



葡萄抗寒性与韧皮部糖分及内源激素积累的相关性

韦霞霞¹,李玉梅¹,李彦彪¹,郭艳兰²,贾进³,
马宗桓¹,毛娟¹,陈佰鸿¹

(1. 甘肃农业大学 园艺学院,兰州 730070;2. 武威市林业科学研究院,甘肃武威 733000;

3. 甘肃红桥庄园葡萄酒有限公司,甘肃张掖 734200)

摘要 在大田环境下,以5个抗寒性不同的葡萄品种为试材,利用抗寒性评价模型对5个品种进行抗寒性排序,利用高效液相色谱法测定不同时期枝条韧皮部可溶性糖及内源激素的含量。研究抗寒性与不同时期枝条韧皮部可溶性糖及内源激素含量的相关性。结果表明,5个葡萄品种抗寒性依次为‘左山1号’>‘101-14’>‘3309C’>‘SO4’>‘黑比诺’。在10月19日与11月12日两个取样时期,蔗糖、果糖、葡萄糖和脱落酸(ABA)含量大小与葡萄抗寒性强弱完全一致,与抗寒性达显著或极显著正相关($r=0.908\sim 0.965$),相关系数均高于9月25日之前。除‘3309C’外,生长素(IAA)和赤霉素(GA_3)在抗寒性越强的品种中含量越低,在9月1日之后与抗寒系数均呈显著或极显著负相关,相关系数均在10月19日取样时达到最大,分别为0.913、0.985。总的来说,在葡萄枝条生长发育后期,高含量的蔗糖、葡萄糖、果糖和ABA以及低含量的 GA_3 和IAA均可提高葡萄的抗寒性。蔗糖、葡萄糖、ABA和 GA_3 含量对葡萄抗寒性的影响大于果糖和IAA。

关键词 葡萄;抗寒性;相关性分析;可溶性糖;内源激素

中图分类号 S663.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2021)03-0386-09

葡萄(*Vitis vinifera* L.)作为世界上最古老的果树树种之一,种植面积广。葡萄浆果口感丰富且具有优良的药用价值和保健功能。北方地区作为中国葡萄主产区,在冬前及冬季,葡萄冷害与冻害时有发生,研究葡萄抗寒的内在调控机理对葡萄产业发展具有重要的理论与实践意义。植物激素与糖既可作为信号分子来调控植物生长发育的各个阶段,同时又是中间代谢产物^[1],研究其含量与葡萄抗寒性的关系意义重大。

国内外对于葡萄抗寒的生理研究有较多报道,其中包括葡萄抗寒性的评价^[2],低温条件下可溶性糖^[3-4]、激素^[5]积累等的研究。但尚未明确不同时期葡萄枝条韧皮部中可溶糖及内源激素积累与葡萄抗寒性的关系。目前,已经有研究证实可溶性糖可以作为植物抗寒性的重要物质^[6],植物激素是抗寒基因表达的启动因素且会在受到低温胁迫时调节植物来适应逆境^[7-8]。可溶性糖是

“源”和“库”中主要的一种物质,也是有机物运输和暂时储存的主要形式^[9]。低温胁迫时糖含量的增加可以提高植物细胞的渗透势,降低水势,增加植株的保水能力,缓和细胞质过度脱水,使细胞质不致遇冷胶化,从而提高植物的抗寒性^[10]。同时,糖可直接作为抗氧化剂来抑制一些氧化物质的产生^[11],来调节植物生长发育和应对不良环境^[5]。植物激素能够调节植物对外界刺激(如温度、损伤、水分等)产生应激反应,从而应对外界胁迫^[12]。比如植物受到冷胁迫时,通常表现出许多的低温适应性反应,如可溶性蛋白、可溶性糖及脯氨酸含量升高,并且产生较多的胁迫响应激素如ABA(脱落酸),从而使植物的抗寒性提高^[13]。目前,国内外关于糖或者激素与抗寒性的关系有一些报道,比如大叶女贞^[14]、平欧榛^[15]、薰衣草^[16]、枣^[17]等,关于葡萄抗逆性的分子生物学也已开展大量研究^[18-19],但关于葡萄不同时期枝条韧皮部

收稿日期:2020-08-15 **修回日期:**2020-11-30

基金项目:甘肃省葡萄酒发展专项(039-041006);甘肃省科技重大专项(18ZD2NA006);甘肃省现代水果产业体系项目(GARS-SG-1);甘肃省创新基地与人才计划项目(18JR2TH001)。

第一作者:韦霞霞,女,硕士研究生,从事果树逆境生理与生长调控研究。E-mail:2366467517@qq.com

通信作者:陈佰鸿,男,博士,教授,主要从事果树逆境生理与生长调控研究。E-mail:bhch@gsau.edu.cn

中可溶性糖、内源激素与抗寒性的综合分析鲜见报道。

本试验以‘左山 1 号’‘黑比诺’‘101-14’‘3309C’和‘SO4’为试材,研究枝条可溶性糖及内源激素含量与抗寒性的相关关系。旨在为生产实践提供理论基础,为葡萄种质的抗寒性鉴定和抗寒砧木筛选提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验材料为抗寒性不同的‘左山一号’‘黑比诺’‘101-14’‘3309C’和‘SO4’。均定植于甘肃省武威市林业科学研究院酿酒葡萄品种园。株行距为 0.7 m × 3.0 m,浅沟栽植,沟深 30 cm,沟宽 80~100 cm,沟长 50~70 m,东西行向,单臂篱架整形,架高 1.7 m。

