

· 研究报告 ·

# 光化学反射指数在比较葡萄叶片耐霜冻能力中的应用

孙鲁龙, 宋伟, 杜远鹏, 翟衡\*

山东农业大学园艺科学与工程学院, 果树生物学国家重点实验室, 泰安 271018

**摘要** 以12个葡萄(*Vitis vinifera*)品种为试材, 在秋季采集叶片, 进行霜冻处理, 测定了霜冻过程中叶片光化学反射指数(PRI)的变化。提取有效参数, 采用隶属函数法比较了不同叶片的耐霜冻能力。结果表明, 随着温度的降低, 叶片光化学反射指数呈下降趋势。在 $-8-0^{\circ}\text{C}$ 范围内, PRI及其相对值 $R_t$ 与温度都存在显著的线性关系; 叶片PRI在 $0^{\circ}\text{C}$ 、 $-8^{\circ}\text{C}$ 时的相对值 $R_0$ 、 $R_{-8}$ , 以及 $-8-0^{\circ}\text{C}$ 范围中,  $R_t$ 与温度的回归直线斜率SLP都具有品种特异性, 可以反映不同品种的耐霜冻能力。隶属函数法结合聚类分析结果显示, 在12个候选品种中, 抗霜冻能力最好的是Cabernet Sauvignon, 其 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 和SLP分别为72.3%、50.19%和2.78。

**关键词** 光化学反射指数, 秋季霜冻, 叶片, 葡萄

孙鲁龙, 宋伟, 杜远鹏, 翟衡 (2017). 光化学反射指数在比较葡萄叶片耐霜冻能力中的应用. 植物学报 52, 543–549

2015年11月23–24日, 山东省发生了大范围突发性冻害天气, 许多葡萄(*Vitis vinifera*)种植区遭受了前所未有的损失。山东省以济宁地区受害最为严重, 上千亩葡萄在未落叶之前遭遇强低温, 致使葡萄叶片、枝条甚至是果实严重受冻, 造成巨大的经济损失。生产上一般比较重视对晚春霜冻的预防, 对早秋霜冻的忽视是造成2015年秋季严重冻害的主要原因。研究表明, 预计在未来几十年内, 秋季霜冻发生的频率还会增加(潘淑坤等, 2013; 张磊等, 2014; 白金凤等, 2015), 因此有必要加强葡萄秋季霜冻害研究。

抗性种质资源的开发与利用是农业上应对不利栽培环境的重要手段, 而种质资源的抗性评价是种质利用的基础。目前, 对葡萄进行的抗寒性评价主要是以冬季休眠期为研究时期, 以根系、枝条和休眠冬芽为主要研究材料(Wample and Bary, 1992; Wample et al., 1993; Wolf and Cook, 1994; Fuller and Telli, 1999; Gu, 1999; Kovács et al., 2003; Ferguson et al., 2011), 对生长季叶片耐低温能力的评价则相对缺乏。在研究方法上, 电导率法、低温放热法以及生理生化指标测定是使用最多的方法, 但是这些方法操作繁琐, 且需要对植物材料进行破坏, 往往难以准确反映植物材料在低温环境下的真实情况。植物光合参数在农业生产实践中具有重要意义, 在低温研究中也

已得到了一定的应用(Allen and Ort, 2001; Neuner et al., 2013; Maughan et al., 2015), 但是光合参数的测定受到多种因素的影响, 要得到大量可靠的数据相对困难。荧光技术操作简便且对检测材料无损, 但难以实现大范围植物群体的荧光测定, 这些因素都限制了其在叶片低温评价及灾后调查中的应用。

遥感技术和反射光谱技术的发明为测定大范围群体光合性能提供了可靠的技术手段。已有研究证明, 光谱参数中的光化学反射指数(photochemical reflectance index, PRI)与叶片光能利用率(light use efficiency, LUE)呈显著正相关(Nakaji et al., 2006; Wu et al., 2010)。此外, 相对于光合仪和荧光仪, 采用光谱仪收集PRI数据更加方便快捷。本课题组前期的研究表明, 低温条件下, 光化学反射指数与电导率呈显著负相关(Sun et al., 2016), 这为采用光化学反射指数比较葡萄叶片耐霜冻能力奠定了理论基础。

本研究分析了光化学反射指数随温度降低的变化特点, 着重提取变化过程中的有效参数, 并将其用于葡萄种质叶片耐秋季低温的比较。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验于2015年10月进行, 此时葡萄(*Vitis vinifera* L.)

