

网络出版时间:2014-10-16 15:02

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.11.104

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.11.104.html>

9 个秋菊品种叶片脂肪酸组成及其抗寒性评价

王翠丽,李 永,崔 洋,李永华

(河南农业大学 林学院,河南 郑州 450002)

[摘 要] 【目的】根据低温处理下秋菊叶片的各脂肪酸组分含量和半致死温度(LT_{50}),对 9 个秋菊品种的抗寒性进行评价,确定合适的抗寒性评价方法。【方法】以早花品种‘檀香狮子’、‘日出东方’、‘铜雀春深’、‘早粉盘’、‘金锋铃’和晚花品种‘关东新侠’、‘云龙凤舞’、‘星光灿烂’、‘墨宝’等 9 个秋菊品种为试材,进行 16 和 5 °C 温度处理,通过气相色谱法对其叶片脂肪酸组分及含量进行测定;同时在低温恒温槽中进行低温(0, -4, -8, -12, -16, -20 °C)处理,测定其脚芽叶片电导率,确定 LT_{50} 。【结果】秋菊叶片饱和脂肪酸中含量最高的是棕榈酸($C_{16:0}$),16 °C 时其相对含量为 11.06%~16.20%,5 °C 时相对含量为 9.88%~11.28%;不饱和脂肪酸中含量最高的是亚麻酸($C_{18:3}$),16 和 5 °C 下其相对含量分别为 51.79%~64.63%和 59.99%~64.31%。叶片中不饱和脂肪酸含量随温度的降低而上升,其中亚麻酸/(油酸+亚油酸)明显高于亚麻酸/(油酸+亚油酸+亚麻酸)和亚油酸/(油酸+亚油酸+亚麻酸)。**‘墨宝’、‘星光灿烂’、‘铜雀春深’3 个品种的 LT_{50} 在 -9 °C 以下,‘日出东方’ LT_{50} 为 -6.916 °C。聚类分析结果显示,9 个秋菊品种中抗寒性较强的包括‘墨宝’、‘星光灿烂’和‘檀香狮子’;抗寒性中等的包括‘金锋铃’和‘早粉盘’;抗寒性较弱的包括‘铜雀春深’、‘云龙凤舞’、‘日出东方’和‘关东新侠’。【结论】菊花叶片中的亚麻酸/(亚油酸+油酸)可作为鉴定秋菊品种抗寒性的有效指标,‘墨宝’、‘星光灿烂’2 个品种的抗寒性较强。不饱和脂肪酸含量与 LT_{50} 2 种指标的有机结合,为菊花抗寒品种的快速筛选及抗寒性评价提供了有效方法。**

[关键词] 菊花;叶片;低温;脂肪酸组分;抗寒性评价

[中图分类号] S682.1⁺1

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2014)11-0061-08

Fatty acids components and cold resistance of 9 autumn chrysanthemum cultivars

WANG Cui-li, LI Yong, CUI Yang, LI Yong-hua

(College of Forestry, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: 【Objective】Based on the contents of fatty acid components and half lethal temperatures (LT_{50}) of autumn chrysanthemum cultivars under low temperature, an appropriate cold resistance evaluation system was established and the cold resistances of the 9 cultivars were analyzed. 【Method】9 autumn chrysanthemum cultivars, including early-flowering cultivars (‘Tanxiangshizi’, ‘Richudongfang’, ‘Tongquechunshen’, ‘Zaofenpan’, and ‘Jinfengling’) and late-flowering cultivars (‘Guandongxinxia’, ‘Yunlongfengwu’, ‘Xingguangcanlan’, and ‘Mobao’) were chosen. After the treatment of 16 °C and 5 °C, the fatty acid components and their contents were determined by gas chromatography. The half lethal temperatures were also inferred by relative electrical conductivity of low temperature treatments (0, -4, -8, -12, -16, and -20 °C) in thermostatic bath. 【Result】Palmitic acid had the highest content among saturated fatty acids in autumn chrysanthemum leaf, and the relative percent contents were 11.06%—16.20%

[收稿日期] 2013-08-06

[基金项目] 河南省重大科技专项(091100110200)

[作者简介] 王翠丽(1986—),女,河南洛阳人,在读硕士,主要从事园林植物研究。E-mail: wangcuili1986@163.com

[通信作者] 李永华(1974—),男,河南西华人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事园林植物研究。E-mail: liyhhany@163.com

and 9.88%—11.28% at 16 °C and 5 °C, respectively. Linolenic acid had the highest content among unsaturated fatty acids, and the relative contents were 51.79%—64.63% and 59.99%—64.31% at 16 and 5 °C, respectively. Contents of unsaturated fatty acids increased with the decrease of temperature, and the ratio of linolenic acid to (oleic acid + linoleic acid) was significantly higher than the ratio linolenic acid to (oleic acid + linoleic acid + linolenic acid) and the ratio of linoleic acid to (oleic acid + linoleic acid + linolenic acid). The LT_{50} values of ‘Mobao’, ‘Xingguangcanlan’ and ‘Tongquechunshen’ were < -9 °C and that of ‘Richudongfang’ was -6.916 °C. Cluster analysis shows that ‘Mobao’, ‘Xingguangcanlan’ and ‘Tanxiangshizi’ had strong cold resistance, ‘Jinfengling’ and ‘Zaofenpan’ had moderate cold resistance, while ‘Tongquechunshen’, ‘Yunlongfengwu’, ‘Richudongfang’ and ‘Guandongxinxia’ had weak cold resistance. 【Conclusion】 The ratio of linolenic acid to (linoleic acid + oleic acid) could be used as efficient evaluation index for cold resistance of autumn chrysanthemum cultivars. ‘Mobao’ and ‘Xingguangcanlan’ had strong cold resistance. The content of unsaturated fatty acids and LT_{50} could be used for the selection of cold resistant chrysanthemum cultivars and cold resistance evaluation.

