

低温胁迫下 贝达 和 赤霞珠 葡萄不同组织糖含量及细胞结构的变化

姜寒玉¹, 雷天翔², 李 唯^{1*}, 何百鏊³

(¹甘肃农业大学生命科学技术学院, 兰州 730070; ²中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008;

³甘肃紫轩酒业公司, 甘肃嘉峪关 735100)

摘要:【目的】比较低温胁迫下 贝达 和 赤霞珠 葡萄不同组织糖含量及细胞结构的变化。【方法】以抗寒砧木 贝达 和低温敏感品种 赤霞珠 盆栽苗为试验材料, 采用低温处理的方法, 研究了两个葡萄品种在低温胁迫下不同组织糖含量、茎段解剖和超微结构的变化。【结果】2 个品种受到低温胁迫时能通过快速提高蔗糖含量来适应外界低温。各器官对低温胁迫的敏感性不同, 叶片通过提高碳水化合物含量对低温胁迫迅速响应, 其次为茎段, 根部最为迟缓。从茎段的解剖结构变化来看, 贝达 细胞小、层数多, 角质层厚, 在低温胁迫下淀粉粒积累早、数量多, 而 赤霞珠 细胞大。层数少, 角质层薄, 在低温胁迫下淀粉积累晚、数量少; 从茎段细胞的超微结构变化来看, 低温胁迫对 赤霞珠 细胞损伤更为严重, 胁迫至 6 d, 叶绿体双层膜破裂, 部分叶绿体的类囊体解体松散, 细胞器降解。贝达 部分细胞质中亦发现一定数目呈同心圆排列的多层膜结构。【结论】抗寒砧木 贝达 茎段在低温逆境下的解剖及超微结构与低温敏感品种 赤霞珠 存在明显差异, 同时各器官对低温的糖积累响应亦有不同, 研究结果为不同葡萄品种间的抗寒性差异提供了细胞学证据。

关键词: 葡萄; 低温胁迫; 解剖结构; 超微结构; 糖含量

中图分类号: S663.1 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2015)04-0604-08

Changes of sugar contents in different tissues and cell structure in two grape (*Vitis vinifera* L.) varieties under low temperature stress

JIANG Hanyu¹, LEI Tianxiang², LI Wei^{1*}, HE Baijun³

(¹College of Life Sciences and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China; ²Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences Xining 810008 Qinghai, China; ³Gansu Zixuan Winery Co., Jiayuguan 735100, Gansu, China)

Abstract: 【Objective】To study the changes of sugar contents in different tissues and cell structure of two grape varieties with different cold-resistance under cold stress. 【Methods】The pot-cultured cuttings of Beta which is usually utilized as rootstock with cold-resistance and Cabernet Sauvignon that is one of the wine grapes with low-temperature sensitivity were used as experimental materials. The changes of soluble sugar content, stem anatomic structure and ultra-structure of wine grape organ under low temperatures were investigated. 【Results】Beta and Cabernet Sauvignon adapted to low temperature by increasing sucrose contents. The response of the soluble sugar to low temperatures occurred in leaves first, then in stems, and in roots finally. On the anatomic structure of stems, Beta had smaller cell, more cell layers and thicker cuticles, and the starch accumulated earlier and more. However, Cabernet Sauvignon had larger cell, fewer cell layers and thinner cuticles, and the starch accumulated later and less. On the ultrastructure of stems cell, with the increasing of stress duration, Cabernet Sauvignon stem cells suffered more seriously. The chloroplast membrane of Cabernet Sauvignon was broken and the par-

收稿日期: 2014-12-04 接受日期: 2015-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360298); 甘肃省农牧厅项目(GNSW-2010-16, GNSW-2014-12)

作者简介: 姜寒玉, 女, 讲师, 博士, 从事作物生态生理研究。Tel: 13919452773, E-mail: jianghy@gsau.edu.cn

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 13919332805, E-mail: liwei@gsau.edu.cn

tial chloroplast thylakoid disintegrated and loosed after 6 d low temperature stress. And some organelles degraded. Multi-membrane structure arranged like concentric circles were found in cytoplasm of partial Beta cell.【Conclusion】In short ,there was obvious difference in anatomic structure and ultrastructure between Beta and Cabernet Sauvignon under low temperatures ,and the physiological response in soluble sugar accumulation of different organ was different as well ,which provided the cell evidence for the cold-resistance difference among different grape varieties.

Key words: Grape ;Cold temperature stress ;Anatomic structure ;Ultra-structure ;Sugar content

葡萄(*Vitis vinifera* L.)是我国北方重要的果树,其中北纬 $36^{\circ} \sim 42^{\circ}$ 的西北地区因光照充足,昼夜温差大等气候优势,是我国主要的葡萄生产带。然而该区域因冬季气温过低(较长时间持续 -20°C 左右)和春季晚霜,葡萄常遭受不同程度的低温伤害。采用冬季下架埋土、春季出土的栽培方式能够避免葡萄遭受低温伤害,但是既费时费工又存在嫁接亲和力的问题。因此低温已成为葡萄进行商品化栽培的主要限制因子。

有研究指出,可溶性糖能够影响植物组织对低温的敏感性^[1]。其中蔗糖是高等植物重要的渗透调节物质^[2],较高的蔗糖含量与植物抗寒性有着密切的关系^[3]。葡萄糖和果糖含量也能够低温条件下快速累积^[4]。目前,对低温胁迫下可溶性糖积累和转化的研究多集中在单一组织或器官中^[5-7],不同组织内糖含量变化的研究较少,葡萄不同组织糖含量对低温胁迫的响应尚未完全明确。低温对植物超微结构的影响亦多有报道。抗寒性强的品种在冷害条件下其细胞器和膜结构的稳定性高,即细胞器结构及其破坏程度较低,反之亦然^[8]。有关低温胁迫对葡萄组织结构影响的研究已有较多报道^[9-12],但多集中在对叶片及根系的研究。枝条是葡萄埋土越冬阶段的主要器官,研究其超微结构特征与抗寒性的关系尤为重要。