1.2 试验设计

在 2019-08-08 入秋后开始第 1 次取样,每隔 24 d 取 1 次,在 11 月中旬越冬埋土前进行最后一次取样,共计取样 5 次。取样时间均为 8:00—10:00,选取长势一致的 1 a 生葡萄枝条带回实验室,刮取韧皮部,进行称量后锡箔纸分装在液氮中速冻后迅速移至-80 °C 冰箱保存,备用。

每个品种选取 10 个植株,在 10 株树中剪取 18 个长势一致的枝条,每 6 个枝条为一组重复,共计设置 3 组重复。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 抗寒性鉴定 根据甘肃农业大学园艺学院果树课题组建立的酿酒葡萄抗寒综合评价模型对 5 个葡萄品种寒性进行评价^[20-21]。其中相对电导率用 DDS-307A 型电导仪测定^[22],可溶性糖含量用蒽酮法测定^[23],可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定^[23],脯氨酸含量采用茚三酮比色法测定^[23],丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法^[23]。

1.3.2 可溶性糖 使用美国 Waters Acquity Arc 型高效液相色谱仪进行测定。色谱条件为色谱柱:XBridge BEH Amide 型色谱柱(4.6 mm × 150 mm,2.5 μm);流动相:75%乙腈+0.2%三乙胺+24.8%超纯水(百分数为体积比);流速:0.8 mL/min;进样量:10 μL;检测波长:254 nm;柱温:40 °C。

提取方式:葡萄韧皮部加液氮研磨后准确称

取 1.0 g,移至 10 mL 离心管中,加入 5 mL 80% 色谱乙醇,35 °C 下超声提取 20 min,12 000 r/min 下离心 15 min,取上清液。重复提取 2 次,每次加 80% 色谱乙醇 2 mL,合并上清液,定容至 10 mL。取 2 mL 于真空离心浓缩仪中旋转蒸发(60 °C)至全干,用 φ=50% 乙腈复溶(超纯水配置),过 0.22 μm 有机相微孔滤膜至样品瓶中待测。

1.3.3 内源激素 使用美国 Waters Acquity Arc 型高效液相色谱仪进行测定。色谱条件为色谱柱:Symmetry C18 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm);流动相:10%甲醇+90% φ=0.1% 磷酸;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL;检测波长:254 nm;柱温:30 °C。

提取方式为:在避光环境中将葡萄韧皮部加液氮研磨后准确称取 2.0 g,用 5 mL 80% 的色谱甲醇分 3 次洗入试管中,用铝箔纸包裹放 4 °C 冰箱中浸提 12 h(每隔 1 h 充分震荡 1 次,使激素溶解于有机相)。摇匀后 4 °C 8 000 r/min 离心 10 min,吸取上清置于 10 mL 离心管中,滤渣再用 80% 的色谱甲醇浸提 2 次(每次震荡混匀),每次加 2.5 mL,浸提 1 h,合并滤液并定容至 10 mL。取 2 mL 于真空离心浓缩仪中旋转蒸发(38 °C)至全干。用 1.0 mL 的 50% 色谱甲醇复溶后过 0.22 μm 有机相微孔滤膜至样品瓶中,待测。

1.4 数据分析

采用 Excel 2010 进行数据处理和作图,用 SPSS 22.0 进行方差分析与相关性分析。相关系数采用 Pearson 方式进行计算。葡萄枝条抗寒性评价方式采用模糊数学隶属函数法,具体公式如下: $U_{ij} = (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin})$ (正相关)或 $U_{ij} = 1 - (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin})$ (负相关)。式中: U 为抗寒隶属函数值, X 为各品种不同指标的测定值, X_{jmin} 为 j 指标的最小值, X_{jmax} 为 j 指标的最大值, i 代表品种, j 代表指标。

2 结果与分析

2.1 不同葡萄品种的抗寒系数及抗寒力

如表 1 所示,5 个葡萄品种抗寒性表现为‘左山 1 号’>‘101-14’>‘3309C’>‘SO4’>‘黑比诺’,综合抗寒系数(综合隶属函数值)分别为 0.954 3、0.818 6、0.791 7、0.635 3 和 0.366 5。

表 1 不同品种各抗寒指标的隶属函数值
Table 1 Subordination value of cold resistance indexes of different cultivars

品种(系) Variety(line)	U_{ij}					平均 Mean	抗寒类型 Cold type
	可溶性糖 Soluble sugar	游离脯氨酸 Free proline	丙二醛 Malondialdehyde	可溶性蛋白 Soluble protein	相对电导率 Relatively conductivity rate		
左山 1 号 Zuoshan 1	0.945 6	0.965 6	0.954 5	0.951 5	0.962 1	0.954 3	HR
101-14	0.830 8	0.815 6	0.755 4	0.872 5	0.771 7	0.818 6	HR
3309C	0.745 4	0.897 5	0.751 2	0.772 5	0.765 6	0.791 7	HR
SO4	0.648 5	0.615 2	0.651 5	0.625 9	0.625 6	0.635 3	R
黑比诺 Pinot Noir	0.385 5	0.362 4	0.341 6	0.376 5	0.365 6	0.366 5	LR

注:HR 为高抗寒,平均隶属度处于 0.7~1.00;R 为抗寒,平均隶属度处于 0.60~0.69;LR 为低抗寒,平均隶属度处于 0.30~0.39。

Note:HR is high cold resistance, and the mean membership index value was 0.7-1.00;R is resistance, and the mean membership index value is 0.60-0.69;LR is low resistance, and the mean membership index value is 0.30-0.39.