Key words: *Dendranthema × grandiflorum*; leaf; low temperature; fatty acid components; cold resistance evaluation

温度是影响植物生长、发育及产量的重要环境因子。植物遭受低温胁迫时,生物膜系统最先受到伤害。植物的抗寒性与膜脂的组分和结构有关^[1-2],与质膜中不饱和脂肪酸含量的关系更为密切。一般认为,膜脂不饱和脂肪酸含量越高,脂肪酸不饱和指数(Index of Unsaturated Fatty Acid, IUFA)越大,植物的抗寒性就会越强,膜脂不饱和脂肪酸含量及不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比值(Unsaturated/Saturated Fatty Acid Ratio, USFA/SFA)与植物的抗寒能力呈正相关。在我国北方地区,抗寒性是多年生宿根草本植物的重要性状。秋菊作为一种宿根草本花卉,在园林应用中经常遭受低温伤害,极大地影响了其观赏和经济价值,因此秋菊抗寒性及抗寒品种的选育就成为当前研究的重要方向。郑路等^[3]比较了菊花抗寒性与营养特性的关系;Anderson等^[4]通过田间统计秋季菊花脚芽的数量,确定了不同菊花品种的抗寒性;Kim等^[5]以离体脚芽和植株为材料,通过 2 种低温处理方法确定了菊花抗寒性的评价方法;许瑛等^[6-7]则比较了 8 个菊花品种的低温半致死温度及其抗寒性,并建立了可靠的菊花耐寒性评价体系。本项目组前期研究了干旱胁迫对不同品种菊花叶片光合生理特性的影响^[8]、水杨酸对菊花低温胁迫抗性的影响^[9],并探讨了低温胁迫下秋菊膜脂脂肪酸在叶片和根系中抗性机制的差异^[10]。但目前的研究多集中在菊花抗寒生理方面,对低温胁迫下秋菊膜脂脂肪酸组分及利用脂肪酸评价抗寒性的研究较少。本研究选用 9 个秋菊品种为试验材料,通过气相色谱法对其脂肪酸组分与含量

进行测定,确定了 9 个秋菊品种的半致死温度(Lethal Temperature, LT_{50}),并从脂肪酸角度对秋菊的抗寒能力进行研究,以期对菊花抗寒品种的筛选及抗寒性评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料选取菊展和园林绿化中常用的 9 个秋菊品种,其中包括早花品种(10 月上、中旬开花):‘檀香狮子’、‘日出东方’、‘铜雀春深’、‘早粉盘’、‘金锋铃’;晚花品种(11 月下旬开花):‘关东新侠’、‘云龙凤舞’、‘星光灿烂’、‘墨宝’。供试秋菊均由开封市园林菊花研究所提供。

1.2 试验设计

将供试材料分为 2 组,其中一组用于盆栽试验,盆栽基质为 V(草炭):V(蛭石):V(珍珠岩)=1:1:1。将生长健壮的菊花幼苗置于人工气候室中培养,温度(25 ± 2) °C,空气湿度(50 ± 5)%,光照强度(36 ± 0.36) $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光照时间 10 h/d,常规管理。待株高达(20 ± 2) cm、叶片数量达(13 ± 1)片时进行低温处理:16 °C(秋菊生长的适宜温度)处理 1 周,然后 5 °C(植株体内出现明显生理响应的温度^[10])低温处理 1 周。在 16 和 5 °C 条件下,取菊花植株顶端下第 4~5 片叶,用自来水洗净,蒸馏水反复冲洗,滤纸吸干叶片表面的水分,用于脂肪酸组分及含量测定。另一组则是将 9 个秋菊品种于 2012-05 露地定植,常规管理,2012-12-11(9 月、10 月、11 月、12 月份的平均温度分别为 22, 17.5, 8.5 和 2

℃,最低平均温度分别为 17,12,4,−3 ℃;秋菊经过一定时间的自然低温后,抗寒性能得以充分显现,所以于 12 月份进行采样)取植株顶端下第 4~5 片叶,测定相对电导率,用于 LT_{50} 的确定。试验重复 3 次。

1.3 方 法

1.3.1 脂肪酸的测定 将叶片样品置 105 ℃烘箱中杀青 5 min,50 ℃恒温烘干。准确称取叶片 0.2 g,置 100 mL 干燥具塞磨口锥形瓶中,加入新配制的体积分数 10% 的硫酸甲醇溶液 10 mL,置 70 ℃水浴锅中加热 30 min(水面以稍高于瓶中样品液面为宜),分离残渣后,取上清液,移入分液漏斗中,加入 20 mL 蒸馏水轻轻摇匀,用 5 mL 无水乙醚萃取。萃取液加适量无水硫酸钠干燥,用 0.25 μ m 微孔滤膜过滤后待用。利用岛津 GC2010 气相色谱仪测定脂肪酸组分含量,管柱为 DB-WAXFTLP 毛细管柱(60.0 m $\times$ 0.53 mm ID)。宽口径进样器(Wide Bore Injector, WBI)温度 300 ℃,氢火焰检测器(Flame Ionization Detector, FID)温度 350 ℃。载气:氮气,总流量 14.4 mL/min,尾吹流量 10.0 mL/min,氢气流量 40.0 mL/min,空气流量 400.0 mL/min。采用脉冲不分流进样,脉冲压 109.0 kPa,进样量 3 μ L。柱温采用程序升温:140 ℃维持 2 min,以 40 ℃/min 升至 200 ℃,维持 1 min,以 5 ℃/min 升至 220 ℃,维持 20 min。以样品保留时间确定不同的脂肪酸组分。采用外标法进行定量计算。