贝达 葡萄枝条能够在北方地区 -20°C 的低温条件下露地安全越冬,而 赤霞珠 优良酿酒葡萄品种则需埋土越冬,因此不同葡萄品种在抗寒机制上必定存在多种差异。近年来,通过对河西走廊嘉峪关地区山葡萄及酿酒葡萄枝条在低温胁迫下的相关生理生化代谢进行系统分析,发现抗寒性不同的品种对低温的生理响应程度各异^[13-14],但未涉及枝条的组织结构差异。基于此,试验选用河西走廊嘉峪关葡萄基地种植的2种抗寒性不同的品种 贝达 和 赤霞珠,检测了2者在低温胁迫下各器官可溶性糖含量和茎段超微结构的变化,以明确不同器官可溶性糖的含量对低温的响应及不同抗寒葡萄品种细

胞结构的差异,旨在为葡萄引种、实现露地越冬提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试材取样

试验于2013年4月进行,以抗寒砧木 贝达 和低温敏感型品种 赤霞珠 为材料。取自甘肃省嘉峪关市紫轩酒业的葡萄种植基地。选取1 a(年)生健康枝条扦插生苗。待扦插苗长有6~8片叶时,选择生长健壮、长势一致的葡萄小苗进行低温处理。

1.2 试验方法

低温处理组的葡萄小苗放置在可控温的光照培养箱中进行低温驯化,待温度逐渐降至 4°C 后恒温,分别放置2、4、6 d,对照组葡萄小苗为 25°C 恒温培养。2组材料均每日光照 16 h ($200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 黑暗 8 h 。处理结束后将上述处理材料一部分剪取2个品种的根、茎、叶,测定蔗糖、葡萄糖和果糖含量,每个试验3次重复,求其平均值进行方差分析;另一部分剪取茎段,进行扫描电镜和透射电镜观察。取处理材料基部起第2节茎段,用刀片将其切成 $2\text{ mm}\times 2\text{ mm}$ 的小块。将切好的材料迅速投入用 $\text{pH } 7.2$ 的磷酸缓冲溶液配置的5%戊二醛固定液中固定 24 h 以上,移入1%的钨酸再固定,经缓冲液多次洗涤后,梯度乙醇脱水,Epon812环氧树脂包埋,超薄切片,用醋酸铀和柠檬酸铅双重染色制片,在TEM-1230 JEOL型透射电子显微镜下观察与照相。

将上述切好的材料用3%的戊二醇固定 12 h 后,系列酒精脱水,每次 10 min , CO_2 临界点干燥器干燥,离子喷射镀金后,在JSM-6380 JEOL型扫描电子显微镜下观察与照相。

可溶性糖含量测定均参照蔡武城等^[15]的方法并加以改进。蔗糖含量测定采用Roe比色法,果糖含量测定为钼酸铵比色法,葡萄糖含量测定为分光光度法。试验数据采用SPSS10.0软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 低温对两个葡萄品种不同组织中可溶性糖含量的影响

由表1可知,两个葡萄品种根、茎、叶中的蔗糖含量(ω ,以鲜质量计)均随着低温胁迫时间的延长而逐渐升高。贝达 低温胁迫至4 d和6 d 根的蔗糖含量较胁迫2 d显著升高,茎中含量在胁迫过程中显著升高,至6 d达到最高为12.49 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,叶片含量则

在低温胁迫4 d后降至最低,为12.80 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,又在胁迫6 d后升至最高,达24.53 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。赤霞珠 根的蔗糖含量在胁迫至4 d时无显著变化,在胁迫6 d后显著升至最高,达10.12 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,但整个胁迫过程的含量始终低于 贝达。茎、叶片中蔗糖含量的变化均表现为随胁迫时间延长呈显著升高趋势,至胁迫6 d时升至最高。此外,两个葡萄品种在同一胁迫时间下叶片中的蔗糖积累均显著高于根茎。

贝达 根和茎的果糖含量在胁迫4 d达到最高,

表1 不同低温胁迫时间对 贝达 和 赤霞珠 可溶性糖含量的影响

Table 1 Changes of soluble sugar content of Beta and Cabernet Sauvignon under different low temperature stress duration

糖类	器官	贝达 Beta				赤霞珠 Cabernet sauvignon			
		0 d	2 d	4 d	6 d	0 d	2 d	4 d	6 d
蔗糖 Sucrose	根 Root	4.76±0.16 Be/Bb	6.04±0.22 Bb/Bb	12.28±0.41 Aa/Aa	12.79±0.45 Aa/Bb	3.11±0.20 Bb/ Bb	4.06±0.23 Bb/Cc	3.04±0.29 Bb/Cc	10.12±0.77 Aa/Bb
	茎 Stem	3.87±0.16 Dd/Be	5.91±0.25 Cc/Bb	8.97±0.42 Bb/Bb	12.49±0.24 Aa/Bb	6.42±0.20 Cd/Bb	7.82±0.49 Cc/Bb	9.16±0.35 Bb/Bb	12.66±0.30 Aa/Bb
	叶 Leave	13.18±0.46 Cc/Aa	16.56±0.38 Bb/Aa	12.80±0.23 Cc/Aa	24.53±0.54 Aa/Aa	11.26±0.57 Dd/Aa	13.6±2.22 Cc/Aa	17.83±0.57 Bb/Aa	25.80±0.48 Aa/Aa
果糖 Fructose	根 Root	7.82±0.47 Bb/Bb	7.40±0.68 Bb/Cb	11.07±0.48 Aa/Bb	7.82±0.75 Bb/Cc	3.24±0.35 Bbc/Bb	5.41±0.33 Aa/Cc	3.83±0.63 ABb/Cc	2.37±0.21 Bc/Cc
	茎 Stem	4.05±0.27 Ab/Cc	8.66±0.96 Aab/Bb	14.88±4.19 Aa /Aa	14.11±0.43 Aa/Bb	8.66±0.71 ABa/Bb	6.24±0.49 Bb/Bb	8.98±0.61 ABa/Bb	9.78±0.59 Ba/Bb
	叶 Leave	17.26±0.26 Cc/Aa	27.01±0.78 Bb/Aa	14.01±0.68 Dd/Aa	40.64±0.78 Aa/Aa	15.26±0.58 Cc/Aa	23.45±0.48 Bb/Aa	32.67±1.09 Aa/Aa	32.68±0.79 Aa/Aa
葡萄糖 Glucose	根 Root	0.86±0.18 BCb/b	0.35±0.04 Cb/Bc	1.53±0.18 ABa/b	1.84±0.29 Aa/Bb	0.43±0.05 Bb/Cc	0.81±0.36 ABb/Bb	0.49±0.18 Bb/Cc	1.69±0.21 Aa/Bc
	茎 Stem	1.12±0.24 Ab/a	1.47±0.20 Ab/Ab	2.88±0.17 Aa/a	3.51±0.18 Aa/Aa	7.61±0.18 Bb/Aa	8.85±0.21 Aa/Aa	5.78±0.29 Cc/Bb	3.61±0.39 Dd/Bb
	叶 Leave	0.76±0.24 Be/b	2.16±0.26 ABb/Aa	1.79±0.32 Bb/b	3.24±0.30 Aa/Aa	3.82±0.19 Dd/Bb	7.34±0.18 Cc/Aa	17.77±0.53 Aa/Aa	9.83±0.20 Bb/Aa

