

山葡萄种质资源枝条的低温半致死温度研究

何 伟, 艾 军, 杨 义 明, 范 书 田, 王 振 兴

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 长春 130112)

摘 要:以山葡萄种质资源的成熟 1 年生休眠枝条为试材,测定了不同梯度低温处理下电导率的变化,采用相对电导率拟合 Logistic 方程,计算低温半致死温度(LT_{50}),鉴定不同山葡萄种质资源的抗寒性。结果表明:用 Logistic 方程进行拟合后,拟合度高,所求低温半致死温度准确可信,可作为山葡萄抗寒性鉴定指标;试验的 9 份山葡萄种质资源间抗寒性存在一定差异,低温半致死温度范围为 $-31.98\sim-39.41^{\circ}\text{C}$,种质资源的抗寒性与枝条成熟度无明显相关性。

关键词:山葡萄;抗寒性;成熟度;Logistic 方程;低温半致死温度

中图分类号:S 663.102.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)21-0019-04

山葡萄(*Vitis amurens* Rupr.)为原产于我国东北、朝鲜半岛及俄罗斯远东地区的野生果树,是葡萄属中最

抗寒种之一,在 -40°C 的条件下不经防寒仍可安全越冬,并且对白粉病、白腐病和黑痘病等多种真菌性病害具有较强抗性,是葡萄抗寒、抗病育种的重要资源。以山葡萄为原料生产的葡萄酒颜色鲜艳,口感醇厚,风味独特,是独具中国特色的葡萄酒种类之一。中国农业科学院特产研究所建有国家果树种质山葡萄圃,收集保存山葡萄种质资源 400 余份,并通过实生选种和杂交育种等手段选育出抗寒、优质山葡萄品种逾 10 种,促进了山葡萄产业的发展。对山葡萄种质资源开展深入系统的抗寒性评价,对于进一步深入发掘山葡萄抗寒性种质资

第一作者简介:何伟(1990-),男,硕士研究生,研究方向为山葡萄种质资源的抗寒性评价。

责任作者:艾军(1968-),男,研究员,现主要从事山葡萄和五味子等特种经济果树(药用植物)资源收集与评价及利用等研究工作。
E-mail:aijun1005@163.com

基金项目:农业部物种保护资助项目(2014NWB041);农业部、财政部国家山葡萄种质资源平台资助项目(2013058)。

收稿日期:2014-07-21

Effect of Inclined Sort Long Stem Form Shaping on the Fruitage Characteristics and Tree Nutrition in 'Red Globe' Grapes

HE Juan¹, WANG Ping², DUAN Chang-qing³, GUAN Xue-qiang⁴, LEI Yu-juan¹, WU Min¹

(1. Agricultural Science Research Institute of the 6th Division, Wujiaqu, Xinjiang 831300; 2. Grape Industry Office of the 6th Division, Wujiaqu, Xinjiang 831300; 3. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083; 4. Grape and Wine Engineering Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, Shandong 250100)

Abstract: Taking 'Red Globe' grape as test material which based on the folding scaffold tree posture under inclined sort long stem form, in order to learn the plant development and fruit quality. The results showed that the position of fruit set was rise up, the fruit set was under a horizontal line, the difficulty of management was reduced, and the fruit quality was guaranteed under the inclined sort long stem format shaping. And it was helpful to control the production, increase the rate of commodity fruit, made mature period about early 10—15 days and fruit mature period more consistent. Compared with traditional folding scaffold, the fruit soluble solids increased by 28.8%, fruit hardness increased by 6.6%, the pith width ratio of branches declined, branches soluble sugar and starch content increased. The problem of plant base sprained or broken during the winter buried under soil and spring unearthed on process were solved under inclined sort long stem format shaping too. It was suitable for intensive and scale planting of the late-maturing red varieties such as 'Red Globe'.