收稿日期: 2016-06-02; 接受日期: 2016-09-04

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(No.CARS-29-zp-2)、山东省“双一流”建设奖补资金(SYL2017YSTD10)与长江学者和创新团队发展计划(No.IRT15R42)

\* 通讯作者。E-mail: zhaih@sdau.edu.cn

叶片还未表现出失绿等衰老迹象。样品采自山东农业大学园艺学院实验站葡萄园, 5年生Kyoho、Summer black、Muscat、Moldova、Cabernet Sauvignon、Merlot、Frontenac、Vidal Blanc、Shan Butao、White Riesling 和 Pinot Chardonnay, 以及2年生Tangwei Butao被选为本实验的研究材料。植株南北行向种植, 株距及行距2 m×3 m。除Summer black、Moldova和Tangwei Butao为棚架栽培, 其它品种都为篱架栽培, 单干双臂整形。

## 1.2 采样及预处理

于2015年10月8–9日采集叶片。此时夜间平均气温为4°C左右。在每个品种种植区按五点法选好采样点。从每个采样点采集健康、长势均匀且未失绿的8个功能叶, 共采集40片。叶片采下后立即用湿棉花包裹叶柄切口, 避免失水。将叶片放入保鲜盒, 并在30分钟内带回实验室。用清水洗掉叶片表面的灰尘, 之后用吸水纸吸干叶片表面多余的水分。

## 1.3 霜冻处理

用湿棉花包裹叶柄, 将叶片放入高低温湿热试验箱中(苏州智何环境试验设备有限公司)。设定降温程序为: 30分钟内从室温降到4°C, 4°C维持20分钟, 之后以每小时2°C的速度依次降到2、0、-2、-4、-6和-8°C, 并在每个目标温度维持20分钟。

## 1.4 反射光谱测定

每个低温处理时间达到后, 立即随机取出5个叶片, 用光谱仪(UniSpec-SC, 美国)测定叶片经低温胁迫后的反射光谱。尽量在1分钟内将每个叶片的叶肉部位都进行光谱测定, 每次取样后测定的光谱次数不少于30次, 光谱测定波段为310–1 130 nm, 分辨率为1 nm, 以30次重复的平均值作为每个处理的光谱反射率。用Multispec 5.1软件读取反射光谱的原始数据。光化学反射指数(PRI)计算公式如下:

$$PRI = (R_{531} - R_{570}) / (R_{531} + R_{570})$$

其中,  $R_{531}$ 和 $R_{570}$ 分别为波长531 nm和570 nm处的光谱反射率。

## 1.5 数据处理

采用Origin 8.0软件进行作图及线性拟合。采用SPSS

21.0进行t检验, 显著水平为 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 低温对葡萄叶片PRI的影响

图1显示, 随着温度的降低, 葡萄叶片的PRI呈下降趋势, 在零下温度(-8–0°C), PRI与温度呈显著的线性关系( $\alpha=0.05$ )。

以每个葡萄品种叶片在4°C下的PRI值作为各自的对照, 对-8–0°C区间的PRI值进行数据转换, 求出PRI相对于对照的水平 $R_t$ , 以表征PRI在低温下的稳定情况。结果显示, PRI的相对水平( $R_t$ )与温度之间也存在较好的线性关系(图2), 但是不同品种的 $R_t$ 对-8–0°C区间低温的反应程度差别较大。当温度降到0°C时, Moldova、Cabernet Sauvignon以及White Riesling等品种的相对PRI ( $R_0$ ) (图2A–D, F–L)仍可以维持在对照70%以上的水平, 而Tangwei Butao的 $R_0$  (图2E)则显著下降到对照的7.79%, 表明不同品种PRI对降温的敏感性差异很大。在-8–0°C区间, 叶片PRI以线性方式下降, 线性方程的斜率SLP从Tangwei Butao的0.42 (图2E)到ShanButao的3.82 (图2J)不等, 表明不同品种叶片的PRI随温度降低的速度差异较大。当温度降到-8°C时, 不同品种叶片PRI的相对水平 $R_{-8}$ 差异也很大, Moldova (图2D)、Cabernet Sauvignon (图2F)和White Riesling (图2K)等品种可以维持在对照水平的50%左右, Muscat (图2C)在10%以下, Tangwei Butao (图2E)则接近0。