注:表中数据后的大写字母表示 $P=0.01$ 水平上差异显著,小写字母表示 $P=0.05$ 水平上差异显著; / 右面的字母为同一品种、相同低温处理不同组织器官的糖含量的Duncan 新复极差分析, / 的左边字母为同一品种、相同组织器官不同低温处理下的糖含量的Duncan 新复极差分析。

Note: The different capital and small letters indicate significances at 0.01, 0.05 level respectively. The letters at the right of / represent the Duncan s new multiple range analysis of sugar contents of the same grape cultivar ,same low-temperature treatment and different tissues ;the left of / show the analysis of sugar contents of the same grape cultivar ,same tissues and different low-temperature temperature.

分别为11.07、14.88 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,之前含量差异不显著。叶片中含量在胁迫4 d时降至最低,胁迫6 d后升至最高,达40.64 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。赤霞珠 根在胁迫2 d时果糖含量升至最高,而茎降至最低,叶片中含量在胁迫4 d后显著增加。此外,同蔗糖变化一致,两个葡萄品种在同一胁迫时间下叶片中果糖积累较根茎显著升高。

两个葡萄品种不同器官中葡萄糖的含量存在明显差异。贝达 植株根和茎中葡萄糖的含量均在胁迫4 d后显著升高,叶片则在胁迫6 d后显著升至最高,达3.24 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。赤霞珠 不同器官的葡萄糖含量变化差异较大,根在胁迫6 d后显著升至最高,达1.69 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,而茎和叶片分别在胁迫2 d和4 d后显著升至最高,为8.85、17.77 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。此外,贝达 在同一胁迫时间下茎段的葡萄糖积累显著高于根和叶,而 赤霞珠 则表现为低温胁迫下叶的积累显著高于根茎。

2.2 低温胁迫对葡萄茎段解剖结构特征的影响

扫描电镜观察结果表明:

(1)25 $^{\circ}\text{C}$ 对照 贝达 和 赤霞珠 茎段解剖结构

存在明显差异。耐冻性砧木 贝达 皮层约有13~15层细胞,细胞小且排列紧密(图版 I-a),而低温敏感品种 赤霞珠 则有7~9层细胞,细胞大且排列疏松(图版 I-b); 贝达 木质部周围薄壁细胞含有丰富的淀粉粒(图版 I-c),且韧皮部和髓部的淀粉粒含量丰富(图版 I-d, e),但 赤霞珠 仅木质部薄壁细胞有极少量淀粉粒积累(图版 I-f),其余薄壁组织细胞几乎无淀粉粒积累(图版 I-g); 贝达 茎段导管内未见侵填体,而 赤霞珠 导管内有侵填体存在(图版 I-h)。

(2)低温胁迫至2 d, 贝达 和 赤霞珠 淀粉粒数量发生了较为明显的变化, 贝达 随着胁迫时间的延长,木质部和髓部薄壁细胞内淀粉含量逐渐丰富(图版 I-i, j),而 赤霞珠 淀粉粒数目也开始积累(图版 I-k),同时可见侵填体的数目增加,前者淀粉粒的积累明显较多。

(3)低温胁迫至4 d,砧木 贝达 和 赤霞珠 淀粉粒数目继续累积, 贝达 髓部薄壁细胞可见大量的淀粉粒,并开始出现侵填体(图版 I-l), 赤霞珠 较处理2 d相比,在韧皮部可见数量增多的淀粉粒和

侵填体(图版 I-m)。与低温 2 d 处理相比两个品种的淀粉粒和侵填体的数目均有一定程度的增加。

(4)低温胁迫至 6 d,与上述处理时间相比,贝达和赤霞珠淀粉粒数量迅速减少,但前者水解的较为彻底(图版 I-n),赤霞珠在木质部尚可见部分淀粉粒的出现及大量侵填体(图版 I-o)。

2.3 低温胁迫对葡萄茎段超微结构的影响

透射电镜观察结果表明:

(1)对照 25 ℃两个葡萄品种茎段细胞结构完好。在电镜下,叶绿体和线粒体是最清晰可见的细胞器,叶绿体在一个细胞内的数量有 3~5 个,贴细胞膜排列,形状大致呈纺锤形,内部类囊体片层结构排列整齐,较为清晰,基质内可见一定数量的淀粉粒。同时叶绿体和线粒体位置靠近,线粒体呈圆形或椭圆形(图版 II-a~c)。