Keywords: inclined sort long stem form; trimming and pruning; 'Red Globe' grape; fruitage characteristics; tree nutrition

源,提高葡萄抗寒育种效率具有参考意义。

植物低温半致死温度,是指植物最适生长温度以下,植物达到半致死状态时的低温,当温度继续降低时,植物将会受到不可逆伤害,甚至死亡。长期以来,植物组织低温半致死温度的确定在评价植物抗寒性的理论研究和实践运用中都很重要。Sukumaran 等^[1]在对马铃薯的研究中,提出以电解质渗透率达 50% 时的温度作为半致死温度(LT₅₀)。但在实际运用中存在着极大的误差,使半致死温度有时会与电解质渗透率达 50% 时的温度不一致。朱根海等^[2]经多年试验和验证,认为以电导法配以 Logistic 方程中的拐点温度确定植物低温半致死温度更为准确。在罗正荣等^[3]对柑桔抗寒性的研究中表明,细胞电解质外渗率配合 Logistic 方程,二者具有很好的拟合度。刘冰等^[4]用 Logistic 方程建立回归模型,相关系数介于 0.9541~0.9902 之间,确定了 3 个花椒品种的低温半致死温度,结果十分可靠。此外,以相对电导率配合 Logistic 方程确定植物半致死温度,也已在滨藜^[5]、桉树^[6]、橡胶树^[7]、枣^[8]、鲜食葡萄^[9]等多种植物上取得良好的效果,但关于确定山葡萄低温半致死温度的研究却鲜有报道。

该试验以国家果树种质山葡萄圃中的 9 份山葡萄种质资源 1 年生休眠期枝条为试材,采用人工冷冻法处理后,测定其相对电导率,旨在探讨相对电导率变化与低温胁迫之间的关系,并拟合 Logistic 方程确定各个品系的低温半致死温度,以期为山葡萄种质资源抗寒性鉴定、杂交育种的早期抗寒筛选及引种栽培等提供参考依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为休眠期的山葡萄枝条,取自国家果树种质左家山葡萄圃的 9 份山葡萄种质资源,分别为‘左山-1’,‘043’,‘92’,‘75042’,‘75047’,‘73122’,‘8558823’,‘73135’和‘双红’。

1.2 试验方法

1.2.1 枝条成熟度调查 参照朱运钦等^[10]方法,调查各品系 1 年生枝条的成熟度,枝条成熟度(%)=1 年生枝条成熟节位数/该枝条总节位数×100%,并随机选取 20 根枝条,用游标卡尺测量其基部腹面直径。

1.2.2 枝条低温处理 剪取带有 2~3 个芽的成熟枝段,依次用自来水、蒸馏水和去离子水冲洗干净,晾干后,用石蜡将枝条两端封住,保存于-16℃冰箱中;使用 GDJW-225 型高低温交变试验箱对枝条进行低温处理,处理温度分别为-20、-24、-28、-32、-36、-40、-44℃。以 4.0℃/h 的速度升降温,到设定温度后保持 12 h,温度回升至室温后,取出静置 2 h 后再进行电导率

测定。以-16℃保存的枝段为对照,每个处理随机抽取 3~4 个不同枝段做重复。

1.2.3 相对电导率测定 取不同种质资源低温处理后枝条,去除表皮,避开芽眼,剪成 2~3 mm 的薄片,混合均匀,称取 1 g 放入 50 mL 刻度离心管中,每个处理重复 3 次。加 20 mL 去离子水,抽气 40 min 后,摇匀,测定其初电导值 R₁(电导仪型号 DDS-308A),再将试管置于水浴锅中,沸水浴 60 min(封口),之后室温下静置 5 h,再测其终电导值 R₂。以去离子水的电导率 L 为对照,用该公式计算相对电导率:相对电导率(%)=(R₁-L)/(R₂-L)×100%。

1.2.4 低温半致死温度的测定 相对电导率拟合 Logistic 回归方程为: $y = K / (1 + ae^{-bx})$ 。其中 y 为相对电导率, x 为处理温度, K 为相对电导率饱和值, a、b 为方程参数。若拟合度(R²)显著时,再计算 LT₅₀,具体参照莫惠栋^[11]的方法。

2 结果与分析

2.1 山葡萄各种质资源枝条成熟程度比较

由表 1 可以看出,山葡萄各种质间枝条成熟度存在差异,其中‘73122’和‘73135’成熟度达 90% 以上,显著(P<0.05)高于其它种质枝条的成熟度,‘75047’成熟度最小,为 72.56%,显著低于其它种质枝条的成熟度。各种质间枝条成熟度由高到低依次为:‘73122’>‘73135’>‘043’>‘92’>‘75042’>‘左山-1’>‘8558823’>‘双红’>‘75047’。而山葡萄各种质间枝条直径也存在差异,其中‘75042’和‘75047’的直径最小,‘92’的最大,其它种质间则差异不显著。综合得出,‘75047’的成熟程度最差,‘73122’和‘73135’的成熟程度最好,其它种质枝条成熟程度较好。

