

葡萄抗寒性研究概况

熊 燕, 张万民

(新疆塔里木大学植物科技学院, 阿拉尔 843300)

摘 要: 低温胁迫给葡萄生产带来诸多不便。对葡萄抗寒性及其形态解剖、质膜透性、生理生化、抗寒鉴定等方面进行了综述。实践中, 在综合使用上述若干种方法的同时, 辅以田间调查鉴定, 可更好地获得葡萄的抗寒性。

关键词: 葡萄; 抗寒性

中图分类号: S 633.1 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-0009(2007)06-0069-03

抗寒性是指植物越冬期间对零下温度的忍耐力^[1]。在诸多植物逆境中以低温胁迫对植物的危害种类最多, 面积最大。长期以来, 人们对寒害的机理及抗寒理论进行了多方面的研究。葡萄的栽培面积及产量均居世界前列, 但其主要栽培品种抗寒性差, 在最低温度低于-15℃的地区即需埋土防寒越冬, 给葡萄生产带来诸多不便。因此进行葡萄抗寒性研究具有重要的理论意义和实践价值。前人就葡萄抗寒性及其形态解剖、质膜透

性、生理生化、抗寒鉴定等方面进行了研究, 现分述如下。

1 葡萄抗寒性形态解剖指标的研究

萌芽率、主蔓死亡率是衡量葡萄枝芽经防寒越冬是否发生冻害及冻害轻重的重要指标^[2]。树体的不同部位也存在着抗寒力的差异。据资料记载, 一般欧洲品种的充实芽眼能忍受-18℃~-20℃的低温, 成熟枝条能忍受-22℃的低温, 多年生老蔓能忍受-20℃~-26℃的低温, 由此可见芽眼的抗寒力低于枝条。所以, 在调查中出现有枝条组织鲜绿, 伤流正常而芽眼冻死的情况; 还有一年生新梢冻死而多年生老蔓的隐芽可以萌发的现象^[3]。

王丽雪等(1994)以显微化学观察表明, 抗寒强的葡萄种类(如山葡萄、贝达)其枝条木栓层厚, 细胞层数多, 木栓化程度高^[4]。应用石蜡切片技术和电镜技术对不同种类品种葡萄根系的组织解剖结构观察显示, 抗寒种类品种组织结构比较紧密, 导管小而密度低(山葡萄的导管直径是 43.4μm, 密度为 29.6 个/mm², 而玫瑰香则为 71.6μm 和 63.1 个/mm²); 射线发达(山葡萄及欧美杂交种每横断面有 16~18 条射线, 龙眼和玫瑰香为 8~12 条); 根皮率低(山葡萄根皮率是 40%, 玫瑰香则为 63.1%)^[5]。对一年生枝蔓的组织结构观察结果与根系的规律相似, 且表现更加明显^[6]。郭修武亦认为可将葡萄根系皮层与射线细胞大小、组织紧密度及皮层和木质部所占比率作为抗寒鉴定的形态结构指标^[7]。也有学者以葡萄一年生枝条次生木质部的褐变面积大小进行冻害分级^[8]。叶片组织结构与葡萄种类品种的抗寒性没有明显的相关性^[9, 9]。

第一作者简介: 熊燕(1970-), 女, 硕士, 讲师, 从事果树种质资源及其遗传育种研究, E-mail: xyzkytd@163.com。

收稿日期: 2007-02-12

[23] 朱靖杰, 张桂和, 赵叶鸿. 黄花菜的离体培养中胚状体的发生和再生苗植株形成的研究[J]. 湖南大学学报(自然科学版), 1996, 12(4): 321-324.

[24] 李登均, 韩睿. 黄花菜优良品种快速扩繁技术[J]. 北方园艺, 2005(5): 28.

[25] 孙月剑, 车冬梅. 欧洲矮化大花萱草组织培养的研究[J]. 大连民族学院学报, 2006, 32(3): 44-46.

[26] 孔刚, 施冰, 相连宏. 大花萱草的组织培养[J]. 国土与自然资源研究, 2001(3): 79-80.