2.2 不同时期葡萄枝条韧皮部可溶性糖含量

由表 2 可知,不同葡萄品种可溶性糖含量差异显著。在 8 月 8 日‘黑比诺’与‘左山 1 号’的蔗糖含量显著低于其他品种。9 月 1 日蔗糖含量在‘SO4’中最高,‘左山 1 号’中最低,分别为 41.74 和 28.93 mg/g。在 9 月 25 日时‘黑比诺’中蔗糖含量达 37.60 mg/g,比其他 4 个品种高 31.15%~43.46%。在 10 月 19 日与 11 月 12 日时蔗糖含量在各品种间均具有显著性差异,为‘左山 1 号’>‘101-14’>‘3309C’>‘SO4’>‘黑比诺’,且各品种蔗糖含量在 11 月 12 日达到最大,分别为 66.94、56.59、53.18、45.80 和 40.20 mg/g。

葡萄糖含量在 8 月 8 日以‘101-14’最高,9 月 1 日以‘左山 1 号’最大且分别比‘101-14’

‘3309C’、‘SO4’与‘黑比诺’高 35.30%、57.95%、89.22%和 71.59%。9 月 25 日时‘左山 1 号’‘101-14’和‘3309C’间的葡萄糖含量无显著性差异,但显著高于‘SO4’和‘黑比诺’。在 10 月 19 日与 11 月 12 日‘黑比诺’中葡萄糖含量分别为 4.27 和 9.54 mg/g,显著低于同一时期的其他品种,而‘左山 1 号’显著高于其他品种,含量分别为 6.53 和 17.77 mg/g。

‘左山 1 号’中果糖含量在每一个时期均显著高于其他品种。10 月 19 日时果糖含量在各品种间均具有显著差异,含量表现为‘左山 1 号’>‘101-14’>‘3309C’>‘SO4’>‘黑比诺’,其中‘左山 1 号’比其他品种依次高出 30.99%、42.06%、53.45%和 103.24%。11 月 12 日时各品种果糖含量出现大幅度增加且含量达到最大,

表 2 不同时期 5 个葡萄品种蔗糖、葡萄糖、果糖含量

Table 2 Contents of sucrose, glucose and fructose in five grape varieties in different periods

指标 Index	日期 Date	左山 1 号 Zuoshan 1	101-14	3309C	SO4	黑比诺 Pinot Noir
蔗糖/(mg/g) Sucrose	08-08	20.99±0.26 d	24.89±0.34 c	34.04±0.50 a	30.17±0.21 b	21.13±0.04 d
	09-01	28.93±0.07 d	32.20±0.51 c	36.51±0.87 b	41.74±0.60 a	32.52±0.47 c
	09-25	27.81±0.46 b	26.25±0.46 b	28.67±2.80 b	26.21±0.58 b	37.60±0.68 a
	10-19	43.50±0.86 a	38.83±0.69 b	37.43±0.14 b	34.52±0.35 c	32.02±0.06 d
	11-12	66.94±0.46 a	56.59±0.11 b	53.18±0.60 c	45.80±0.45 d	40.20±0.20 e
葡萄糖/(mg/g) Glucose	08-08	8.94±0.19 b	10.23±0.06 a	6.46±0.20 c	5.59±0.09 d	5.18±0.28 d
	09-01	7.55±0.26 a	5.58±0.13 b	4.78±0.24 c	3.99±0.06 d	4.40±0.10 bc
	09-25	4.89±0.13 a	4.59±0.16 a	4.43±0.30 a	3.80±0.13 b	3.38±0.09 b
	10-19	6.53±0.19 a	6.23±0.05 a	5.62±0.27 b	4.90±0.07 c	4.27±0.06 d
	11-12	17.77±0.22 a	14.60±0.02 b	14.01±0.42 b	11.27±0.21 c	9.54±0.25 d
果糖/(mg/g) Fructose	08-08	5.22±0.05 a	4.07±0.06 b	2.52±0.20 c	1.83±0.05 d	1.91±0.08 d
	09-01	3.53±0.05 a	2.20±0.31 c	1.53±0.09 d	2.82±0.06 b	2.04±0.05 c
	09-25	3.94±0.06 a	2.95±0.25 b	1.72±0.02 c	1.60±0.03 c	1.79±0.06 c
	10-19	6.89±0.30 a	5.26±0.07 b	4.85±0.05 bc	4.49±0.11 c	3.39±0.05 d
	11-12	15.77±0.21 a	13.22±0.54 b	13.21±0.28 b	12.84±0.56 b	11.28±0.40 c

注:数据为“平均值±标准误”,同行数据后不同小写字母表示差异显著(P<0.05),下同。

Note:Data within the same columns indicate “Mean±SE”,different lowercase letters after the same data indicate significant difference (P<0.05), the same below.

其中‘左山1号’显著高于其他品种,而‘黑比诺’显著低于其他品种,含量分别为 15.77 和 11.28 mg/g。

综上试验分析表明,在 9 月 25 日之前蔗糖含量在‘左山1号’中较低而‘SO4’与‘3309C’中较高,果糖和葡萄糖含量在‘左山1号’与‘101-14’较高而‘SO4’与‘黑比诺’较低。但在 10 月 19 日与 11 月 12 日时 3 种可溶性糖含量从大到小依次为‘左山1号’‘101-14’‘3309C’‘SO4’和‘黑比诺’,这一规律与抗寒系数排列顺序完全一致。

2.3 不同时期葡萄韧皮部内源激素含量

如表 3 所示,不同葡萄品种内源激素含量差异显著。‘黑比诺’中 ABA 含量在每个时期均显著低于其他品种。在 8 月 8 日与 9 月 1 日 ABA 含量在‘101-14’中分别为 5.43 和 4.67 $\mu\text{g/g}$,均显著高于同一时期其他品种。在 9 月 25 日之后‘左山1号’中 ABA 含量均为最高且与其他品种具有显著性差异。10 月 19 日时 ABA 含量‘左山1号’中比‘101-14’‘3309C’‘SO4’和‘黑比诺’分别高 4.76%、39.87%、67.35%和 187.74%。在 10 月 19 日与 11 月 12 日 ABA 含量均表现出‘左山1号’>‘101-14’>‘3309C’>‘SO4’>‘黑比诺’,且各品种间都具有显著性差异。

