

文章编号: 1000-5471(2012)04-0070-06

五种野生蔷薇属植物抗寒力的综合评价^①

邓菊庆^{1,3}, 蹇洪英^{2,3}, 李淑斌^{2,3}, 王其刚^{2,3}, 郭余龙¹, 张 颢^{2,3}

1. 西南大学 园艺园林学院, 重庆 400716; 2. 云南省农业科学院 花卉研究所, 昆明 650205;

3. 云南省花卉育种重点实验室, 昆明 650205

摘要: 通过对我国广泛分布的 5 种野生蔷薇资源(金樱子、毛萼蔷薇、长尖叶蔷薇、木香花、峨眉蔷薇)的相对电导率、脯氨酸含量、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量及丙二醛含量指标的测定, 结合隶属函数法综合评价 5 个野生蔷薇种的抗寒性。结果表明: 相对电导率、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量及丙二醛含量均随温度降低而不断上升, 脯氨酸含量则表现出降低→升高→降低的趋势。5 种蔷薇属野生资源的抗寒性由强到弱依次为: 峨眉蔷薇, 木香花, 长尖叶蔷薇, 金樱子, 毛萼蔷薇。

关键词: 蔷薇属; 抗寒性; 综合评价; 隶属函数

中图分类号: S685.12

文献标志码: A

蔷薇属(*Rosa* L.) 隶属于蔷薇科(Rosaceae), 全世界共有约 200 种, 原产我国的蔷薇属植物约有 82 种, 约占全世界总数的 41%^[1]。据调查, 我国蔷薇属植物多分布在四川、云南、陕西、甘肃、湖北、贵州、西藏、浙江、新疆等地, 尤以四川、云南分布最多^[2]。蔷薇属具有花色花型丰富, 花期长、适应性强等优点, 在园林观赏应用方面极具发展潜能, 但由于受气候条件影响, 北方很多寒冷地区气候条件成为限制蔷薇属资源分布和应用的因素之一。目前针对蔷薇属资源抗寒性的基础研究相对较少, 且以往的研究主要是采用一两个孤立的生理指标进行评价^[3-5]。由于植物抗寒性是由多种特异的数量性抗寒基因调控的, 许多学者指出指标单一化很难反映植物的抗寒性实质, 同时综合采用多项指标, 结果会更加可靠^[6-7]。

隶属函数法作为一个综合多项指标的评价方法在其他作物如甘蔗、狗牙根、葡萄等抗寒性评价中都取得了较好效果^[8-10]。本研究将其用于 5 种蔷薇属野生资源的抗寒性进行研究, 一方面探讨蔷薇属资源抗寒性与生理指标之间的关系, 为蔷薇属抗寒性评价提供一定的理论依据和参考; 另一方面筛选出抗寒种质, 为蔷薇属资源的广泛应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料来源

试验材料于 2011 年 3 月采自云南省农业科学院花卉研究所, 主要选取极具代表性的低海拔金樱子和高海拔峨眉蔷薇, 另外 3 个种为中间海拔, 整个海拔分布范围从最低 200 m 到最高 4 000 m(表 1)。

1.2 材料收集

2011 年 3 月上旬从田间植株上, 取发育正常的当年生成熟枝条向阳面生长充实的功能叶叶片, 包在湿纱布中带回室内。先用自来水冲洗除去表面的沾污物, 再用去离子水冲洗后, 洁净滤纸吸干表面附着水分,

① 收稿日期: 2011-11-04

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项项目(200903020); 云南省社会发展科技计划项目(2007C0004Z)基金资助。

作者简介: 邓菊庆(1986-), 女, 云南昭通人, 硕士研究生, 主要从事细胞生物学研究。

通信作者: 郭余龙, 副研究员; 张 颢, 研究员。

每个种叶片分成 15 组份, 每组大约 5g, 装入 4 号自封袋内以免冷冻时失水。

表 1 5 种蔷薇属野生资源

| 种名 | 来源 | 组类 | 海拔/m |
|-------|----------------------|-----|-------------|
| 金樱子 | 我国长江流域及其以南 | 金樱子 | 200~1 400 |
| 毛萼蔷薇 | 广西、云南 | 合柱组 | 1 000~1 500 |
| 长尖叶蔷薇 | 四川、贵州、云南 | 合柱组 | 400~2 900 |
| 木香花 | 四川、云南 | 木香组 | 1 500~2 650 |
| 峨眉蔷薇 | 四川、湖北、陕西、宁夏、甘肃、青海、西藏 | 芹叶组 | 2 400~4 000 |