[27] 吴铁明, 于晓英, 冯爽英, 等. 野生重瓣大花萱草的选育II组织培养快速繁殖[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(4): 305-307.

[28] 王晓娟, 金梁, 沈延松, 等. 萱草(Hemerocallis hybrida)再生植株过程中根的诱导[J]. 复旦学报(自然科学版), 2002, 41(1): 89-91, 96.

[29] 施冰, 刘晓东, 李义. 大花萱草不同发育阶段矿质营养及水分含量的动态研究[J]. 东北林业大学学报, 2000, 29: 113-116.

[30] 郭国平, 施兰恩, 南中益. 黄花菜施钾效果研究[J]. 土壤肥料, 2002(4): 46-47.

[31] 孙楠, 曾希柏, 高菊生, 等. 含镁复合肥对黄花菜生长及土壤养分含量的影响[J]. 中国农业科学, 2006, 39(1): 95-101.

[32] 刘明财, 崔凯峰, 郑明艳. 长白山野生观赏植物引种与栽培试验[J]. 东北林业大学学报, 2004, 24(4): 22-27.

[33] 金立敏, 蔡曾煜, 姚昆德. 20种常绿地被植物在苏州地区的引种栽培观察[J]. 江苏农业科学, 2006(1): 87-89.

[34] 王玉堂. 黄花菜常见病害的发生与防治[J]. 特种经济动植物, 2005(7): 42.

[35] 李钧. 黄花菜锈病的综合防治技术[J]. 湖南农业科学, 2005, (4): 66-66.

[36] 李建军. 出口黄花菜高效栽培技术[J]. 中国蔬菜, 2005(4): 45-46.

[37] 杜娥, 张志国, 马力. 大花萱草化学除草试验[J]. 农药, 2005, 44(7): 328-330.

[38] 杜娥, 张志国. 芽后型除草剂防除大花萱草田杂草试验[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(10): 149-152.

[39] 刘永庆, 沈美娟. 黄花菜品种资源研究[J]. 园艺学报, 1990, 17(1): 45-50.

[40] 王强, 杨竞雄. 萱草根中总蒽醌及大黄酚的含量测定[J]. 中草药, 1990, 21(1): 12-13, 47.

[41] Stephan S, Alexander FW, Von Broke et al. Workup-dependant formation of 5-lipoxygenase inhibitory boswellic acid analogues[J]. J Nat Prod, 2000, 63(8): 1058-1061.

[42] 葛滢, 王晓月, 常杰. 不同程度富营养化水中植物净化能力比较研究[J]. 环境科学学报, 1999, 19(6): 690-692.

2 质膜透性与品种抗寒性的关系

研究表明,经低温处理后葡萄枝条质膜透性发生了变化,其抗寒性强弱,基本上与其质膜透性的大小负相关。各种类品种的相对电导率都随温度的下降而明显上升,但抗寒力低的玫瑰香上升幅度远大于抗寒力强的种类,而以山葡萄上升最少。根据各品种的抗寒力,在一定范围内,电导率的升高是可逆的,即随温度升高而降低。但当质膜严重破坏时,则细胞死亡,电导率不可逆转而紊乱。每一品种的相对电导率变化曲线都有一个明显的跃升阶段^[9],曲线跃升区间的中点所对应的温度与田间观察到的冻害温度相似。如玫瑰香在 -16°C 左右,贝达、北醇在 -25°C 左右,山葡萄在 -35°C 左右即发生冻害。

3 低温胁迫对细胞亚显微结构的影响

透射电镜观察表明,随着秋季温度的降低,山葡萄叶片细胞中叶绿体相互聚集,片层结构稳定,内部淀粉粒减少且脂滴增加,液泡膜内陷形成一些吞噬泡;玫瑰香叶绿体中的淀粉粒亦减少,但片层结构清晰度明显下降,未见叶绿体聚集和吞噬泡的形成^[10]。在 $2^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫条件下,山葡萄叶绿体稳定性强,片层结构完好无损,线粒体和细胞核未发生明显变化;而玫瑰香叶绿体膨胀,片层结构排列方向改变,但被膜仍保持完整,生长明显减弱^[11]。低温条件下山葡萄叶绿体的适应性变化,有利于维持正常的结构与功能。液泡中吞噬泡的形成,有利于停止细胞分裂,促进抗寒锻炼,对形成抗寒力具有积极的作用。