在不同取样时期 GA_3 含量都表现为‘黑比诺’最高,‘左山1号’最低,且与‘101-14’‘3309C’

和‘SO4’具有显著性差异。‘黑比诺’在 8 月 8 日高出其余品种 40.52%~91.69%,9 月 1 日高出 43.58%~96.93%,9 月 25 日时高出 63.41%~95.24%。在 10 月 19 日时 GA_3 含量在各品种间均具有显著性差异且含量表现为‘左山1号’<‘101-14’<‘3309C’<‘SO4’<‘黑比诺’。11 月 12 日时 GA_3 含量在各品种间的差异增大,其中‘黑比诺’分别比‘左山1号’‘101-14’‘3309C’和‘SO4’高 372.50%、200.00%、145.45%和 85.29%。

‘左山1号’中 IAA 含量在每一个时期都低于其他品种。在 8 月 8 日与 9 月 1 日时 IAA 含量在‘SO4’中最高,分别为 8.18 和 7.00 $\mu\text{g/g}$ 。9 月 25 日 IAA 含量在‘黑比诺’中最高,分别比‘左山1号’‘101-14’‘3309C’和‘SO4’高 94.53%、43.03%、72.86%和 5.22%。在 10 月 19 日时‘黑比诺’中 IAA 含量为 6.22 $\mu\text{g/g}$,显著高于其他品种。11 月 12 日时‘黑比诺’中 IAA 含量较 10 月 19 日有所增加,此时‘SO4’中 IAA 含量在 5 个品种中最大但与‘黑比诺’无显著性差异,‘左山1号’中 IAA 含量显著低于其余 4 个品种,其中比‘黑比诺’和‘SO4’低 55%左右。

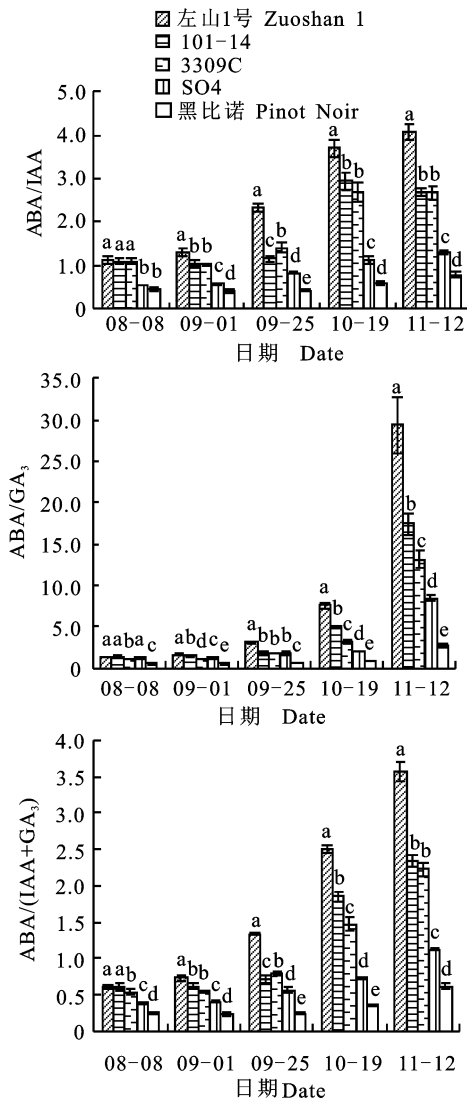
如图 1 所示,ABA/IAA 的值在 9 月 1 日之后逐步增加且均表现为‘黑比诺’最低,‘左山1号’最高,且与其他品种具有显著性差异。

表 3 5 个葡萄品种不同时期 ABA、 GA_3 和 IAA 含量

Table 3 Content of ABA, GA_3 and IAA content in five grape varieties at different stages

指标 Index	日期 Date	左山1号 Zuoshan 1	101-14	3309C	SO4	黑比诺 Pinot Noir
ABA /($\mu\text{g/g}$)	08-08	4.46±0.10b	5.43±0.18 a	4.67±0.08 b	4.45±0.08 b	3.39±0.12 c
	09-01	4.41±0.13 ab	4.67±0.13 a	4.11±0.10 b	4.07±0.04 b	2.83±0.11 c
	09-25	7.23±0.22 a	4.88±0.12 b	4.92±0.06 b	4.80±0.10 b	2.60±0.02 c
	10-19	10.56±0.16 a	10.08±0.09 b	7.55±0.11 c	6.31±0.03 d	3.67±0.08 e
	11-12	11.86±0.11 a	10.98±0.16 b	10.17±0.09 c	8.54±0.09 d	5.15±0.20 e
GA_3 /($\mu\text{g/g}$)	08-08	3.13±0.04 d	3.81±0.13 c	4.27±0.15 b	3.53±0.11 c	6.00±0.07 a
	09-01	2.61±0.06 d	3.13±0.04 c	3.58±0.13 b	3.15±0.13 c	5.14±0.15 a
	09-25	2.31±0.12 c	2.61±0.16 bc	2.72±0.05 bc	2.76±0.18 b	4.51±0.09 a
	10-19	1.38±0.06 e	2.01±0.04 d	2.34±0.03 c	3.05±0.07 b	3.90±0.09 a
	11-12	0.40±0.03 d	0.63±0.03 c	0.77±0.03 c	1.02±0.01 b	1.89±0.11 a
IAA /($\mu\text{g/g}$)	08-08	4.24±0.08 d	5.03±0.10 c	4.47±0.11 d	8.18±0.20 a	7.38±0.14 b
	09-01	3.40±0.03 d	4.88±0.25 b	4.00±0.11 c	7.00±0.07 a	6.71±0.17 a
	09-25	3.11±0.06 c	4.23±0.20 b	3.50±0.11 c	5.75±0.06 a	6.05±0.19 a
	10-19	2.86±0.06 d	3.43±0.12 c	2.80±0.09 d	5.62±0.24 b	6.22±0.14 a
	11-12	2.92±0.05 c	4.05±0.06 b	3.80±0.11 b	6.60±0.14 a	6.54±0.07 a

