

游离脯氨酸含量测定法比较宿根花卉抗寒性

刘志洋

(哈尔滨市农业科学院,黑龙江 哈尔滨 150029)

摘要:为研究宿根花卉抗寒性及其应用,以 10 种具一定抗寒性的宿根花卉为试验材料,以低温胁迫下的游离脯氨酸变化为依据,比较其抗寒性强弱。结果表明:10 种宿根花卉随低温胁迫时间的延长,游离脯氨酸含量出现先降低后升高的趋势。不同品种变化的幅度不同。比较得出其抗寒性由强到弱顺序依次为:马蔺、紫萼、大花飞燕草、肥皂草、黄花菜、千屈菜、卷丹、宿根福禄考、美国薄荷、荷兰菊。

关键词:低温胁迫;宿根花卉;游离脯氨酸

中图分类号:S682.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)11-0102-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.11.0102

宿根花卉种类繁多,其株型、株高、花期变化大,有耐寒、耐旱、耐瘠薄,适应性强,管理粗放,见效快,群体效果好,花色、叶色丰富,花姿优美等特点。因而在国内外园林中被广泛应用,具有良好的景观效果。宿根花卉有着明显的地域性,同一种花卉在不同地区,可以表现为宿根或非宿根^[1],这主要是由于宿根花卉的抗寒性能力有差异造成的,因此宿根花卉的抗寒性研究一直是宿根花卉生产科研的关键。

游离脯氨酸含量测定法是花卉抗寒性研究采用的主要方法之一,游离脯氨酸含量与花卉的抗寒性之间呈正相关,即抗寒性强的花卉品种游离脯氨酸含量高^[2-3]。本研究通过对宿根花卉进行低温胁迫,以游离脯氨酸含量的变化为根据,比较得出 10 种宿根花卉抗寒性的强弱,为宿根花卉抗寒性应用提供新依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试宿根花卉植物 10 种,包括马蔺(*Iris lactea* var. *chinensis*) (鸢尾科鸢尾属)、紫萼(*Hosta ventricosa*) (百合科玉簪属)、大花飞燕草(*Delphinium grandiflorum* var. *chinense*) (毛茛科翠雀属)、肥皂草(*Saponaria*

officinalis) (石竹科肥皂草属)、黄花菜(*Hermerocallis citrina*) (百合科萱草属)、千屈菜(*Lythrum salicaria*) (千屈菜科千屈菜属)、卷丹(*Lilium lancifolium*) (百合科百合属)、宿根福禄考(*Phlox paniculata*) (花荵科福禄考属)、美国薄荷(*Monarda didyma*) (唇形科美国薄荷属)、荷兰菊(*Aster novi-belgii*) (菊科紫菀属)。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验设 6 个处理,分别为:0、3、12、24、36、48 h。其中 0 h 为对照,重复 3 次,取平均值。选取 7 支具塞刻度试管,按表 1 加入各种试剂。充分混合均匀后在沸水浴中加热 40 min。

表 1 各试管中试剂加入量
Table 1 The reagent in each test tubes

试剂 Reagent	管号 No.						
	0	1	2	3	4	5	6
脯氨酸标准溶液/mL	0	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0
Proline standard solution							
水/mL Water	2	1.8	1.6	1.2	0.8	0.4	0
冰乙酸/mL	2	2	2	2	2	2	2
Ice acetic acid							
茚三酮显色液/mL	3	3	3	3	3	3	3
Ninhydrin color liquid							
脯氨酸质量/ μ g	0	2	4	8	12	16	20
Quality of proline							

将各试管取出后进行冷却,加入 5 mL 甲苯,充分混合振荡,对红色物质进行萃取,静止分层

收稿日期:2016-09-08
基金项目:哈尔滨市科技攻关资助项目(2007AA6CE112)
作者简介:刘志洋(1979-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,高级农艺师,从事花卉育种及现代农业园区工作。E-mail:liuzhiyanger@126.com。

后,将甲苯层进行吸取,0 号试管为对照,在 520 nm 波长下进行比色。以游离脯氨酸质量为横坐标,以消光值为纵坐标,绘制标准曲线,求线性回归方程。

取 0.2~0.5 g 混匀的不同处理的剪碎的根系,加入 5 mL 的 3% 质量分数的磺基水杨酸溶液进行研磨提取,在沸水浴中浸提 10 min,之后进行冷却,冷却后 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取 2 mL 上清液,加 2 mL 冰乙酸和 3 mL 显色液,混匀后在沸水浴中加热 40 min,之后操作按标准曲线制作方法进行甲苯萃取和比色。

1.2.2 测定项目及方法 从标准曲线制查出测定溶液中的游离脯氨酸质量,计算得出样品中游离脯氨酸的质量分数($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)。