### 2.2 不同葡萄品种叶片 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 及SLP对比

根据每个葡萄品种叶片的 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 及1/SLP数值, 采用t检验分析了12个品种在3个参数层面彼此之间的差异(表1)。结果表明, 不同品种的 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 及1/SLP存在显著差异, 表明 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 和1/SLP具有品种特异性, 可以用于检测不同品种对低温的适应能力。

### 2.3 隶属函数法综合评价不同葡萄品种叶片的耐冻能力

参考高振(2014)的方法, 分别计算不同葡萄品种的 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 和1/SLP的隶属函数值, 并求出隶属函数值的平均值以反映叶片的综合抗冻能力(表2)。隶属函数值越大, 抗冻能力越好。从表2可以看出, 不同品种的

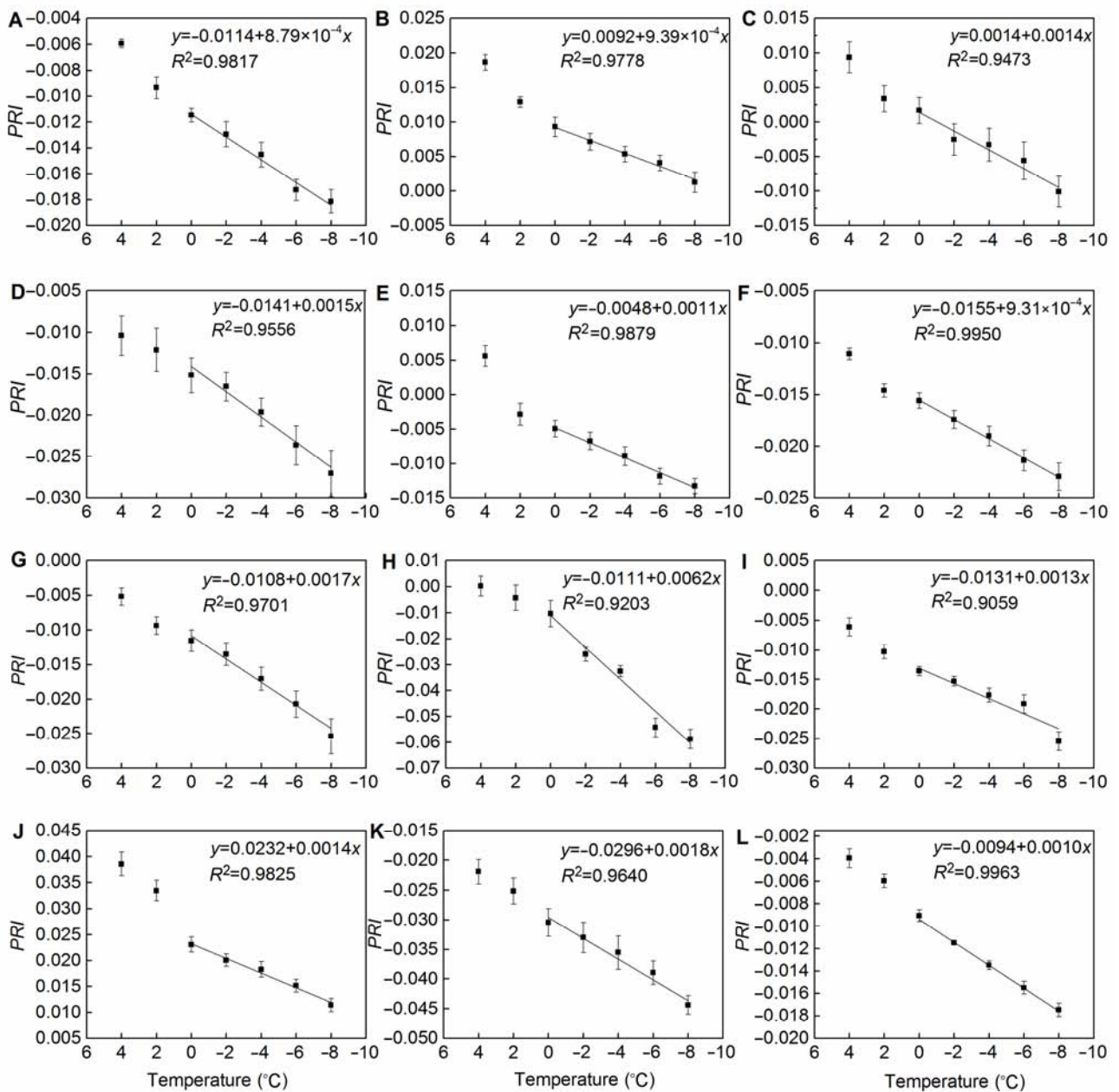


图1 不同葡萄品种叶片低温处理温度-PRi的关系

(A)–(L) 分别为葡萄种质Kyoho、Summer black、Muscat、Moldova、Tangwei Butao、Cabernet Sauvignon、Merlot、Frontenac、Vidal Blanc、Shan Butao、White Riesling和Pinot Chardonnay, 图2同。采用–8–0°C之间的数据进行回归直线拟合, 显著水平为 $\alpha=0.05$ 。

Figure 1 Temperature-PRi relationships in leaves of different grapevine cultivars

(A)–(L) Indicate grapevine cultivars Kyoho, Summer black, Muscat, Moldova, Tangwei Butao, Cabernet Sauvignon, Merlot, Frontenac, Vidal Blanc, Shan Butao, White Riesling and Pinot Chardonnay, respectively, the same as Figure 2. All regressions were conducted for the range of –8°C to 0°C and significant difference at 0.05 levels.