在 $2^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫条件下,玫瑰香根系细胞中线粒体内嵴受到一定程度的破坏,有的已解体,细胞质内产生大量空泡,粗面内质网上的核糖体脱落,细胞核无明显变化;山葡萄膜系统及细胞器仍保持完整^[11]。观察结果说明,根系在外部形态表现受害前细胞内部亚显微结构已产生了明显的变化。在 -5°C 低温条件下,玫瑰香根系冻害严重,细胞解体,膜结构破坏,线粒体空泡化;山葡萄仍保持原有结构,但出现质膜内陷,线粒体增多等适应性变化^[12]。

4 抗寒锻炼过程中过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)的适应性变化

对葡萄不同种类品种,不同季节及人工锻炼后过氧化物酶(POD)活性及同功酶谱研究表明,在抗寒锻炼过程中,随着秋季温度的降低,POD活性逐渐提高,仲冬时达到最大值,抗寒种类提高幅度大,韧皮部酶活性高于木质部,且稳定性强^[13]。同时发现POD同功酶具有典型的多态性,深冬时抗寒品种比不抗寒品种多1~2条同功酶带。自然和人工低温锻炼后,酶谱第II区小分子

酶带数增加,活性增强^[14]。低温锻炼期间酶活性的变化,反映了酶结构和特性上的改变,从非活性形式到活性形式或有新酶的合成,从而引起细胞膜特性与功能的相应变化。

对9种抗寒力不同的葡萄研究表明,超氧化物歧化酶(SOD)普遍存在于葡萄中,在生长季各种类品种间SOD同功酶谱带基本相同,随着秋季气温降低和日照时数缩短,酶活性增强,抗寒种类品种谱带数增加较多。嫁接苗谱带变化与接穗自根苗基本相同^[15]。说明一定的低温有助于SOD同功酶活性的提高和谱带增多,这种适应性变化与葡萄抗寒锻炼过程中抗寒力的提高密切相关。

5 抗寒锻炼过程中营养物质的变化特性

研究表明,越是抗寒的葡萄种类或植株,其淀粉、还原糖、蛋白质在生长季积累较早而多^[4,13,16],这些物质的积累对抗寒力的提高具有重要作用。抗寒种类枝条在越冬期内,脂类物质含量高,其膜脂肪酸不饱和度随着气温的降低而升高,且与品种抗寒性呈正相关^[4]。葡萄枝条内总氨基酸含量与电解质渗出率呈显著性相关。此外,游离脯氨酸含量可作为冷冻锻炼的指标^[17,18]。

6 葡萄抗寒性鉴定方法的研究

人们在对植物抗寒机理进行广泛研究的同时,对抗寒性鉴定方法也进行了多方面的探索。抗寒性测定方法的研究在很大程度上取决于对抗寒机理的研究和认识,而研究抗寒性机理则又要借助有效的抗寒性鉴定方法。

植物生理学家及育种学家经过长期不懈努力,已提出了不少的抗寒性鉴定方法,这些方法大致可分为田间自然鉴定与人工鉴定两大类。

田间自然鉴定是最先在抗寒性研究工作中采用的方法。它是将研究植物的种类暴露在自然条件下,经过冬季低温后,调查植株存活状况,从而估计其抗寒性。当冻害发生时,人们常用此方法调查田间不同树种的受冻情况。