表 1 9 份山葡萄种质资源枝条成熟度

Table 1 The maturity of nine germplasm resources of *Vitis amurensis* branches

品系	成熟度	直径
Strain	Maturity/%	Stem diameter/mm
‘双红’	75.05±8.98de	5.95±0.35b
‘73122’	97.93±4.00a	6.28±0.49b
‘73135’	94.11±6.77a	5.96±0.44b
‘75042’	81.24±13.21bcd	5.50±0.59c
‘左山-1’	78.61±12.52bcde	6.10±0.31b
‘75047’	72.56±13.94e	5.52±0.40c
‘043’	85.00±15.24b	5.99±0.49b
‘8558823’	75.82±6.87cde	6.01±0.55b
‘92’	83.14±8.65bc	6.62±0.96a

注:数据测定为平均值±标准误差,不同字母代表同列数据的检验结果显著(P<0.05)。

Note: Data in same column represent mean ± SE, different letters show significant difference (P<0.05).

2.2 处理温度与山葡萄枝条组织细胞膜透性的关系

从表 2 可以看出,山葡萄各种质枝条在经一系列低

温处理后,其相对电导率总体趋势随处理温度的降低而逐渐升高,相对电导率变化近似呈“S”型的单峰曲线分布。处理温度开始下降时相对电导率缓慢升高,随着温度的继续下降,相对电导率有一急剧升高的敏感区域,之后,相对电导率变化又趋平缓。不同的山葡萄种质枝条,其相对电导率骤升区域有所不同。‘左山-1’和‘75047’在-36℃时,相对电导率分别为46.01%、43.35%,此后相对电导率开始急剧升高,在温度降到-44℃时,相对电导率分别升高了54.75%、50.08%;在-28℃时,‘73122’、‘73135’和‘75042’的相对电导率分别为37.77%、37.69%和38.87%,而当温度降至-40℃时,相对电导率分别急剧升高了72.33%、63.41%、63.91%;在-32℃时,‘双红’、‘043’、‘8558823’和‘92’的相对电导率分别为41.84%、42.72%、40.70%和42.40%,当温度低至-44℃时,相对电导率分别骤升了52.51%、60.77%、54.64%和55.24%。说明在相对电导率骤升的敏感区域内,各种质枝条组织细胞膜透性急剧增大,枝条组织细胞受到的伤害也急剧加重。

2.3 拟合 Logistic 方程求解低温半致死温度(LT₅₀)

9 份山葡萄种质资源枝条经低温处理后的相对电导率变化符合 Logistic 变化规律,对其进行了 Logistic

$$r_{y'x} = \frac{\sum xy' - \frac{(\sum x)(\sum y')}{n}}{\sqrt{\left[\sum x^2 - \frac{1(\sum x)^2}{n}\right] \left[\sum (y')^2 - \frac{(\sum y')^2}{n}\right]}} = \frac{\sum xy'}{\sqrt{\sum x^2 \cdot \sum (y')^2}}。$$

对 Logistic 方程进行二阶导数变换后,可得方程曲线拐点值,即为 $d^2y/dx^2=0$ 时的 x 值,经求导简化可得 $x=\ln a/b$,该值即为半致死温度(LT₅₀)值。

相对电导率用 Logistic 方程进行拟合后,拟合度较高,均达显著水平($r=0.8485\sim0.9434$, $r_{0.01}=0.8343$),此后再求出低温半致死温度。由表3可以看出,山葡萄种质的低温半致死温度分布范围为-31.98~-39.41℃,均出现在其各自相对电导率骤升的敏感区域内。根据低温半致死温度,得出山葡萄各种质枝条抗寒性由强到弱依次为:‘75047’>‘左山-1’>‘双红’>‘043’>‘92’>‘8558823’>‘75042’>‘73135’>‘73122’。结合表1中各种质枝条成熟度比较分析表明,成熟度对于不同山葡萄种质枝条的低温半致死温度影响不大,如‘73122’和‘73135’成熟度均很高,但其低温半致死温度较高,分别为-31.89℃和-32.71℃;而‘左山-1’、‘双红’、‘75047’等虽成熟度相对较低,但低温半致死温度更低。说明山葡萄虽然抗寒性非常强,但是种内不同种质抗寒性仍存在着一定差别,且主要由种质自身的遗传特性所决定。

表2 9 份山葡萄种质资源枝条低温处理后的相对电导率

Table 2 The relative electric conductivity of nine germplasm resources of *Vitis amurensis* branches after freezing treatment %