相关指标计算公式如下:饱和脂肪酸(SFA)=肉豆蔻酸($C_{14:0}$)+棕榈酸($C_{16:0}$)+硬脂酸($C_{18:0}$)+山嵛酸($C_{22:0}$);不饱和脂肪酸(USFA)=油酸($C_{18:1}$)+亚油酸($C_{18:2}$)+亚麻酸($C_{18:3}$);脂肪酸不饱指数(IUFA)= $C_{18:1}+C_{18:2}\times 2+C_{18:3}\times 3$ 。其中各种脂肪酸的含量为相对含量,即每种脂肪酸占总脂肪酸含量的百分比。

1.3.2 LT_{50} 的确定 参照郭海林等^[11]的方法,并略做改动测定叶片电导率。每个品种采集生长一致的脚步叶片,自来水冲洗干净后用去离子水漂洗 3 次,滤纸吸干。将叶片分成 6 份,每份约 2 g,湿纱布包好置于试管中,4 ℃冰箱中过夜。将样品在低温恒温槽(GDH-1006,scientz 公司)中处理,设 6 个温度梯度:0,−4,−8,−12,−16 和 −20 ℃,将供试材料在 1 h 内匀速降温到处理温度,再冷冻 1.5 h,处理后置于 4 ℃冰箱解冻 4 h,将每处理分成 3 份,每份 1 g,置于 50 mL 三角瓶中,加入去离子水 30

mL,在室温下浸提 15 h。用电导仪(DDS-307A,上海精密科学仪器有限公司)测定电导率,然后置于沸水浴中 15 min,冷却后测定其煮沸电导率。相对电导率(REC)=冷冻电导率/煮沸电导率 $\times 100\%$ 。

用 Logistic 方程 $Y=k/(1+ae^{-bx})$ 拟合处理温度与相对电导率的关系,其中 Y 代表细胞伤害率, x 代表处理温度, k 为细胞伤害率的饱和容量, a 、 b 为方程参数。将处理温度与相对电导率用 SPSS 统计软件进行非线性回归分析,求得 a 、 b 值及相关系数 R^2 ,利用公式 $X=\ln a/b$ 求出拐点温度 X ,即为 LT_{50} 。

1.4 数据分析

试验数据用 Microsoft Excel、Word 2003 软件进行统计和作图,用 SPSS 17.0 软件进行方差分析和主成分分析,用 SAS 9.2 软件进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 叶片脂肪酸组分分析

2.1.1 脂肪酸组分变化 从表 1 可以看出,菊花叶片中的脂肪酸组分主要有 SFA $C_{14:0}$ 、 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{22:0}$ 和 USFA $C_{18:1}$ 、 $C_{18:2}$ 、 $C_{18:3}$ 。不同品种菊花的脂肪酸组分虽然相同,但其含量存在差异。SFA 中以 $C_{16:0}$ 为主,16 ℃时其相对含量为 11.06%~16.20%,5 ℃时相对含量为 9.88%~11.28%。与 16 ℃相比,5 ℃条件下除‘檀香狮子’中 $C_{14:0}$ 和 $C_{18:0}$ 相对含量增加外,其余品种饱和脂肪酸含量均呈下降趋势。USFA 中以 $C_{18:3}$ 为主,16 和 5 ℃相对含量分别为 51.79%~64.63%,59.99%~64.31%,而 $C_{18:2}$ 和 $C_{18:1}$ 相对含量分别仅为 15.71%~21.84%和 2.26%~5.79%。随处理温度的降低,9 个秋菊品种叶片中 SFA 相对含量均呈下降趋势,其中‘关东新侠’下降幅度最大,达 35.90%;USFA 相对含量均呈上升趋势,其中主要是 $C_{18:3}$ 含量增加。

2.1.2 脂肪酸相关指标分析 由表 2 可见,随着温度的降低,各品种秋菊 USFA/SFA 与 IUFA 的变化趋势大致相同,USFA/SFA 呈上升趋势,其中‘关东新侠’上升较为明显,上升幅度达 70.39%;除‘檀香狮子’外,其余 8 个秋菊品种的 IUFA 值均有不同程度的增加,5 ℃与 16 ℃相比,早花秋菊‘金铃铃’、‘铜雀春深’、‘日出东方’、‘早粉盘’上升幅度分别达 7.86%,9.84%,6.23%和 13.11%,晚花秋菊‘墨宝’、‘星光灿烂’、‘云龙凤舞’、‘关东新侠’上升幅度分别为 6.79%,7.80%,6.28%和 10.15%,可见早

花秋菊品种的 IUFA 受温度影响较大。 $C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3})$ 明显高于 $C_{18:2}/(C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3})$,说明在叶片低温抗性中, $C_{18:3}$ 的作用大于 $C_{18:2}$ 。除檀香狮子外,其余 8 个秋菊品种的 $C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2})$ 和 $C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3})$ 均随温度的降低而呈增加趋势,且 $C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2})$ 增加幅度较大,最大可达 32.51% (‘早粉盘’),而 $C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3})$ 最大增幅仅为 8.96% (‘早粉盘’)。

表 1 不同温度处理下 9 个秋菊品种叶片中脂肪酸组分及相对含量

Table 1 Fatty acid components and their relative contents in leaves of 9 autumn chrysanthemum cultivars under different temperatures

