

## 新疆天山北麓产区酿酒葡萄种质抗寒性鉴定及综合评价<sup>1</sup>

王季姣<sup>1,2</sup>, 王世伟<sup>1\*</sup>, 潘越<sup>2\*</sup>, 李亚兰<sup>1</sup>, 李树德<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>新疆农业大学林学与风景园林学院, 乌鲁木齐 830052; <sup>2</sup>新疆林科院园林绿化研究所, 乌鲁木齐 830000; <sup>3</sup>新疆尼雅葡萄酒有限公司, 新疆昌吉州玛纳斯县 832200)

**摘要:** 【目的】对 75 份酿酒葡萄种质抗寒性进行鉴定和综合评价, 旨在筛选出抗寒性较高的酿酒葡萄种质。【方法】以引种到新疆天山北麓地区的 35 份山欧杂交种和本地栽植的 40 份欧亚种种质为研究对象, 将 1 年生成熟枝条分别放在-10、-15、-20、-25、-30、-35 °C 下进行低温胁迫处理, 以 4 °C 为对照, 测定其相对电导率 (REC) 含量、过氧化物酶 (POD) 活性、脯氨酸 (Pro) 含量、可溶性糖 (SS) 含量和丙二醛 (MDA) 含量等生理指标, 通过结合 Logistic 方程计算出半致死温度 (LT<sub>50</sub>), 利用隶属函数法对其抗寒性进行综合评价, 并通过聚类分析法将 75 份试材进行排序分类, 从而筛选出高度抗寒性种质和低温敏感性种质, 进一步分析其各生理生化指标的变化及差异。【结果】75 份种质枝条电导率曲线均符合典型的“S”形曲线, LT<sub>50</sub> 在-8.550 °C~-29.153 °C 之间, 山欧杂种和欧亚种 LT<sub>50</sub> 分别在-15.935~-29.153 °C 和-8.550~-21.003 °C 之间; 聚类分析将 75 份酿酒葡萄种质分为高度抗寒性 (I)、抗寒性 (II)、中度抗寒性 (III) 和低温敏感性 (IV), 共 4 级; 筛选出北红、12-5-6、12-16-95、12-10-60、北玫、北冰红 6 个抗寒种质以及品丽珠、白艮地、长相思、捏布盖、酒白和宝石解百纳 6 个低温敏感种质。随着处理温度的下降, 12 个品种 REC 含量持续上升; Pro 含量先升后降; SS 含量持续上升; 高度抗寒种质 POD 活性先升后降, MDA 含量持续上升; 低温敏感种质 POD 活性持续下降, MDA 含量先升后降。【结论】山欧杂种抗寒性强于欧亚种, I 级的抗寒性最强, 可将其作为后续抗寒育种的种质资源, 与具有其他优质性状的酿酒葡萄种质结合, 获得抗寒性强的优质酿酒葡萄种质资源, 为酿酒葡萄的引种与栽培管理提供了理论依据。

**关键词:** 酿酒葡萄; 种质资源; 低温胁迫; 抗寒性; 综合评价

中图分类号: S663.1 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2024)10-0001-08

## Identification and Comprehensive Evaluation of Cold Resistance of Wine Grape Germplasm from Northern Tianshan Region, Xinjiang

WANG Jijiao<sup>1,2</sup>, WANG Shiwei<sup>1\*</sup>, PAN Yue<sup>2\*</sup>, LI Yalan<sup>1</sup>, LI Shude<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>College of Forestry and Landscape Architecture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, 830052, China; <sup>2</sup>Institute of Landscaping, Xinjiang Academy of Forestry, Urumqi 830000; <sup>3</sup>Xinjiang Niya Wine Co., Manas County, Changji Prefecture, Xinjiang 832200)

**Abstract:** 【Objective】Chinese grapes contain a large amount of high-quality stress-resistant germplasm, which is widely distributed, of which Xinjiang is the largest grape-producing area in China, with a wine grape planting area of more than 36,700 hm<sup>2</sup>, dominated by *V. vinifera*, mainly represented by Cabernet Sauvignon. Due to the cold and dry winter in Xinjiang, in order to ensure the safety of overwintering, the

收稿日期: 2024-05-07

接受日期: 2024-07-23

基金项目: 自治区重点研发计划任务 (2022B02045-1-4); 抗寒品种鉴定、筛选与防寒关键技术研发及集成示范 (20232115653); 帕米尔高原优质林果种质资源挖掘、引进、选育与高效栽培技术研发 (2023B02028-1)。

作者简介: 王季姣, 女, 在读硕士研究生, 主要从事森林培育研究。Tel: 13209927526, E-mail: 13209927526@163.com

\*通信作者 Author for correspondence. 王世伟, E-mail: wsw850204@163.com; 潘越, E-mail: 18690187637@163.com

buried soil cold-proof cultivation technology is often used, and this method has the problems of increasing cost and destroying the ground surface. Wine grapes have different cold resistance in different varieties and populations, so the purpose of this study is to identify and comprehensively evaluate the cold resistance of locally planted germplasm and introduced germplasm in Xinjiang, with a view to screening out wine grape germplasm with high cold resistance, and providing a certain theoretical basis for accelerating the selection of cold-resistant wine grapes and reducing the cost of seed selection and breeding. **【Method】** 35 *V. amurensis* × *V. vinifera* introduced to the northern foothills of the Tianshan Mountains in Xinjiang, and 40 locally planted germplasm were used for the study. Mature annual branches were subjected to low-temperature stress treatments at -10, -15, -20, -25, -30, and -35°C, respectively, and 4°C was taken as the control to determine the relative electrical conductivity (REC) content and peroxidase (POD) The relative conductivity (REC), peroxidase (POD) activity, proline (Pro) content, soluble sugar (SS) content, and malondialdehyde (MDA) content were measured, and the half-lethal temperature (LT<sub>50</sub>) was calculated by combining with the logistic equation. A comprehensive evaluation of cold resistance was carried out using the affiliation function method, and 75 test materials were graded by cluster analysis, so as to screen out germplasm that was highly resistant to cold and sensitive to low temperatures, and their physiological and biochemical indexes were comparatively analysed. **【Result】** All 75 germplasm branch conductivity curves conformed to the typical “S”-shaped curve, and the fit of the logistic equation for each variety (line) was R<sup>2</sup> between 0.764 and 0.996, with the LT<sub>50</sub> ranging from -8.550 to -29.153 °C, and the LT<sub>50</sub> of the *V. amurensis* × *V. vinifera* and *V. vinifera* ranging from -15.935 to -29.153 °C and -8.550 to -21.003 °C, respectively; the values of the affiliation function ranged from 0.061 to 0.986 for 75 wine grape germplasm, including Beimei, Beihong, Beibinghong, Zuoyouhong, 11-5-36, 11-14-45, 12-3-23, 12-5-6, 12-10-60 and 12-16-95 had a combined rating between 0.8 and 1.0 for cold resistance; Marselan, Cabernet Sauvignon and 12-16-96 had a combined rating of 0.056, 0.552 and 0.563, respectively, with moderate cold tolerance; Carignan, Cabernet Franc, Baigendi, Sauvignon Blanc, Neuburgske, Jiubai, and Ruby Cabernet had a combined rating between 0.0 and 0.2 and were poorly resistant to cold, the results differed somewhat from the results of the unifactorial evaluation using LT<sub>50</sub> as an indicator, but the overall ordering was similar; cluster analysis gradeified 75 wine grape germplasm into highly cold-tolerant (I), cold-tolerant (II), moderately cold-tolerant (III), and low-temperature-sensitive germplasm (IV), of which grade I included 11 germplasm, all of which were *V. amurensis* × *V. vinifera* and highly cold-tolerant germplasm; grade II included 27 germplasm, of which 66.667% are *V. amurensis* × *V. vinifera*, which are cold-resistant germplasm; grade III includes 27 germplasm, of which *V. vinifera* are predominant (21), followed by *V. amurensis* × *V. vinifera* (5), which are moderately hardy germplasm; grade IV includes 10 germplasm, all of which are *V. vinifera* and are low-temperature sensitive germplasm. Based on the affiliation function method and cluster analysis, it can be concluded that among the *V. vinifera*, Blue French, Petit Manseng, Erhaobaoxiang, Ecolly, Marselan, Cabernet Sauvignon169, Cabernet Sauvignon and Saperavi had better cold tolerance; *V. amurensis* 12-11-5 and 2-5-8 were less cold resistant, but in general the varieties with *V. amurensis* pedigree were more cold resistant than the *V. vinifera*. Six cold-resistant germplasm were selected: Beihong, 12-5-6, 12-16-95, 12-10-60, Beimei, Beibinghong; Six low

temperature sensitive germplasm: Cabernet Franc, Baigendi, Sauvignon Blanc, Neuburgske, Jiubai and Ruby Cabernet were comparatively analysed for physiological and biochemical indices; With the decrease in treatment temperature, the REC content of the 12 varieties continued to increase; the Pro content firstly increased and then decreased; the SS content continued to increase; the POD activity of the highly cold-tolerant germplasm firstly increased and then decreased; and the MDA content continued to increase; the POD activity of the low-temperature-sensitive germplasm continued to decrease; and the MDA content firstly increased and then decreased in the trend of change. 【 Conclusion 】 The cold resistance of *V. amurensis* × *V. vinifera* is stronger than that of *V. vinifera*, and the cold resistance of grade I is the strongest, which can be used as a germplasm resource for the subsequent breeding of cold-resistant breeding and be combined with other high-quality traits of wine grape germplasm to obtain high-quality cold-resistant wine grape germplasm resources and to provide the theoretical basis for the introduction of wine grapes and the cultivation and management of wine grapes.