1.3 材料处理

把准备好的叶片放入可调控超低温冰箱中, 温度设置为 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 以 $3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{h}$ 速度降温到所设温度冷冻处理 12 h, 再以 $3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{h}$ 回温到 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 取出, 以 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存为对照。每个温度 3 次重复。

1.4 测定指标及方法

采用王学奎的方法: DDS-II A 电导仪测定相对电导率; 茛三酮比色法测定游离脯氨酸(Pro)含量; 考马斯亮蓝 G-250 法测定蛋白质含量; 蒽酮比色法测定可溶性糖含量; 硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量^[11]。用 SPSS15.0 和 Excel2003 对试验数据进行分析。

1.5 评价方法

参照李秋丽、张文娥等的方法^[9-10], 使用 Fuzzy 数学中的隶属函数值, 对参试的蔷薇属资源 5 项生理指标进行隶属函数加权平均值计算。

(1) 与抗寒性呈正相关的参数可溶性蛋白质和可溶性糖用(1)计算:

$$U_{(X_{jk})} = (X_{jk} - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (1)$$

(2) 与抗寒性呈负相关的参数 MDA 和相对电导率用式(2)计算:

$$U_{(X_{jk})} = 1 - (X_{jk} - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (2)$$

式(1)、(2)中: $U_{(X_{jk})}$ 为第 j 个蔷薇种第 k 项指标的隶属值, X_{jk} 表示第 j 个蔷薇种第 k 项指标测定值; X_{\max} 、 X_{\min} 为所有参试种中第 k 项指标的最大值和最小值。每一种蔷薇属野生资源各项指标隶属度的平均值作为其抗寒能力综合评判标准, 平均值越大则抗寒性越强, 反之抗寒力越弱。

2 结果与分析

2.1 野生蔷薇属相对电导率含量的变化

图 1 可见, 5 种蔷薇属野生资源的相对电导率均随温度降低而增加。处理温度在 $4\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 平均增加了 11.98%, 增加幅度相对平缓; 处理温度从 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下降到 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的过程中相对电导率迅速增加, 平均上升了 36.38%; 处理温度从 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下降到 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 期间相对电导率增加幅度又趋于平稳, 平均升高 12.42%。通过对各个种的电导率均值进行差异显著性比较, 发现金樱子的电导率均值显著高于其他 4 个种 ($p < 0.05$), 其中峨眉蔷薇电导率显著低于其他各个种 ($p < 0.05$), 毛萼蔷薇、长尖叶蔷薇和木香花的电导率均值处于中间水平, 且差异不显著 ($p > 0.05$) (表 2)。