品种 Cultivar	温度/℃ Temperature	$C_{14:0}$	$C_{16:0}$	$C_{18:0}$	$C_{22:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$	SFA	USFA
金锋铃 Jinfengling	16	1.44±0.03	13.65±0.87	5.71±0.16	0.69±0.01	5.28±0.31	19.74±1.71	53.48±4.58	21.50±1.75	78.50±2.12
	5	1.24±0.08	11.28±0.59	3.43±0.19	0.48±0.03	5.79±0.18	17.79±1.31	59.99±2.88	16.43±1.01	83.57±2.59
铜雀春深 Tongquechunshen	16	1.32±0.08	14.86±0.27	3.51±0.26	0.46±0.06	4.22±0.71	21.66±0.43	53.97±1.77	20.15±0.98	79.85±2.56
	5	0.93±0.07	10.52±0.83	2.20±0.39	0.33±0.11	4.81±0.28	18.38±0.77	62.83±3.92	13.98±0.95	86.02±2.12
日出东方 Richudongfang	16	2.12±0.16	12.18±1.01	4.06±0.42	0.77±0.07	3.34±0.29	21.48±1.96	56.05±3.44	19.13±1.02	80.87±1.78
	5	1.55±0.08	10.24±0.38	2.01±0.12	0.59±0.05	4.22±0.22	20.61±1.09	60.78±0.36	14.39±0.85	85.61±2.89
檀香狮子 Tanxiangshizi	16	1.62±0.11	11.06±0.24	1.51±0.16	0.56±0.03	4.92±0.06	15.71±1.36	64.63±1.47	14.75±0.79	85.25±2.25
	5	1.71±0.08	10.03±0.81	1.77±0.06	0.47±0.02	4.86±0.42	18.21±0.77	62.95±1.85	13.98±0.72	86.02±3.56
早粉盘 Zaofenpan	16	1.90±0.02	16.20±1.57	3.96±0.15	0.62±0.04	3.68±0.22	21.84±1.60	51.79±2.47	22.69±1.56	77.31±2.13
	5	1.24±0.05	11.20±0.72	1.88±0.10	0.50±0.07	3.15±0.25	19.94±1.65	62.10±4.01	14.81±1.28	85.19±3.03
墨宝 Mobao	16	1.54±0.06	14.12±0.56	4.38±0.27	0.61±0.05	4.75±0.15	17.62±0.95	56.99±2.06	20.64±1.23	79.36±1.56
	5	1.67±0.04	11.18±0.59	2.75±0.14	0.45±0.04	4.79±0.25	17.01±0.72	62.16±1.35	16.04±1.09	83.96±4.12
星光灿烂 Xingguangcanlan	16	2.15±0.16	13.10±0.91	5.38±0.34	0.45±0.04	2.26±0.09	19.64±1.94	57.02±2.22	21.08±1.05	78.92±3.45
	5	1.91±0.10	10.70±0.74	2.87±0.21	0.34±0.04	2.51±0.21	18.37±0.79	63.31±4.30	15.82±1.56	84.18±3.25
云龙凤舞 Yunlongfengwu	16	1.53±0.18	11.36±0.47	4.94±0.17	0.43±0.08	5.17±0.43	19.50±0.48	57.07±1.59	18.26±0.89	81.74±2.78
	5	1.43±0.02	9.93±0.18	2.06±0.05	0.43±0.13	4.85±0.17	19.82±0.37	61.47±1.90	13.85±1.23	86.15±4.05
关东新侠 Guandongxinxia	16	2.45±0.18	12.60±0.21	5.02±0.35	0.57±0.05	2.96±0.27	20.13±1.92	56.27±1.39	20.64±1.42	79.36±2.01
	5	1.19±0.12	9.88±0.55	1.67±0.45	0.50±0.04	4.30±0.38	18.16±0.23	64.31±2.28	13.23±1.13	86.77±4.02

表 2 不同温度处理下 9 个秋菊品种叶片中不饱和脂肪酸相关指标分析

Table 2 Analysis on index related to unsaturated fatty acids in leaves of 9 autumn chrysanthemum cultivars under different temperatures

品种 Cultivar	温度/℃ Temperature	USFA/SFA	IUFA	$C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2})$	$C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3})$	$C_{18:2}/(C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3})$
金锋铃 Jinfengling	16	3.65±0.11	205.19±1.12	2.14±0.17	0.68±0.02	0.25±0.02
	5	5.09±0.38	221.33±2.21	2.54±0.05	0.72±0.01	0.21±0.01
铜雀春深 Tongquechunshen	16	3.96±0.16	209.45±9.77	2.09±0.16	0.68±0.02	0.27±0.01
	5	6.15±0.22	230.05±8.51	2.71±0.10	0.73±0.05	0.21±0.01
日出东方 Richudongfang	16	4.23±0.35	214.44±6.37	2.26±0.36	0.69±0.03	0.27±0.02
	5	5.95±0.39	227.29±2.28	2.45±0.02	0.71±0.00	0.24±0.01
檀香狮子 Tanxiangshizi	16	5.78±0.03	230.22±11.63	3.13±0.29	0.76±0.02	0.18±0.02
	5	6.16±0.35	230.15±13.64	2.73±0.21	0.73±0.02	0.21±0.01
早粉盘 Zaofenpan	16	3.41±0.26	202.74±12.09	2.03±0.16	0.67±0.02	0.28±0.02
	5	5.75±0.45	229.32±10.83	2.69±0.27	0.73±0.02	0.23±0.02
墨宝 Mobao	16	3.85±0.30	210.96±14.14	2.55±0.21	0.72±0.02	0.22±0.01
	5	5.23±0.15	225.28±12.36	2.85±0.19	0.74±0.01	0.20±0.01
星光灿烂 Xingguangcanlan	16	3.74±0.09	212.58±12.89	2.60±0.32	0.72±0.02	0.25±0.02
	5	5.32±0.32	229.16±12.05	3.03±0.08	0.75±0.00	0.22±0.01
云龙凤舞 Yunlongfengwu	16	4.48±0.11	215.38±1.06	2.31±0.05	0.70±0.01	0.24±0.01
	5	6.22±0.20	228.91±1.80	2.49±0.09	0.71±0.01	0.23±0.01
关东新侠 Guandongxinxia	16	3.85±0.19	212.03±5.17	2.44±0.21	0.71±0.02	0.25±0.02
	5	6.56±0.08	233.55±7.91	2.86±0.13	0.74±0.00	0.21±0.00