隶属函数值差异较大, Cabernet Sauvignon的最高(为0.678); Muscat的最低(为0.223)。对12个品种的平均

隶属函数值采用最短距离法聚类(图3), 结果显示, 以距离15为标准可以将12个品种划分为3类。1类包括

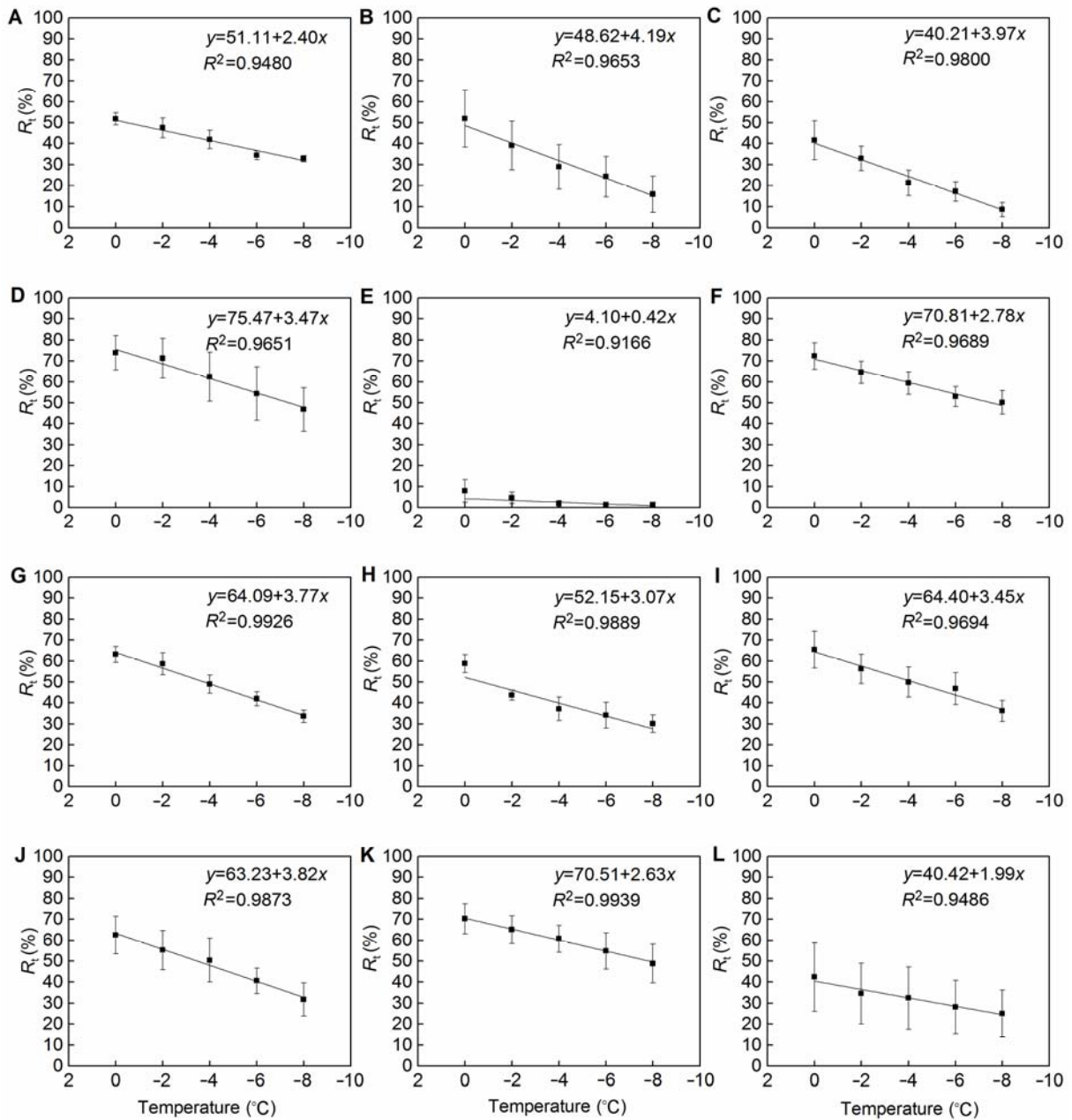


图2 不同葡萄品种叶片温度- $R_t$ 的关系

(A)–(L)见图1。  $R_t(\%)=PRI_t/PRI_{4^{\circ}C}\times 100$ ,  $t=0, -2, -4, -6, -8^{\circ}C$ 。采用 $-8-0^{\circ}C$ 之间的数据进行回归直线拟合, 显著水平为 $\alpha=0.05$ 。

Figure 2 Temperature- $R_t$  relationships in different grapevine cultivars

(A)–(L) See Figure 1.  $R_t(\%)=PRI_t/PRI_{4^{\circ}C}\times 100$ ,  $t=0, -2, -4, -6, -8^{\circ}C$ . All regressions were conducted for the range of  $-8^{\circ}C$  to  $0^{\circ}C$  and significant difference at 0.05 levels.

Cabernet Sauvignon、White Riesling和Moldova, 平均隶属函数值为0.664; II类包括Vidal Blanc、Merlot、ShanButao、Frontenac、Kyoho、Pinot Chardonnay、Tangwei Butao和Summer black, 平均隶属函数值为0.437; III类为Muscat, 平均隶属函数值为0.223。

