

不同砧木对马瑟兰葡萄果皮花色苷组成和含量的影响

王 婷¹, 张超杰¹, 卢建声¹, 肖慧琳¹, 郑秋玲¹, 刘万好¹, 唐美玲^{1,2}, 陈景辉^{2,3}, 宋建强⁴, 官 磊⁵, 郭对田^{1*}

(1. 山东省烟台市农业科学研究院, 山东 烟台 265500; 2. 山东省酿酒葡萄与葡萄酒技术创新中心, 山东 蓬莱 265600; 3. 中粮长城葡萄酒有限公司, 山东 烟台 264000; 4. 鲁东大学, 山东 烟台 264000; 5. 山东省葡萄研究院, 济南 250100)

摘 要:以 101-14、3309、贝达嫁接的马瑟兰葡萄为试材, 自根砧葡萄为对照, 采用高效液相色谱(HPLC)法测定果皮花色苷含量, 研究砧木对果皮花色苷种类和含量的影响。结果表明, 砧木没有改变马瑟兰葡萄果皮中花色苷的种类, 101-14、3309、贝达都能够显著增加果皮中花色苷的含量($P<0.05$); 马瑟兰嫁接苗葡萄果皮中酰化修饰的花色苷相对含量均低于自根砧, 砧木对果皮花色苷含量影响程度不同, 3种砧木使马瑟兰葡萄果皮花色苷的含量提高 14.19%~92.33%。

关键词: 马瑟兰; 花色苷; 砧木

中图分类号: S663.1

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2023)04-0129-04

Effects of Different Rootstocks on Anthocyanin Composition and Content of Marselan

WANG Ting¹, ZHANG Chaojie¹, LU Jiansheng¹, XIAO Huilin¹, ZHENG Qiuling¹, LIU Wanhao¹, TANG Meiling^{1,2}, CHEN Jinghui^{2,3}, SONG Jianqiang⁴, GONG Lei⁵, GUO Duitian^{1*}

(1. *Yantai Academy of Agricultural Sciences, Yantai 265500*; 2. *Shandong Wine-making and Wine Technology Innovation Center, Penglai 265600*; 3. *COFCO Greatwall Winery Co. Ltd. Yantai 264000*; 4. *Ludong University, Yantai 264000*; 5. *Shandong Grape Research Institute, Ji'nan 250100, China*)

Abstract: The content of anthocyanin in pericarp was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with 101-14, 3309 and Beta grafted Marselan grapes as test materials, biennial self-rooted Marselan grapes were used as control, to study the influence of stock on the type and content of anthocyanin in grape skins. The results showed that the type of anthocyanins in grape skins of Marselan was not changed by rootstock, and 101-14, 3309 and Beta could significantly increase the content of anthocyanins ($P<0.05$). The relative content of acylated anthocyanins in Pericarp of Marselan grafted grapes was lower than that of the root stock, and the influence degree of the three rootstocks on the anthocyanin content of the skins of Marselan grapes was different. The content of anthocyanins in the skins of Marselan grapes was increased by 14.19%~92.33%.

Key words: Marselan; Anthocyanins; Root stock

花色苷是红葡萄果实中一种重要的类黄酮物质, 主要位于葡萄果皮细胞的液泡中, 它不仅赋予葡萄果实和葡萄酒红色色调, 还可与其他物质化合, 影响葡萄酒的感官品质^[1-2]。花色苷的含量和

种类对葡萄果实及所酿葡萄酒的色泽、口感、风味等都产生重要作用。欧亚种葡萄与葡萄酒中的花色苷主要是包括花青素(矢车菊色素, Cyanidin)(Orange-red)、花翠素(飞燕草色素, Delphinidin)、甲基花青素(芍药色素, Peonidin)、3'-甲基花翠素(牵牛花色素, Petunidin)和二甲花翠素(锦葵色素, Malvidin)在内的 5 种花色苷的单糖苷, 及其乙酰化、对香豆酰化、咖啡酰化单糖苷衍生物^[3-4]。