2.2 9 个秋菊品种的 LT₅₀

以处理温度为横坐标、相对电导率为纵坐标进行作图(以早秋菊‘檀香狮子’和晚秋菊‘云龙凤舞’为代表,其他 7 个品种与此相似),结果见图 1。由图 1 可知,9 个秋菊品种叶片的相对电导率随温度的降低先缓慢增加,当温度降至-4℃左右时,相对

电导率急剧增加,−12 ℃以后各品种相对电导率增加缓慢。细胞伤害率随处理温度的变化呈典型的

“S”型变化。

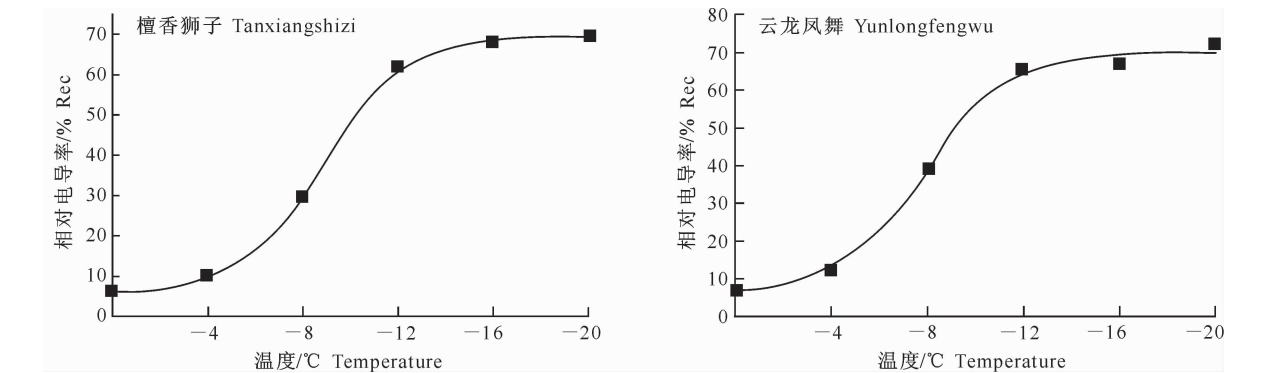


图 1 低温胁迫下秋菊叶片相对电导率与处理温度的关系

Fig. 1 Relationship between treatment temperature and REC of autumn chrysanthemum cultivars under low temperature stress

由表 3 可知,处理温度与相对电导率回归方程的相关指数 R^2 均大于 0.9,说明回归方程拟合性较好;秋菊品种‘墨宝’、‘星光灿烂’、‘铜雀春深’ LT_{50} 较低,均在−9 ℃以下,而‘日出东方’的 LT_{50} 较高,为−6.916 ℃;‘早粉盘’与‘日出东方’、‘墨宝’与

‘星光灿烂’之间 LT_{50} 差异不显著,但其与其他 5 个品种之间 LT_{50} 差异均达显著水平。从 LT_{50} 来看,9 个秋菊品种的抗寒能力由高到低依次为‘墨宝’、‘星光灿烂’、‘铜雀春深’、‘金锋铃’、‘檀香狮子’、‘关东新侠’、‘云龙凤舞’、‘早粉盘’、‘日出东方’。

表 3 低温胁迫下 9 个秋菊品种的相对电导率回归方程及半致死温度(LT_{50})

Table 3 Logistic equations of the relative electric conductivity and LT_{50} of 9 autumn chrysanthemum cultivars under low temperature stress

品种 Cultivar	回归方程 Logistic equation	拟合度 R^2	LT_{50}
墨宝 Mobao	$Y=0.751/(1+23.06e^{0.316x})$	0.957	−9.931 f
星光灿烂 Xingguangcanlan	$Y=0.760/(1+13.855e^{0.271x})$	0.980	−9.700 f
早粉盘 Zaofenpan	$Y=0.724/(1+236.09e^{0.768x})$	0.998	−7.115 a
云龙凤舞 Yunlongfengwu	$Y=0.709/(1+23.767e^{0.429x})$	0.993	−7.385 b
日出东方 Richudongfang	$Y=0.697/(1+174.094e^{0.746x})$	0.998	−6.916 a
关东新侠 Guandongxinxia	$Y=0.782/(1+28.946e^{0.406x})$	0.976	−8.289 c
檀香狮子 Tanxiangshizi	$Y=0.710/(1+43.171e^{0.403x})$	0.993	−8.499 cd
铜雀春深 Tongquechunshen	$Y=0.662/(1+8\,372.08e^{0.969x})$	0.993	−9.381 e
金锋铃 Jinfengling	$Y=0.681/(1+248.929e^{0.632x})$	0.993	−8.730 d

注:数据后标不同小写字母表示差异达 5%显著水平。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at 5%.