**Key words:** grapevine; germplasm resources; low temperature stress; cold resistance; comprehensive evaluation

中国拥有丰富多样、分布广泛的葡萄遗传资源，其中蕴藏着大量的抗逆性优异种质<sup>[1]</sup>。据新疆维吾尔自治区工业和信息化厅报道，新疆酿酒葡萄种植面积达到 2 万 hm<sup>2</sup>，占全国 24.500%，是我国最大的葡萄原酒生产基地<sup>[2]</sup>。天山北麓产区，地处北纬 44°，是酿酒葡萄生产“黄金地带”，在该产区中赤霞珠、马瑟兰、小味儿多、品丽珠、烟 73、贵人香为主栽品种，均为欧亚种葡萄 (*Vitis vinifera*)，其品质优良，但抗寒抗抽干能力较差<sup>[3-4]</sup>。新疆地区受大陆性季风气候影响，冬季寒冷干燥，尤其是近年来低温冻害频繁发生，对酿酒葡萄的产量和品质造成严重影响，个别年份甚至出现绝产，导致葡萄酒原料供应不稳定<sup>[5]</sup>。因此，生产上为确保葡萄安全越冬，普遍采用埋土防寒栽培技术，但此方法不仅会破坏地表，引发土壤风蚀，对生态环境保护不利，同时也会增加劳动成本，降低市场竞争力。酿酒葡萄品种的抗寒能力很大程度上影响着植株的存活和生长，且不同种群、不同品种 (系) 的抗寒性也不尽相同<sup>[6-7]</sup>。近年来，中国的葡萄育种工作者将山葡萄与欧亚种葡萄进行种间杂交，培育出了北冰红、北馨、凌丰红等抗寒葡萄新品种<sup>[8-10]</sup>。由此可见，通过引进东北地区高抗寒葡萄种质资源，是拓展新疆酿酒葡萄抗寒性遗传背景的有效手段，对培育高抗寒性酿酒葡萄新品种具有十分重要的意义。

在开展此项研究工作时，如何准确地鉴定酿酒葡萄的抗寒性是首要问题。目前，已有相关研究报告相对电导率 (REC)、半致死温度 (LT<sub>50</sub>)、渗透调节物质含量、抗氧化酶活性等指标广泛应用于植物抗寒性评价<sup>[11]</sup>。曹建东等<sup>[12]</sup>通过对葡萄砧木和栽培品种的生理生化指标进行主成分分析，筛选出 REC、丙二醛 (MDA)、脯氨酸 (Pro)、可溶性糖 (SS)、可溶性蛋白质、萌芽率、产生愈伤组织的比率等指标可作为评价葡萄抗寒性的重要指标，并根据各指标不同低温处理下的变化趋势，得出各品种抗寒性强弱。郭艳兰等<sup>[13]</sup>根据 Logistic 方程拟合计算出 LT<sub>50</sub>，并结合隶属函数法对葡萄营养系进行综合评价得出 CS-VCR11、CS-VCR19、PN-VCR9、CS-15 的抗寒性较强，平均隶属度值与 LT<sub>50</sub> 相关性达极显著水平 ( $p < 0.01$ )，二者均可作为有效评价葡萄抗寒性的指标。杨豫等

[14]对 4 个酿酒葡萄生理生化指标相关分析的结果表明, REC、过氧化氢酶活性、MDA、SS、可溶性蛋白含量与抗寒性呈负相关关系, 枝条萌芽率、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 活性与抗寒性呈正相关关系, 恢复生长法、LT<sub>50</sub>可作为判断酿酒葡萄枝条抗寒性强弱的单项指标。贾金辉等[15]通过测定 REC、POD 活性、枝条萌发率、Pro 和 SS 评价了 8 个酿酒葡萄品种的抗寒性。

植物抗寒性是数量性状遗传, 单一指标往往难以准确地反映其抗寒性的程度, 通过采用多种分析方法进行综合评价, 可以提高其准确性[16]。任静等[17]结合主成分分析法、聚类分析法以及相关性分析, 评价了河西走廊贵人香葡萄 7 个砧穗组合的抗寒性。罗尧幸等[18]利用隶属函数法评价了 7 个鲜食葡萄品种的抗寒能力强弱。目前有关酿酒葡萄抗寒性的研究多集中于欧亚品种, 对山葡萄和山欧杂种 (系) 的研究报道较少。因此, 为进一步研究酿酒葡萄种质资源的抗寒能力, 本研究通过高低温交变箱模拟低温环境, 对 75 份酿酒葡萄种质 1 年生枝条设置不同温度处理, 测定不同低温下 REC 含量、POD 活性、Pro 含量、SS 含量和 MDA 含量, 利用 Logistic 方程计算出 LT<sub>50</sub>, 并结合隶属函数法和聚类分析, 在短期内筛选出抗寒力强的酿酒葡萄种质资源, 为加快酿酒葡萄抗寒育种, 降低育种成本提供一定理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验地概况

枝条采自新疆昌吉州玛纳斯县中信国安葡萄酒业有限公司自建基地资源圃 (44°14'15" N, 86°14'54" E), 该基地位于新疆天山北麓玛纳斯河流域, 属于温带大陆性干旱半干旱气候区, 具有冬季严寒, 夏季酷热, 日照充足, 昼夜温差大, 干旱少雨等特点。年日照时数 2600~2900 h, 年均温度 7.2 °C, 年均降水量 110~200 mm, 年蒸发量 1500~2000 mm, 极端最高气温 39.6 °C, 极端最低气温 -37.4 °C, 无霜期 150~204 d。

### 1.2 试验材料与处理

供试材料为 75 份酿酒葡萄种质 (表 1), G1~G39 为欧亚种, G39~G40 为欧美杂种, G41~G75 为山欧杂种, 其中山欧杂种 (G49~G75) 由中国农科院特产研究所提供后引种于新疆玛纳斯县, 其亲本不详。试验于 2023 年 11 月进行, 每份试材采集 6 个粗细均匀、生长健壮的 1 年生枝条, 采后带回实验室, 用自来水冲洗去除枝条表面灰尘, 再用去离子水冲洗 3 遍后用吸水纸吸干水分。将枝条剪成 10~15 cm 的枝段, 两端用保鲜膜封口, 每份试材分为 7 份, 每份 10 段, 使用高低温交变箱 (LW-100C) 进行低温处理, 以 4 °C 作为对照, 降温速率为 4 °C·h<sup>-1</sup>, 低温处理温度分别为 -10、-15、-20、-25、-30 和 -35 °C。将分装好的枝段放入冰箱中, 以 4 °C·h<sup>-1</sup> 的速率降温, 到达目标温度后维持 12 h, 再以相同速率升温至 4 °C 后取出于室温下放置 2 h, 测定其各项生理指标, 每份试材的不同处理均设置 3 个重复。

表 1 供试酿酒葡萄品种 (系)

Table 1 Wine grape cultivars (lines)

编号	种质名称	来源	编号	种质名称	来源	编号	种质名称	来源
Code	Germplasm	Source	Code	Germplasm	Source	Code	Germplasm	Source

G1	长相思 Sauvignon Blanc	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G26	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G51	11-5-26	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G2	烟 73 yan 73	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G27	赤霞珠品系 1 Cabernet Sauvignon 1	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G52	11-5-32	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G3	小芒森 Petit Manseng	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G28	赤霞珠品系 169 Cabernet Sauvignon 169	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G53	11-5-36	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G4	霞多丽 Chardonnay	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G29	赤霞珠品系 170 Cabernet Sauvignon170	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G54	11-5-68	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G5	西拉 Syrah	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G30	赤霞珠品系 191 Cabernet Sauvignon191	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G55	11-6-28	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G6	晚红蜜 Saperavi	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G31	赤霞珠品系 338 Cabernet Sauvignon338	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G56	11-6-52	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G7	塔夫里斯 Тавриц	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G32	宝石解百纳 Ruby Cabernet	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G57	11-7-6	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G8	琼瑶浆 Gewurztraminer	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G33	白玉霓 Ugni Blanc	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G58	11-7-11	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G9	品丽珠 Cabernet Franc	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G34	白诗南 Chenin Blanc	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G59	11-14-16	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G10	捏布盖 Neuburgske	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G35	白良地 Baigendi	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G60	11-14-45	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G11	梅鹿辄 Merlot	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G36	爱格丽 Ecolly	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G61	11-23-23	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G12	玫瑰香 Muscat Hamburg	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G37	爱费立奥 Aifeiliao	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G62	11-30-31	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G13	马瑟兰 Marselan	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G38	60-1	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G63	12-3-6	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G14	雷司令 Cray Riesling	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G39	1-62	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G64	12-3-19	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G15	克里木波西 Kelimuboxi	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G40	黑虎香 Black Muscat	欧美杂种 <i>V. vinifera</i> × <i>V. labrusca</i>	G65	12-3-23	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G16	酒白 Jiubai	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G41	巴柯 Blanc	欧美杂种 <i>V. vinifera</i> × <i>V. labrusca</i>	G66	12-5-6	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G17	佳美 Gamay	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G42	北馨 Beixin	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G67	12-6-5	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G18	佳利酿 Carignan	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G43	北玺 Beixi	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G68	12-6-32	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G19	红巴克特 Bacator Red	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G44	北玫 Beimei	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G69	12-6-42	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G20	黑比诺 Pinot Noir	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G45	北红 Beihong	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G70	12-10-60	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G21	贵人香 Italian Riesling	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G46	北冰红 Beibinghong	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G71	12-10-70	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G22	歌海娜 Grenache	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G47	公酿 1 号 Gongniang 1	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G72	12-12-23	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>