品系	处理温度 Treatment temperature/℃							
Strain	-16	-20	-24	-28	-32	-36	-40	-44
‘双红’	32.41	33.71	40.48	37.47	41.84	46.14	55.45	63.81
‘73122’	35.33	39.91	38.39	37.77	44.29	49.89	65.09	69.07
‘73135’	35.85	39.51	39.16	37.69	45.76	50.91	61.59	67.96
‘75042’	29.11	39.51	39.47	38.87	43.10	49.27	63.71	68.45
‘左山-1’	36.80	41.36	44.74	45.39	51.73	46.01	53.31	71.20
‘75047’	30.94	32.23	39.83	33.89	39.30	43.35	44.15	65.06
‘043’	32.13	37.88	45.33	38.59	42.72	43.05	55.47	68.68
‘8558823’	32.76	32.58	40.59	34.71	40.70	54.76	61.85	62.94
‘92’	32.49	40.37	37.84	36.97	42.40	52.06	56.30	65.82

曲线回归分析,回归模型为: $y=K/(1+ae^{-bx})$, y 为相对电导率, x 为处理温度, $K=100$ 。在实际应用中,令 $y'=\ln[(K-y)/y]$, $y'=\ln a-bx$,即将相对电导率 y 转换成 y' ,再用线性表示其与处理温度之间的关系, a 和 b 即可按一般的直线相关方法求出。以 x 对 y' 的相关系数表示 x 对 Logistic 方程的拟合度:

表3 9 份山葡萄种质资源枝条低温半致死温度(LT₅₀)

Table 3 LT₅₀ of nine germplasm resources of *Vitis amurensis* branches

品系	半致死温度 Logistic 方程	LT ₅₀	相关系数
Strain	Lethal temperature equation Logistic	/℃	Related coefficient r
‘双红’	$y=100/(1+4.6758e^{0.0431x})$	-35.79	0.9434
‘73122’	$y=100/(1+4.9018e^{0.0497x})$	-31.98	0.9110
‘73135’	$y=100/(1+4.4799e^{0.0464x})$	-32.32	0.9274
‘75042’	$y=100/(1+5.7535e^{0.0535x})$	-32.71	0.9381
‘左山-1’	$y=100/(1+2.2897e^{0.0223x})$	-37.15	0.9220
‘75047’	$y=100/(1+4.6866e^{0.0392x})$	-39.41	0.8485
‘043’	$y=100/(1+4.2648e^{0.0423x})$	-34.29	0.8602
‘8558823’	$y=100/(1+5.4783e^{0.0499x})$	-34.08	0.9274
‘92’	$y=100/(1+4.5381e^{0.0443x})$	-34.14	0.9274

3 讨论与结论

果树抗寒力除主要受自身遗传特性控制外,还与抗寒锻炼、光照、温度、发育阶段和植株营养积累、树龄、长势及成熟度等有关。一般而言,成熟度越高的植株,其越冬能力就越强,抗逆性也越强。申海林等^[12]对大棚内22个鲜食葡萄品种生长势、枝条成熟度及抗病性等分析评价发现,“香妃”和“秋黑宝”枝条成熟度最差,对霜霉病却依然有着中等抗性,而“香悦”、“着色香”和“藤稔”等虽

拥有非常高的成熟度,但对霜霉病只具有中等抗性。同样,该试验 9 份山葡萄种质枝条中,‘73122’和‘73135’成熟度均很高,但其抗寒性却不如成熟度相对较低的‘左山-1’、‘双红’、‘75047’。这也说明,无论是在鲜食葡萄还是在山葡萄中,抗逆性强弱主要由种质自身的遗传特性所决定。

Lyons^[13]认为,植物在低温逆境下受到伤害时,细胞质膜透性会发生变化,导致细胞内电解质会有不同程度的外渗,抗寒性较强的植物细胞膜透性变化小,可以逆转,易于恢复正常。反之,抗寒性差的植物细胞质膜透性增加程度大,膜透性发生不可逆转的变化,造成植物细胞死亡。马小河等^[14]对 6 个酿酒葡萄品种抗寒性比较的研究认为,酿酒葡萄枝条相对电导率随温度的降低总体呈上升趋势,相对电导率变化近似呈“S”形曲线分布,用 Logistic 方程拟合后,精确度高,计算得到酿酒葡萄品种半致死温度结果可靠。吴行昶^[15]在葡萄种质资源抗寒性的研究中表明,山葡萄品系中‘黑龙江实生’的低温半致死温度为 -31.12°C ,而‘泰山-11’、‘通化-3’、‘左山 75-97’等山葡萄品系的抗寒性均强于‘黑龙江实生’。该试验中低温半致死温度研究结果与此结论基本一致,9 份山葡萄种质枝条低温半致死温度的分布范围为 $-31.98\sim-39.41^{\circ}\text{C}$ 。