ABA/GA₃ 与 ABA/(IAA + GA₃) 的值在每一个时期均表现为‘黑比诺’显著低于其他品种,9月1日之后‘左山1号’中的值显著高于同一时期其他品种。在10月19日与11月12日时,ABA/IAA, ABA/GA₃ 与 ABA/(IAA + GA₃) 的值均表现为‘左山1号’>‘101-14’>‘3309C’>‘SO4’>‘黑比诺’,这与抗寒系数的排列顺序完全一致。



不同小写字母表示同一时期不同品种之间在 $P < 0.05$ 水平下显著差异

Different lowercase letters indicate significant differences between different breeds at the $P < 0.05$ level during the same period

图1 不同时期葡萄韧皮部内源激素的比值

Fig. 1 The ratio of endogenous hormones in phloem of grape at different stages

2.4 葡萄枝条韧皮部可溶性糖含量与品种抗寒性相关性

在不同时期可溶性糖含量与抗寒系数的相关

性有所不同。如表4所示,在10月19日及11月12日时枝条韧皮部中蔗糖含量与抗寒系数呈极显著正相关,相关系数分别为0.953和0.949。葡萄糖含量与抗寒系数相关性在9月1日之前较低,在9月25日、10月19日与11月12日达极显著正相关,其中在9月25日时相关系数最高,达到0.980。果糖含量与抗寒系数在8月8日、10月19日及11月12日为显著正相关,其中在10月19日时相关系数最大,为0.933。10月19日与11月12日时三种可溶性糖含量与抗寒系数都有较强的相关性,与蔗糖和葡萄糖的相关性强于果糖的。

2.5 葡萄枝条韧皮部内源激素含量与品种抗寒性相关性

不同时期枝条韧皮部中内源激素的含量与抗寒系数的相关性不同。如表5所示,抗寒系数与ABA、ABA/IAA、ABA/(IAA + GA₃)、ABA/GA₃ 含量有较强的正相关,与GA₃ 与IAA含量均有较强的负相关。其中,ABA含量与抗寒性在9月1日和9月25日时为显著水平,在10月19日与11月12日呈极显著正相关。IAA含量在9月1日之后均与抗寒系数为显著相关,相关性在10月19日达到最大,相关系数为-0.913。GA₃ 含量与抗寒系数在9月25日之前为显著性相关,在10月19日与11月12日相关系数达到-0.989,为极显著负相关。ABA、IAA及GA₃ 含量与抗寒系数的相关性均在10月19日及11月12日时高于其他时期。ABA/IAA与抗寒系数的相关性在8月8日与9月25日为显著水平,9月1日、10月19日及11月12日呈极显著正相关。ABA/GA₃ 与抗寒性的相关性在每个时期均为显著正相关。ABA/(IAA + GA₃) 与抗寒性的相关性在9月25日为显著相关,其余每个时期均极显著正相关。

3 讨论与结论

3.1 葡萄枝条韧皮部可溶性糖含量与抗寒性的关系

可溶性糖在面临低温时可通过提高细胞渗透势来降低细胞结冰温度,促进脯氨酸的积累来增加膜稳定性,直接作为保护剂来保护原生质体、线粒体及膜上敏感偶联因子,从而全面提高植物的抗寒性^[8]。本研究中,在10月下旬至埋土越冬前葡萄枝条韧皮部中蔗糖、葡萄糖和果糖含量均表

表 4 抗寒系数与不同时期蔗糖、果糖、葡萄糖含量的相关系数
Table 4 Correlation coefficient of cold resistance coefficient and sucrose, fructose, and glucose content in different periods

项目 Item	日期 Date				
	08-08	09-01	09-25	10-19	11-12
蔗糖 Sucrose content	0.130	-0.295	-0.789	0.953**	0.949**
果糖 Fructose content	0.810*	0.379	0.710	0.933*	0.908*
葡萄糖 Glucose content	0.762	0.747	0.980**	0.965**	0.958**

注: * 为在 0.05 水平上显著相关, ** 为在 0.01 水平上显著相关, 下同。

Note: * significant correlation at level of 0.05, ** Significant correlation at level of 0.01, the same below.