G23	盖吾沙 Генуса Чибил	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G48	左优红 Zuoyouhong	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G73	12-16-9	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G24	法国蓝 Blue French	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G49	11-5-3	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G74	12-16-95	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>
G25	二号白香 Early Madeleine	欧亚种 <i>V. vinifera</i>	G50	11-5-17	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>	G75	12-16-96	山欧杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. vinifera</i>

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 相对电导率测定及半致死温度确定

将不同低温处理后的枝条剪成 3~5 mm 厚的薄片，干并且避开芽眼位置，用天平称取薄片 1 g，放至 15 mL 试管中，标记后加入 10 mL 去离子水，在室温下浸泡 12 h，随后用 DDS-307 型电导率仪测定浸提液初电导率，然后将样品置于沸水浴中煮沸 15 min，再对浸提液定容至 10 ml，待冷却至室温时，摇匀，测定浸提液终电导率，计算相对电导率：

$$\text{相对电导率}/\% = (\text{初电导率}/\text{终电导率}) \times 100 \quad (1)$$

半致死温度：用 REC 拟合 Logistic 方程，可获得曲线的拐点温度  $\ln a/b$ ，即  $LT_{50}$ ，并求出方程的拟合度。拟合方程如下：

$$y = k / (1 + ae^{-bx}) \quad (2)$$

其中，其中  $k$ 、 $a$ 、 $b$  为常数， $y$  为实测 REC， $x$  为处理温度。

$$k = [y_2^2(y_1 + y_3) - 2y_1y_2y_3] / (y_2^2 - y_1y_3) \quad (3)$$

$y_1$ 、 $y_2$ 、 $y_3$  分别是等距处理温度下的 REC，在实际应用中，常令  $y' = \ln[(k-y)/y]$ ， $y' = \ln a - bx$ ，即 REC  $y$  转换成  $y'$  后，与处理温度  $x$  之间的关系可以用线性方程表示，故可以按一般的直线相关法求出  $a$  和  $b$ 。在数学上，拐点为  $d^2y/dx^2=0$  时的  $x$  值，即为  $LT_{50}$  值。

$$\text{计算公式为：} LT_{50} = -(\ln a/b) \quad (4)$$

#### 1.3.2 生理生化指标的测定

POD 采用愈创木酚法<sup>[14]</sup>、Pro 采用酸性茚三酮比色法<sup>[14]</sup>、SS 采用蒽酮比色法<sup>[15]</sup>、MDA 采用硫代巴比妥酸法<sup>[15]</sup>。

#### 1.3.3 葡萄抗寒性的隶属函数法评价

在综合各项生理指标的基础上，对 75 份试材的抗寒性进行评价，其计算公式<sup>[16]</sup>为：

$$U_{ij} = (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin}) \quad (\text{正相关}) \quad (5)$$

$$U_{ij} = 1 - (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin}) \quad (\text{负相关}) \quad (6)$$

式中： $U_{ij}$  表示指标的隶属度值； $X_{ij}$  表示指标测定值，其中  $i$  代表不同试材， $j$  代表抗寒指标， $X_{jmax}$  和  $X_{jmin}$  分别为  $j$  指标的最大值和最小值。

### 1.4 数据处理

采用 Excel 2010 对试验数据进行整理，用 SPSS 26.0 对数据进行非线性回归拟合、相关性分析，用 Origin 2022 进行作图及聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 Logistic 方程的拟合及葡萄枝条低温半致死温度的确定

以温度为自变量  $x$ ，枝条的相对电导率为因变量  $y$ ，对供试酿酒葡萄种质进行 Logistic 方程拟合回归分析，并计算各种质的低温  $LT_{50}$ ，结果见表 2。各品种(系)的 Logistic 方程拟合度  $R^2$  在 0.764~0.996，表明所拟合方程具有较高的可靠性，由此计算的  $LT_{50}$  真实可用。各品种(系)的  $LT_{50}$  在 -8.550 °C ~ -29.153 °C， $LT_{50}$  值越小，说明抗寒性越强。40 份欧亚种葡萄品种的  $LT_{50}$  在 -8.550~-21.003 °C，35 份山欧杂种葡萄品种的  $LT_{50}$  在 -15.935~-29.153 °C，6 份山葡萄葡萄品种的  $LT_{50}$  在 -14.464~-19.462 °C。

## 2.2 不同葡萄品种抗寒性隶属函数评价及抗寒指标筛选

### 2.2.1 隶属函数法及聚类分析

选用 6 个生理指标作为枝条抗寒性评价指标，通过隶属函数法进行综合评价，结果显示(表 2)，75 份酿酒葡萄种质的隶属函数值在 0.061~0.986 之间，其中北玫、北红、北冰红、左优红、11-5-36、11-14-45、12-3-23、12-5-6、12-10-60 和 12-16-95 的综合评价值在 0.8~1.0 之间，抗寒性较强；马瑟兰、赤霞珠和 12-16-96 综合评价值分别为 0.056、0.552 和 0.563，抗寒性中等；佳丽酿、品丽珠、白艮地、长相思、捏布盖、酒白和宝石解百纳的综合评价值介于 0.0~0.2 之间，抗寒性较差。

其后根据 75 份种质的抗寒性评价指标进行聚类分析(图 1)，75 份种质可以分为 I~IV 个等级，其中 I 级包括 11 个种质，均为山欧杂种，为高度抗寒性种质；II 级包括 27 份种质，其中山欧杂种占 66.667%，为抗寒性种质；III 级包括 27 份种质，其中欧亚种居多(21 份)，山欧杂种次之(5 份)，为中度抗寒性种质；IV 级包括 10 份种质，均为欧亚种，为低温敏感性种质。根据隶属函数法和聚类分析可以得出欧亚种中法国蓝、小芒森、二号白香、爱格丽、马瑟兰、赤霞珠 169、赤霞珠和晚红蜜抗寒性较好，山欧杂种相较于欧亚种抗寒性更佳。

为进一步研究不同葡萄品种枝条对不同低温胁迫生理响应的差异，根据 75 份酿酒葡萄种质抗寒性分类结果，从中筛选出 12 个葡萄品种进行抗寒生理生化指标差异分析。其中包括：北红、12-5-6、12-16-95、12-10-60、北红和北冰红 6 个高度抗寒种质和品丽珠、白艮地、长相思、捏布盖、酒白和宝石解百纳 6 个低温敏感种质，用于各抗寒生理指标比较分析。

表 2 供试 75 份酿酒葡萄种质半致死温度及抗寒性隶属函数评价

Table 2 Evaluation of  $LT_{50}$  and cold resistance affiliation function of 75 wine grape germplasm

种质编号 Germplasm code	Logistic 回归方程 Logistic regression equation	拟合 度 $R^2$	半致死		隶属函数值					平均隶属度 Average value of membership function	排序 Order
			温度 $LT_{50}/$ °C	REC	Subordinate function value						
					$LT_{50}$	POD	Pro	SS	MDA		
G1	$y=100/(1+1.910e^{0.154x})$	0.775	-12.343	0.163	0.184	0.056	0.047	0.129	0.171	0.125	72
G2	$y=100/(1+1.162e^{0.075x})$	0.913	-15.418	0.312	0.333	0.189	0.149	0.175	0.551	0.285	62
G3	$y=100/(1+1.138e^{0.057x})$	0.892	-19.970	0.567	0.554	0.688	0.675	0.654	0.791	0.655	24
G4	$y=100/(1+0.843e^{0.051x})$	0.868	-16.697	0.425	0.395	0.383	0.308	0.514	0.659	0.448	47
G5	$y=100/(1+1.692e^{0.102x})$	0.842	-16.526	0.395	0.387	0.344	0.451	0.409	0.639	0.438	48
G6	$y=100/(1+1.063e^{0.060x})$	0.915	-17.784	0.458	0.448	0.630	0.701	0.361	0.805	0.567	32
G7	$y=100/(1+0.904e^{0.059x})$	0.861	-15.219	0.332	0.324	0.195	0.167	0.363	0.562	0.324	59
G8	$y=100/(1+0.981e^{0.065x})$	0.885	-15.095	0.312	0.318	0.172	0.049	0.139	0.530	0.253	64