花色苷的合成受灌溉、激素、整修方式、栽培基质、栽培措施、地域、负载量等的影响^[5-11], 砧木也可以影响花色苷合成与含量^[12-13], 随着对砧木

收稿日期: 2020-08-18

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-29-17); 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2022CXGC 010605)

作者简介: 王 婷(1982-), 女, 农艺师, 硕士, 主要从事葡萄栽培与育种研究。

通讯作者: 郭对田, 男, 硕士, 高级经济师, E-mail: duitian@qq.com

研究的深入,发现葡萄砧木不仅能提高接穗的抗病虫害性、抗寒性、抗旱性、耐盐碱性、耐酸性和耐涝性,影响植物的光合性能、生理指标^[14],也能影响接穗品种的生长发育,某些葡萄品种通过嫁接适宜的抗性砧木不但能够提高抗性,而且能够改善果实品质。嫁接在不同砧木上的藤稔葡萄果皮中花色苷含量差异显著,5BB>巨峰>华佳8号^[15];刺葡萄作为巨峰砧木有助于果实提早着色^[16]。本试验以101-14、3309、贝达嫁接的马瑟兰葡萄为试材,马瑟兰自根砧葡萄为对照,采用高效液相色谱(HPLC)法测定果皮花色苷含量,研究砧木对接穗葡萄果皮花色苷种类和含量的影响,为砧木影响葡萄果实品质的研究提供理论参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

样品采自山东省烟台市农业科学研究院葡萄品种示范园内,葡萄园属暖温带海洋性季风气候,土壤为棕土,肥力中等,排水良好,南北行向,株行距1 m×2 m,篱架栽培,单干单臂整形,试验所用嫁接苗和自根苗均定植于2013年,自然结果,不疏果,其他栽培管理措施一致。2018年果实成熟期(10月7日),选择长势基本相同的马瑟兰根苗及马瑟兰/101-14、马瑟兰/3309、马瑟兰/贝达的嫁接苗采样,分别从植株东西两侧采集果粒,总计不少于100粒,放入冰盒,带回实验室剥取果皮,液氮冷冻后贮存于-40℃用于测定果皮花色苷。

1.2 试验方法

1.2.1 花色苷类物质的提取

准确称取液氮研磨后的葡萄果皮0.2 g于研

钵中,加入1.5 mL提取液(甲酸:水:甲醇=2:28:70)研磨至无明显颗粒,用移液枪准确吸取1 mL研磨后的液体于离心管中。室温下,使用摇床避光震荡10 min,然后4℃下、13 000 r/min离心10 min,离心后吸取上清液,经0.22 μm的滤膜过滤并收集到离心管内,-80℃保存待测。

1.2.2 花色苷类物质的测定条件

Intertsil ODS-3 Column 色谱柱:250 mm×4.6 mm×5 μm;流速:1.0 mL/min;柱温30℃;进样量20 μL;检测波长:525 nm;流动相A,甲酸:水=1:9,流动相B,甲酸:乙腈=1:9。

1.2.3 花色苷的定性与定量分析

采用外标法进行定性和定量分析。准确称取花翠素-3-O-葡萄糖苷、花青素-3-O-葡萄糖苷、甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷、甲基花青素-3-O-葡萄糖苷和二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷的标准品,使用10%的甲酸将标准品配制质量浓度为10、20、50、100、200 mg/L的标准溶液,经0.22 μm滤膜过滤后,在确定的色谱条件下上机测定,拟合5种花色苷的质量浓度(Y)和峰面积(X),得到标准曲线方程,相关系数均在0.99以上,对基本花色苷进行定量分析。其他各类酰化的花色苷参考梁振昌^[17]测定结果推断色谱峰代表成分。