## 2.4 讨论

长期以来, 葡萄抗寒性评价的主要研究对象是根系和休眠冬芽, 对叶片的抗寒评价研究相对匮乏。其主要原因是相对于根系和休眠芽, 叶片遭遇冻害天气的概

**表1** 12个葡萄品种叶片 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 和1/SLP比较

**Table 1** Comparison of  $R_0$ ,  $R_{-8}$ , 1/SLP among 12 grapevine cultivar leaves

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$R_0$												
1. Kyoho												
2. Summer black	*											
3. Muscat	*	*										
4. Moldova	*	*	*									
5. Tangwei Butao	*	*	*	*								
6. Cabernet Sauvignon	*	*	*	*	*							
7. Merlot	*	*	*	*	*	*						
8. Frontenac	*	*	*	*	*	*	*					
9. Vidal Blanc	*	*	*	*	*	*	*	*				
10. Shan Butao	*	*	*	*	*	*	*	*	*			
11. White Riesling	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
12. Pinot Chardonnay	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
$R_{-8}$												
1. Kyoho												
2. Summer black	*											
3. Muscat	*	*										
4. Moldova	*	*	*									
5. Tangwei Butao	*	*	*	*								
6. Cabernet Sauvignon	*	*	*	*	*							
7. Merlot	*	*	*	*	*	*						
8. Frontenac	*	*	*	*	*	*	*					
9. Vidal Blanc	*	*	*	*	*	*	*	*				
10. Shan Butao	*	*	*	*	*	*	*	*	*			
11. White Riesling	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
12. Pinot Chardonnay	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
1/SLP												
1. Kyoho												
2. Summer black	*											
3. Muscat	*	n										
4. Moldova	*	*	*									
5. Tangwei Butao	*	*	*	*								
6. Cabernet Sauvignon	*	*	*	*	*							
7. Merlot	*	*	n	*	*	*						
8. Frontenac	*	*	*	*	*	*	*					
9. Vidal Blanc	*	*	*	n	*	*	*	*				
10. Shan Butao	*	*	n	*	*	*	n	*	*			
11. White Riesling	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
12. Pinot Chardonnay	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

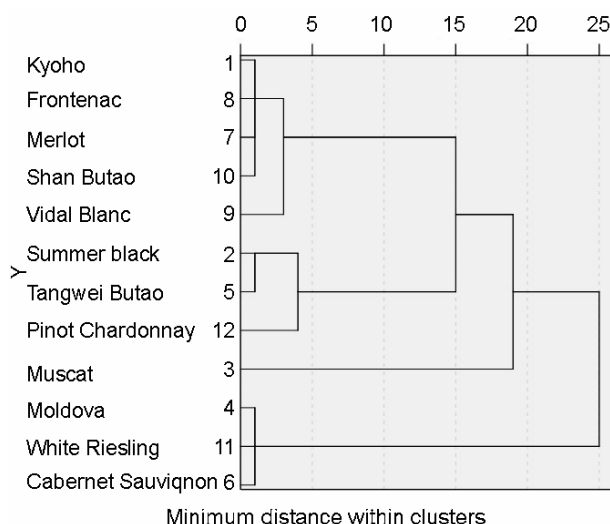
n和\*分别表示在0.05水平下差异不显著和差异显著(t检验)。  
n and \* indicate non-significant and significant difference at 0.05 level (t test), respectively.

率较小, 而且霜冻发生一般有规律可循, 通过临时性的保护措施往往可以应对。但是近年来由于气候变化

**表2** 12个葡萄品种叶片的抗寒性隶属函数分析

**Table 2** Affiliation function analysis of cold hardiness in leaves of 12 grapevine cultivars

Cultivar	$R_0$	$R_{-8}$	1/SLP	Means
Kyoho	0.667	0.644	0.083	0.464
Summer black	0.668	0.298	0	0.322
Muscat	0.513	0.151	0.006	0.223
Moldova	1	0.930	0.023	0.651
Tangwei Butao	0	0	1	0.333
Cabernet Sauvignon	0.977	1	0.057	0.678
Merlot	0.839	0.661	0.012	0.504
Frontenac	0.772	0.591	0.041	0.468
Vidal Blanc	0.874	0.713	0.024	0.537
Shan Butao	0.828	0.623	0.011	0.487
White Riesling	0.946	0.973	0.066	0.662
Pinot Chardonnay	0.525	0.486	0.123	0.378