杨晶辉(1985)按田间葡萄冻害的不同程度规定了0~5级的标准^[3]:0级:生长正常,无冻害;1级:萌芽正常,2%~5%的枝条芽眼有冻害;2级:植株上50%以上的一年生枝条发芽正常,有25%~30%的一年生枝条芽眼冻死;3级:一年生枝条上的芽眼不萌发,二年生枝条上的隐芽萌发旺盛;4级:一年生枝条上的芽眼不萌发,二年生枝条上的隐芽虽萌发,但生长不旺盛;5级:整株枝蔓冻死。

抗寒性的田间自然鉴定具有真实、可靠的优点,但需时长,只有在冻害大发生的年份才能获得真实的抗寒性表现。因此,为了有效地鉴定葡萄种质资源及品种的抗寒性,随之产生了人工鉴定方法。人工鉴定方法在葡

萄上主要有以下几种:a.生长法:是鉴定植物抗寒性的一种传统方法。即将葡萄枝条离体冷冻后,统计其萌芽率(萌芽总数/调查芽眼数),以估算抗寒力大小,但此法较费时。b.电导法:此法由 Heald(1902)首创, Dexter(1932)将其应用于测定植物的抗冻性。一些学者分别以葡萄一年生枝、当年成熟葡萄根段为试材,并以电解质外渗百分率(直接电导率/煮沸电导率)作为其冻害伤害率^[7,8,19]。此法也应用于枇杷、苹果、梨、甜橙等果树的抗寒性研究。c.组织褐变法:将在沙藏条件下(8℃)放置20d的冷冻枝条,在解剖显微镜下观察一年生枝条木质部变褐面积,采用十级分级制对冻害进行分级,以冻害指数进行量度^[8]。d.TTC还原法:这种方法是藉红色深浅代表组织活力,实质上是检测与膜系统损伤有关的代谢反应,测试时只需极少量材料,因而可在植物上精确定位冻害部位。在探索耐寒机理方面有其独到的灵敏性^[19]。e.利用悬浮培养和TTC分析法:张明鹏进行葡萄细胞抗寒性筛选的研究表明,3个供试品种,未经低温筛选的细胞低温致死温度为-3℃左右。经-3℃~-7℃人工低温分级筛选,可以筛选出低温致死温度在-5℃、-6℃和-7℃左右的抗寒细胞系。在-3℃~-7℃范围内,筛选温度越低,所获抗寒细胞系的抗寒性越强,其低温致死温度也越低。当筛选温度下降至-8℃时,3个供试品种的细胞残存量都极微,没有筛选出抗寒细胞系^[20]。f.差热分析法:Quamme(1991)在研究许多落叶果树(苹果、杏、黑莓、越桔、樱桃、葡萄、桃树、梨、李、树莓)的深过冷现象时发现,低温散热(LTE)可被差热分析(DTA)检测^[21]。许多树种的木质部和休眠芽的抗寒性可被DTA法检测出。如Wolf和Cook(1994)用DTA法测试葡萄休眠芽抗寒性,并与田间葡萄芽的冻害情况(外界气温为-24℃)相比较后发现,9个葡萄品种中的7个用DTA法测试与田间鉴定结果相吻合^[22]。Bourne(1991)及Lipe(1992)也采用DTA法研究了葡萄芽的抗寒性^[23,24]。

此外,也有学者采用组织细胞结构观察法、生理指标测定法、显微化学观察法、扫描电镜观察法及电阻法等抗寒性鉴定的不同方法研究葡萄的抗寒性^[25,7,11,17,4,18]。实践中,在综合使用上述若干种方法的同时,并辅以田间调查鉴定,可更好地获得葡萄的抗寒性。

参考文献

[1] 荆家海.植物生理学[M].陕西科学技术出版社,1994.
[2] 刘效义,张亚芳.葡萄枝芽冻害及保护技术[J].北方园艺,1997,117(6):24-26.
[3] 杨晶辉.葡萄不同种群、品种及树体情况与冻害关系[J].葡萄栽培与酿酒,1995,(1):9-14.
[4] 王丽雪,李荣富,马兰青等.葡萄枝条中淀粉、还原糖及脂类物质变

