134.
- [21] 张阁,朱国英,刘成连,等. 甜樱桃果实果肉 Ca^{2+} 质量浓度变化规律及其与裂果的关系[J]. 果树学报,2008,25(5):646-649.
- [22] 刘铁铮,赵习平,付雅丽,等. 外源钙对杏果实裂果的影响研究[J]. 华北农学报,2009,24(增刊2):187-189.
- [23] Viviana M, Ana G, Ana T, et al. Vineyard calcium sprays induce changes in grape berry skin, firmness, cell wall composition and expression of cell wall-related genes [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 150:49-55.
- [24] 田慧芳. 不同钙制剂对骏枣裂果生理生化的影响[D]. 太谷:山西农业大学,2015:14-18.
- [25] 刘英翠. 钙与裂果相关性研究进展[J]. 山西林业科技,2008(3):31-33.

姚悦梅,任杰,刘传宏,等. 组蛋白去乙酰化抑制剂诱导羽衣甘蓝小孢子胚状体发生和植株再生[J]. 江苏农业科学,2024,52(4):168-173.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.04.025

组蛋白去乙酰化抑制剂诱导羽衣甘蓝小孢子胚状体发生和植株再生

姚悦梅¹,任杰²,刘传宏²,山溪¹,张振超¹,戴忠良¹

(1. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所,江苏句容 212400; 2. 沈阳农业大学,辽宁沈阳 110866)

摘要:羽衣甘蓝是2年生植物,2年完成1个有性生殖世代,游离小孢子培养是加快其纯合化的有效途径。但是由于羽衣甘蓝小孢子培养的诱胚率低,使其难以育种应用。组蛋白乙酰化是一种重要的表观遗传学机制,影响小孢子发育途径,促进小孢子胚状体发生。本研究分别用不同浓度的组蛋白去乙酰化抑制剂辛二酰苯胺异羟肟酸和曲古菌素A处理羽衣甘蓝红斑点的小孢子,以诱导胚状体发生。结果表明,辛二酰苯胺异羟肟酸浓度为0.075 μmol/L时,红斑点获得最多胚状体,为每个花蕾获得20.24个胚状体,同时直接成苗率也达到最高,为16.07%。曲古菌素A浓度为0~0.150 μmol/L时,红斑点的胚状体发生率和直接成苗率都降低。适当浓度的辛二酰苯胺异羟肟酸可以促进羽衣甘蓝红斑点小孢子胚状体发生和直接成苗率,而0~0.150 μmol/L曲古菌素A对羽衣甘蓝红斑点胚状体的发生和直接成苗率有抑制作用。

关键词:羽衣甘蓝;小孢子培养;组蛋白去乙酰化抑制剂;胚状体发生

中图分类号:S635.904 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)04-0168-06

羽衣甘蓝叶片层次丰富,株型紧凑,被誉为观叶植物中的牡丹花,可直接用于瓶插和盆景。观赏时间长且心叶色鲜艳,秋冬季节被广泛应用于景观美化。栽培观赏期有3~4个月。羽衣甘蓝为绿色春化植物,杂合基因型材料需要6~8年才能培育出可用于商业种子生产的纯合自交系。因此,加速育种材料的纯合化具有重要的商业意义。

游离小孢子培养是利用细胞全能性和培养单倍体小孢子从而获得再生植株,可以缩短获得纯合株系的时间^[1]。自Lighter在1989年首次通过羽衣甘蓝小孢子培养成功获得再生植物以来,这项技术一直在不断改进、发展并应用于许多十字花科植物^[2]。羽衣甘蓝的小孢子培养体系也得到了改进和优化^[3-11]。影响小孢子胚状体发生的因素有很多,包括供体植物的基因型、生长状态、培养基、小孢子活力、激素处理和培养环境等^[12]。植物生长调节剂可以促进小孢子胚状体发生,例如2,4-表油菜素内酯、脱落酸、水杨酸和茉莉酸、谷胱甘肽和α-生育酚^[7,13-14]。Lighter发现,在培养基中添加6-苄基氨基嘌呤和萘乙酸可以提高甘蓝小孢子胚状体发生率^[2]。Feng等在2009年对白菜的研究中

收稿日期:2023-03-30

基金项目:江苏省重点研发(现代农业)计划(编号:BE2021376)。

作者简介:姚悦梅(1974—),女,新疆河子人,研究员,从事羽衣甘蓝种质创新利用与栽培技术研究。E-mail:1045714975@qq.com。

通信作者:戴忠良,硕士,研究员,从事甘蓝类蔬菜遗传育种研究。E-mail:daizhongliang2008@126.com。

[26]谢玉明,易干军,张秋明. 钙在果树生理代谢中的作用[J]. 果树学报,2003,20(5):369-373.

[27]Brummell D A. Cell wall disassembly in ripening fruit[J]. Functional Plant Biology,2006,33(2):103-119.

[28]Jiang F L,Lopez A,Jeon S,et al. Disassembly of the fruit cell wall by the ripening-associated polygalacturonase and expansin influences tomato cracking[J]. Horticulture Research,2019,6(17):1-15.

[29]陈硕,陈珈. 植物中钙依赖蛋白激酶(CDPKs)的结构与功

能[J]. 植物学通报,2001(2):143-148.

[30]Zhu M T,Yu J,Zhao M,et al. Transcriptome analysis of metabolisms related to fruit cracking during ripening of a cracking-susceptible grape berry cv. Xiangfei (*Vitis vinifera* L.)[J]. Genes & Genomics,2020,42(6):639-650.

[31]周宏伟,吴耕西. 长把梨贮藏中多聚半乳糖醛酸酶与果胶甲酯酶的作用[J]. 山东农业大学学报,1992,23(1):67-70.

[32]马雯彦,庞晓明,续九如,等. 果实裂果影响因子研究进展[J]. 华中农业大学学报,2010,29(6):798-804.