2.3 9 个秋菊品种抗寒性的评价

2.3.1 脂肪酸指标间及其与 LT_{50} 的关系 对 9 个与脂肪酸密切相关的生理指标进行相关性分析,结果见表 4。由表 4 可见, $C_{18:3}$ 与 IUFA、 $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2})$ 与 $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 呈极显著正相关,可共同反映细胞膜系统的变化; $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 与 $C_{18:2}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 呈极显著负相关; $C_{18:2}$ 与 $C_{18:3}$ 呈显著负相关,与 IUFA 呈显著正相关; $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2})$ 与 $C_{18:2}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 呈显著负相关。 LT_{50} 与 USFA/SFA、 $C_{18:2}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 呈正相关,而与 $C_{18:1}$ 、 $C_{18:2}$ 、 $C_{18:3}$ 、IUFA、 $C_{18:3}/$

$(C_{18:1}+C_{18:2})$ 和 $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 均呈负相关。

2.3.2 抗寒性主成分分析 为了全面准确地对各秋菊品种的抗寒性进行评价,对本试验中的 $C_{18:1}$ 、 $C_{18:2}$ 、 $C_{18:3}$ 、USFA/SFA、IUFA、 $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2})$ 、 $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 、 $C_{18:2}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 等 8 个指标进行主成分分析。根据特征值大于 1 的原则(表 5、表 6),提取了 2 个主成分,各主成分携带的信息如下:第 1 主成分有 $C_{18:3}$ 、 $C_{18:2}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 、 $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2})$ 、 $C_{18:3}/(C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3})$ 、IUFA;第 2 主成分有 $C_{18:2}$ 、USFA/SFA、 $C_{18:1}$ 。表 7 为各菊花品

种在 2 个主成分上的得分,第 1 主成分得分较高的为‘云龙凤舞’、‘星光灿烂’;第 2 主成分得分较高的为‘檀香狮子’、‘墨宝’、‘日出东方’、‘铜雀春深’、‘金锋铃’、‘早粉盘’、‘关东新侠’。

表 4 低温胁迫下 9 个秋菊品种脂肪酸指标间及其与 LT₅₀ 的相关系数

Table 4 Correlation coefficients of fatty acid indexes and LT₅₀ of 9 autumn chrysanthemum cultivars under low temperature stress

指标 Index	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	USFA/SFA	IUFA	C _{18:3} / (C _{18:1} + C _{18:2})	C _{18:3} / (C _{18:1} + C _{18:2} + C _{18:3})	C _{18:2} / (C _{18:1} + C _{18:2} + C _{18:3})	LT ₅₀
C _{18:1}	1								
C _{18:2}	0.372	1							
C _{18:3}	0.586	−0.709 *	1						
USFA/SFA	−0.032	−0.611	−0.243	1					
IUFA	0.604	0.780 *	0.994 * *	−0.305	1				
C _{18:3} / (C _{18:1} + C _{18:2})	−0.048	−0.200	0.466	0.355	0.366	1			
C _{18:3} / (C _{18:1} + C _{18:2} + C _{18:3})	−0.050	−0.233	0.443	0.351	0.341	0.998 * *	1		
C _{18:2} / (C _{18:1} + C _{18:2} + C _{18:3})	−0.527	0.164	−0.563	−0.421	−0.480	−0.786 *	−0.792 * *	1	
LT ₅₀	−0.228	−0.054	−0.451	0.289	−0.405	−0.527	−0.528	0.532	1

注: * 表示通过双尾检验,在 0.05 水平上显著相关; * * 表示通过单尾检验,在 0.01 水平上显著相关。
Note: * indicates significance at $P<0.05$ level (two-tailed); * * indicates significance at $P<0.01$ level(one-tailed).

表 5 9 个秋菊品种抗寒性评价的主成分特征值及相应的贡献率

Table 5 Eigenvalues and proportions of principal components of cold resistance evaluation of 9 autumn chrysanthemum cultivars

因子 Factor	特征值 Eigenvalue	贡献率/% Proportion	累计贡献率/% Cumulative
因子 1 Factor 1	3.573	44.657	44.657
因子 2 Factor 2	2.999	37.491	82.148

表 6 9 个秋菊品种抗寒性评价主成分荷载矩阵

Table 6 Matrices of principal components of cold resistance evaluation of 9 autumn chrysanthemum cultivars

特征向量 Vector	第 1 主成分得分 Factor 1 score	第 2 主成分得分 Factor 2 score	特征向量 Vector	第 1 主成分得分 Factor 1 score	第 2 主成分得分 Factor 2 score
C _{18:1}	0.051	0.371	IUFA	0.426	0.330
C _{18:2}	0.148	0.516	C _{18:3} / (C _{18:1} + C _{18:2})	0.438	−0.286
C _{18:3}	0.459	0.277	C _{18:3} / (C _{18:1} + C _{18:2} + C _{18:3})	0.432	−0.297
USFA/SFA	0.056	−0.454	C _{18:2} / (C _{18:1} + C _{18:2} + C _{18:3})	−0.449	0.188

表 7 9 个秋菊品种的主成分得分

Table 7 Primary factor scores of 9 autumn chrysanthemum cultivars

品种 Cultivar	第 1 主成分得分 Factor 1 score	第 2 主成分得分 Factor 2 score	品种 Cultivar	第 1 主成分得分 Factor 1 score	第 2 主成分得分 Factor 2 score
金锋铃 Jinfengling	0.039	2.955	墨宝 Mobao	2.364	0.936
铜雀春深 Tongquechunshen	−1.593	−0.361	星光灿烂 Xingguangcanlan	1.136	−0.346
日出东方 Richudongfang	−2.154	−0.345	云龙凤舞 Yunlongfengwu	−1.585	−1.168
檀香狮子 Tanxiangshizi	3.296	−1.670	关东新侠 Guandongxinxia	−0.839	−2.224
早粉盘 Zaofenpan	−0.663	2.223			

2.3.3 秋菊品种聚类分析 通过聚类分析(图 2)可见,秋菊品种按抗寒性强弱分为 3 类:第 1 类包括‘墨宝’、‘星光灿烂’、‘檀香狮子’,抗寒性较强;第 2 类包括‘金锋铃’和‘早粉盘’,抗寒性中等;第 3 类包括‘铜雀春深’、‘云龙凤舞’、‘日出东方’、‘关东新侠’,抗寒性较弱。