G9	$y=100/(1+1.356e^{-0.101x})$	0.810	-13.409	0.202	0.236	0.060	0.009	0.055	0.319	0.147	70
G10	$y=100/(1+0.554e^{0.051x})$	0.817	-10.925	0.142	0.074	0.037	0.066	0.025	0.096	0.073	73
G11	$y=100/(1+1.452e^{-0.090x})$	0.817	-16.074	0.371	0.365	0.262	0.226	0.519	0.610	0.392	52
G12	$y=100/(1+2.399e^{-0.178x})$	0.810	-13.479	0.220	0.239	0.063	0.089	0.095	0.346	0.175	68
G13	$y=100/(1+1.198e^{0.066x})$	0.880	-18.296	0.485	0.473	0.712	0.411	0.454	0.702	0.539	36
G14	$y=100/(1+0.857e^{0.050x})$	0.888	-17.144	0.436	0.417	0.710	0.313	0.369	0.667	0.485	41
G15	$y=100/(1+0.895e^{0.055x})$	0.854	-16.422	0.396	0.382	0.568	0.176	0.328	0.649	0.416	51
G16	$y=100/(1+0.746e^{0.075x})$	0.771	-9.983	0.280	0.057	0.008	0.037	0.016	0.000	0.067	74
G17	$y=100/(1+0.807e^{0.051x})$	0.920	-15.770	0.376	0.350	0.249	0.191	0.329	0.601	0.349	57
G18	$y=100/(1+0.853e^{0.065x})$	0.856	-13.046	0.200	0.218	0.078	0.077	0.065	0.284	0.154	69
G19	$y=100/(1+1.275e^{0.081x})$	0.933	-15.718	0.427	0.347	0.221	0.223	0.232	0.588	0.340	58
G20	$y=100/(1+1.110e^{0.063x})$	0.807	-17.597	0.454	0.439	0.619	0.256	0.404	0.675	0.474	44
G21	$y=100/(1+0.882e^{0.055x})$	0.767	-16.132	0.400	0.368	0.581	0.305	0.312	0.626	0.432	49
G22	$y=100/(1+0.886e^{0.059x})$	0.876	-15.118	0.327	0.319	0.190	0.168	0.158	0.563	0.287	61
G23	$y=100/(1+0.868e^{0.063x})$	0.806	-13.758	0.261	0.253	0.000	0.129	0.076	0.348	0.178	67
G24	$y=100/(1+1.340e^{0.064x})$	0.928	-21.003	0.625	0.604	0.834	0.646	0.592	0.871	0.695	17
G25	$y=100/(1+1.424e^{0.075x})$	0.895	-18.934	0.510	0.504	0.610	0.573	0.423	0.796	0.569	33
G26	$y=100/(1+1.336e^{0.075x})$	0.915	-17.913	0.466	0.454	0.633	0.594	0.264	0.754	0.527	37
G27	$y=100/(1+1.340e^{0.076x})$	0.863	-17.720	0.455	0.445	0.563	0.256	0.423	0.705	0.475	45
G28	$y=100/(1+1.629e^{0.091x})$	0.845	-18.004	0.498	0.459	0.577	0.416	0.647	0.722	0.553	35
G29	$y=100/(1+1.090e^{0.067x})$	0.903	-16.319	0.373	0.377	0.562	0.264	0.304	0.646	0.421	50
G30	$y=100/(1+1.182e^{0.074x})$	0.847	-16.043	0.360	0.364	0.264	0.219	0.301	0.643	0.359	55
G31	$y=100/(1+1.101e^{0.063x})$	0.948	-17.479	0.435	0.433	0.486	0.326	0.507	0.705	0.482	43
G32	$y=100/(1+0.458e^{0.054x})$	0.813	-8.550	0.056	0.000	0.010	0.000	0.000	0.037	0.017	75
G33	$y=100/(1+1.130e^{0.077x})$	0.821	-14.681	0.297	0.298	0.172	0.245	0.304	0.493	0.301	60
G34	$y=100/(1+0.988e^{0.063x})$	0.833	-15.610	0.349	0.343	0.211	0.119	0.561	0.563	0.358	56
G35	$y=100/(1+0.901e^{0.071x})$	0.934	-12.665	0.150	0.200	0.064	0.071	0.075	0.209	0.128	71
G36	$y=100/(1+1.463e^{0.079x})$	0.869	-18.426	0.497	0.479	0.663	0.645	0.475	0.718	0.580	31
G37	$y=100/(1+0.455e^{0.042x})$	0.933	-10.719	0.200	0.105	0.173	0.047	0.672	0.145	0.224	66
G38	$y=100/(1+1.134e^{0.075x})$	0.828	-15.202	0.313	0.323	0.578	0.388	0.092	0.554	0.375	54
G39	$y=100/(1+1.216e^{0.080x})$	0.914	-15.054	0.290	0.316	0.172	0.162	0.133	0.559	0.272	63
G40	$y=100/(1+1.067e^{0.076x})$	0.882	-14.041	0.240	0.266	0.031	0.344	0.083	0.442	0.234	65
G41	$y=100/(1+0.920e^{0.047x})$	0.931	-19.707	0.543	0.542	0.668	0.644	0.631	0.762	0.632	27
G42	$y=100/(1+0.805e^{0.038x})$	0.841	-21.453	0.772	0.626	0.784	0.704	0.751	0.856	0.749	13
G43	$y=100/(1+2.197e^{-0.113x})$	0.823	-19.424	0.644	0.528	0.776	0.707	0.603	0.817	0.679	19
G44	$y=100/(1+1.225e^{0.043x})$	0.954	-28.235	0.944	0.946	0.921	0.607	0.617	0.981	0.836	5
G45	$y=100/(1+1.621e^{0.057x})$	0.804	-29.153	1.000	1.000	1.000	1.000	0.947	0.968	0.986	1
G46	$y=100/(1+1.219e^{0.049x})$	0.933	-24.819	0.773	0.790	0.682	0.838	0.917	0.943	0.824	6
G47	$y=100/(1+1.189e^{0.066x})$	0.794	-18.096	0.497	0.463	0.604	0.434	0.847	0.786	0.605	28
G48	$y=100/(1+0.909e^{0.039x})$	0.810	-23.610	0.534	0.731	0.872	0.854	0.901	0.887	0.796	9
G49	$y=100/(1+1.012e^{0.045x})$	0.939	-22.739	0.669	0.689	0.746	0.737	0.858	0.890	0.765	11
G50	$y=100/(1+1.312e^{0.079x})$	0.764	-16.675	0.439	0.394	0.803	0.040	0.342	0.685	0.451	46
G51	$y=100/(1+0.960e^{0.051x})$	0.889	-18.704	0.508	0.493	0.559	0.613	0.053	0.739	0.494	40
G52	$y=100/(1+0.769e^{0.047x})$	0.947	-16.301	0.394	0.376	0.727	0.261	0.457	0.679	0.482	42



G53	$y=100/(1+1.359e^{-0.059x})$	0.850	-23.066	0.741	0.705	0.784	0.816	0.852	0.903	0.800	10
G54	$y=100/(1+0.678e^{-0.037x})$	0.866	-18.228	0.486	0.470	0.554	0.585	0.968	0.717	0.630	26
G55	$y=100/(1+1.309e^{-0.062x})$	0.982	-21.043	0.619	0.606	0.794	0.663	0.709	0.835	0.704	16
G56	$y=100/(1+0.991e^{-0.046x})$	0.964	-21.488	0.612	0.628	0.707	0.478	0.776	0.858	0.676	20
G57	$y=100/(1+0.738e^{-0.036x})$	0.956	-20.792	0.573	0.594	0.757	0.663	0.589	0.869	0.674	21
G58	$y=100/(1+0.920e^{-0.043x})$	0.895	-21.339	0.603	0.621	0.750	0.671	0.741	0.841	0.704	15
G59	$y=100/(1+1.270e^{-0.070x})$	0.880	-18.268	0.469	0.472	0.742	0.904	0.976	0.823	0.731	12
G60	$y=100/(1+1.247e^{-0.054x})$	0.972	-22.923	0.702	0.698	0.812	0.903	0.846	0.896	0.809	8
G61	$y=100/(1+1.282e^{-0.063x})$	0.915	-20.258	0.599	0.568	0.761	0.663	0.677	0.823	0.682	18
G62	$y=100/(1+1.229e^{-0.061x})$	0.770	-20.154	0.610	0.563	0.794	0.610	0.661	0.816	0.676	22
G63	$y=100/(1+1.114e^{-0.051x})$	0.923	-21.851	0.648	0.646	0.693	0.428	0.828	1.000	0.707	14
G64	$y=100/(1+1.129e^{-0.059x})$	0.985	-19.136	0.515	0.514	0.789	0.609	0.411	0.797	0.606	29
G65	$y=100/(1+0.988e^{-0.040x})$	0.890	-24.937	0.730	0.795	0.798	0.714	0.946	0.945	0.821	7
G66	$y=100/(1+0.921e^{-0.036x})$	0.847	-25.372	0.810	0.824	0.729	0.934	1.000	0.975	0.879	2
G67	$y=100/(1+1.243e^{-0.058x})$	0.916	-21.580	0.646	0.632	0.767	0.589	0.351	0.894	0.647	25
G68	$y=100/(1+0.942e^{-0.049x})$	0.896	-19.071	0.521	0.511	0.604	0.615	0.397	0.744	0.565	34
G69	$y=100/(1+1.088e^{-0.057x})$	0.921	-19.127	0.522	0.513	0.697	0.562	0.462	0.750	0.584	30
G70	$y=100/(1+1.027e^{-0.041x})$	0.788	-24.881	0.761	0.792	0.779	0.913	0.899	0.939	0.847	4
G71	$y=100/(1+1.439e^{-0.066x})$	0.948	-21.737	0.649	0.640	0.620	0.412	0.794	0.887	0.667	23
G72	$y=100/(1+0.811e^{-0.051x})$	0.918	-15.935	0.377	0.358	0.694	0.236	0.020	0.626	0.385	53
G73	$y=100/(1+1.316e^{-0.074x})$	0.780	-17.712	0.489	0.445	0.617	0.307	0.393	0.719	0.495	39
G74	$y=100/(1+1.196e^{-0.046x})$	0.826	-25.887	0.793	0.842	0.840	0.948	0.770	0.962	0.859	3
G75	$y=100/(1+1.055e^{-0.060x})$	0.826	-17.577	0.467	0.432	0.689	0.328	0.386	0.719	0.503	38