1.3 数据分析

采用Excel 2007进行数据整理,使用SPSS 17.0进行方差分析,所有数据取3次重复平均值。

2 结果与分析

2.1 花色苷组成成分相对含量分析

由表1可知,马瑟兰果皮中花色苷以单糖花

表1 马瑟兰不同砧穗组合果皮花色苷的相对含量

检测项目	花色苷单体	101-14	3309	贝达	CK
花翠素类	花翠素-3-O-葡萄糖苷	2.55	1.59	2.77	2.25
	花翠素-3-葡萄糖苷-乙酸酯	0.42	0.44	0.37	0.53
	花翠素-3-O-葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷-对香豆酸	0.87	0.86	1.09	0.78
	花翠素-3-O-葡萄糖苷-对香豆酸	0.20	0.67	0.30	0.73
花青素类	花青素-3-O-葡萄糖苷	-	-	-	-
	花青素-3-O-葡萄糖苷-对香豆酸	0.83	0.88	1.70	0.70
甲基花翠素类	甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷	3.15	2.64	3.36	2.84
	甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷-对香豆酸	1.19	1.36	0.27	1.16
甲基花青素类	甲基花青素-3-O-葡萄糖苷	1.69	1.98	1.91	1.83
	甲基花青素-3-O-葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷-咖啡酸酯	0.93	0.93	0.95	0.88
	甲基花青素-3-O-葡萄糖苷-对香豆酸	0.74	1.36	1.37	1.41
二甲基花翠素类	二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷	43.71	41.29	42.55	38.97
	二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷-乙酸酯	18.69	21.37	18.29	19.59

续表 1

检测项目	花色苷单体	101-14	3309	贝达	CK
	二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷-咖啡酸酯	3.69	0.70	3.92	3.56
	二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷-对香豆酸	21.30	23.90	20.98	24.62

注:“-”代表未检测出

色苷为主,共 11 种,同时检测出 3 种双糖花色苷(花翠素-3-O-葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷-对香豆酸、甲基花青素-3-O-葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷-咖啡酸酯、二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷-咖啡酸酯),砧木嫁接马瑟兰并没有影响基本花色苷的种类,4 种处理中都检测到 14 种花色苷,均未检测出花青素-3-O-葡萄糖苷,不同处理之间所含花色苷种类、数量相同,检测出的花色苷包括 5 大类,其中花翠素类有 4 种,花青素类有 1 种,甲基花翠素类 2 种,甲基花青素类 3 种,二甲基花翠素类 4 种。

14 种花色苷组分相对含量最高的均是二甲基花翠素类,马瑟兰自根砧和以 101-14、3309、贝达为砧木的马瑟兰果皮中的二甲基花翠素类的相对含量最高,基本都在 85% 以上;花青素类含量

最低,在 0.70%~1.70%。

试验结果表明,砧木嫁接对马瑟兰果皮中花色苷种类没有影响,只是影响了各种花色苷成分的相对含量。

2.2 花色苷酰化修饰成分相对含量分析

由表 2 可知,马瑟兰自根苗和嫁接苗果皮中共检测到 3 类酰化的花色苷,分别是乙酰化类、咖啡酰化类和香豆酰化类。各处理中,酰化修饰成分的相对含量在 48.86%~53.96%,自根苗马瑟兰葡萄果皮中酰化类花色苷相对含量最高为 53.96%,以 101-14 为砧木的马瑟兰葡萄果皮中酰化类花色苷相对含量最低为 48.86%;根据花色苷酰基化类型所占比例可知,马瑟兰自根苗和嫁接苗果皮中香豆酰化类花色苷比例较高,大体在 20% 以上,乙酰化类花色苷比例居中,咖啡酰化

表 2 马瑟兰不同砧穗组合果皮花色苷各种酰化修饰成分相对含量 %

不同处理	乙酰化类	咖啡酰化类	香豆酰化类	总酰化类	非酰化类
101-14	19.11	4.62	25.13	48.86	51.1
3309	21.81	1.64	29.03	52.47	47.51
贝达	18.66	4.87	25.71	49.24	50.59
CK	20.12	4.45	23.4	53.96	45.88