3 讨 论

不同植物体内的不饱和脂肪酸组分各异,低温胁迫下其含量对不饱和度的影响也存在较大差异。

在油菜籽^[12]、马铃薯^[13]等的研究中发现,低温可改变质膜脂肪酸的组成,诱导不饱和脂肪酸的含量和比例升高。本试验中,在低温处理条件下,9 个秋菊叶片中的不饱和脂肪酸含量均增加,这主要是由亚麻酸含量增加引起;同时,饱和脂肪酸含量降低,棕榈酸含量决定着饱和脂肪酸的含量变化,表明膜脂脂肪酸组分随温度的降低进行了适应性的调整,脂肪酸去饱和化,不饱和脂肪酸含量增加,从而改善了低温环境下秋菊细胞膜的流动性。

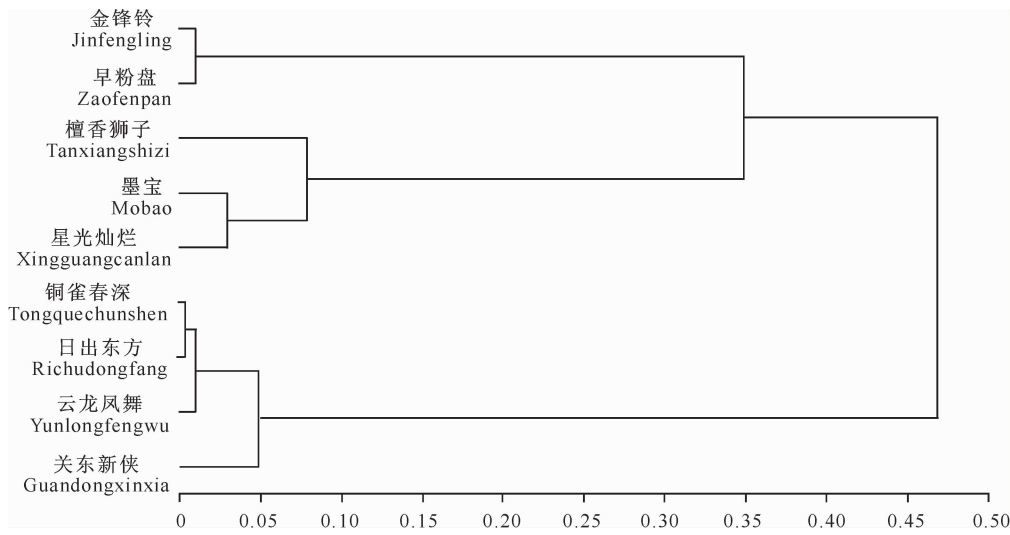


图 2 低温胁迫下 9 个秋菊品种树型聚类分析图

Fig. 2 Clustering analysis of 9 autumn chrysanthemum cultivars under low temperature stress

在将不饱和脂肪酸作为抗寒指标方面,尹田夫等^[14]通过对大豆叶片线粒体膜进行研究,确定 $C_{16:0}$ 和 $C_{18:3}$ 为抗寒指示性脂肪酸;刘星辉等^[15]对不同耐寒性的龙眼、荔枝品种的研究表明,其叶片中的膜脂脂肪酸组分含量存在较大差异, $C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2})$ 差异显著,可作为鉴别品种间耐寒性差异的有效指标;夏明等^[16]通过对低温下苜蓿叶片膜脂脂肪酸组分的研究,确定 $C_{16:0}$ 和 $C_{18:3}$ 为苜蓿的抗寒指标性脂肪酸。本项目组前期试验对 4 个秋菊品种的脂肪酸含量进行了分析,确定秋菊叶片中 $C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2})$,根系中 $C_{18:2}/(C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3})$ 可以作为检验菊花抗寒性的有效指标^[10]。本试验中,低温处理下秋菊叶片中的 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:2}$ 、 $C_{18:3}$ 等脂肪酸组分含量变化较大, $C_{18:3}/(C_{18:1} + C_{18:2})$ 变化显著,可作为鉴别秋菊品种耐寒性的有效指标,再次验证了本项目组以前的研究结果。就植物的抗寒性而言,其大小不仅取决于其不饱和脂肪酸的含量,还要考虑在低温适应过程中,植物产生的一系列包括不饱和脂肪酸合成和分解在内的综合生理变化^[17]。

为了全面准确地利用各种指标对植物的抗寒性进行综合评价,克服单指标鉴定的不足,本研究通过聚类分析将秋菊品种按抗寒性强弱分为 3 类:第 1 类抗寒性较强,包括‘墨宝’、‘星光灿烂’、‘檀香狮子’;第 2 类抗寒性中等,包括‘金锋铃’和‘早粉盘’;第 3 类抗寒性较弱,包括‘铜雀春深’、‘云龙凤舞’、‘日出东方’、‘关东新侠’,这一结果与根据 LT_{50} 得出的结果稍有不同。通过 LT_{50} 和聚类分析发现,晚

花品种‘墨宝’、‘星光灿烂’抗寒性较强,但也存在早花品种抗寒性较强、晚花品种抗寒性较弱的现象,花期与菊花的抗寒能力存在一定的关系,这可能与品种特性有关。许瑛等^[6]认为,菊花植株的抗寒性与花期的相关性不显著,这种情况还有待进一步探讨。张军科等^[18]采用主成分分析法发现, LT_{50} 可以代表植物生理指标的绝大部分信息,从而证实了 LT_{50} 可以作为快速鉴定的单因素指标,该结果具有较好的理论参考价值。在复杂的低温响应机制中,植物的脂类物质代谢具有重要作用,而作为不饱和脂肪酸重要组分的 $C_{18:3}$ 对低温环境更加敏感。现代生物技术和植物抗寒工程技术的有机结合,将有助于深入理解低温条件下脂肪酸代谢的作用机制,但不饱和脂肪酸合成途径中其他相关基因的调控机理还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Nishida I, Murata N. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria; The crucial contribution of membrane lipids [J]. Plant Mol Biol, 1996, 47: 541-568.