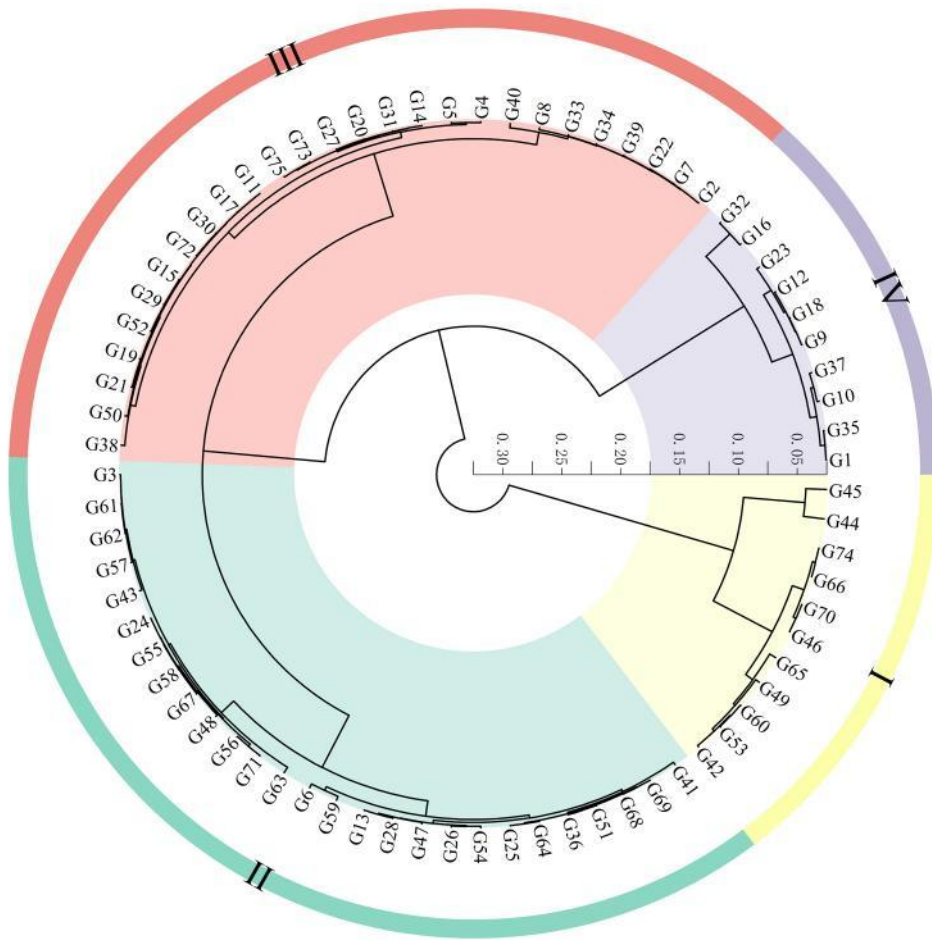


图 1 75 份酿酒葡萄种质聚类分析

Fig. 1 Cluster analyses of 75 wine grape germplasm

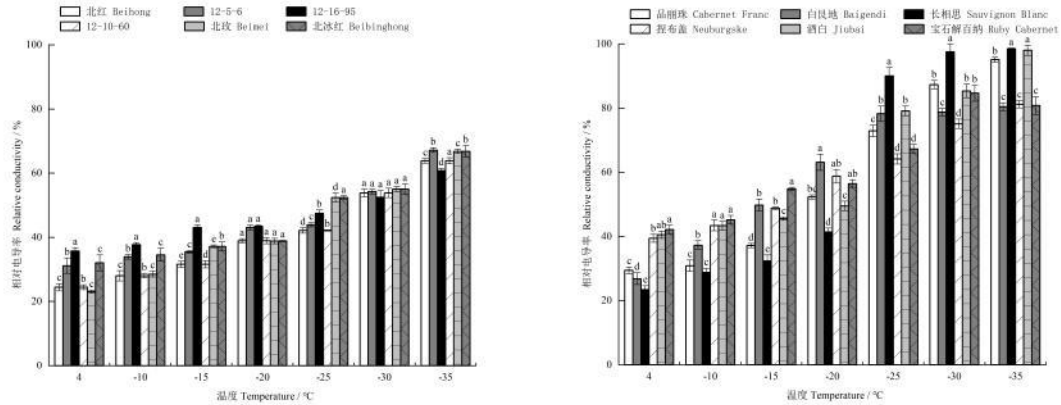
#### 2.4 低温处理对不同葡萄枝条相对电导率的影响

随着低温处理时间的延长，葡萄枝条细胞的膜透性增大，电解质渗透随之增加，REC 呈不同程度的“S”型上升趋势（图 2）。在 4~35 °C 的各低温梯度中，高度抗寒性和低温敏感性的种质 REC 增幅明显不同，长相思和品丽珠的 REC 增幅较大，分别为 75.097% 和 65.653%；12-10-60 和 12-5-6 的增幅较小，分别为 24.994% 和 36.020%。

高度抗寒种质增长趋势呈现持续上升趋势。在 4 °C~20 °C 枝条受寒害程度较小，REC 呈缓慢增长趋势，整体增长幅度在 0.368%~8.648% 之间；在 -25 °C~35 °C 时增长幅度较大，在 0.177%~26.270% 之间，其中在 -25 °C 时，北冰红 REC 大于 50%，此时为该品种抗寒能力敏感期。

低温敏感种质 REC 增长趋势呈现慢-快-慢趋势。在 4 °C~15 °C 处理时，增幅在 1.460%~12.486% 之间，其中白垩地 REC 增长幅度最大。在 -15 °C~25 °C 处理时，REC 呈快速增长趋势，其中在 -25 °C 处理时，品丽珠、白垩地、酒白的 REC 大于 70%，细胞膜系统功能受损严重，

导致电解质大量外渗；而长相思在此温度下 REC 为 90.013%，细胞膜已完全破裂，失去渗透调节功能。在-25 °C~-35 °C处理时，除捏布盖外，其他品种 REC 均在 70%以上，各品种枝条 REC 的增加趋于平缓。



不同小写字母表示同一温度不同材料处理间差异显著 ( $p < 0.05$ )。下同。

Different lower case letters indicate significant ( $p < 0.05$ ) differences between treatments of different materials at the same temperature. The same below.

图 2 低温处理对不同酿酒葡萄枝条相对电导率的影响

**Fig. 2 Effect of low-temperature treatments on the relative conductivity of branches of different wine grapes**

## 2.5 低温处理对不同葡萄枝条生理生化指标的影响

### 2.5.1 过氧化物酶活性

由图 3 可知，随着低温胁迫的加剧，高度抗寒种质枝条 POD 活性呈先升后降的趋势，在 4 °C~-15 °C处理时，呈现缓慢增加趋势；在-15 °C~-20 °C处理时 12-5-6、12-16-95、12-10-60 和北冰红枝条 POD 活性快速增加，在-20 °C时达到最大值，分别为 0.684、0.624、0.587 和 0.636  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ，较对照增加 24.720%、24.347%、24.897%和 16.963%；其后随着低温胁迫加剧，POD 活性下降，呈现下降趋势，而北红和北玫 POD 活性在-25 °C达到高峰，分别为 0.789 和 0.649  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ，较对照增加了 36.620%和 28.827%。

低温敏感种质枝条 POD 活性呈下降趋势，品丽珠、白良地、长相思和捏布盖枝条 POD 活性在 4 °C~-15 °C下降较快，其后趋于平缓；而宝石解百纳和酒白枝条 POD 活性在 4 °C~-10 °C处理下迅速下降，降幅最大，分别达到 58.718%和 40.784%。

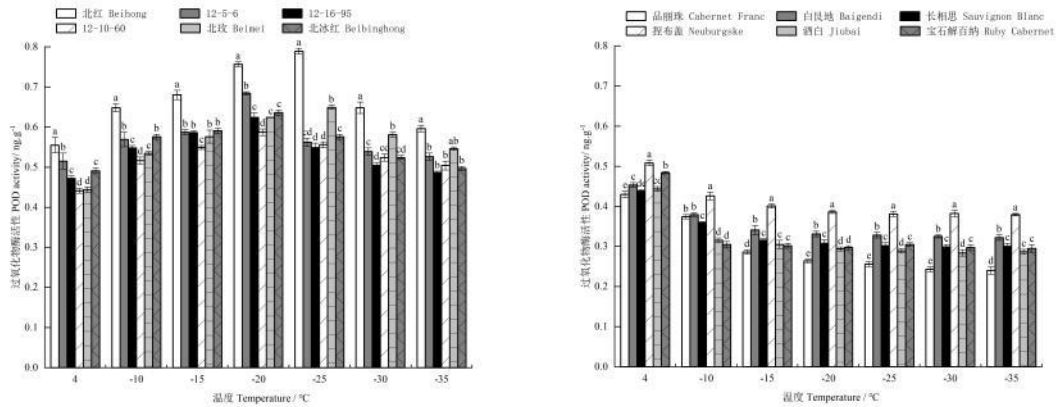


图 3 低温处理对不同酿酒葡萄枝条过氧化物酶的影响

Fig. 3 Effect of low temperature treatments on peroxidase in different wine grape shoots