类花色苷比例最低,一般都在 10% 以下。

2.3 基本花色苷含量对比分析

由表 3 可知,不同处理中,果皮中基本花色苷总含量顺序:3309>贝达>101-14>CK,自根苗和嫁接苗果皮中 4 种花色苷组分均以二甲基花翠素类含量最高,嫁接能够显著影响果皮中花色苷含量,马瑟兰嫁接 3 种砧木后,显著提高了果皮中花色苷的含量,其中以 3309 的影响最大,3309 能够

显著增加果皮中 4 类花色苷的含量,果皮中花色苷含量是 CK 的 1.92 倍,贝达显著增加花翠素-3-O-葡萄糖苷、二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷的含量,贝达中花色苷总量是 CK 的 1.43 倍,101-14 显著增加果皮中花翠素-3-O-葡萄糖苷、二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷的含量,101-14 对花色苷增加的影响最小,尽管 101-14 中花翠素-3-O-葡萄糖苷含量减少,但果皮中花色苷总量仍为

表 3 马瑟兰不同砧穗组合果皮花色苷含量 mg/kg

5 种基本花色苷	101-14	3309	贝达	CK
花翠素-3-O-葡萄糖苷	65.15c	77.28 b	95.52a	53.40d
花青素-3-O-葡萄糖苷	-	-	-	-
甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷	114.08b	169.68a	148.78ab	101.75b
甲基花青素-3-O-葡萄糖苷	54.96c	93.29a	68.89b	56.86c
二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷	781.76c	1 372.47a	961.24b	678.46d
合计	1 015.96 c	1 712.71a	1 274.42b	890.47d

注:“-”代表未检测出,同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

CK的1.14倍。

3 结 论

3.1 砧木对葡萄果皮花色苷含量的影响

通过对马瑟兰自根苗和嫁接苗果皮中花色苷含量的测定,研究抗性砧木101-14、3309、贝达对葡萄果皮花色苷组成与含量差异的影响。结果显示,马瑟兰嫁接到不同砧木(101-14、3309、贝达)上的葡萄果皮中花色苷含量均高于自根苗,与对照相比,3种砧木能显著增加果皮花色苷含量14.19%~92.33%,在所有砧木中,以3309为砧木的马瑟兰果皮中花青素含量和比例最高,3309能够显著增加果皮中二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷的含量,从而使3309的总花色苷含量明显高于CK和以101-14、贝达为砧木的马瑟兰嫁接苗。

3.2 砧木对葡萄果皮花色苷种类的影响

马瑟兰嫁接苗和自根苗果皮中都检测到14种花色苷,均未检测出花青素-3-O-葡萄糖苷,砧木嫁接马瑟兰并没有影响基本花色苷的种类。马瑟兰嫁接101-14、3309、贝达砧木后,葡萄果皮中酰化修饰类的花色苷相对含量均降低,许多研究认为酰化修饰在花色苷的稳定性方面起到重要作用^[18-19],马瑟兰嫁接苗葡萄果皮中酰化修饰类花色苷相对含量的减少可能会影响后续葡萄酒酿造中花色苷的稳定性。

参考文献:

- [1] 孙明霞,王宝增,范海,等.叶片中的花色苷及其对植物适应环境的意义[J].植物生理学报,2003,39(6):688-694.
- [2] Yang J, Martinson T E, Liu R H. Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes[J]. Food Chemistry, 2009, 116: 332-333.
- [3] 韩富亮,李杨,李记明,等.红葡萄酒花色苷结构和颜色的关系研究进展[J].食品与生物技术学报,2011,30(3):328-336.
- [4] Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. Biosynthesis of plant pigments:

Anthocyanins, betalains and carotenoids[J]. Plant Journal, 2008, 54(4): 733-749.