表 5 抗寒系数与不同时期内源激素含量及其比值的相关系数
Table 5 Correlation coefficient of cold resistance coefficient, endogenous hormone content and its ratio in different periods

项目 Item	日期 Date				
	08-08	09-01	09-25	10-19	11-12
ABA	0.749	0.911*	0.929*	0.958**	0.979**
IAA	-0.802	-0.864*	-0.908*	-0.913*	-0.895*
GA ₃	-0.862*	-0.908*	-0.925*	-0.989**	-0.989**
ABA/IAA	0.898*	0.961**	0.903*	0.957**	0.946**
ABA/GA ₃	0.889*	0.932*	0.943*	0.904*	0.907*
ABA/(GA ₃ +IAA)	0.960**	0.986**	0.924*	0.948**	0.948**

现为抗寒性强的品种显著高于抗寒性较弱的品种。研究发现,梨^[24]、大叶女贞^[14]、平欧榛^[15]等树种和作物在面临低温时,均表现为抗寒性越强的品种可溶性糖含量越高,本试验研究结果与此相一致。可溶性糖直接或间接的对抗寒性产生了复杂的调节,其中蔗糖作为植物在光合作用过程中的主要产物,在遇到低温环境时起到了重要作用。王小乐等^[25]研究发现,低温条件下不同菊花品种的离体保存中蔗糖提高了幼苗存活率、保护试管苗的组织结构、增加了绿叶数、增强其恢复生长能力和遗传稳定性,表明蔗糖有效地提高了植物抗寒性。杨光^[26]以不同酿酒葡萄的枝条为试验材料研究发现蔗糖和葡萄糖比果糖在调控低温诱导基因表达中发挥的作用更为关键。本研究结果显示在 9 月 25 日之后不同可溶性糖含量与抗寒系数的相关性均高于 9 月 1 日之前,且在 10 月 19 日与 11 月 12 日时韧皮部中蔗糖及葡萄糖对葡萄枝条抗寒性的影响大于果糖。表明在枝条生长发育后期韧皮部中可溶性糖含量与抗寒性的相关关系会越密切,且糖含量的增加可以作为提高葡萄抗寒性的机制之一。

3.2 葡萄枝条韧皮部内源激素含量与抗寒性的关系

植物激素是植物面对逆境时的重要信号分

子,在受到逆境胁迫时植物会通过增加或降低某种激素或通过调节激素间的比值来应对胁迫^[27]。本研究结果表明,自 8 月 8 日至 11 月 12 日随着田间自然降温,葡萄枝条韧皮部中 ABA 含量与抗寒系数的相关性逐步增强,在 10 月 19 日之后不同品种中 ABA 含量的高低与抗寒性的强弱完全一致。Soitamo 等^[28]和项洪涛等^[29]研究表明,低温环境下植物体内的 ABA 含量会明显增加,不同品种中抗寒性越强 ABA 含量越高,与本研究结果一致。目前关于 IAA、GA₃ 与抗寒性的关系报道的不多并且表现规律不一致,本研究中葡萄枝条韧皮部中的 IAA 和 GA₃ 含量与不同品种抗寒力表现出不同程度的负相关,且随着枝条生长发育 IAA 和 GA₃ 含量有所降低,与抗寒系数的相关性增强。该研究结果与低温胁迫冬小麦^[30]、薰衣草^[16]等试验中的结果类似。这可能是 GA₃ 和 IAA 通过延缓叶绿素的降解和蛋白质的升高从而减缓生长速率以应对低温。但是在油棕叶片^[31]、百合鳞茎外层^[32]中表现出随着温度降低 IAA 含量升高且在抗寒性强的品种中 IAA 含量较高,本试验研究结果与此不符,可能是因为作物本身抗寒机制的不同或采样部位等的不同所引起。激素间的相互平衡对于抗寒性起着复杂的调节作用,曲凌慧等^[5]在葡萄叶片中指出

ABA/GA₃ 和 ABA/IAA 含量高的品种抗寒性强,在较低温度下小麦^[31]、黄瓜^[33]根系中高 ABA、低 GA 及高 ABA/GA 均对抗寒有利。这与本文中提到的在葡萄枝条生长发育后期,高含量的 ABA, ABA/GA₃、ABA/IAA 和 ABA/(IAA+GA₃)以及低含量的 GA₃ 与 IAA 均可提高葡萄的抗寒性不尽相同。表明 ABA、IAA、GA₃ 含量以及他们的比值均对葡萄抗寒性有一定影响。在枝条生长发育后期提高 ABA 含量,降低 IAA 和 GA₃ 含量更有利于提高葡萄的抗寒性。

参考文献 Reference:

- [1] LASTDRAGER J, HANSON J, SMEEKENS S. Sugar signals and the control of plant growth and development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(3):799-807.
- [2] 杨 豫, 张晓煜, 陈仁伟, 等. 不同品种酿酒葡萄根系抗寒性鉴定[J]. 中国生态农业学报, 2020, 28(4):558-565.
YANG Y, ZHANG X Y, CHEN R W, *et al.* Comparing the cold resistance of roots of different wine grape varieties[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2020, 28(4):558-565.
- [3] 李媛媛, 赵 静, 张 军, 等. 低温贮藏期间萝卜不同部位可溶性糖变化规律研究[J]. 西北农业学报, 2019, 28(10):1639-1646.
LI Y Y, ZHAO J, ZHANG J, *et al.* Change of soluble sugar in skin and flesh tissues of radish taproot with low temperature storage [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2019, 28(10):1639-1646.
- [4] 周兰兰, 栗孟飞, 孙 萍, 等. 酿酒葡萄枝条生长发育过程中蔗糖代谢及相关酶活性的变化[J]. 植物生理学报, 2015, 51(6):962-968.
ZHOU L L, LI M F, SUN P, *et al.* Changes of sucrose metabolism and enzyme activities in wine grape branches at growth stages [J]. *Plant Physiology Journal*, 2015, 51(6):962-968.
- [5] 曲凌慧, 车永梅, 刘 新, 等. ABA 和 JA 等激素参与葡萄对低温胁迫的应答[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2010, 27(1):36-41.
QU L H, CHE Y M, LIU X, *et al.* ABA and JA involved in the response of grape cultivars to low temperature [J]. *Journal of Qingdao Agricultural University(Natural Science)*, 2010, 27(1):36-41.
- [6] BHOWMIK P K, TAMURA K I, SANADA Y, *et al.* Sucrose metabolism of perennial ryegrass in relation to cold acclimation[J]. *Zeitschrift Für Naturforschung C Journal of Biosciences*, 2006, 61(1/2):99-104.
- [7] 罗正荣. 植物激素与抗寒力的关系[J]. 植物生理学通讯, 1989, 3(1):5.
LUO ZH R. Relationship between plant hormones and cold resistance[J]. *Plant Physiology Communications*, 1989, 3(1):5.
- [8] 许树成, 丁海东, 鲁 锐, 等. ABA 在植物细胞抗氧化防护过程中的作用[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(2):11-19.
XU SH CH, DING H D, LU R, *et al.* Study on effects of ABA in antioxidant defense of plant cells[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2008, 13(2):11-19.
- [9] 潘庆民, 韩兴国, 白永飞, 等. 植物非结构性贮藏碳水化合物的生理生态学研究进展[J]. 植物学通报, 2002, 19(1):30-38.
PAN Q M, HAN X G, BAI Y F, *et al.* Advances in physiological and ecological studies on stored non-structure carbohydrates in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2002, 19(1):30-38.
- [10] VERMA A K, UPADHYAY S K, VERMA P C, *et al.* Functional analysis of sucrose phosphate synthase (SPS) and sucrose synthase(SS) in sugarcane(*Saccharum*) cultivars[J]. *Plant Biology*, 2011, 13(2):325-332.
- [11] KEUNEN E, PESHEV D, VANGRONVELD J, *et al.* Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress; extending the traditional concept[J]. *Plant Cell and Environment*, 2013, 36(7):1242-1255.
- [12] YADAV R K, SAINI P K. Plant Hormones: their nature occurrence and functions: A chapter[J]. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 2018, 6(6):13-17.
- [13] RUBIO S, NORIEGA X, PEREZ F J. Abscisic acid(ABA) and low temperatures synergistically increase the expression of CBF/DREB1 transcription factors and cold-hardiness in grapevine dormant buds[J]. *Annals of Botany*, 2019, 123(4):681-689.
- [14] 林 艳, 郭伟珍, 徐振华, 等. 大叶女贞抗寒性及冬季叶片丙二醛和可溶性糖含量的变化[J]. 中国农学通报, 2012, 28(25):68-72.
LIN Y, GUO W ZH, XU ZH H, *et al.* Cold resistance and changes on MDA and soluble sugar of leaves of *ligustrun-lucidum* ait in winter[J]. *China Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(25):68-72.
- [15] 梁锁兴, 孟庆仙, 石美娟, 等. 平欧榛枝条可溶性蛋白及可溶性糖含量与抗寒性关系的研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(13):14-18.
LIANG S X, MENG Q X, SHI M J, *et al.* Research on relationship between cold-resistance and soluble protein and sugar of *Corylus heterophylla* × *Corylus avellana* branches [J]. *China Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(13):14-18.
- [16] 田小霞, 孟 林, 毛培春, 等. 低温条件下不同抗寒性薰衣草内源激素的变化[J]. 植物生理通讯, 2014, 50(11):1669-1674.
TIAN X X, MENG L, MAO P CH, *et al.* Changes of endogenous hormones of lavender varieties with different cold-resistance under low temperature[J]. *Plant Physiology Communications*, 2014, 50(11):1669-1674.
- [17] 牛辉陵, 张洪武, 边 媛, 等. 枣花分化发育过程及其内源