### 2.5.2 脯氨酸含量

由图 4 可知, 随着处理温度的降低, 12 个葡萄品种枝条的 Pro 含量呈现先升后降的趋势, 但峰值存在差异。高度抗寒种质北红在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 增幅最大, 分别达到 43.164%和 43.661%, 在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 达到最大值, 为  $64.895\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , 表明该温度对北红枝条的胁迫程度较大, 枝条为维持细胞渗透平衡, 从而加快了 Pro 的积累; 其他品种均在 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 增幅较大, 在 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 达到高峰, 其后 Pro 含量下降并趋于平缓。低温敏感种质枝条 Pro 含量在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 增幅最大, 其范围在 28.551~74.057 之间。品丽珠、白良地和长相思枝条 Pro 含量在 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 达到最大值后开始降低, 而捏布盖、酒白和宝石解百纳枝条 Pro 含量在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 达到最大, 抗寒能力相对较低。

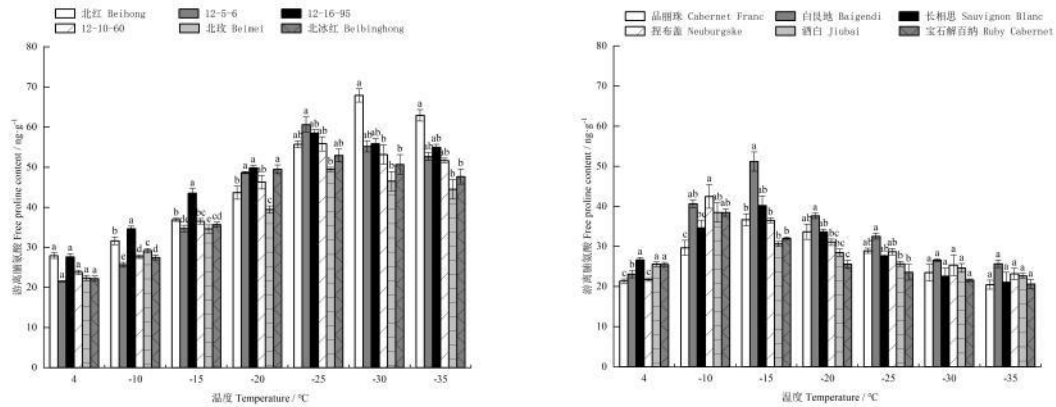


图 4 低温处理对不同酿酒葡萄枝条脯氨酸的影响

Fig. 4 Effect of low-temperature treatments on proline in branches of different wine grapes

### 2.5.3 可溶性糖含量

SS 作为渗透调节物质,可增加细胞液浓度,提高渗透压,从而使组织细胞免受冰冻伤害。随着低温胁迫的加剧,12 份葡萄种质枝条 SS 含量呈增加趋势(图 5)。高度抗寒种质枝条 SS 含量在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 快速增加,较对照增加 65.172%~110.122%,在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时其含量仍处于上升趋势,说明细胞仍在合成糖类物质增加胞液浓度。低温敏感种质枝条 SS 含量在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 增加幅度较大,说明其对低温更为敏感,通过提高渗透压以抵抗低温。其中品丽珠枝条 SS 含量在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时达到最大,较对照增加 89.302%;白良地和长相思枝条 SS 含量在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 增幅最大,分别较对照增加了 96.380%和 98.738%,宝石解百纳枝条 SS 含量增幅较小,较对照增加了 65.755%。此结果与  $LT_{50}$  结果一致。

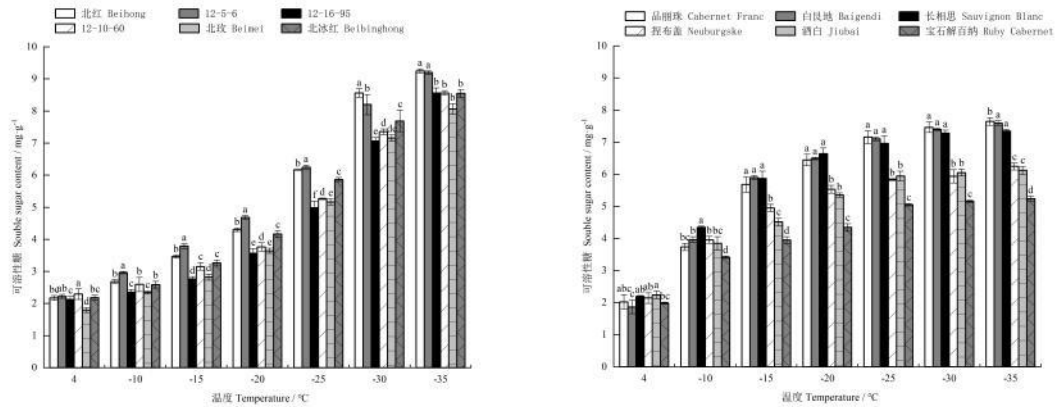


图 5 低温处理对不同酿酒葡萄可溶性糖的影响

Fig. 5 Effect of low temperature treatment on soluble sugars of different wine grapes

#### 2.5.4 丙二醛含量

低温处理对不同葡萄枝条 MDA 含量的影响见图 6。在不同低温胁迫条件下，12 个葡萄品种枝条的 MDA 含量均高于对照。高度抗寒种质呈现上升趋势，在不同低温处理下增长幅度相近，在 4 °C ~ -15 °C 处理时枝条 MDA 含量均较低且稳定，变化量最小，说明其细胞内抗氧化酶活性较高，可清除自由基对膜脂的伤害，细胞膜受伤害最小，抗寒性强。在 -15 °C ~ -35 °C 处理时，枝条 MDA 含量随温度的降低增长幅度较大。低温敏感种质枝条 MDA 含量呈现呈先升后降的趋势，品丽珠、白良地和长相思枝条 MDA 含量在 -20 °C 时达到最大值，分别为 8.952、8.872 和 8.451  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ，表明达到此温度时，枝条细胞膜脂过氧化程度高，受冻害严重；捏布盖、酒白和宝石解百纳枝条 MDA 含量在 -15 °C 时达到最大，在 -10 °C 时较对照增幅最大，分别为 58.739%、64.850% 和 75.185%。

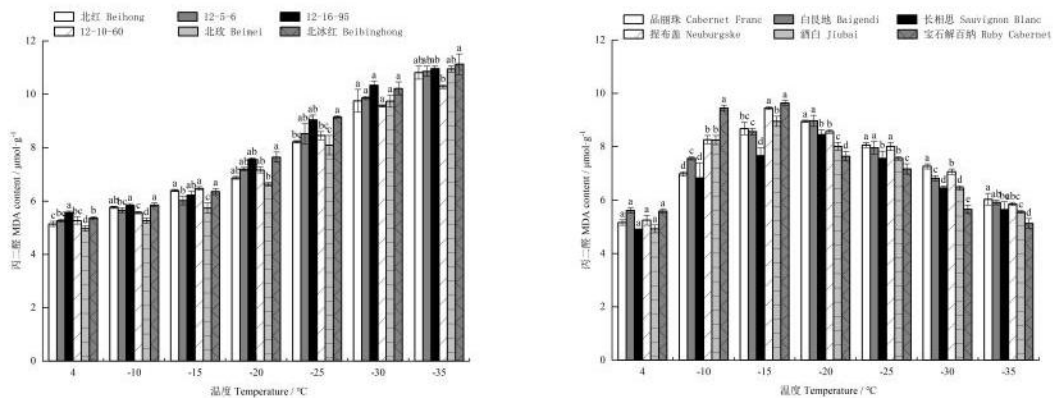


图 6 低温处理对不同酿酒葡萄丙二醛的影响

Fig. 6 Effect of low temperature treatment on malondialdehyde in different wine grapes

### 3 讨论

#### 3.1 酿酒葡萄种质抗寒性综合评价

REC 是衡量细胞内不溶性物质是否向外扩散，也是衡量细胞质膜是否受损的一种生理症状<sup>[22]</sup>。本研究结果表明，酿酒葡萄枝条 REC 曲线随温度下降呈“S”形上升趋势；基于 REC 建立 Logistic 曲线回归方程，可准确计算出  $LT_{50}$ 。有相关研究表明： $LT_{50}$  是反映植物抗寒性的重要指标之一，已被广泛应用于抗寒性评价及相关研究<sup>[23]</sup>。张倩等<sup>[24]</sup>对 5 个葡萄种群的半致死温度与其抗寒性的研究表明，不同葡萄种群抗寒性差异很大，其抗寒性强弱排序依次为：美洲种 > 山欧杂种 > 法美杂种 > 欧美杂种 > 欧亚种。逯恺凡等<sup>[25]</sup>在北京地区通过调查 136 份葡萄种质的自然越冬情况的结果表明，山葡萄及杂种的自然越冬能力最强，欧美杂种次之，欧亚种最差。本研究中山欧杂种葡萄品种的  $LT_{50}$  在  $-15.054 \sim -29.153$  °C，欧亚种葡萄品种的  $LT_{50}$  在  $-8.550 \sim -21.003$  °C，表明山欧杂种 > 欧亚种。

