

# 弯刺蔷薇与大花白木香越冬抗寒性及其生理差异分析

刘 强, 杨树华\*, 贾瑞冬, 赵 鑫, 葛 红\*

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 国家花卉改良中心, 北京 100081)

**摘 要:** 以弯刺蔷薇 (*Rosa beggeriana*) 和大花白木香 (*R. fortuneana*) 当年生叶片和枝条为试材, 采用电解质渗出率拟合 Logistic 方程确定低温半致死温度 ( $LT_{50}$ ) 评价抗寒性, 采用过碘酸雪夫氏染色观察茎中淀粉积累, 测定相对含水量、丙二醛、可溶性糖、脯氨酸、脱落酸含量以及超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性, 研究其越冬期间抗寒性变化及其生理基础。结果发现: 两种蔷薇叶片抗寒能力相当, 但弯刺蔷薇枝条抗寒性远强于大花白木香。与大花白木香相比, 弯刺蔷薇在低温驯化初期累积了更多的可溶性糖, 并在叶片脱落前可能通过增加的 ABA 信号促进可溶性糖由叶片向茎中运输并贮存为淀粉, 在严冬时期淀粉水解形成更多的渗透调节物质, 并通过更高的 SOD 活性维持氧化还原平衡; 而大花白木香中只发现了比弯刺蔷薇中更高的脯氨酸含量和 POD 活性, 这可能难以维持其渗透压和氧化还原平衡并造成了更多的膜脂过氧化伤害, 最终导致其枝条的抗寒性远小于弯刺蔷薇。

**关键词:** 弯刺蔷薇; 大花白木香; 抗寒性; 越冬

**中图分类号:** S 685.12

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2017) 07-1344-11

## Analysis of Freezing Tolerances and Its Physiological Differences of Two *Rosa* Species During the Overwintering

LIU Qiang, YANG Shuhua\*, JIA Ruidong, ZHAO Xin, and GE Hong\*

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, National Flowers Improvement Center of China, Beijing 100081, China)

**Abstract:** To study the changes of freezing tolerance and its physiological basis of annual leaves and shoots of *Rosa beggeriana* and *R. fortuneana*, the cold hardiness was estimated by the semi-lethal temperature ( $LT_{50}$ ), which was assessed by electrolyte leakage rate with Logistic equation, the accumulation of starches in stems was observed by periodic acid-schiff staining and the contents of relative water, malondialdehyde, soluble sugars, proline, ABA and activities of SOD, POD and CAT were measured. The results showed that the freezing tolerances of leaves of two *Rosa* species were similar, but the shoots of *R. beggeriana* exhibited stronger cold hardiness than that of *R. fortuneana*. Compared with *R. fortuneana*, *R. beggeriana* accumulated more soluble sugars at the beginning of cold acclimation, which transported to shoots and stored as starch under the possible signaling regulation by increased ABA content

**收稿日期:** 2017-03-13; **修回日期:** 2017-06-05

**基金项目:** 国家科技支撑计划课题 (2012BAD01B0704); 北京市科委科技计划项目 (D161100001916004); 北京市大兴区与中国农业科学院科技合作项目; 国家‘863’计划课题 (2011AA100208); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yangshuhua@caas.cn; gehong@caas.cn)

before defoliation and hydrolyzed as soluble sugars at the midwinter to sustain osmotic balance, and depended on higher activity of SOD to maintain redox balance, while the higher content of proline and POD activity observed in the shoots of *R. fortuneana* could not sustain the osmotic and redox balance, which led to more damage of membrane lipid peroxidation and weaker hardiness eventually.

**Keywords:** *Rosa beggeriana*; *R. fortuneana*; freezing tolerance; overwintering

蔷薇属 (*Rosa* L.) 植物为常绿、半常绿或落叶灌木, 全世界共有约 200 种, 广泛分布于北半球亚热带到寒温带地区, 中国原产 65 种 (Krussmann, 1981; 俞德浚, 1985)。参与现代月季品种群形成的蔷薇属植物只有 10 余种, 长期的人工选择加上狭窄的遗传背景导致现代月季品种抗性缺失, 通过远缘杂交引入优良抗性资源是现代月季育种的一个重要途径 (Gudin, 2000)。自 1981 年以来, 中国学者利用弯刺蔷薇与现代月季品种进行远缘杂交, 获得了抗寒性极强的‘天山’系列新品种 (黄善武和葛红, 1989; 杨树华 等, 2016)。