综上所述,国家果树种质山葡萄圃(左家)9 份山葡萄种质资源 1 年生枝条,在 8 个温度梯度下,相对电导率变化符合 Logistic 方程,拟合结果可靠,精确度较高,说明所求低温半致死温度准确可信,可以作为山葡萄抗寒性鉴定重要指标之一。

参考文献

- [1] Sukumaran N P, Weiser C J. Method of determining cold Hardiness by electrical conductivity in potato[J]. Hort Science, 1972(7):467-468.
- [2] 朱根海,刘祖祺,朱培红. 应用 Logistic 方程确定植物半致死温度的研究[J]. 南京农业大学学报, 1986(3):11-15.
- [3] 罗正荣,章文才. 应用 Logistic 方程测定柑桔抗冻力的探讨[J]. 果树科学, 1994, 11(2):100-102.
- [4] 刘冰,王有科. 应用 Logistic 方程确定花椒枝条低温半致死温度[J]. 甘肃农业大学学报, 2005, 40(4):475-479.
- [5] 刘洁,李华,石元豹,等. 澳洲滨藜的抗寒性研究[J]. 北方园艺, 2013(16):89-91.
- [6] 刘建,项东云,陈健波,等. 应用 Logistic 方程确定三种桉树的低温半致死温度[J]. 广西林业科学, 2009, 38(2):75-78.
- [7] 刘世红,田耀华,魏丽萍,等. 西双版纳 30 个橡胶树品种的低温半致死温度及低温对抗氧化系统的影响[J]. 植物生理学报, 2011, 47(5):505-511.
- [8] 王晓玲,胡亚岚,毛丽衡. 不同枣品种抗寒性的比较[J]. 北方园艺, 2012(9):1-3.
- [9] 王文举,张亚红,牛锦凤,等. 电导法测定鲜食葡萄的抗寒性[J]. 果树学报, 2007, 24(1):34-37.
- [10] 朱运钦,黄海帆,乔宝营,等. 塑料大棚葡萄环剥和绞缢试验[J]. 河南农业科学, 2008(3):88-89.
- [11] 莫惠栋. Logistic 方程及其运用[J]. 江苏农学院学报, 1983, 4(2):53-57.
- [12] 申海林,邹利人,陈蕾,等. 不同葡萄品种在设施条件下的生长与结果性状调查[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2011(9):43-45.
- [13] Lyons J M. Chilling injury in plants[J]. Annu Rev Plant Physiol, 1973, 24:445-466.
- [14] 马小河,唐晓萍,董志刚,等. 6 个酿酒葡萄品种抗寒性比较[J]. 山西农业大学学报, 2013, 33(1):1-5.
- [15] 吴行昶. 葡萄种质资源的抗寒性研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2011.

Study on the Semi-lethal Temperature of Germplasm Resources of *Vitis amurens* Branches

HE Wei, AI Jun, YANG Yi-ming, FAN Shu-tian, WANG Zhen-xing

(Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130112)

Abstract: Taking one-year-old dormant branches of 9 germplasm resources of *Vitis amurens* as test materials, the relative electric conductivity was determined under different artificial simulated low temperature which was fitted to Logistic equations, then calculated the semi-lethal temperature (LT_{50}) of the 9 germplasm resources of *Vitis amurens* respectively, in order to evaluate cold resistance of *Vitis amurens*. The results showed that the relative electric conductivity was closely fitted to Logistic equations, indicating the LT_{50} was accurate and reliable, which could be used as indicator identified of cold resistance of *Vitis amurens*. The cold resistance existed certain difference among the 9 germplasm resources of *Vitis amurens*. Their LT_{50} were from -31.98°C to -39.41°C . There was no significant correlation between cold resistance and maturity among the 9 germplasm resources of *Vitis amurens*.

Keywords: *Vitis amurens* Rupr.; cold resistance; maturity; Logistic equation; semi-lethal temperature (LT_{50})