(2)低温胁迫至 2 d 2 个品种茎段细胞内多数细胞器基本无损,叶绿体和线粒体膜完整。其中赤霞珠的部分叶绿体类囊体片层结构模糊不清,形状出现不规则的纺锤形,膜发生部分凹陷,依旧可见一定数目的淀粉粒(图版 II-d),线粒体形状没有发生明显变化,且数量较多。

(3)低温胁迫至 4 d 2 个品种茎段细胞内细胞器均发生一定程度的肿胀,二者相较具有明显的差异。其中贝达的部分细胞内叶绿体离壁居中并发生肿胀,且含有大量淀粉粒,基粒片层模糊不清,线粒体亦发生肿胀,内部无法辨认(图版 II-e~g)。而赤霞珠叶绿体双层膜消失,结构发生严重变形,基粒片层数目减少,模糊不清,甚至排列紊乱,扭曲变形松散,部分细胞出现叶绿体吞噬线粒体的现象,线粒体内部可见空泡现象(图版 II-h~k)。

(4)低温胁迫至 6 d 2 个品种茎段细胞内细胞器均受到较为严重的破坏,赤霞珠变化尤为明显。

贝达细胞内出现数目较多的囊泡,叶绿体肿胀且片层模糊,同时部分细胞质内出现同心圆状的多层膜结构,淀粉粒数量减少,嗜锲颗粒增加(图版 II-l~n)。而赤霞珠细胞内细胞器破坏严重,叶绿体双层膜破裂,并出现空泡现象,甚至有部分叶绿体基质类囊体和基粒类囊体完全解体松散,细胞器完全降解,分布有残片及颗粒,难于辨认(图版 II-o~r)。

3 讨论

3.1 葡萄各器官中糖积累对低温胁迫的响应

抗冻砧木贝达和低温敏感品种赤霞珠在低温胁迫 2~6 d 中各器官的蔗糖含量均快速增加,尤

以叶片累积最为显著,说明其在低温胁迫时能通过快速提高蔗糖含量来适应外界低温。果糖和葡萄糖含量的变化在不同组织中差异较大,但在胁迫的 4、6 d 均为叶片中的 3 个可溶性糖含量积累最高,说明各器官对低温胁迫的敏感性不同,叶片通过提高碳水化合物含量对低温胁迫迅速响应,其次为茎段,根部最为迟缓。由此可知,在葡萄落叶后的低温越冬和埋土阶段,茎段是低温响应的主要器官。葡萄通过快速积累蔗糖含量来适应低温逆境的低温响应形式与番茄^[16]、黄瓜^[17]、水稻^[18]、高羊茅^[19]等作物类似。但是也有报道指出,有些作物是通过碳水化合物含量的降低来响应低温的^[20-22],如薄皮甜瓜在低温处理后果实中的可溶性糖含量降低^[23]。由此说明不同作物或不同器官的糖代谢对低温胁迫的反应机制各异。

3.2 低温胁迫对葡萄茎段解剖结构特征的影响

有研究者将细胞大小、组织紧密度等作为抗寒性鉴定的一个形态结构指标^[10]。本研究中两个葡萄品种的茎段解剖结构在低温胁迫下存在明显差异。抗寒性强的贝达砧木细胞小,层数多,角质层厚,而抗寒性差的赤霞珠细胞大,层数少,角质层薄。可见,抗寒性不同的两个葡萄品种在茎段的解剖结构上具有明显差异。

有研究发现低温逆境下淀粉粒可转化为可溶性糖,从而增加植株对低温的耐受性^[5]。本研究中两个葡萄品种在低温胁迫过程中淀粉粒的数量、分布及转化规律具有明显差异,贝达淀粉粒积累早、数量多,胁迫至 6 d 后,水解迅速、彻底;赤霞珠淀粉积累晚、数量少,胁迫至 4 d 后,开始缓慢水解,至 6 d 后,部分区域尚有一定数量的淀粉粒存在。葡萄低温条件下淀粉粒降解的这一现象与王丽雪等^[24]的观察结果一致。同时,淀粉粒的这一转化规律与上述茎段中糖含量的变化相吻合,随着胁迫时间的延长,糖含量逐渐增加,而茎段中淀粉粒的数量逐渐降低,反映了葡萄幼苗通过淀粉粒降解对低温胁迫做出积极响应。

3.3 低温胁迫对葡萄茎段超微结构的影响

有研究指出叶绿体和线粒体的距离很近能够缩短代谢物质、能量的运输和交换距离,加快同化和异化速度,从而适应低温逆境^[25]。低温处理 2 d 后,两个葡萄品种茎段细胞内多数细胞器基本无损,叶绿体和线粒体数量较多,形状未发生明显变化,两个细胞器位置靠近。可见低温处理 2 d 时,无论是砧木还是酿酒葡萄幼苗均可适应适度低温。处理 4 d 后,

赤霞珠较贝达细胞器变化更为明显,说明此时赤霞珠茎段细胞的内部结构已经受到低温伤害。处理6 d后,两个品种细胞内均发生了较为明显的变化,赤霞珠小苗伤害尤为严重。说明赤霞珠在胁迫6 d时受到严重寒害,甚至丧失正常的光合作用和生理代谢功能。两个葡萄品种发生低温胁迫时,最先受到伤害且较为严重的细胞器是叶绿体,随着胁迫程度的增加,其结构发生了一系列变化。此结果与研究青藏高原高山植物超微结构的结论一致^[26]。在低温胁迫初期,两个品种的叶绿体形态均产生肿胀,类囊体片层疏松,叶绿体膜发生一定程度的凹陷或突起。Kratsch等^[27]推测叶绿体基质膨胀的可能原因是叶绿体中淀粉降解酶在低温下仍保持稳定,当叶绿体光合作用产物输出减少时,该酶分解淀粉产生的可溶性糖含量的增加导致叶绿体基质水势降低而吸水膨胀。叶绿体膜在低温胁迫下的凹陷或突起,这一现象在高山地区生长的匍匐水杨梅^[28]和山蓼^[29]的叶肉细胞中被观察到,并且与线粒体在空间上紧密相联,研究者认为这种结构特征有利于代谢过程中的物质交换,与适应北极低温环境有密切关系。