低温是影响植物生存和限制其地理分布的重要因素, 植物在响应低温胁迫过程中会启动一系列信号传导反应, 并发生组织含水量下降、渗透调节物质积累、抗氧化酶活性增强等生理生化变化以增强抗寒能力 (Burke et al., 1976; Chinnusamy et al., 2007; 王宁, 2014)。由于木本植物遗传背景复杂, 而且许多种类可长期耐受零下低温的严酷环境, 使得研究方法和测定手段受到诸多限制, 其抗寒性机制研究进展相对缓慢 (郭学民 等, 2014; Wisniewski et al., 2014)。目前有关蔷薇属植物抗寒性研究的报道很少, 主要是对一些月季品种或蔷薇野生种开展了抗寒性鉴定与比较 (马燕和陈俊愉, 1991; 王明启 等, 1993; Hakam et al., 2000; 张涛 等, 2006; 邓菊庆 等, 2012, 2013)。作为温带地区生长的多年生木本植物, 低温驯化过程是形成抗寒能力 (Pagter et al., 2008) 并保证其安全越冬的重要环节 (Azzarello et al., 2009), 单纯地在某一个时期进行抗寒性指标的测定并不能真实反映其抗寒能力。因此, 开展自然越冬过程中蔷薇属植物低温驯化及抗寒能力的动态变化研究, 对于较全面了解其抗寒性特点有着重要意义。

以原产于中国西北地区的弯刺蔷薇和南方地区广泛栽培的大花白木香当年生叶片和枝条为研究材料, 测定越冬过程中不同时期材料的低温半致死温度 ( $LT_{50}$ ), 以确定两种蔷薇的抗寒能力及差异, 并进行叶片和枝条抗寒相关生理指标的测定, 深入分析比较两者抗寒性变化与差异的生理基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及其抗寒性测定

试验于 2015 年 9 月至 2016 年 3 月在中国农业科学院蔬菜花卉研究所进行, 供试材料为月季种质资源圃中 3 株多年生弯刺蔷薇 (*R. beggeriana*) 和大花白木香 (*R. fortuneana*) 当年生叶片和枝条。 $LT_{50}$  和相对含水量 (RWC) 取材后即测定, 用于石蜡切片的茎段取回后于 FAA 中固定备用, 用于其他指标测定的材料放入液氮中带回实验室,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存备用。

抗寒性测定参考 Lim 和 Arora (1998) 的方法, 采用电解质渗出率拟合 Logistic 方程计算低温半致死温度 ( $LT_{50}$ )。其中分别在 2015 年 9 月 22 日、10 月 14 日和 11 月 10 日进行 3 次叶片取样, 在 2015 年 9 月 22 日至 2016 年 3 月 22 日进行 8 次枝条取样。材料从田间取回后用去离子水冲洗干净, 擦干, 叶片垂直主叶脉剪成 0.5 cm 宽的条状, 茎剪成 0.2 cm 长的茎段, 锡箔纸包好, 每包叶片

0.7 g, 每包茎 1 g, 每种材料 8 包, 用于 8 个梯度的温度处理。

材料先于 4 °C 冰箱中适应 2 h, 然后放入超低温恒温槽 (CDW-A10, 新芝生物科技股份有限公司, 宁波) 中开始低温处理。处理温度随着气温下降而逐渐增加到 17 个降温梯度, 最低温度达到 -68 °C。各处理温度采用卡式温度记录仪 (TREL-8, LogTag, New Zealand) 进行精确校准, 具体为: -4、-8、-12、-16、-20、-24、-28、-32、-36、-40、-44、-48、-52、-56、-60、-64 和 -68 °C, 以 4 °C / 1.5 h 的速率降温, 每个梯度维持 1.5 h。

梯度处理结束后将材料取出放于 4 °C 冰箱过夜, 之后叶片按照 0.2 g / 20 mL ddH<sub>2</sub>O 分装, 茎按照 0.3 g / 20 mL ddH<sub>2</sub>O 分装。置于恒温摇床 (THZ-C, 培英实验设备有限公司, 苏州) 上 200 r · min<sup>-1</sup> 摇 2 h, 静置充分后用便携式电导率仪 (HI8733, HANNA, Italy) 测定初电导率值 (EC<sub>1</sub>), 之后 100 °C 煮沸 40 min, 静置冷却后测定终电导率值 (EC<sub>2</sub>)。相对电导率 (REC, %) = EC<sub>1</sub> / EC<sub>2</sub> × 100。