植物的生理过程受多种因素影响，通过采用隶属函数法对多个指标进行综合评价，可以克服只利用少数指标进行评价的局限性，以揭示酿酒葡萄种质间对低温响应的实质，从而提高抗寒性鉴定的准确性<sup>[26-27]</sup>。在本研究中，测定不同低温梯度酿酒葡萄种质的 REC、 $LT_{50}$ 、POD、Pro、SS 和 MDA，利用隶属函数法综合评价抗寒性，得到了抗寒性排序；同时利用聚类分析将 75 份酿酒葡萄种质划分为高度抗寒性（I）、抗寒性（II）、中度抗寒性（III）和低温敏感性（IV）4 个等级，并且得出抗寒性较好的欧亚种，与沈甜等<sup>[28]</sup>和陈勇等<sup>[29]</sup>报道的欧亚种抗寒性结果基本一致。

#### 3.2 高度抗寒种质和低温敏感种质抗寒生理指标分析

根据隶属函数法和聚类分析法筛选出六个高度抗寒性种质和六个低温敏感性种质进行 REC、POD、Pro、SS 和 MDA 的进一步分析，以此揭示葡萄枝条对低温胁迫做出的响应。在低温胁迫下，植株细胞膜透性增加，从而引起了大量的电解质渗透，抗寒性强的植株，其膜透性的改变相对较小<sup>[30]</sup>。本研究中，高度抗寒性种质和低温敏感性种质枝条 REC 随温度的降低而呈现上升趋势，其变化幅度有所差异；高度抗寒性种质总体增幅相较于低温敏感性种质较缓，在  $-20$  °C ~  $-35$  °C 增幅较大达到最大值，表明在该温度期间枝条受伤害程度最大；低温敏感性种质随着温度降低增幅较大，受伤害程度大，抗寒性较差。

POD 是植物抗氧化酶系统的关键酶类，能高效地分解细胞中过剩的自由基，POD 活性越高，抵御逆境的能力越强<sup>[31]</sup>。本研究中高度抗寒性种质 POD 活性呈现先升后降的趋势，这是由于枝条在低温初始阶段，枝条会启动自我保护反应，以此减缓受损程度和速率，使 POD 活性增加；然而，随着低温胁迫的加剧，植物体内大量自由基积累，超过了其自身防御体系统的清除能力范围，导致保护性酶系统遭到破坏，最终使 POD 活性急剧下降。低温敏感性种质由于抵御低温的能力较弱，呈现出持续下降趋势，这一研究结果与施明等<sup>[32]</sup>、杨豫等<sup>[14]</sup>的结果一致。

SS 和 Pro 对调节植物细胞中渗透压具有重要影响，低温胁迫下可以通过提高 SS 的含量来提高渗透势，从而避免细胞的过度脱水，降低原生质体的冻结温度<sup>[33]</sup>。已有研究表明，Pro 的含量越高，抗寒性越强，但当超过植物自身渗透调节能力极限时，植物的渗透调节就会失效<sup>[34]</sup>。植物中含有 SS

含量较高的品种通常表现出更强的抗寒性，并且其峰值出现也较晚<sup>[35]</sup>。本研究发现，随着低温胁迫加剧，高度抗寒性种质 SS 含量呈先慢后快的上升趋势，在-20 °C~30 °C增幅最大，而低温敏感性种质呈先快后慢的上升趋势，在 4 °C~10 °C增幅最大。这一结果表明，低温处理下，SS 一方面对酿酒葡萄种质产生了明显的渗透调控效应，另一方面通过为还原糖的氧化分解提供能量，进而促进了其细胞内含量的增加。高度抗寒性种质和低温敏感性种质枝条 Pro 含量随温度的降低而呈现先上升后下降趋势，表明在低温胁迫条件下，Pro 参与提高细胞液的浓度，同时降低细胞冰点，从而增强抗寒性。-25 °C处理下，高度抗寒性种质 Pro 含量较高，降幅小，表现出较强抗寒性；而低温敏感性种质 Pro 含量均下降，表明超过自身渗透调节极限。

MDA 是逆境胁迫下细胞膜中多不饱和脂肪酸分解的产物，其含量越高，植物受到伤害的程度越严重<sup>[36]</sup>。本研究中，随着胁迫温度降低，酿酒葡萄种质枝条膜脂过氧化作用加剧，细胞内 MDA 含量逐渐上升，表明低温胁迫使得高度抗寒性种质和低温敏感性种质的细胞膜都受到了不同程度的氧化损伤；其中高度抗寒性种质在 4 °C~20 °C枝条 MDA 含量变幅较小，受膜脂过氧化作用损伤较轻，而在-20 °C~30 °C处理时变幅最大，细胞膜脂质过氧化程度的加剧。低温敏感性种质在-20 °C时均呈下降趋势，由此推测-35 °C低温未达到高度抗寒性种质抵御外界低温的最低限度，因此 MDA 含量未出现下降趋势。本研究中通过测定不同低温处理下酿酒葡萄 1 年生枝条的生理生化指标，以评价酿酒葡萄的抗寒性，鉴于植物的抗寒性受多种因素影响，下一步计划进行多年连续测定生理生化指标，并进行田间观测一致性验证，从而为酿酒葡萄抗寒性研究提供理论依据。

#### 4 结 论

本试验测定 75 份酿酒葡萄种质在不同低温胁迫下 REC、POD、Pro、SS 和 MDA 5 个指标，结合 Logistic 方程计算出 LT<sub>50</sub>。并利用隶属函数法与聚类分析法对 75 份酿酒葡萄种质抗寒性进行综合评价，以此得出山欧杂种>欧亚种葡萄，并将 75 份酿酒葡萄种质资源抗寒性分为 4 个等级，即高度抗寒性、抗寒性、中度抗寒性和低温敏感性种质。同时筛选出高度抗寒性种质和低温敏感性种质，高度抗寒性种质抗寒能力强弱顺序依次为北红>12-5-6>12-16-95>12-10-60>北玫>北冰红，低温敏感性种质抗寒能力强弱顺序依次为品丽珠>白良地>长相思>捏布盖>酒白>宝石解百纳。

#### 参考文献 References:

- [1] 左倩倩, 郑婷, 纪薇, 房经贵. 中国地方葡萄品种分布及收集利用现状[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2019(5): 76-80.  
ZUO Qianqian, ZHENG Ting, JI Wei, FANG Jinggui. The present situation of distribution and collection and utilization of grape varieties in China[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2019(5): 76-80.
- [2] 赵晓丽, 叶伟, 张晶晶, 李岩. 基于 SWOT 分析的新疆葡萄酒文化旅游发展研究[J]. 农村经济与科技, 2024, 35(1): 109-111.  
ZHAO Xiaoli, YE Wei, ZHANG Jingjing, LI Yan. Based on SWOT analysis research on the development of wine culture tourism in Xinjiang[J]. Rural Economy and Science-Technology, 2024, 35(1): 109-111.
- [3] 吴铎思, 王薇, 杜林峰. 小葡萄酿出大产业[N]. 工人日报, 2023-05-23(7).  
WU Duosi, WANG Wei, DU Linfeng. Small grapes make big industries[N]. Workers' Daily, 2023-05-23(7).
- [4] 谢发兵. 玛纳斯县葡萄酒产业发展的思考[J]. 新疆林业, 2023(5): 32-33.  
XIE Fabing. Reflections on the development of the wine industry in Manas County[J]. Forestry of Xinjiang, 2023(5):



32-33.