- [5] 赵益梅,梅源,杨博涵,等.调亏灌溉对“赤霞珠”葡萄及葡萄酒花色苷特性的影响[J].北方园艺,2019(16):29-37.
- [6] 马立娜.油菜素内酯和脱落酸调控葡萄果实成熟与花色苷合成的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2012.
- [7] 张雷.花穗整穗和套袋对葡萄花色苷组分及合成相关基因表达的影响[D].南京:南京农业大学,2014.
- [8] 俞信光,刘双双,冯亚斌,等.有机基质栽培对巨峰葡萄花色苷合成基因表达的影响[J].核农学报,2016,30(11):2133-2143.
- [9] 张彦芳.河西走廊不同产地美乐(Merlot)果实成熟期间及原酒中花色苷成分比较[D].兰州:甘肃农业大学,2015.
- [10] 张家荣.负载量及其调控方式对酿酒葡萄果实中花色苷的影响[D].济南:齐鲁工业大学,2013.
- [11] 王甜元,曲柏宏,孟义淳,等.套袋苹果梨解袋后果皮花色苷组分及含量的变化[J].东北农业科学,2020,45(1):35-38.
- [12] Serafino Suriano, Vittorio Alba, Domenico Di Gennaro, et al. Genotype/rootstocks effect on the expression of anthocyanins and flavans in grapes and wines of Greco Nero n. (*Vitis vinifera* L.)[J]. Scientia Horticulturae, 2016, 209: 309-315.
- [13] Gutiérrez-Gamboa Gastón, Gómez-Plaza Encarna, Bautista-Ortín Ana B, et al. Rootstock effects on grape anthocyanins, skin and seed proanthocyanidins and wine color and phenolic compounds from *Vitis vinifera* L. Merlot grapevines[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(6): 2846-2854.
- [14] 乔宏宇,周艳丽,高红春.低温弱光对不同砧木甜瓜嫁接苗生理指标的影响[J].东北农业科学,2016,41(2):84-87.
- [15] 骆军,沈国军,王晓庆,等.不同砧木藤稔嫁接苗着色差异及相关酶活性影响[J].上海农业学报,2007,23(3):9-13.
- [16] 魏灵珠,程建徽,李琳,等. SO4和贝达砧木对鄞红葡萄生长与果实品质的影响[J].中外葡萄与葡萄酒,2012(4):23-25.
- [17] 梁振昌.葡萄果皮花色苷构成特点、遗传规律及其在果实成熟过程中的变化[D].北京:中国科学院大学,2008.
- [18] Figueiredo P, George F, Tatsuzawa F, et al. New features of intramolecular copigmentation by acylated anthocyanins[J]. Phytochemistry, 1999, 51: 125-132.
- [19] Schwarz M, Winterhalter P. A novel synthetic route to substituted pyranoanthocyanins with unique colour properties[J]. Tetrahedron Letts, 2003, 44: 7583-7587.

(责任编辑:王昱)

(上接第77页)

- [23] 张艳玲,宋述尧,王艳,等.氮素营养对黄瓜生长发育及产量的影响[J].吉林农业科学,2008,33(1):43-46.
- [24] 秦立金,邱艳玲,王瑞,等.不同氮肥处理对辣椒生长与叶绿素含量的影响[J].赤峰学院学报,2015,31(7):12-13.
- [25] 朱荣,慕宇,康建宏,等.不同施氮量对花后高温春小麦叶绿素含量及荧光特性的影响[J].南方农业学报,2017,48(4):609-615.

- [26] 刘军丽,包婕,李建设,等.限根下不同施钙量对番茄品质、产量及养分的影响[J].西南农业学报,2019,32(10):2403-2411.
- [27] 齐莹莹.设施番茄生理性病害防治技术[J].江西农业,2019(6):37.
- [28] 鄢圣芝.叶面喷钙对番茄脐腐病的防治研究[J].湖北农业科学,2000(4):45-47.

(责任编辑:刘洪霞)