## 1.2 生理指标测定

ABA 提取参考马宏棋等 (2014) 的方法略作修改。将 2015 年 9 月 22 日和 11 月 10 日采集的样品用液氮快速研磨后称取 0.5 g 左右, 记录样品准确质量, 加入 20 mL 提取溶剂 (甲醇: 乙酸乙酯: 甲酸 = 50: 50: 1) 剧烈振荡 5 min, 4 °C 离心弃去残渣, 滤液在 40 °C 下减压旋蒸至干, 加入 2 mL 乙醇溶解, 收集溶液待测。ABA 测定采用植物激素脱落酸酶联免疫试剂盒 (北京言必信科技有限公司), 按照说明书操作进行。

对 2015 年 9 月 22 日、10 月 14 日和 11 月 10 日 3 次采集的叶片样品以及 2015 年 9 月 22 日至 2016 年 3 月 22 日 8 次采集的枝条样品中的 5 次样品测定各生理指标。相对含水量 (RWC) 测定采用烘干法, 115 °C 烘 30 min, 之后 85 °C 烘 5 h; 可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法 (李合生, 2000); 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性活性, 脯氨酸和丙二醛 (MDA) 含量采用试剂盒法测定 (南京建成生物工程研究所), 试剂盒购自北京科创欣达科技有限公司。

所有数据测定均设置 3 次生物学重复。结果分析采用 SPASS18.0, 利用邓肯氏新复极差法 ( $P < 0.05$ ) 开展多重比较分析, 利用 Pearson's 相关性进行 LT<sub>50</sub> 与其他抗寒生理指标间的相关性分析。

## 1.3 组织结构观察

采用常规石蜡切片方法, 将经 FAA 固定的茎段逐级乙醇脱水 (70% 乙醇 2 h → 75% 乙醇 2 h → 85% 乙醇 2 h → 95% 乙醇 2 h → 无水乙醇 1 h → 无水乙醇 1 h), 二甲苯透明 (1/2 无水乙醇 + 1/2 二甲苯 2 h → 纯二甲苯 2 h → 纯二甲苯 2 h), 浸蜡和包埋, 之后用半自动石蜡切片机 (Leica, RM2255, Germany) 切片, 经过碘酸雪夫氏染色 (PAS) 后于 Olympus BX53F 型显微镜下观察拍照。

# 2 结果与分析

## 2.1 越冬过程中 LT<sub>50</sub> 动态变化

低温驯化开始于 9 月下旬, 随着日平均温度降低, 弯刺蔷薇和大花白木香叶片和枝条的 LT<sub>50</sub> 均出现明显下降, 在 11 月 10 日落叶前叶片 LT<sub>50</sub> 达到最低, 枝条 LT<sub>50</sub> 分别在 12 月和次年 1 月达到最低值 (图 1), 表明越冬过程中两种蔷薇植物的叶片和枝条抗寒能力均得到增强, 之后随着气温回升, 枝条 LT<sub>50</sub> 开始显著上升, 表现出明显的脱驯化情况。

两种蔷薇在 9 月下旬叶片驯化开始时  $LT_{50}$  相当, 到 10 月中旬时大花白木香显著低于弯刺蔷薇, 但到落叶前两者均降低至同一水平, 表明两种蔷薇叶片抗寒能力大致相同, 但在驯化速度上可能存在差异。

与叶片表现类似, 两种蔷薇枝条在 11 月 10 日前  $LT_{50}$  差异并不明显。随着日平均气温接近  $0^{\circ}\text{C}$ , 两者  $LT_{50}$  分别在 12 月初和次年 1 月初时到达最低, 分别为  $-55.5^{\circ}\text{C}$  和  $-14.3^{\circ}\text{C}$ , 抗寒温度差异达到了  $41.2^{\circ}\text{C}$ 。1 月初以后, 气温回升至 3 月下旬时  $LT_{50}$  分别为  $-24.3^{\circ}\text{C}$  和  $-5.9^{\circ}\text{C}$ , 仍然有  $18.4^{\circ}\text{C}$  的差异。这些结果表明, 两种蔷薇的枝条均存在明显的低温驯化和脱驯化过程, 其中弯刺蔷薇的低温驯化能力远强于大花白木香, 并最终表现为越冬抗寒能力上的极大差异。