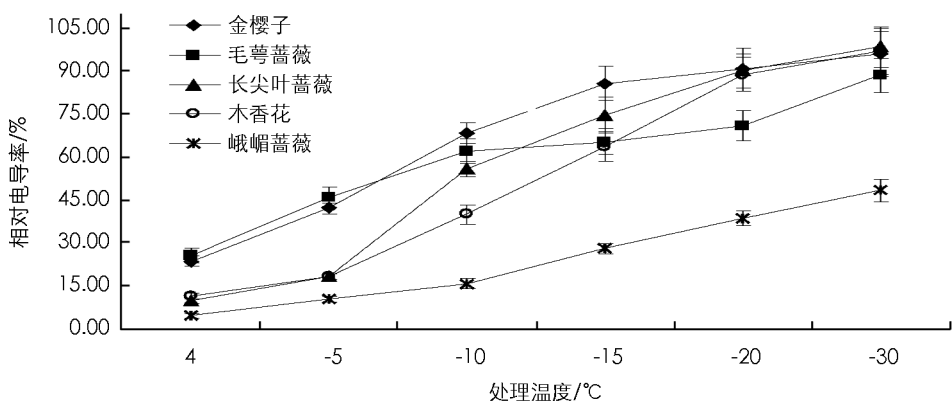


图 1 野生蔷薇属相对电导率含量的变化

表 2 蔷薇属种间生理指标差异显著性比较

| 种 名 | 相对电导率/% | 脯氨酸/% | 可溶性蛋白(mg/g) | 可溶性糖/% | 丙二醛(mol/g) |
|-------|-----------|-----------|-------------|------------|------------|
| 金樱子 | 67.76 aA | 1.27 cC | 8.74 eE | 8.00 dD | 15.62 bB |
| 毛萼蔷薇 | 59.69 bB | 0.82 dD | 11.61 dD | 10.19 cC | 39.10 aA |
| 长尖叶蔷薇 | 57.76 bcB | 1.37 bB | 14.29 cC | 12.08 bB | 12.76 cdCD |
| 木香花 | 53.09 bB | 2.23 abAB | 15.12 bB | 12.01 bcBC | 13.05 cC |
| 峨眉蔷薇 | 24.30 dC | 2.26 aA | 21.32 aA | 17.25 aA | 6.12 dD |

注: 同列小写字母代表 0.05 水平上差异显著, 大写字母表示 0.01 水平上差异显著。

2.2 野生蔷薇属脯氨酸含量的变化

图 2 显示, 随着胁迫温度的下降, 5 种蔷薇资源脯氨酸含量都经历了降低→升高→再降低的过程, 变化趋势基本一致. 处理温度从 -10°C 降到 -15°C 时脯氨酸含量增加幅度最大, 平均增加了 67.37%, 增幅从大到小依次是峨眉蔷薇, 长尖叶蔷薇, 木香花, 金樱子, 毛萼蔷薇, 当处理温度从 -15°C 降低到 -30°C 的过程中, 脯氨酸含量平均降幅达 27.39%. 长尖叶的降幅为 40.47%; 木香花, 33.14%; 峨眉蔷薇, 20.21%; 毛萼蔷薇, 23.21%; 金樱子, 19.92%. 通过对各个种的脯氨酸含量均值进行差异显著性比较发现, 峨眉蔷薇和木香花的脯氨酸差异不显著 ($p > 0.05$), 长尖叶显著高于金樱子 ($p < 0.05$), 毛萼蔷薇脯氨酸含量显著低于其他 4 个种 ($p < 0.05$) (表 2).