样品中游离脯氨酸的质量分数=(提取液中脯氨酸的质量×提取液总体积)×(测定时所吸取的体积×样品重)⁻¹^[4]

2 结果与分析

在植株处于低温胁迫状态时,其体内的游离脯氨酸具有一定的保护作用,它能维持细胞结构、细胞运输和调解渗透压等,使植株表现初抗性。植物的抗寒性与脯氨酸含量存在正相关性,即脯

氨酸含量高的品种抗寒性强。由表 2 可知,0 h 紫萼的游离脯氨酸含量最大,为 155.27 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其次为马蔺 150.25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,二者差异不显著并显著高于其余品种。荷兰菊最小,为 60.71 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。3 h 各材料游离脯氨酸含量均有一定程度的降低。12 h 马蔺的含量超过了紫萼最大,171.27 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。大花飞燕草为 157.62 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。肥皂草和黄花菜分别和 144.58 和 142.38 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,二者差异不显著。24 h 千屈菜和宿根福禄考的游离脯氨酸含量居中,分别为 97.01 和 91.35 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。卷丹和美国薄荷含量值较小,分别为 84.93 和 81.38 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,荷兰菊依旧最小为 68.53 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。36 h 马蔺和紫萼游离脯氨酸含量分别为 207.93 和 203.37 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,二者差异不显著且显著高于其它品种。大花飞燕草和肥皂草次之,二者之间差异不显著,荷兰菊最小,为 73.42 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在低温处理 48 h 时,马蔺游离脯氨酸含量最高为 220.97 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,紫萼次之,二者之间差异显著。大花飞燕草与肥皂草之间差异显著。荷兰菊的游离脯氨酸含量最低为 76.47 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

表 2 游离脯氨酸含量测定
Table 2 Free proline content determination

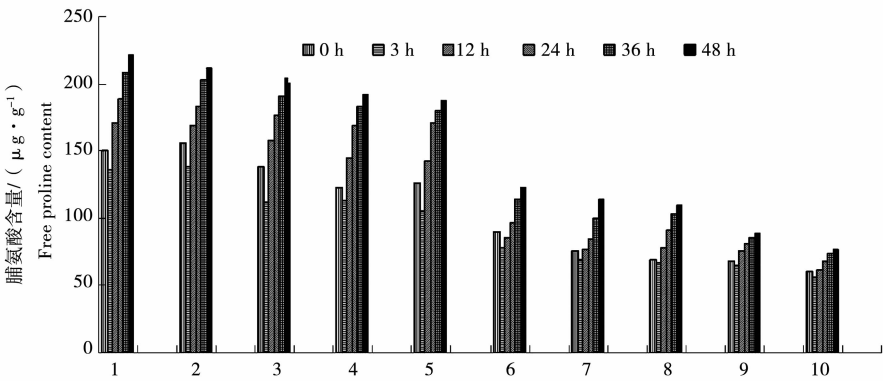
品种 Varieties	游离脯氨酸含量/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Free proline content					
	0 h	3 h	12 h	24 h	36 h	48 h
马蔺 <i>Iris lactea</i> var. <i>chinensis</i>	150.25 a	136.37 a	171.27 a	188.42 a	207.93 a	220.97 a
紫萼 <i>Hosta ventricosa</i>	155.27 a	138.37 a	168.61 a	183.16 a	203.37 a	211.52 b
大花飞燕草	137.8 b	112.32 b	157.62 b	176.89 b	190.28 b	203.48 c
<i>Delphinium grandiflorum</i> var. <i>chinense</i>						
肥皂草 <i>Saponaria officinalis</i>	122.37 c	113.41 b	144.58 c	168.69 c	183.34 bc	192.14 d
黄花菜 <i>Hemerocallis citrina</i>	125.63 c	105.40 c	142.38 c	171.28 bc	179.36 c	187.24 d
千屈菜 <i>Lythrum salicaria</i>	89.45 d	78.24 d	85.09 d	97.01 d	114.56 d	122.81 e
卷丹 <i>Lilium lancifolium</i>	75.83 e	69.28 e	77.06 e	84.93 e	100.27 e	114.34 f
宿根福禄考 <i>Phlox paniculata</i>	69.21 ef	66.93 e	78.38 e	91.35 de	103.26 e	109.37 f
美国薄荷 <i>Monarda didyma</i>	68.44 f	64.83 e	75.83 e	81.38 e	85.17 f	89.36 g
荷兰菊 <i>Aster novi-belgii</i>	60.71 g	55.38 f	61.26 f	68.53 f	73.42 g	76.47 h