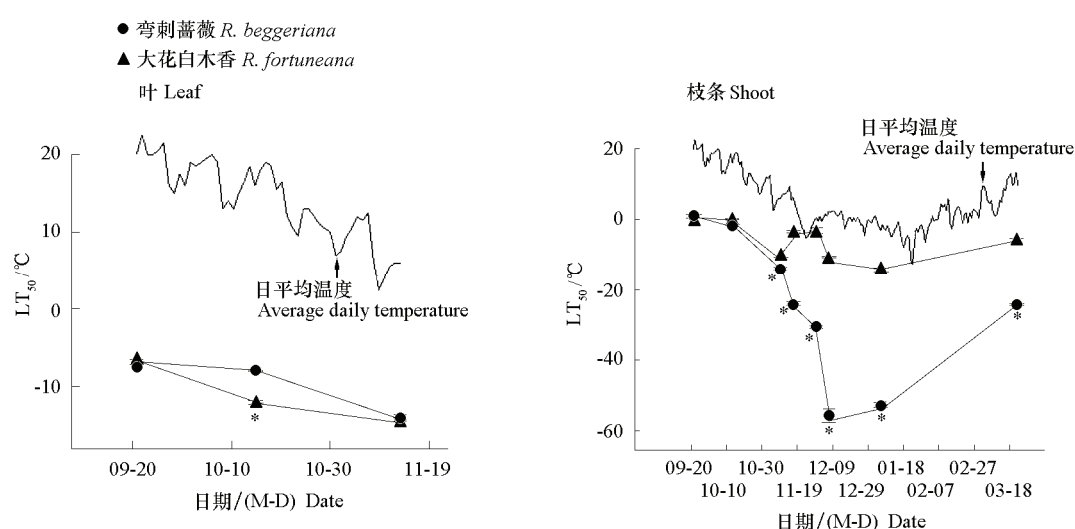


图 1 越冬过程中两种蔷薇叶片和枝条低温半致死温度 ( $LT_{50}$ ) 的变化

\* 表示 0.05 水平上的显著差异。

Fig. 1 The dynamic changes of  $LT_{50}$  of leaves and shoots of two *Rosa* species during overwintering

\* means significance in 0.05 level.

## 2.2 越冬期间相对含水量和渗透物质含量的变化

植物能够调节细胞自由水和结合水的比例来控制代谢状态, 从而适应不同的环境条件。弯刺蔷薇和大花白木香叶片和枝条中相对含水量 (RWC) 均在低温驯化期间显著下降, 变化趋势与  $LT_{50}$  极为相似, 弯刺蔷薇枝条在脱驯化过程中还出现了显著回升; 大花白木香叶片在 10 月中旬时显著低于弯刺蔷薇, 其他两个时期无明显差异, 而枝条 RWC 缓慢下降, 在 12 月上旬和 1 月上旬显著高于弯刺蔷薇 (图 2, A、B)。根据以往的研究结果, 两种蔷薇降低含水量的目的可能是为了减少细胞内结冰, 这是对于冷冻低温环境的主动适应 (Guy, 2003; Yang et al., 2015)。

可溶性糖和脯氨酸是植物细胞中重要的渗透调节物质。低温驯化前期, 弯刺蔷薇和大花白木香叶片中可溶性糖含量无明显差异, 随着驯化开始, 两者均明显升高, 其中弯刺蔷薇在 10 月中旬到达最大值并显著高于大花白木香, 随着叶片衰老, 在 11 月 10 日时明显下降, 与持续缓慢升高的大花白木香中的含量相当 (图 2, C)。整个越冬过程中, 两种蔷薇枝条中可溶性糖含量表现出持续上升趋势, 而且弯刺蔷薇显著高于大花白木香, 气温回升以后, 弯刺蔷薇明显下降至与大花白木香同一