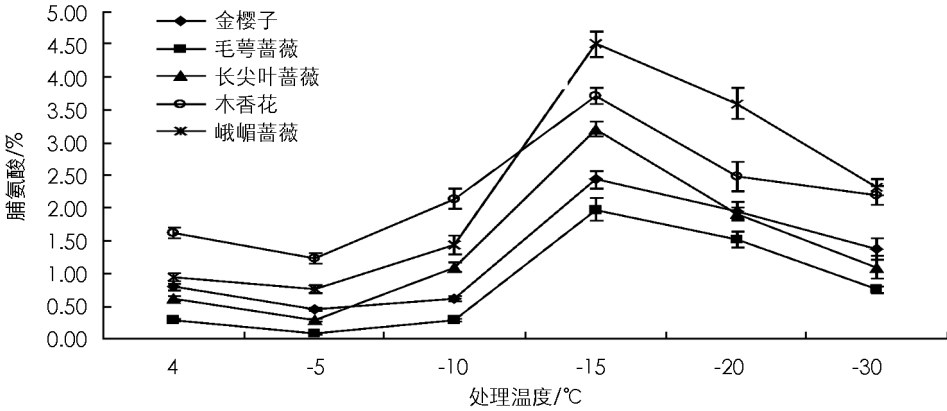


图 2 野生蔷薇属脯氨酸含量的变化

2.3 野生蔷薇属可溶性蛋白含量的变化

由图 3 可见, 5 个种可溶性蛋白含量随着温度的降低呈逐渐上升趋势, 但各个种可溶性蛋白出现增幅峰值的温度不同. -10°C 时, 木香花的蛋白质含量增加幅度最大是 -5°C 的 2.79 倍; -15°C 时长尖叶的增加幅度最大时 -10°C 的 2.46 倍, -15°C 和 -20°C 时峨眉蔷薇的增加相差不多, 分别是 -10°C 和 -15°C 的 1.23 倍和 1.85 倍; 金樱子和毛萼蔷薇的可溶性蛋白增幅相对平缓, 到 -30°C 时达最大值. 通过对可溶性蛋白的均值进行显著性差异比较发现, 5 个种的蛋白质含量均达到显著性差异水平 ($p < 0.05$) 蛋白质含量最高的是峨眉蔷薇, 其次分别是木香花、长尖叶蔷薇、毛萼蔷薇、金樱子 (表 2).

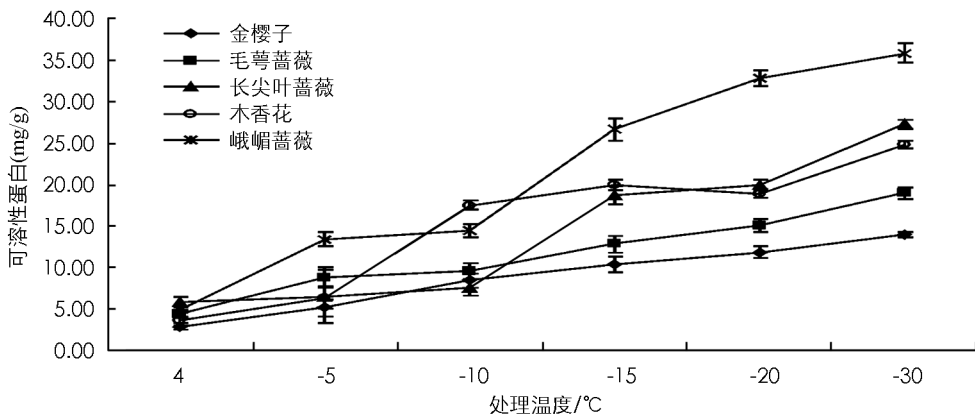


图3 野生蔷薇属可溶性蛋白含量的变化

2.4 野生蔷薇属可溶性糖含量的变化

图4结果显示:随着胁迫温度的降低,5种蔷薇属野生资源的可溶性糖含量均呈逐渐增加趋势,但增加幅度存在差异,其中毛萼蔷薇和金樱子增加峰值出现在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$,分别比 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时增加22.56%和38.39%;长尖叶蔷薇、木香花和峨眉蔷薇峰值均出现在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$,分别比 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时增加37.37%,24.88%和12.41%。通过对各个种的可溶性糖含量进行显著性差异比较发现,木香花和长尖叶蔷薇差异不显著($p>0.05$),但两者显著高于金樱子和毛萼蔷薇($p<0.05$),同时显著低于峨眉蔷薇($p<0.05$)(表2)。