- 激素动态研究[J]. 园艺学报, 2015, 42(4): 655-664.
- NIU H L, ZHANG H W, BIAN Y, *et al.* Flower formation and endogenous hormones dynamic in chinese jujube[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(4): 655-664.
- [18] JIANG H Y, LI W, HE B J, GAO Y H, *et al.* Sucrose metabolism in grape (*Vitis vinifera* L.) branches under low temperature during overwintering covered with soil[J]. *Plant Growth Regulation*, 2014, 72(3): 229-238.
- [19] 张剑侠, 熊燕, 王跃进, 等. 中国野生葡萄抗寒基因的 RAPD 标记及其序列分析[J]. 中国农学通报, 2010, 26(10): 30-37.
- ZHANG J X, XIONG Y, WANG Y J, *et al.* RAPD markers linked to the hardiness gene in chinese wildvitis and their sequence analysis [J]. *China Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(10): 30-37.
- [20] 张彪, 毛娟, 陈佰鸿, 等. 葡萄抗寒性鉴定及综合评价方法研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2014, 49(6): 64-69.
- ZHANG B, MAO J, CHEN B H, *et al.* Identification method and comprehensive evaluation of cold resistance in grapevine[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2014, 49(6): 64-69.
- [21] 曹建东, 陈佰鸿, 王利军, 等. 葡萄抗寒性生理指标筛选及其评价[J]. 西北植物学报, 2010, 30(11): 2232-2239.
- CAO J D, CHEN B H, WANG L J, *et al.* Cold resistance indexes identification and comprehensive evaluation of grape varieties [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2010, 30(11): 2232-2239.
- [22] 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.
- ZHANG Q, LIU CH H, GUO D L, *et al.* Relationship between LT50 and cold adaptability of five grape varieties [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2013, 41(5): 149-154.
- [23] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- ZHANG ZH L. *Experimental Guidance of Plant Physiology*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2009.
- [24] 张基德, 李玉梅, 陈艳秋, 等. 梨品种枝条可溶性糖、脯氨酸含量变化规律与抗寒性的关系[J]. 延边大学农学学报, 2004, 26(4): 281-285.
- ZAHNG J D, LI Y M, CHEN Y Q, *et al.* Relationship between the soluble sugar content, proline content and the hardiness of pear cultivars[J]. *Journal of Agricultural Science Yanbian University*, 2004, 26(4): 281-285.
- [25] 王小乐, 迟天华, 王海滨, 等. 蔗糖和甘露醇复合处理对菊花低温离体保存的影响[J]. 分子植物育种, 2019, 17(5): 1597-1604.
- WANG X L, CHI T H, WANG H B, *et al.* Effects of sucrose and mannitol combined treatment on in vitro conservation of chrysanthemum at low temperature[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(5): 1597-1604.
- [26] 杨光. 酿酒葡萄越冬枝中蔗糖代谢的变化与抗冻性的关系[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2015.
- YANG G. The relationship between cold resistance and sucrose content of grape branches in wintering period[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2015.
- [27] HONG J H, SEAH S W, XU J. The root of ABA action in environmental stress response [J]. *Plant Cell Reports*, 2013, 32(7): 971-983.
- [28] SOITAMO A J, PIIPPO M, ALLAHVERDIYEVA Y, *et al.* Light has a specific role in modulating *Arabidopsis* gene expression at low temperature[J]. *BMC Plant Biology*, 2008, 8(1): 13.
- [29] 项洪涛, 齐德强, 李琬, 等. 低温胁迫下外源 ABA 对开花期水稻叶鞘激素含量及抗寒生理的影响[J]. 草业学报, 2019, 28(4): 81-94.
- XIANG H T, QI D Q, LI W, *et al.* Effects of exogenous ABA on the endogenous hormone levels and physiology of chilling resistance in the flowering stage under low temperature stress [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(4): 81-94.
- [30] 王兴, 于晶, 杨阳, 等. 低温条件下不同抗寒性冬小麦内源激素的变化[J]. 麦类作物学报, 2009, 29(5): 827-831.
- WANG X, YU J, YANG Y, *et al.* Changes of endogenous hormones of winter wheat varieties with different cold-resistances under low temperature[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2009, 29(5): 827-831.
- [31] 刘世红, 倪书邦, 魏丽萍, 等. 油棕抗寒性与内源激素的关系[J]. 中国农学通报, 2015, 31(21): 144-148.
- LIU SH H, NI SH B, WEI L P, *et al.* Relationship between cold-resistance and endogenous hormone in oil palm [J]. *China Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(21): 144-148.
- [32] 李翊华. 百合鳞茎低温解除休眠过程中内源激素的变化研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2010.
- LI Y H. Studies on endogenous hormones changes of lily bulb stored at different cold temperatures for breaking dormancy[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2010.
- [33] 阎世江, 刘洁, 张继宁, 等. 低温对黄瓜几种内源激素含量的影响[J]. 河北科技师范学院学报, 2012, 26(2): 26-30.
- YAN SH J, LIU J, ZHANG J N, *et al.* Analysis on correlation between grape cold resistance and sugar and endogenous hormone accumulation in phloem [J]. *Journal of Hebei Normal University of Science & Technology*, 2012, 26(2): 26-30.

Correlation on Grape Cold Tolerance, Ddissoluble Sugar and Accumulation of Endogenous Hormones in Phloem

WEI Xiaxia¹, LI Yumei¹, LI Yanbiao¹, GUO Yanlan², JIA Jin³,
MA Zonghuan¹, MAO Juan¹ and CHEN Baihong¹

(1. College of Horticulture, Gansu Agriculture University, Lanzhou 730070, China; 2. Wuwei Academy of Forestry Sciences, Wuwei Gansu 733000, China; 3. Gansu Chateau Hongqiao Wine Co. Ltd, Zhangye Gansu 734200, China)

Abstract Under field condition, five cold-resistant grape varieties were used as materials, five cold-resistant grape varieties were ranked by use of cold tolerance evaluation model, and the content of soluble sugars and endogenous hormones in the bast of branches during the different periods were determined by high-performance liquid chromatography. The results showed that the cold resistance order of the five grape varieties: ‘Zuoshan 1’ > ‘101-14’ > ‘3309C’ > ‘SO4’ > ‘Pinot Noir’. In addition, we found that the sucrose, fructose, glucose, and ABA(Absciscic acid) contents of the five grape varieties were significantly or strongly correlated with their cold hardiness when samples were collected on October 19 and November 12($r=0.908-0.965$), and the correlation coefficients during these periods were higher than those before September 25. Except for ‘3309C’, IAA(Auxin) and GA₃(Gibberellic acid) were at lower level in the higher cold-resistant varieties. In addition, there was a significant or extremely significant negative correlation between the cold hardiness coefficient and the content of the two hormones in branches after September 1, which reached maximum of 0.913 and 0.985 on October 19, respectively. This study indicated that high levels of sucrose, glucose, fructose, and ABA and low levels of GA₃ and IAA can improve the cold resistance of grapes during the later stages of branch development. Furthermore, in terms of the cold resistance of grapes, the sucrose, glucose, ABA, and GA₃ respond more effectively than the fructose and IAA.

Key words Grape; Cold resistance; Correlation analysis; Soluble sugar; Endogenous hormones

Received 2020-08-15

Returned 2020-11-30

Foundation item Special Project of Wine Development of Gansu Province(No. 039-041006); Major Project of Science and Technology of Gansu Province(No. 18ZD2NA006); Modern Fruit Industry System of Gansu Province(No. GARS-SG-1); Gansu Innovation Base and Talent Planning Project(No. 18JR2TH001).

First author WEI Xiaxia, female, master student. Research area: stress physiology and growth regulation of fruit trees. E-mail: 2366467517@qq.com

Corresponding author CHEN Baihong, male, Ph. D, professor. Research area: stress physiology and growth regulation of fruit trees. E-mail: bhch@gsau.edu.cn

(责任编辑: 史亚歌 Responsible editor: SHI Yage)