水平（图 2，D）。可见可溶性糖含量水平与两种蔷薇抗寒性密切相关。

对于脯氨酸而言，弯刺蔷薇和大花白木香叶片和枝条中均在越冬驯化过程中逐渐增加，落叶前大花白木香叶片中显著高于弯刺蔷薇（图 2，E），而枝条中在整个越冬过程中始终高于弯刺蔷薇（图 2，F），但脱驯化过程中弯刺蔷薇中出现明显下降，大花白木香中依然持续升高。

从这些结果可以看出可溶性糖含量对弯刺蔷薇抗寒性的影响应该更大，而脯氨酸含量的急剧升高可能是大花白木香抵御低温胁迫的重要生理响应之一。

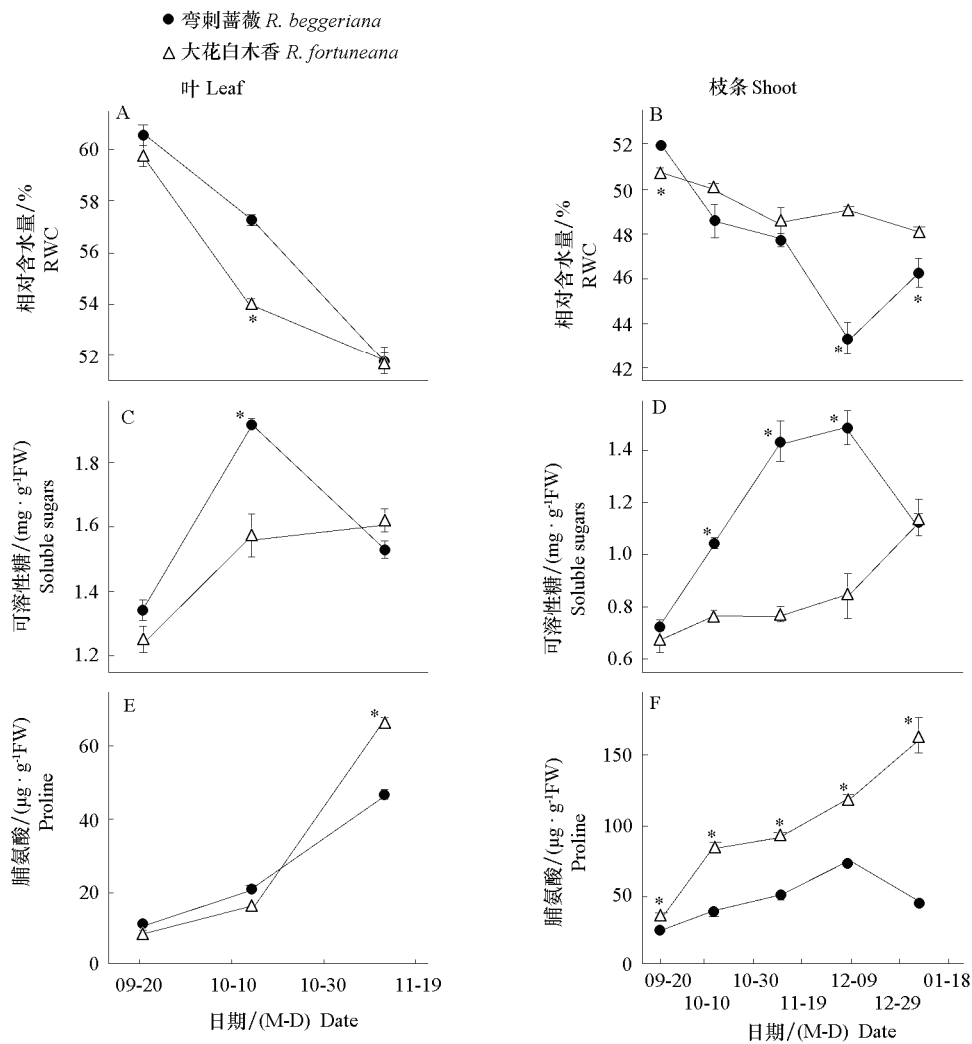


图 2 两种蔷薇叶片和枝条越冬过程中相对含水量、可溶性糖和脯氨酸含量的动态变化

\* 表示 0.05 水平上的显著差异。

Fig. 2 The dynamic changes of RWC, soluble sugars and proline in leaves and shoots of two *Rosa* species during overwintering

\* means significance in 0.05 level.