- [5] 师琼. 新疆酿酒葡萄基地建设现状与发展建议[J]. 新疆林业, 2019(5): 23-26.  
SHI Qiong. The current situation and development suggestions of the construction of wine grape base in Xinjiang[J]. Forestry of Xinjiang, 2019(5): 23-26.
- [6] GU B, ZHANG B, DING L, LI P Y, SHEN L, ZHANG J X. Physiological change and transcriptome analysis of Chinese wild *Vitis amurensis* and *Vitis vinifera* in response to cold stress[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2020, 38(3): 478-490.
- [7] WANG Z L, WANG Y, WU D, HUI M, HAN X, XUE T T, YAO F, GAO F F, CAO X, LI H, WANG H. Identification and regionalization of cold resistance of wine grape germplasms (*V. vinifera*)[J]. Agriculture, 2021, 11(11): 1117.
- [8] 宋润刚. 酿酒葡萄新品种‘北冰红’[J]. 北方果树, 2008(5): 68.  
SONG Rungang. A new ice-red brewing grape cultivar ‘Beibinghong’ [J]. Northern Fruits, 2008(5): 68.
- [9] 范培格, 李绍华. 酿酒葡萄新品种: 北馨[J]. 中国果业信息, 2015, 32(3): 65.  
FAN Peige, LI Shao-hua. A new ice-red brewing grape cultivar ‘Beixin’ [J]. China Fruit News, 2015, 32(3): 65.
- [10] 林洪. 优质抗寒葡萄新品种‘凌丰红’[J]. 北方果树, 2022(1): 41.  
LIN Hong. A new high-quality cold-resistant grape cultivar ‘Lingfenghong’ [J]. Northern Fruits, 2022(1): 41.
- [11] WANG Z L, WU D, HUI M, WANG Y, HAN X, YAO F, CAO X, LI Y H, LI H, WANG H. Screening of cold hardiness-related indexes and establishment of a comprehensive evaluation method for grapevines (*V. vinifera*)[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1014330.
- [12] 曹建东, 陈佰鸿, 王利军, 毛娟, 赵鑫. 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 Jiandong, CHEN Baihong, WANG Lijun, MAO Juan, ZHAO Xin. Cold resistance indexes identification and comprehensive evaluation of grape varieties[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(11): 2232-2239.
- [13] 郭艳兰, 牟德生, 赵连鑫, 王鑫, 马宗桓, 张兆铭, 张利年. 六个葡萄砧木品种(系)的抗寒性评价[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2022(3): 38-43.  
GUO Yanlan, MU Desheng, ZHAO Lianxin, WANG Xin, MA Zonghuan, ZHANG Zhaoming, ZHANG Linian. Analysis of cold resistance of six wine grape rootstock varieties[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2022(3): 38-43.
- [14] 杨豫, 张晓煜, 陈仁伟, 丁琦, 冯蕊, 李芳红, 范锦龙. 贺兰山东麓4个酿酒葡萄品种枝条抗寒性鉴定[J]. 干旱区资源与环境, 2021, 35(3): 183-189.  
YANG Yu, ZHANG Xiaoyu, CHEN Renwei, DING Qi, FENG Rui, LI Fanghong, FAN Jinlong. Evaluation on cold resistance of four wine grape varieties at the eastern foothills of Helan Mountain[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2021, 35(3): 183-189.
- [15] 贾金辉, 徐凌, 刘慧纯, 蔡智军, 田晓玲, 张海涛. 8个酿酒葡萄品种的抗寒性比较[J]. 中国果树, 2021(7): 39-44.  
JIA Jinhui, XU Ling, LIU Huichun, CAI Zhijun, TIAN Xiaoling, ZHANG Haitao. Comparison of cold resistance of eight wine grape varieties[J]. China Fruits, 2021(7): 39-44.
- [16] 丁思悦, 王雨婷, 赵佳琪, 王文, 惠竹梅. 葡萄种质抗寒性鉴定及综合评价[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2024, 52(6): 106-120.  
DING Siyue, WANG Yuting, ZHAO Jiaqi, WANG Wen, XI Zhumei. Identification and comprehensive evaluation of cold resistance among grape germplasm[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2024, 52(6): 106-120.
- [17] 任静, 郝燕, 白耀栋, 朱燕芳, 张思成. 河西走廊‘贵人香’7个葡萄砧穗组合抗寒性的综合评价[J]. 甘肃农业大学学报, 2019, 54(4): 60-68.

- REN Jing, HAO Yan, BAI Yaodong, ZHU Yanfang, ZHANG Sicheng. Comprehensive evaluation on cold resistance of seven grape rootstock-scion combinations of Italian Riesling in Hexi Corridor[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2019, 54(4): 60-68.
- [18] 罗尧幸, 郭荣荣, 李雪雪, 刘榕晨, 王跃进, 纪薇. 基于隶属函数法评价 7 个鲜食葡萄品种的抗寒性[J]. 贵州农业科学, 2018, 46(6): 38-44.
- LUO Yaoxing, GUO Rongrong, LI Xuexue, LIU Rongchen, WANG Yuejin, JI Wei. Cold resistance of seven table grape varieties evaluated by subordinate function method[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2018, 46(6): 38-44.
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- LI Hesheng. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [20] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- ZOU Qi. Plant physiology lab instruction[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [21] LU S J, HE J Q, YI S H, YI L, LI C H, YANG S G, YIN J M. Establishment and application of a comprehensive assessment system for cold resistance in Denphal-group Dendrobium cultivars[J]. European Journal of Horticultural Science, 2021(3): 86.
- [22] CHEN L J, XIANG H Z, MIAO Y, ZHANG L, GUO Z F, ZHAO X H, LIN J W, LI T L. An overview of cold resistance in plants[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2014, 200(4): 237-245.
- [23] 刘兴禄, 王红平, 孙文泰, 董铁, 牛军强, 马明. 5 个砧木苹果枝条的抗寒性评价[J]. 果树学报, 2021, 38(8): 1264-1274.
- LIU Xinglu, WANG Hongping, SUN Wentai, DONG Tie, NIU Junqiang, MA Ming. Cold resistance evaluation of the shoots of 5 apple rootstocks[J]. Journal of Fruit Science, 2021, 38(8): 1264-1274.
- [24] 张倩, 刘崇怀, 郭大龙, 姜建福, 樊秀彩, 张颖. 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 Qian, LIU Chonghuai, GUO Dalong, JIANG Jianfu, FAN Xiucui, ZHANG Ying. Relationship between LT<sub>50</sub> and cold adaptability of five grape varieties[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2013, 41(5): 149-154.
- [25] 逯恺凡, 方梓庄, 卢江, 朱磊, 张雅丽. 136 份葡萄种质资源在北京地区自然越冬情况调查[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2019(6): 1-11.
- LU Kaifan, FANG Zizhuang, LU Jiang, ZHU Lei, ZHANG Yali. Investigation of 136 grape germplasms overwintering without burying in Beijing[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2019(6): 1-11.
- [26] 王涵雅, 李欣, 毛娟, 马宗桓, 陈佰鸿. 15 种 1 年生鲜食葡萄枝条的抗寒性评价[J]. 甘肃农业大学学报, 2023, 58(5): 95-105.
- WANG Hanya, LI Xin, MAO Juan, MA Zonghuan, CHEN Baihong. Evaluation on cold resistance of annual branches of 15 table-grape varieties[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2023, 58(5): 95-105.
- [27] 张晓婷, 庄赞, 董嘉辉, 周碧燕. 荔枝种质资源抗寒性综合评价[J]. 果树学报, 2024, 41(3): 403-425.
- ZHANG Xiaoting, ZHUANG Yun, DONG Jiahui, ZHOU Biyan. Comprehensive evaluation of cold tolerance in *Litchi* germplasm resources[J]. Journal of Fruit Science, 2024, 41(3): 403-425.
- [28] 沈甜, 牛锐敏, 黄小晶, 许泽华, 陈卫平. 酿酒葡萄抗寒性评价及分类[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2021(1): 1-7.
- SHEN Tian, NIU Ruimin, HUANG Xiaojing, XU Zehua, CHEN Weiping. Evaluation and classification of cold resistance of wine grapes[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2021(1): 1-7.
- [29] 陈勇, 董新平, 史应武. 新天资源圃葡萄叶片抗寒性调查[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2004(4): 29-30.

- CHEN Yong, DONG Xinping, SHI Yingwu. Investigation of cold resistance of grape leaves in Xintian resource garden[J]. Sino-overseas Grapevine & Wine, 2004(4): 29-30.
- [30] QI W L, WANG F, MA L, QI Z, LIU S Q, CHEN C, WU J Y, WANG P, YANG C R, WU Y, SUN W C. Physiological and biochemical mechanisms and cytology of cold tolerance in *Brassica napus*[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 1241.
- [31] 刘瑞琳, 苗阳, 张云程, 陈建华, 董煜天, 董胜君. 引种野杏无性系及家系的抗寒性[J]. 经济林研究, 2023, 41(2): 137-149.
- LIU Ruilin, MIAO Yang, ZHANG Yuncheng, CHEN Jianhua, DONG Yutian, DONG Shengjun. Cold resistance of introduced *Prunus armeniaca* var. *ansu* clones and families[J]. Non-Wood Forest Research, 2023, 41(2): 137-149.
- [32] 施明, 谢军, 徐美隆, 王佳. 贺兰山东麓 8 个酿酒葡萄品种抗寒性比较[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(5): 137-140.
- SHI Ming, XIE Jun, XU Meilong, WANG Jia. Comparison of cold resistance of eight wine-making grape varieties at the eastern foot of Helan Mountain[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(5): 137-140.
- [33] KEUNEN E, PESHEV D, VANGRONVELD J, VAN DEN ENDE W, CUYPERS A. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept[J]. Plant, Cell & Environment, 2013, 36(7): 1242-1255.
- [34] 陈卫东, 张玉霞, 夏全超, 滕泽, 孙昊, 张庆昕, 杜晓艳. 冷冻胁迫下磷肥对紫花苜蓿根颈含水量及氨基酸代谢的影响[J]. 中国草地学报, 2022, 44(1): 58-63.
- CHEN Weidong, ZHANG Yuxia, XIA Quanchao, TENG Ze, SUN Hao, ZHANG Qingxin, DU Xiaoyan. Effects of phosphate fertilizer on root crown water content and amino acid metabolism of alfalfa under freezing stress[J]. Chinese Journal of Grassland, 2022, 44(1): 58-63.
- [35] 金龙飞, 杨蒙迪, 周丽霞, 冯美利, 曹红星. 9 个油棕品种抗寒性的生理生化鉴定[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(8): 132-136.
- JIN Longfei, YANG Mengdi, ZHOU Lixia, FENG Meili, CAO Hongxing. Physiological and biochemical identification of cold resistance of 9 oil palm varieties[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(8): 132-136.
- [36] 包俊宏, 包敖民, 杨荣, 李今普, 王宝侠, 郑东生, 何炎红. 寒地苹果龙丰、岳艳及其两个杂交优系抗寒性综合评价[J]. 果树学报, 2024, 41(2): 241-251.
- BAO Junhong, BAO Aomin, YANG Rong, LI Jinpu, WANG Baoxia, ZHENG Dongsheng, HE Yanhong. Comprehensive evaluation of cold resistance of apple Longfeng, Yueyan and their two hybrid strains in cold region[J]. Journal of Fruit Science, 2024, 41(2): 241-251.