淀粉粒作为贮藏物质,当植物受到低温胁迫时,可以转化为可溶性糖,从而缓解类囊体的解体^[30],说明叶绿体中淀粉粒的储存和消耗对于提高植物的抗寒能力具有关键的调节作用。贝达叶绿体内淀粉粒的储存多于赤霞珠,但随着低温胁迫时间的延长,淀粉粒的数量持续增加,直至胁迫6 d后,淀粉粒迅速水解,嗜饿颗粒增加。研究指出葡萄在越冬期间淀粉的积累转化会影响其抗寒力,是鉴定品种抗寒力的重要指标之一^[24]。此外,贝达在低温胁迫6 d后,部分细胞质中发现了一定数目呈同心圆排列的多层膜结构(图版II-1),这一特殊结构在抗寒常绿阔叶植物的冬季叶肉细胞中也被发现^[31],这些复杂的多层膜结构与植物对低温逆境的适应性有何种关系还有待进一步研究。

4 结 论

抗寒性砧木贝达和低温敏感品种赤霞珠幼苗受到低温胁迫时均通过快速提高蔗糖含量来适应外界低温。叶片通过提高碳水化合物含量对低温胁迫迅速响应,其次为茎段,根部最为迟缓。贝达较赤霞珠具有细胞小、层数多、角质层厚等解剖结构特点,随着低温胁迫的加剧,淀粉粒积累早且数量多。从超微结构来看,贝达叶绿体和线粒体在低

温下表现出一定的耐受性,赤霞珠细胞器受损更为严重,胁迫至6 d后细胞器解体松散,甚至完全降解。本试验探讨了两个葡萄品种不同组织器官在低温逆境下可溶性糖含量的和茎段解剖、超微结构的变化,为不同葡萄品种的抗寒性差异提供了细胞学证据。

参考文献 References:

- [1] SHAO H B, CHU L Y, LU Z H, KANG C M. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells[J]. International Journal of Biological Sciences, 2008, 4: 8-14.
- [2] UEMURA M, STEPONKUS P L. Modification of the intracellular sugar content alters the incidence of freeze-induced membrane lesions of protoplasts isolated from Arabidopsis thaliana leaves[J]. Plant Cell Environment, 2003, 26: 1083-1096.
- [3] SHU H M, ZHOU Z G, XU N Y, WANG Y H, ZHENG M. Sucrose metabolism in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fiber under low temperature during fiber development[J]. European Journal of Agronomy, 2009, 31: 61-68.
- [4] GILL P K, SHARMA A D, SINGH P, BHULLAR S S. Changes in germination, growth and soluble sugar contents of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds under various abiotic stresses[J]. Plant Growth Regulation, 2003, 40: 157-162.
- [5] ASHWORTH E N, STIRM V E, VOLENCE J J. Seasonal variations in soluble sugars and starch within woody stems of *Cornus sericea* L[J]. Tree Physiology, 1993, 13: 379-388.
- [6] GUY C L, HUBER J L A, HUBER S C. Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature[J]. Plant Physiology, 1992, 100: 502-508.
- [7] MALONE J G, MITTOVA V, RATCLIFFE R G, KRUGER N J. The response of carbohydrate metabolism in potato tubers to low temperature[J]. Plant Cell Physiology, 2006, 47:1309-1322.
- [8] JIAN Lingcheng. Advance of the studies on the mechanism of plant cold hardiness[J]. Chinese Bulletin of Botany, 1992(3): 17-12.
简令成. 植物抗寒机理研究的新进展[J]. 植物学通报, 1992(3): 17-12.
- [9] LI Rongfu, WANG Lixue. Effect of chilling stress on ultrastructure of root and leaf cells in grape[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1996, 11(4): 109-113.
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.
- [10] GUO Xiuyu, FU Wangheng, WANG Guangjie. Studies on cold hardness of grape roots[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1989, 16(1): 17-22.
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.
- [11] HASLER M, RUFFNER H P, RAST D M. Ultrastructure of grape leaf protoplasts in comparison with the source tissue[J]. Vitis, 1983, 22: 193-201.
- [12] FU Xiaowei, ZHANG Qian, LIU Chunhui, FAN Xiucui, JIANG Jianfu, GUO Dalong, CAO Yaping. Index for the evaluation of grape root cold-resistance[J]. Journal of Fruit Science, 2014,