[2] Murata N, Los D A. Membrane fluidity and temperature perception [J]. Plant Physiol, 1997, 115(3): 875-879.

[3] 郑路,傅玉兰,陈树桃,等.菊花抗寒性与营养特性的研究[J].园艺学报,1994,21(2):185-188.
Zheng L, Fu Y L, Chen S T, et al. Studies on the cold resistance and nutrition characteristic of chrysanthemum [J]. Acta Horticulturae Sinica, 1994, 21(2): 185-188. (in Chinese)

[4] Anderson N, Gesick E. Phenotypic markers for selection of winter hardy garden chrysanthemum (*Dendranthema × grandiflora* Tzvelv.) genotypes [J]. Scientia Horticulturae, 2004, 101(1): 153-167.

[5] Kim D C, Anderson N O. Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums (*Dendranthema* × *grandiflora* Tzvelv.) [J]. Scientia Horticulturae, 2006, 109(4): 345-352.

[6] 许 瑛, 陈发棣. 菊花 8 个品种的低温半致死温度及其抗寒适应性 [J]. 园艺学报, 2008, 35(4): 559-564.

Xu Y, Chen F D. The LT₅₀ and cold tolerance adaptability of chrysanthemum during a natural drop in temperature [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(4): 559-564. (in Chinese)

[7] 许 瑛, 陈 煜, 陈发棣, 等. 菊花耐寒特性分析及其评价指标的确定 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(3): 974-981.

Xu Y, Chen Y, Chen F D, et al. Analysis of cold-tolerance and determination of cold-tolerance evaluation indicators in chrysanthemum [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(3): 974-981. (in Chinese)

[8] 孔德政, 于红芳, 李永华, 等. 干旱胁迫对不同品种菊花叶片光合生理特性的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2010, 38(11): 103-108.

Kong D Z, Yu H F, Li Y H, et al. Effect of drought stress on photosynthesis and physiological characteristic of chrysanthemum morifolium [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2010, 38(11): 103-108. (in Chinese)

[9] 李永华, 苏志国, 李洪涛, 等. 水杨酸预处理对低温胁迫下菊花叶片生理活性的影响 [J]. 河南农业科学, 2012(12): 99-101.

Li Y H, Su Z G, Li H T, et al. Effects of salicylic acid pretreatment on physiological activity of chrysanthemum leaves under low temperature stress [J]. Scientia Agricultura Henan, 2012(12): 99-101. (in Chinese)

[10] 李永华, 史春会, 李 永, 等. 低温下 4 种秋菊叶片和根系膜脂脂肪酸组分比较 [J]. 植物生理学报, 2013, 49(5): 1-6.

Li Y H, Shi C H, Li Y, et al. Comparison of membrane fatty acids component in leaf and root of four autumn chrysanthemum cultivars under low temperature [J]. Plant Physiology Journal, 2013, 49(5): 1-6. (in Chinese)

[11] 郭海林, 刘建秀, 朱雪花, 等. 结缕草属杂交后代抗寒性评价 [J]. 草地学报, 2006, 14(1): 25-27.

Guo H L, Liu J X, Zhu X H, et al. Evaluation of cold resistance of zoysia hybrids [J]. Acta Agrestia Sinica, 2006, 14(1): 25-27. (in Chinese)

[12] Tasseva G, Davy de Virville J, Cantrel C, et al. Changes in the endoplasmic reticulum lipid properties in response to low temperature in *Brassica napus* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2004, 42(10): 811-822.

[13] De Palma M, Grillo S, Massarelli I, et al. Regulation of desaturase gene expression, changes in membrane lipid composition and freezing tolerance in potato plants [J]. Molecular Breeding, 2008, 21: 15-26.

[14] 尹田夫, 宋英淑, 刘丽君, 等. 干旱对大豆线粒体膜脂的磷脂和脂肪酸组分的影响 [J]. 植物生理学通讯, 1989(4): 16-18.

Yin T F, Song Y S, Liu L J, et al. Effects of drought on the constituents of phospholipid and fatty acid in mitochondria membrane lipids of soybean leaves [J]. Plant Physiology Communications, 1989(4): 16-18. (in Chinese)

[15] 刘星辉, 余文琴, 张惠斌. 龙眼、荔枝叶片膜脂脂肪酸与抗寒性的研究 [J]. 福建农业大学学报, 1996, 25(3): 297-301.

Liu X H, She W Q, Zhang H B. Relationship between membrane fatty acid in leaves and cold resistance of longan and litch [J]. Journal of Fujian Agricultural University, 1996, 25(3): 297-301. (in Chinese)

[16] 夏 明, 刘亚学, 阿拉木斯, 等. 低温下苜蓿叶片膜脂脂肪酸组分的研究 [J]. 中国草地, 2002(6): 28-37.

Xia M, Liu Y X, A L M S, et al. Fatty acid composition of cell membrane of alfalfa leaves at chilling temperature [J]. Grassland of China, 2002(6): 28-37. (in Chinese)

[17] 张 玮, 谢锦忠, 吴继林, 等. 低温驯化对部分丛生竹种叶片膜脂脂肪酸的影响 [J]. 林业科学研究, 2009, 22(1): 139-143.

Zhang W, Xie J Z, Wu J L, et al. Changes in membrane lipid fatty acids of some sympodial bamboos in response to low temperature exposure [J]. Forest Research, 2009, 22(1): 139-143. (in Chinese)

[18] 张军科, 桑春果, 李嘉瑞, 等. 杏品种资源抗寒性主成分分析 [J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(6): 79-84.

Zhang J K, Sang C G, Li J R, et al. Principle component analysis method of almonds tolerance to cold [J]. Acta Univ Agric Boreali-Occidentalis, 1999, 27(6): 79-84. (in Chinese)