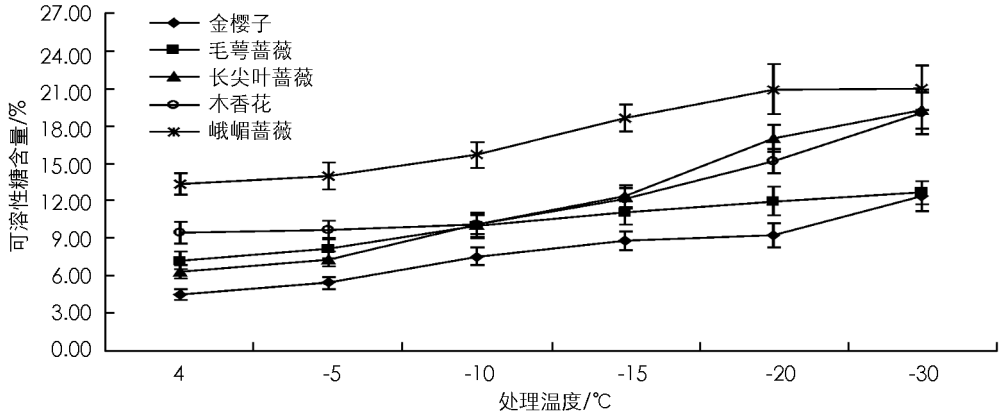


图4 野生蔷薇属可溶性糖含量的变化

2.5 野生蔷薇属丙二醛含量的变化

从图5可以看出,随着胁迫温度的降低,5种蔷薇属野生资源的丙二醛含量均呈上升趋势,毛萼蔷薇在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时丙二醛含量高于其他4个种,随温度降低MDA增加幅度最大,长尖叶和木香花增加幅度差异不显著, $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时丙二醛含量几乎一致,峨眉蔷薇丙二醛含量最低且增加趋势较为平缓,说明其膜质过氧化产生的伤害较低,其抗寒能力较强。通过对各个种的丙二醛含量平均值进行显著差异性比较发现,毛萼蔷薇丙二醛含量显著高于其他4个种($p<0.05$),其次是金樱子显著高于其他3个种($p<0.05$),长尖叶蔷薇和木香花差异不显著($p>0.05$),峨眉蔷薇显著低于其他4个种($p<0.05$)(表2)。

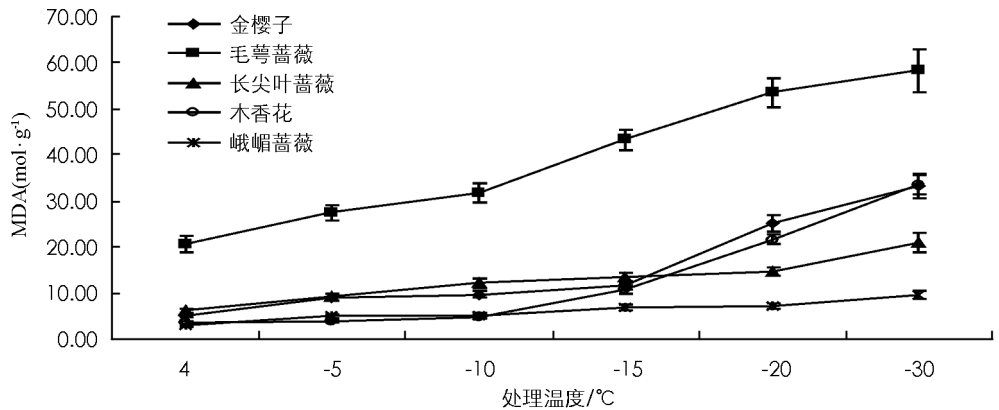


图5 野生蔷薇属丙二醛含量的变化

2.6 野生蔷薇属抗寒性的综合评价

由于相对电导率是普遍公认衡量植物抗寒性的重要指标,因此参照田丹青等的方法求出各生理指标与相对电导率的相关性,即表示生理指标与蔷薇属抗寒性之间的相关性^[12]。求得相关系数分别是可溶性蛋白($R=0.929$)、脯氨酸($R=0.476$)、可溶性糖($R=0.973$)和MDA($R=0.903$)。从结果可以看出脯氨酸与蔷薇属抗寒性相关性不显著,因此不参加隶属函数值分析。将其余4个生理指标的隶属值进行计算后取平均值,均值越大则抗寒性越强,隶属平均值排序结果见表3,5种蔷薇属野生资源的抗寒性从强到弱依次是:峨眉蔷薇,木香花,长尖叶蔷薇,金樱子,毛萼蔷薇。

表3 5种野生蔷薇属抗寒性的综合评价

| 种名 | 相对电导率 B | 蛋白质含量 A | 可溶性糖含量 A | MDA含量 B | 平均隶属值 | 抗寒力排序 |
|-------|---------|---------|----------|---------|-------|-------|
| 金樱子 | 0.041 | 0.014 | 0.000 | 0.746 | 0.200 | 4 |
| 毛萼蔷薇 | 0.176 | 0.290 | 0.238 | 0.000 | 0.176 | 5 |
| 长尖叶蔷薇 | 0.332 | 0.446 | 0.429 | 0.790 | 0.499 | 3 |
| 木香花 | 0.409 | 0.469 | 0.499 | 0.841 | 0.555 | 2 |
| 峨眉蔷薇 | 1.000 | 0.901 | 1.000 | 0.990 | 0.973 | 1 |