- 31(1): 52-59.
付晓伟, 张倩, 刘崇怀, 樊秀彩, 姜建福, 郭大龙, 曹亚平. 评价葡萄根系抗寒性指标的确定[J]. 果树学报, 2014, 31(1): 52-59.
- [13] LU Jinxing, JIANG Hanyu, LI Wei. Effects of low temperature stress on the cold resistance of rootstock and branch of wine grapes[J]. Journal of Fruit Science, 2012, 29(6): 1040-1046.
鲁金星, 姜寒玉, 李唯. 低温胁迫对砧木及酿酒葡萄枝条抗寒性的影响[J]. 果树学报, 2012, 29(6): 1040-1046.
- [14] JIANG H Y, LI W, HE B J, GAO Y H, LU J X. Sucrose metabolism in grape (*Vitis vinifera* L.) branches under low temperature during over-wintering covered with soil[J]. Plant Growth Regulation, 2014, 72(3): 229-238.
- [15] CAI Wucheng, YUAN Houji. Chemical analysis method of biological substance[M]. Beijing: Science Press, 1982.
蔡武城, 袁厚积. 生物物质常用化学分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1982.
- [16] QI Hongyan, JIANG Yanyan, HUA Lijing. Responses to short-term low night temperature of sucrose-metabolizing in domesticated tomato and wild relative[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(2): 281-288.
齐红岩, 姜岩岩, 华利静. 短期夜间低温对栽培番茄和野生番茄果实蔗糖代谢的影响[J]. 园艺学报, 2012, 39(2): 281-288.
- [17] YUAN Wei. Effects of sub-low temperature on growth and products of cucumber in greenhouse[D]. Yangzhou: Yang Zhou University, 2004.
袁伟. 亚低温对温室黄瓜生长发育及产量的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2004.
- [18] WANG Guoli, GUO Zhenfei. Responses of enzyme activities in carbon metabolism to chilling stress in rice with different chilling tolerance[J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(7): 1197-1200.
王国莉, 郭振飞. 水稻不同耐冷品种碳代谢有关酶活性对冷害的响应[J]. 作物学报, 2007, 33(7): 1197-1200.
- [19] WANG Shizhen, CAI Qingsheng. Sucrose phosphate synthetase and sucrose synthetase activities to the different parts of tall fescue in low temperatures[J]. Acta Agrestia Sinica, 2004, 12(2): 129-131.
王世珍, 蔡庆生. 高羊茅蔗糖合成能力在低温锻炼下的部位差异[J]. 草地学报, 2004, 12(2): 129-131.
- [20] QIU Wenwei, ZHANG Guanglun, ZHANG Song. Advances in research on sugar metabolism and its ecological control in citrus et al fruit[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2005, 23(1): 114-119.
邱文伟, 张光伦, 张嵩. 柑橘等果实糖代谢及其生态调控研究进展[J]. 四川农业大学学报, 2005, 23(1): 114-119.
- [21] ZHANG Yu, CHEN Kunsong, ZHANG Shanglong, WANG Jianhua. Sugar metabolism and its regulation in postharvest ripening kiwifruit[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2004, 30(3): 317-324.
张玉, 陈昆松, 张上隆, 王建华. 猕猴桃果实采后成熟过程中糖代谢及其调节[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(3): 317-324.
- [22] WANG Lijuan, LI Tianlai, QI Hongyan, ZHAO Mingxing, HAO Wenhui. Effects of long-term sub-low temperature on growth and development and dry matter distribution in tomato[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2006, 37(3): 300-303.
王丽娟, 李天来, 齐红岩, 赵明兴, 郝文辉. 长期夜间亚低温对番茄生长发育及光合产物分配的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(3): 300-303.
- [23] HAO Jinghong, LI Tianlai, MENG Sida, ZHAO Bo, SUN Liping. Effects of night low temperature on sugar accumulation and sugar-metabolizing enzyme activities in melon fruit[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(10): 3592-3599.
郝敬虹, 李天来, 孟思达, 赵博, 孙利萍. 夜间低温对薄皮甜瓜果实糖积累及代谢相关酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(10): 3592-3599.
- [24] WANG Lixue, ZHANG Furen, LI Rongfu, LIANG Yanrong, LIU Yan. The Morphologic characteristics of starch grain in grape shoots and its relationship to cold resistance[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2000, 27(2): 85-89.
王丽雪, 张福仁, 李荣富, 梁艳荣, 刘艳. 葡萄枝条中淀粉粒形态结构与抗寒力的关系[J]. 园艺学报, 2000, 27(2): 85-89.
- [25] WANG Xueying, ZHAO Qi, JIAO Yuxin. Microstructure and ultrastructure of four arctic angiosperm plant leaves[J]. Acta Agricultrae Boreali-Occidentalis Sinica, 2008, 28(10): 1989-1996.
王雪英, 赵琦, 焦雨歆. 4种北极被子植物叶片显微结构和超微结构研究[J]. 西北植物学报, 2008, 28(10): 1989-1996.
- [26] HE Tao, WU Xueming, JIA Jingfen. Research advances in morphology and anatomy of alpine plants growing in the Qinghai Tibet Plateau and their adaptations to environments[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(6): 2574-2583.
何涛, 吴学明, 贾敬芬. 青藏高原高山植物的形态和解剖结构及其对环境的适应性研究进展[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2574-2583.
- [27] KRATSCH H, WISE R R. The ultrastructure of chilling stress[J]. Plant Cell and Environment, 2000, 4: 337-350.
- [28] LBTZ C, ENGER L. Changes in chloroplast ultrastructure in some high alpine plants: adaptation to metabolic demands and climate[J]. Protoplasma, 2007, 4: 183-192.
- [29] HOLZINGER A, WASTENEYS G O, LBTZ C. Investigating cytoskeletal function in chloroplast protrusion formation in the arctic-alpine plant *Oxyria digyna*[J]. Plant Biology, 2007, 3: 400-410.
- [30] HE Tao, WU Xueming, ZHANG Gaina, WANG Xueren, JIA Jingfen. Characteristics of starch grains in chloroplast of five alpine plants[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2005, 26(6): 545-548.
何涛, 吴学明, 张改娜, 王学仁, 贾敬芬. 几种高山植物叶绿体淀粉粒的变化特征[J]. 武汉植物学研究, 2005, 26(6): 545-548.
- [31] GE Xiuxiu, FANG Kefeng, HAO Qiang, YU Jianjun, GUAN Xuelian. The mesophyll cell ultrastructural variations of four species in *Euonymus* with evergreen broad-leaf planted in northern China in winter[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2010, 29(2): 167-172.
葛秀秀, 房克凤, 郝强, 于建军, 关雪莲. 北方四种卫矛属常绿阔叶植物叶肉细胞超微结构在冬季的适应性变化[J]. 电子显微学报, 2010, 29(2): 167-172.