### 2.3 枝条淀粉累积

木本植物冬季枝条中多糖的主要形式是淀粉。PAS 染色发现，落叶前（2015 年 11 月 10 日）两



种蔷薇茎的横切面结构完整, 淀粉主要贮存在皮层细胞, 韧皮薄壁细胞和木射线中也有少量分布 (图 3, A、C), 结合两种蔷薇枝条中可溶性糖含量和  $LT_{50}$  的变化趋势, 可以发现淀粉在驯化初期均存在大量累积, 但是大花白木香枝条中可溶性糖显著低于弯刺蔷薇, 这可能是其抗寒能力显著低的主要原因之一。到了严冬时期 (2016 年年 1 月 5 日), 弯刺蔷薇茎结构基本完好, 只在皮层细胞和木射线中有少量淀粉粒 (图 3, B); 大花白木香茎的整体结构产生了破坏, 仍然在皮层细胞和韧皮薄壁细胞有淀粉粒的累积 (图, D)。该时期两种蔷薇枝条中可溶性糖含量并无差别, 但弯刺蔷薇的  $LT_{50}$  却显著低于大花白木香。上述结果表明, 严冬时期的弯刺蔷薇茎可能通过充分降解淀粉物质, 增加可溶性糖含量, 以提高细胞渗透调节能力, 维持细胞结构基本完整并增强其抗寒力; 但是大花白木香茎中贮存的淀粉却没有被充分降解, 且未能形成足够的可溶性糖以维持渗透平衡, 导致细胞结构遭到严重破坏。在梨 (魏先荣和王国泽, 2004) 和苹果 (刘艳 等, 2006) 的研究中也发现存在类似的物种或品种差异。

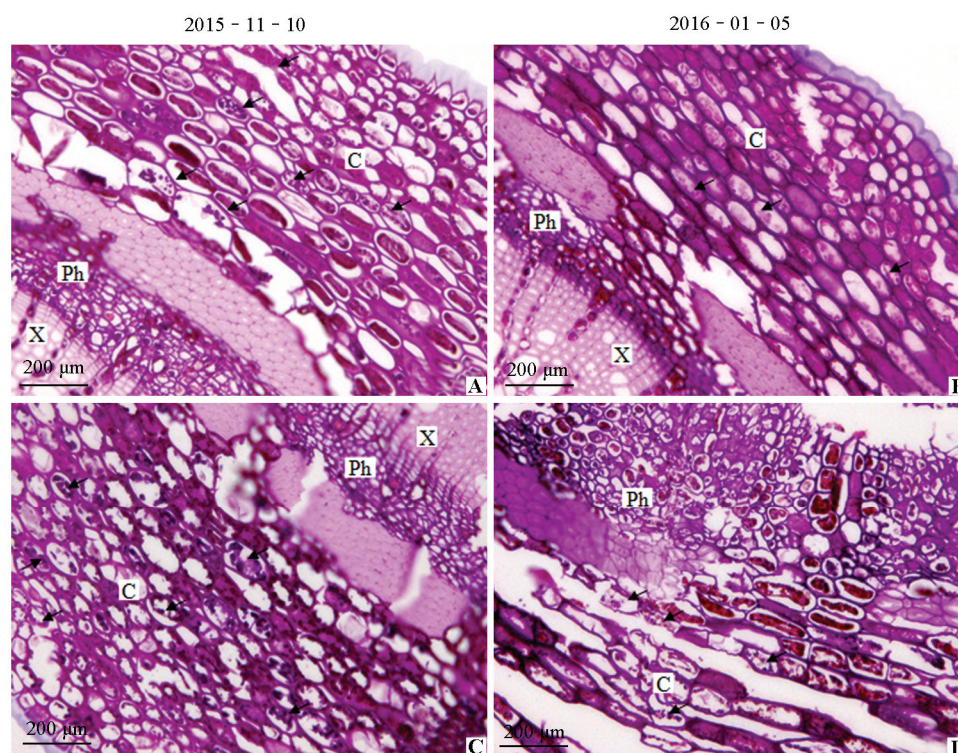


图 3 弯刺蔷薇 (A、B) 和大花白木香 (C、D) 茎 PAS 染色的结果

X: 木质部; Ph: 韧皮部; C: 皮层。箭头指示淀粉粒。

Fig. 3 PAS staining results of shoots of *R. beggeriana* (A, B) and *R. fortuneana* (C, D)

X: Xylem; Ph: Phloem; C: Cortex. Arrow shows starch grains.