注:与抗寒性成正相关的生理指标用字母 A 表示,与抗寒性成反相关的生理指标用字母 B 表示。

3 结论与讨论

3.1 抗寒性与膜系统的关系

细胞膜是细胞与外界环境发生物质交换、能量转换、信号传递等生命活动的重要场所和媒介,也是细胞感受环境胁迫最敏感的部位^[13]。植物受到低温胁迫时,膜的结构遭到破坏,其透性增大,细胞内各种水溶性物质包括电解质将有不同程度的外渗,伤害愈大,外渗愈大,电导率的增加也愈大,因此普遍认为相对电导率是衡量植物抗寒性的重要指标,用来判断植物受低温伤害的程度和抗寒能力。丙二醛是膜质氧化的终产物之一,具有很强的细胞破坏性,因此也是衡量细胞膜系统受伤害的指标之一。本试验中5种蔷薇属野生资源电导率变化趋势基本一致,即随胁迫温度的降低逐渐升高,温度从-15℃降到-20℃过程中,电导率急剧上升,表明此时植物随着低温的加强受到的伤害加剧,温度降到-30℃时电导率维持较高水平,说明细胞膜也发生不可逆伤害。丙二醛随温度降低也逐渐升高,在-20℃到-30℃达到最大值,与电导率表现一致。通过对5个种的相对电导率和丙二醛的平均值进行的差异显著性比较发现,耐寒性强的种相对电导率和丙二醛含量显著较低,表明其细胞受损程度较小。相关性分析发现丙二醛与蔷薇属资源的抗寒性显著相关($R=0.903$),因此丙二醛可以作为蔷薇属抗寒性鉴定的指标。

3.2 抗寒性与脯氨酸的关系

一般认为脯氨酸在抵抗低温胁迫时可以起到平衡细胞代谢的作用,从而保持环境的相对稳定性,其含量的增加有利于提高植物抗寒性^[14]。本研究种中脯氨酸含量呈现缓慢降低接着急剧升高然后急剧降低的趋势,而甘蔗、小麦、狗牙根等植物的脯氨酸含量则随胁迫温度的降低而不断增加^[8-9,15],相关性分析表明脯氨酸与蔷薇属抗寒性之间的相关性不显著($R=0.476$),本研究未采用其对抗寒性进行评价。

3.3 细胞内保护物质与抗寒性

多数研究者认为,低温胁迫下植物可溶性蛋白含量增加能提高细胞液浓度,降低其渗透势,保持一定的水压,通过渗透调节而保持植物体内水分,从而减少环境胁迫对细胞的伤害^[7]。可溶性蛋白含量与植物抗寒性存在密切关系^[13,16],同时可溶性糖能降低细胞原生质的冰点,提高原生质活性,增强细胞液流动性,提高抗寒能力^[17]。本研究中随着胁迫温度的降低,可溶性蛋白和可溶性糖含量均呈逐渐增加趋势,但每个种可溶性蛋白和可溶性糖含量出现峰值的温度不同,说明每个种细胞保护物质对低温的调节和敏感程度有所差异。相关性分析表明可溶性蛋白和可溶性糖与蔷薇属抗寒性显著相关,可以作为抗寒性鉴定的指标之一。

3.4 隶属函数法与抗寒性

植物的抗寒性受多种因素影响,涉及到一系列复杂的生理生化变化过程,为了全面地利用多种指标对抗寒性进行评价,克服单一指标的不足,人们先后提出了分级评析法、直接评析法、主成分分析法和隶属函数法进行综合评价。本研究采用模糊函数隶属法对蔷薇属5个生理生化参数进行定量转换,综合评价出其抗寒性由强到弱的顺序为:峨眉蔷薇,木香花,长尖叶蔷薇,金樱子,毛萼蔷薇。评价结果可以看出蔷薇属的抗寒性与其长期的生产条件有一定相关性,金樱子主要分布在长江流域及其以南,很少受低温冻害,抗寒能力较差,毛萼蔷薇生长海拔低于1500m,抗寒力也不强,长尖叶蔷薇和木香花主要分布于我国云贵高原等地区,抗寒能力相对较强,峨眉蔷薇在青藏、宁夏、甘肃等寒冷的北方气候条件仍有分布,因此抗寒能力也表现最强。