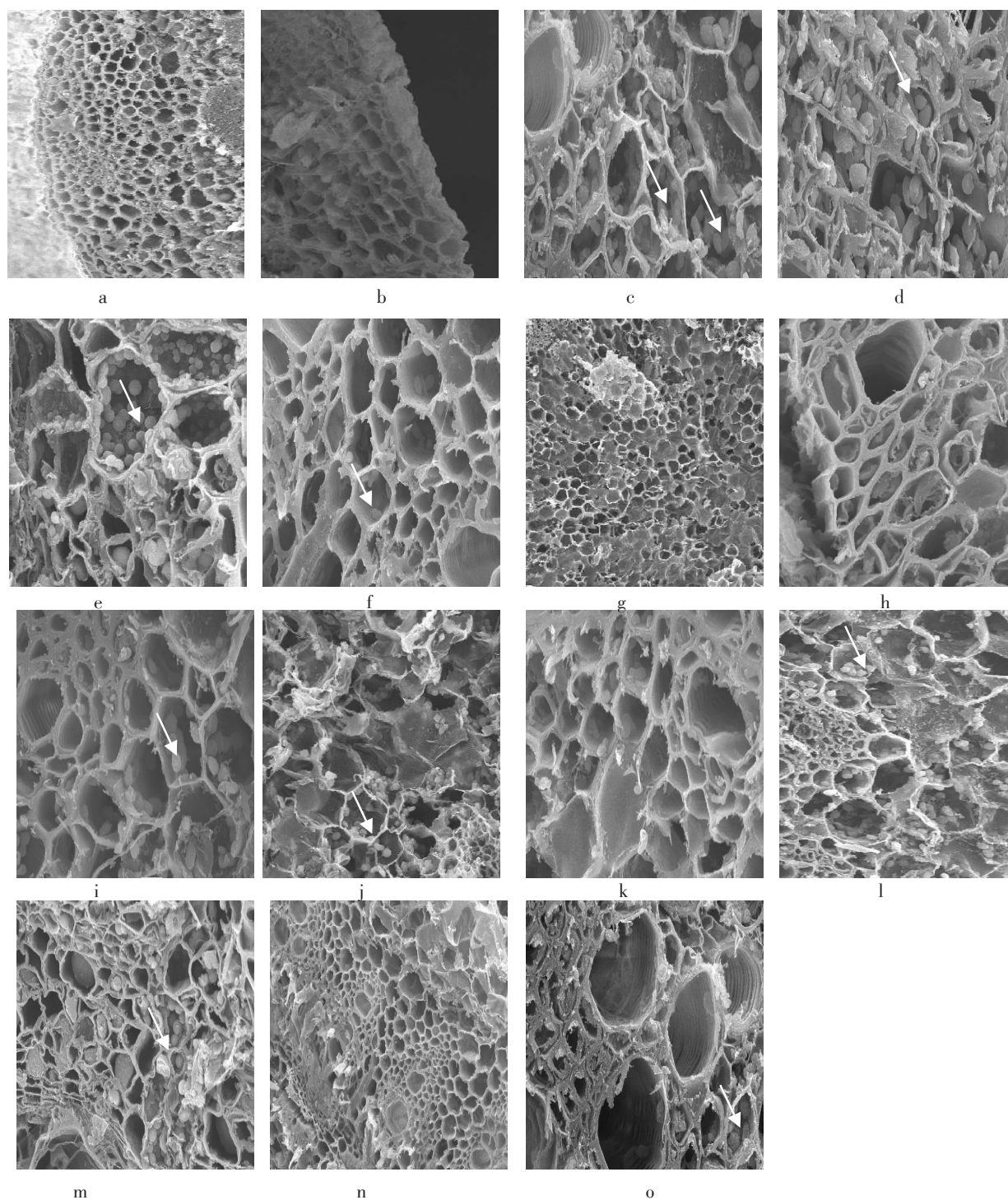
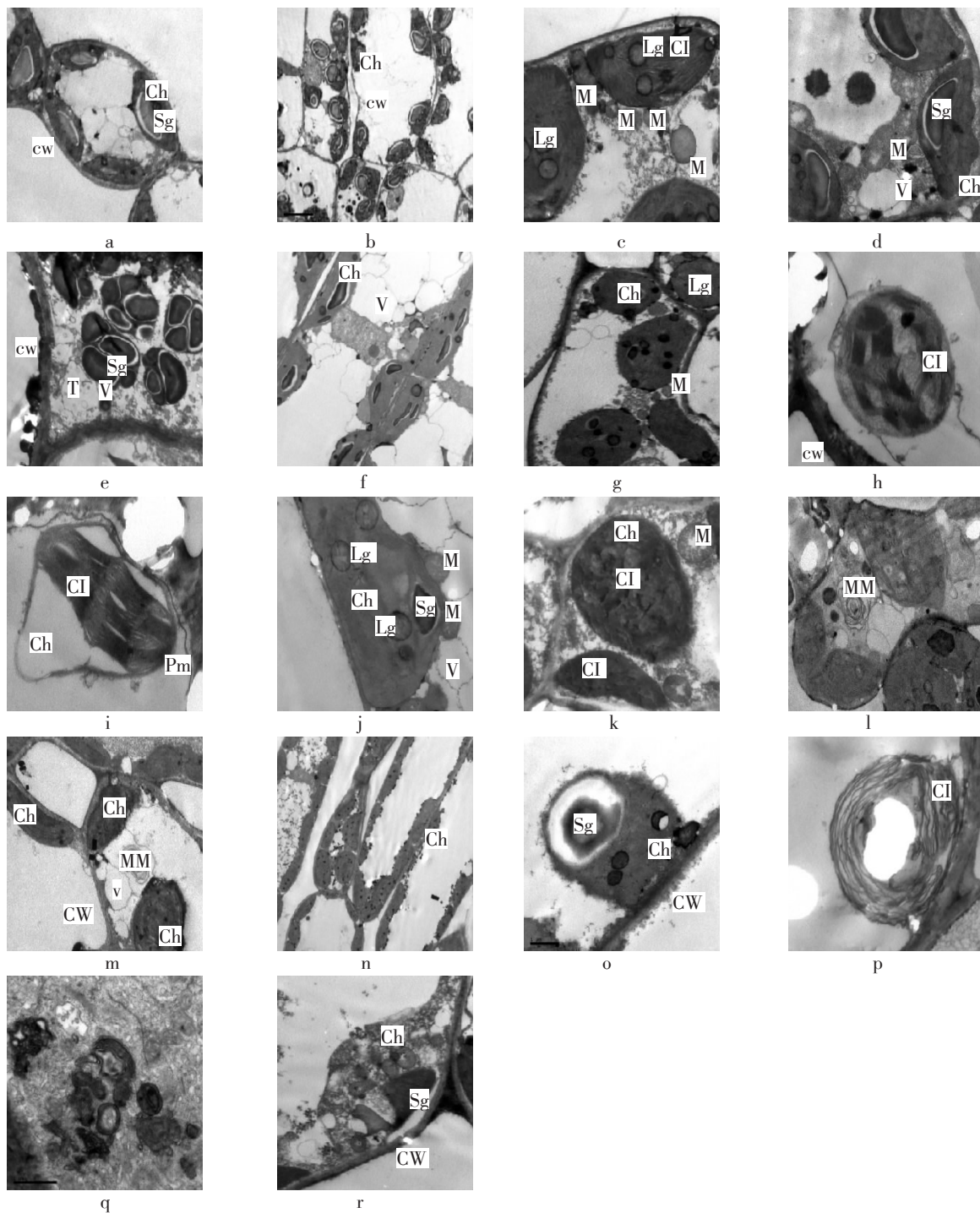