由图 1 可以看出,马蔺和紫萼脯氨酸含量变化不相上下,始终处于游离脯氨酸含量最高值,处

于第一阵营。大花飞燕草、肥皂草、黄花菜处于第二阵营,其中大花飞燕草与黄花菜差异显著。千

屈菜、卷丹、宿根福禄考处于第三阵营,其中千屈菜与宿根福禄考差异显著。美国薄荷与荷兰菊处

于第四阵营,二者之间差异显著。第二阵营与第三阵营之间差异显著。



1:马蔺;2:紫萼;3:大花飞燕草;4:肥皂草;5:黄花菜;6:千屈菜;7:卷丹;8:宿根福禄考;9:美国薄荷;10:荷兰菊
1;*Iris lactea* var. *chinensis*;2;*Hosta ventricosa*;3;*Delphinium grandiflorum* var. *chinense*;4;*Saponaria officinalis*;5;*Hemerocallis citrina*;6;*Lythrum salicaria*;7;*Lilium lancifolium*;8;*Phlox paniculata*;9;*Monarda didyma*;10;*Aster novi-belgii*

图 1 游离脯氨酸含量比较

Fig 1 Free proline content comparison

3 讨论与结论

本研究结果表明,由游离脯氨酸指标,初步判断出 10 种宿根花卉抗寒性由强到弱的顺序为:马蔺、紫萼、大花飞燕草、肥皂草、黄花菜、千屈菜、卷丹、宿根福禄考、美国薄荷、荷兰菊。其中马蔺、紫萼抗寒性最强,大花飞燕草、肥皂草、黄花菜抗寒性较强,千屈菜、卷丹、宿根福禄考次之,美国薄荷与荷兰菊抗寒性最差。

随着低温胁迫处理时间的不断延长,各种宿根花卉材料游离脯氨酸含量变化均表现出先降低后升高的趋势。分析其原因,当刚遇-20℃低温时,各材料在短时间内不能适应低温的变化而导致其根系的呼吸作用增加,从而对游离脯氨酸有一定的消耗,因此表现出前期游离脯氨酸含量略有下降的特点。随着处理胁迫处理时间的不断增长,呼吸作用慢慢减弱,一直到最后几乎停止,从而导致游离脯氨酸含量增加,以提高细胞液浓度,降低冰点,提高其抗寒能力,所以表现出游离脯氨酸含量后期一直增加的趋势。在整个低温胁迫过程中,马蔺、紫萼、大花飞燕草、肥皂草和的黄花菜的游离脯氨酸含量总体变化幅度较大,说明其在低温锻炼过程中,植物自身能不断积累游离脯氨

酸来抵御低温伤害,可见其抗寒性较强,而美国薄荷和荷兰菊的变化较小,说明此两种材料抗寒性相对其它材料较差。

2011 年冬天哈尔滨降雪极少,气候寒冷,在哈尔滨市农业科学院松北区基地种植的以上十种宿根花卉中荷兰菊 90%以上发生冻害,美国薄荷 50%以上发生冻害,宿根福禄考 30%以上发生冻害,千屈菜 10%以上发生冻害,其它几种宿根花卉未发生明显冻害。由此可见利用游离脯氨酸法测定的供试 10 种宿根花卉的抗寒性与实际较为接近,参考性很强。此外,抗寒性鉴定所采用的指标很多,今后还应进一步做其它抗寒指标的测定,与游离脯氨酸含量变化综合得出结论^[5]。

参考文献:

[1] 李作文,关正君. 园林宿根花卉 400 种[M]. 沈阳:辽宁科技出版社,2007.
[2] 区胜祥,邓伯勋,马湘涛,等. 脯氨酸作柑桔抗寒生理指标的探讨[J]. 浙江柑桔,1986(1):1-5.
[3] 马春平,宋丽萍,崔国文. 紫花苜蓿抗寒生理指标的比较研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2006(6):47-48.
[4] 郝再彬,苍晶,徐仲. 植物生理学试验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004.
[5] 封培波. 上海地区引种宿根花卉观赏性评价及耐热、抗寒研究[D]. 北京:北京林业大学,2003.

Cold Resistance Comparison of Perennial Flowers by Determination of Free Proline Content

LIU Zhi-yang

(Harbin Academy of Agriculture Sciences, Harbin, Heilongjiang 150029)

Abstract: In order to study the cold resistance and its application of perennials, taking ten kinds of perennials as a certain hardiness test materials, strength of cold resistance was compared based on free proline change under low temperature stress. The results showed that the free proline content decreased first, then increased with the raising of extended tolerance time . Different varieties had different amplitude. Cold resistance order from strong to weak was *Iris lactea* var. *chinensis*, *Hosta ventricosa*, *Delphinium grandiflorum* var. *chinense*, *Saponaria officinalis*, *Hemerocallis citrina*, *Lythrum salicaria*, *Lilium lancifolium*, *Phlox paniculata*, *Monarda didyma* and *Aster novi-belgii*.

Keywords: cold stress; perennials; free proline content

图版 Accompanying figure