参考文献:

- [1] 徐廷志. 云南蔷薇科植物的区系特征和地理分布 [J]. 云南植物研究, 2001, 23 (2): 135—142.
- [2] 白锦荣, 张启翔, 潘会堂. 云南滇西北地区蔷薇属(*Rosa* L.)植物资源调查与评价 [J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(2): 218—223.
- [3] 车带弟, 王军虹, 刘慧民. 丰花月季抗寒生理指标和抗寒性的关系 [J]. 北方园艺, 2000(2): 57.
- [4] 张涛, 段大娟, 王振一, 等. 5种藤本月季抗寒性比较研究 [J]. 西北林学院学报, 2006, 21(5): 81—83.
- [5] 马燕, 陈俊愉. 几种蔷薇属植物抗寒性指标的测定 [J]. 园艺学报, 1991, 18(4): 351—356.
- [6] 王荣富. 植物抗寒指标的种类及其应用 [J]. 植物生理学通讯, 1987, 23(3): 49—54.
- [7] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 8—83.
- [8] 张保青, 杨丽涛, 李杨瑞. 自然条件下甘蔗品种抗寒生理生化特性的比较 [J]. 作物学报, 2011, 37(3): 496—505.
- [9] 李秋丽, 包满珠, 王文恩. 自然降温下 4 个狗牙根品种(系)的生理指标比较 [J]. 草业科学, 2011, 28(3): 404—409.
- [10] 张文娥, 王飞, 潘学军. 应用隶属函数法综合评价葡萄种间抗寒性 [J]. 果树学报, 2007, 24(6): 849—853.
- [11] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [12] 田丹青, 葛亚英, 潘刚敏, 等. 低温胁迫对 3 个红掌品种叶片形态和生理特性的影响 [J]. 园艺学报, 2011, 38(6): 1173—1179.
- [13] 李合生. 现代植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 433.
- [14] DUNN JH, NELSON CJ. Chemical Changes Occurring in Three Bermuda Grass Turf Cultivars in Relation to Cold Hardiness [J]. Agronomy Journal, 1974(6): 28—31.
- [15] 马红群, 梁丽娇, 周忆堂, 等. 低温胁迫对小麦黄化苗转绿过程中生理生化指标的动力学研究 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(10): 71—75.
- [16] 岳海, 李国华, 李国伟, 等. 澳洲坚果不同品种耐寒特性的研究 [J]. 园艺学报, 2010, 37(1): 31—38.
- [17] 张菊梅, 王海洋, 覃建美. 电导法对蕨类抗寒性的测定 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(12): 81—84.

Comprehensive Evaluation of Five Wild *Rosa* Species in Cold Tolerance Ability

DENG Ju-qing^{1,3}, JIAN Hong-ying^{2,3}, LI Shu-bin^{2,3},
WANG Qi-gang^{2,3}, GUO Yu-long¹, ZHANG Hao^{2,3}

1. School of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;

3. Yunnan Key Laboratory for Flower Breeding, Kunming 650205, China

Abstract: Combined with subordinate function method, a comprehensive evaluation has been conducted of five wild *Rosa* species in cold tolerance ability by means of determining the index of relative electrical conductivity and the content of Proline, Soluble Protein, Soluble Sugar, and MDA of five wild *Rosa* species (i. e. *R. laevigatae*, *R. lasiosepala*, *R. longicuspis*, *R. banksiae*, and *R. omeiensis*), which are widely distributed in China. The result illustrates that, with decrease of temperature, relative electrical conductivity and the content of Soluble Protein, Soluble Sugar and MDA illustrate a general trend of increase, while the content of Proline a decrease-increase-decrease trend. Thus a conclusion is to be tentatively drawn that the five wild *Rosa* species can be listed in strong-weak sequence of cold tolerance ability as *R. omeiensis* > *R. banksiae* > *R. longicuspis* > *R. laevigatae* > *R. lasiosepala*.

Key words: wild *Rosa*; cold tolerance ability; comprehensive evaluation; subordinate function