图 版 说 明

低温胁迫对葡萄茎解剖结构特征的影响(图中箭头所示为淀粉粒) a. 对照贝达皮层细胞($\times 200$); b. 对照赤霞珠皮层细胞($\times 200$); c. 对照贝达木质部淀粉粒($\times 1\ 000$); d. 对照贝达韧皮部淀粉粒($\times 1\ 000$); e. 对照贝达髓部淀粉粒($\times 1\ 000$); f. 对照赤霞珠木质部淀粉粒($\times 1\ 000$); g. 对照赤霞珠髓部淀粉粒($\times 300$); h. 对照赤霞珠侵填体($\times 1\ 000$); i. $4\ ^\circ\text{C}/2\ \text{d}$ 贝达木质部淀粉粒($\times 1\ 000$); j. $4\ ^\circ\text{C}/2\ \text{d}$ 贝达髓部淀粉粒($\times 300$); k. $4\ ^\circ\text{C}/2\ \text{d}$ 赤霞珠木质部淀粉粒($\times 1\ 000$); l. $4\ ^\circ\text{C}/4\ \text{d}$ 贝达侵填体及髓部淀粉粒($\times 300$); m. $4\ ^\circ\text{C}/4\ \text{d}$ 赤霞珠侵填体及韧皮部淀粉粒($\times 1\ 000$); n. $4\ ^\circ\text{C}/6\ \text{d}$ 贝达淀粉粒($\times 300$); o. $4\ ^\circ\text{C}/6\ \text{d}$ 赤霞珠木质部淀粉粒($\times 1\ 000$)

Explanation of plates

Influence of cold stress on anatomical structure characteristics of grape stem. (The arrow points to starch grain) a. Control Beta cortical cells($\times 200$); b. Control Cabernet Sauvignon cortical cells($\times 200$); c. Control Beta starch grains in xylem($\times 1\ 000$); d. Control Beta starch grains in phloem($\times 1\ 000$); e. Control Beta starch grains in pith($\times 1\ 000$); f. Control Cabernet Sauvignon starch grains in xylem($\times 1\ 000$); g. Control Cabernet Sauvignon starch grains in pith($\times 300$); h. Control Cabernet Sauvignon tyloses; i. $4\ ^\circ\text{C}/2\ \text{d}$ Beta starch grains in xylem($\times 1\ 000$); j. $4\ ^\circ\text{C}/2\ \text{d}$ Beta starch grains in phloem($\times 300$); k. $4\ ^\circ\text{C}/2\ \text{d}$ Cabernet Sauvignon starch grains in xylem($\times 1\ 000$); l. $4\ ^\circ\text{C}/4\ \text{d}$ Beta tyloses and starch grains in pith($\times 300$); m. $4\ ^\circ\text{C}/4\ \text{d}$ Cabernet Sauvignon tyloses and starch grains in phloem($\times 1\ 000$); n. $4\ ^\circ\text{C}/6\ \text{d}$ Beta starch grains($\times 300$); o. $4\ ^\circ\text{C}/6\ \text{d}$ Cabernet Sauvignon starch grains in xylem($\times 1\ 000$)



图版说明

低温胁迫对葡萄茎段细胞超微结构的影响 a. 对照贝达细胞($\times 8K$); b. 对照赤霞珠细胞($\times 4K$); c. 对照贝达细胞($\times 20K$); d. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/2\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 20K$); e. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ 贝达细胞($\times 8K$); f. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ 贝达细胞($\times 8K$); g. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ 贝达细胞($\times 8K$); h. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 30K$); i. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 40K$); j. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 20K$); k. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 20K$); l. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ 贝达细胞($\times 8K$); m. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ 贝达细胞($\times 8K$); n. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ 贝达细胞($\times 4K$); o. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 20K$); p. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 20K$); q. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 30K$); r. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ 赤霞珠细胞($\times 30K$); Ch. 叶绿体; Cl. 叶绿体片层; Cw. 细胞壁; M. 线粒体; MM. 多层膜结构; Pm. 质膜; Sg. 淀粉粒; T. 液泡膜; V. 液泡; Lg. 脂质小球。

Explanation of plates

Influence of cold stress on cell ultrastructure of grape stem. a. Control Beta cells($\times 8K$); b. Control Cabernet Sauvignon cells($\times 4K$); c. Control Beta cells($\times 20K$); d. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/2\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 20K$); e. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ Beta cells($\times 8K$); f. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ Beta cells($\times 8K$); g. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ Beta cells($\times 8K$); h. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 30K$); i. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 40K$); j. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 20K$); k. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 20K$); l. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ Beta cells($\times 8K$); m. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ Beta cells($\times 8K$). n. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ Beta cells($\times 4K$); o. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 20K$). p. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 20K$); q. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 30K$); r. $4\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ d}$ Cabernet Sauvignon cells($\times 30K$); Ch. Chloroplast; Cl. Chloroplast lamellae; Cw. Cell wall; M. Mitochondria; MM. Multi-membranes structure; Pm. Plasmalemma; Sg. Starch grain; T. Tonoplast; V. Vacuole; Lg. Liposome grain.