**图3** 根据隶属函数值对12个葡萄品种叶片抗冻能力聚类

**Figure 3** Cluster analysis of cold hardiness of 12 grapevine cultivar leaves according to functional values

程度加剧, 突发性降温天气越来越频繁, 且难以预测。此外, 葡萄栽培面积的扩大也使临时性保护措施难以及时开展, 因此突发性降温天气所带来的冻害问题也越来越突出。与休眠季不同, 处于生长季的叶片未经过抗寒锻炼, 缺乏适应低温的物质基础和结构条件, 对低温的抵抗能力很弱, 因此往往一场突如其来的降温就可以将葡萄叶片全部杀死, 造成巨大的经济损失。

评价植物材料抗寒性的方法较多,但是各有优缺点。开发无损、早期、快速且能适应大面积应用的检测方法是未来的发展趋势。基于以上考虑,本研究尝试将反射光谱技术中的光化学反射指数(PRI)用于葡萄叶片的低温研究,并根据低温环境下能反映品种差异的3个参数 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 和 $1/SLP$ 比较不同品种叶片的抗冻性。

降温条件下PRI的变化比较剧烈。温度从4°C降到2°C并维持短时间(20分钟),就会造成多数品种的PRI大幅度降低(图1),而此时叶片并没有表现出任何受冻的症状。此时停止霜冻,叶片的光化学反射指数仍能恢复到正常水平(数据未列出),表明反映叶片光能利用率的参数PRI对低温比较敏感,具备早期预测的潜力,同时也表明,0°C以上的低温并不会导致叶片冻坏。

0°C及0°C以下降温过程中,PRI呈线性降低。在降温过程中,叶片PRI越接近对照水平(即 $R_t$ 越接近1),说明叶片忍耐低温的能力越强。每个品种在0°C和-8°C的相对PRI( $R_0$ 和 $R_{-8}$ )都存在显著差异。-8°C-0°C范围内, $R_t$ -温度之间的回归直线斜率SLP反映了 $R_t$ 随温度降低而下降的速度。在同样的 $R_0$ 和 $R_{-8}$ 条件下,SLP可以体现 $R_t$ 对降温的敏感性,也能从另一个角度说明叶片的耐低温能力。与 $R_0$ 和 $R_{-8}$ 相似,SLP也具有品种特异性(表1)。因此,本研究获得了可以反映叶片抗冻能力的3个参数 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 和SLP。 $R_0$ 和 $R_{-8}$ 越大、SLP越小( $1/SLP$ 越大),叶片在低温条件下维持相对正常状态的能力越强,即抗冻性越好。

根据 $R_0$ 、 $R_{-8}$ 和 $1/SLP$ 构建的隶属函数值反映了叶片的综合耐冻能力(表2)。根据隶属函数平均值对12个品种进行聚类分析(图3),将所检测的品种分为抗冻能力不同的3类,然而,每一类中都包含不同的种群,这可能说明葡萄叶片耐霜冻能力与种群并无直接关系。遗传因素与叶片抗冻能力之间的关系以及不同栽培架势对叶片抗冻能力的影响仍需进一步验证。在实际的霜冻环境中,不同品种及采用不同架势栽培的葡萄都可能处于相同的降温环境中,因此本研究方法为在控制霜冻环境下评价葡萄叶片耐冻能力提供了一种新思路。