化与抗寒性的关系[J].内蒙古农牧学院学报,1994,15(4):1-7.
[5] Wang Lixue, Li Lianguo, Zhang Hua. The uses and studies on anti-cold grapes species resources. In: Chinese society for Horticultural Sciences. International symposium on horticultural germplasm cultivated and wild[M]. International Academic Publishers, Beijing, China, 1998: 96.
[6] 李晓燕,李连国,王丽雪.葡萄不同种类品种组织解剖构造观察[A].中国科协第二届青年学术年会园艺学论文集[C].北京农业大学出版社,1995:238-340.
[7] 郭修武,傅望衡,王光洁.葡萄根系抗寒性的研究[J].园艺学报,1989,16(1):17-22.
[8] 贺普超,牛立新.我国葡萄属野生种抗寒性的研究[J].园艺学报,1989,16(2):81-88.
[9] 李荣富,王丽雪,张华.果树抗寒性的细胞生物学研究进展[J].北京农学院学报,1997,11(2):79-84.
[10] 李荣富,王丽雪,张福仁等.葡萄落叶前叶片细胞亚显微结构的变化[J].内蒙古农牧学院学报,1997,18(3):21-24.
[11] 李荣富,王丽雪.低温胁迫对葡萄叶片及根系细胞亚显微结构的影响[J].华北农学报,1996,11(4):109-113.
[12] 王丽雪,梁艳荣,张福仁等.低温冻害对葡萄根系细胞亚显微结构的影响[J].内蒙古农业科技,1997,园艺专辑:22-23.
[13] 王丽雪,李荣富,马立青.葡萄枝条中蛋白质、过氧化物酶活性变化与抗寒性的关系[J].内蒙古农牧学院学报,1996,17(1):45-50.
[14] 李连国,王丽雪,李晓燕.葡萄抗寒性与过氧化物酶同工酶多态性关系的研究[A].内蒙科协首届青年学术年会论文集[C].内蒙古人民出版社,1995,334-337.
[15] 刘隽宁,莫力更,孙庆林.不同葡萄种、品种间超氧化物歧化酶同工酶的差异与抗寒力的关系[J].内蒙古农牧学院学报,1990,11(2):139-145.
[16] Hamman R A, Dami I E, Walsh T M and Stushnoff C. Seasonal carbohydrate changes and cold hardiness of Chardonnay and Riesling grapevines. Am. J. Enol. Vitic. 1996, 47:31-36.
[17] 莫力根,刘隽宁,孙庆林.不同抗寒品种葡萄叶片中氨基酸累积的差异[J].内蒙古农牧学院学报,1992,13(2):8-12.
[18] 王淑杰,王家民,李亚东等.氨基酸种类、含量与葡萄抗寒性关系的研究[J].葡萄栽培与酿酒,1998,(1):3-5.
[19] 何若锡,王光洁.葡萄根耐寒力生理指标检测探讨[J].沈阳农学院学报,1983,(2):31-39.
[20] 张明鹏, Rajashekar, C. B. 利用悬浮培养进行葡萄细胞抗寒性筛选的研究[J].园艺学报,1992,19(2):135-139.
[21] Quamme H A. Application of thermal analysis to breeding fruit crops for increased cold hardiness. Hortscience, 1991, 26:513-517.
[22] Wolf T K and Cook M K. Cold hardiness of dormant buds of grape cultivars; comparison of thermal analysis and field survival[J]. Hort Science, 1994, 29:1453-1455.
[23] Boume T F, Moore J N, George M F. Primary bud hardiness of four genotypes of grapes in Arkansas[J]. J-Am-Soc-Hortic-Sci, 1991, 116(5):835-837.
[24] Lipe W N, Baumhardt L, Wendt C W, Rayburn D J. Differential thermal analysis of deacidimating Chardonnay and Cabernet Sauvignon grape buds as affected by evaporative cooling[J]. American journal of enology and viticulture(USA), 1992, 43(4):355-361.
[25] 晁无疾,张远纪.电阻法速测葡萄抗寒性的研究[J].葡萄栽培与酿酒,1987,(3):1-4.