## 参考文献

白金凤,公芙蓉,李春华,武峰梅,赵贵报(2015).侯马市近

- 30年霜及霜冻的气候特征分析.中国农学通报 31(2),257-261.
- 高振(2014).基于温度-伤害度关系分析葡萄抗寒性及其影响因素.硕士学位论文.泰安:山东农业大学. pp. 19-20.
- 潘淑坤,张明军,汪宝龙,马雪宁(2013).1960-2011年新疆初终霜日及无霜期的变化特征.干旱区研究 30,735-742.
- 张磊,王静,张晓煜,卫建国,段晓凤,李红英,肖艳红(2014).近50a宁夏初、终霜日基本特征及变化趋势.干旱区研究 31,1039-1045.
- Allen DJ, Ort DR (2001). Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends Plant Sci* 6, 36-42.
- Ferguson JC, Tarara JM, Mills LJ, Grove GG, Keller M (2011). Dynamic thermal time model of cold hardiness for dormant grapevine buds. *Ann Bot* 107, 389-396.
- Fuller MP, Telli G (1999). An investigation of the frost hardiness of grapevine (*Vitis vinifera*) during bud break. *Ann Appl Biol* 135, 589-595.
- Gu SL (1999). Lethal temperature coefficient—a new parameter for interpretation of cold hardiness. *J Hortic Sci Biotechnol* 74, 53-59.
- Kovács LG, Byers PL, Kaps ML, Saenz J (2003). Dormancy, cold hardiness, and spring frost hazard in *Vitis amurensis* hybrids under continental climatic conditions. *Am J Enol Viticult* 54, 8-14.
- Maughan TL, Black BL, Drost D (2015). Critical temperature for sub-lethal cold injury of strawberry leaves. *Sci Hortic* 183, 8-12.
- Nakaji T, Oguma H, Fujinuma Y (2006). Seasonal changes in the relationship between photochemical reflectance index and photosynthetic light use efficiency of Japanese larch needles. *Int J Remote Sens* 27, 493-509.
- Neuner G, Eler A, Ladinig U, Hacker J, Wagner J (2013). Frost resistance of reproductive tissues during various stages of development in high mountain plants. *Physiol Plantarum* 147, 88-100.
- Sun LL, Song W, Geng QW, Du YP, Zhai H, Qin WS (2016). Comparison of cold hardiness in the leaves of various grape cultivars based on photochemical reflectance index. *Vitis J Grapevine Res* 55, 107-112.
- Wample RL, Bary A (1992). Harvest date as a factor in carbohydrate storage and cold hardiness of Cabernet Sauvignon grapevines. *J Am Soc Hortic Sci* 117, 32-36.
- Wample RL, Spayd SE, Evans RG, Stevens RG (1993). Nitrogen fertilization of White Riesling grapes in Washington: nitrogen seasonal effects on bud cold hardiness and carbohydrate reserves. *Am J Enol Viticult* 44, 159-

167.

**Wolf TK, Cook MK** (1994). Cold hardiness of dormant buds of grape cultivars: comparison of thermal analysis and field survival. *HortScience* **29**, 1453–1455.

**Wu CY, Niu Z, Tang Q, Huang WJ** (2010). Revised photochemical reflectance index (PRI) for predicting light use efficiency of wheat in a growth cycle: validation and comparison. *Int J Remote Sens* **31**, 2911–2924.

## Application of Photochemical Reflectance Index in Comparing Frost Resistance of Grapevine Cultivars

Lulong Sun, Wei Song, Yuanpeng Du, Heng Zhai\*

*State Key Laboratory of Crop Biology, College of Horticultural Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China*

**Abstract** Leaves of 12 grapevine cultivars were selected as materials and collected in the fall. The photochemical reflectance index (*PRI*) in leaves was measured after frost treatment. Effective parameters were calculated and used in functional value analysis to compare the cold hardiness of leaves. Cooling temperature led to a trend of declining *PRI*. *PRI* and its relative value ( $R_t$ ) had a good linear relationship with temperature in the range of  $-8$  to  $0^\circ\text{C}$ . Relative values at both  $0^\circ\text{C}$  and  $-8^\circ\text{C}$  ( $R_0$ ,  $R_{-8}$ ) differed among cultivars, as did the slope of regressions in the range of  $-8$  to  $0^\circ\text{C}$  and can be used as parameters to reflect the cold hardiness of leaves. Functional value analysis and cluster analysis showed that the most cold-hardiness cultivar in leaves was Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*), with  $R_0$ ,  $R_{-8}$ , and SLP values at 72.3%, 50.19%, and 2.78, respectively.

**Key words** Photochemical reflectance index, autumn frost, leaf, grapevine

**Sun LL, Song W, Du YP, Zhai H** (2017). Application of photochemical reflectance index in comparing frost resistance of grapevine cultivars. *Chin Bull Bot* **52**, 543–549.

---

\* Author for correspondence. E-mail: zhaih@sda.u.edu.cn

(责任编辑: 朱亚娜)