## 2.4 叶片和枝条中 ABA 含量变化

ABA 是植物体内重要的逆境响应激素。9 月下旬驯化开始前, 两种蔷薇叶片中 ABA 含量无明显差异, 在 11 月中旬落叶前弯刺蔷薇显著升高, 而大花白木香无显著变化 (图 4, A); 枝条中 ABA 含量变化趋势两种蔷薇基本一致, 落叶前均明显上升, 但二者无显著差异 (图 4, B)。

两种蔷薇落叶前的叶片  $LT_{50}$  和可溶性糖并无差别, 推测叶片 ABA 含量的累积可能没有直接与叶片抗寒性关联。尽管两种蔷薇枝条中 ABA 含量差异不显著, 但是 11 月中旬时, 弯刺蔷薇 ABA 含量的增加幅度大于大花白木香, 说明弯刺蔷薇在枝条中更多地累积了 ABA, 这应该与其枝条中  $LT_{50}$  和可溶性糖显著高于大花白木香有关。众所周知, 植物枝条本身并不能产生 ABA, 主要依赖于叶片或者根系的运输, 可以推测弯刺蔷薇叶片在脱落前大量 ABA 的累积可能与其枝条中 ABA 的增加和累积密切相关。

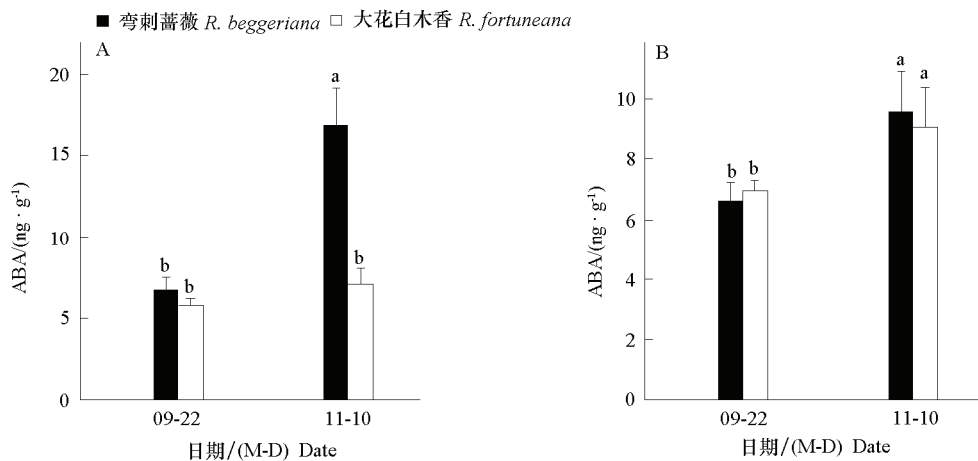


图 4 叶片脱落前两种蔷薇叶片 (A) 和枝条 (B) 中 ABA 含量的变化  
Fig. 4 The changes of abscisic acid content in leaves (A) and shoots (B) of two *Rosa* species before leaf abscission

## 2.5 越冬期间抗氧化系统变化

越冬驯化过程中, 两种蔷薇叶片和枝条中的 SOD 活性呈现缓慢上升趋势, 其中弯刺蔷薇始终显著高于大花白木香 (图 5, A、B)。

POD 活性也呈上升趋势, 但弯刺蔷薇显著低于大花白木香 (图 5, C、D)。

CAT 活性不稳定, 弯刺蔷薇叶片在 10 月中旬显著高于大花白木香, 到 11 月中旬叶片衰老前急速下降 (图 5, E); 在枝条中, 弯刺蔷薇表现为先升高后下降, 大花白木香则呈现先下降再升高的趋势。这样造成了在越冬初期和脱驯化时期大花白木香显著强于弯刺蔷薇, 而在越冬期间弯刺蔷薇显著强于大花白木香 (图 5, F)。

MDA 作为伤害指标经常被用来衡量膜脂受损伤程度。两种蔷薇叶片和枝条中 MDA 含量在越冬期间均呈现上升趋势, 在叶片中 10 月中旬之前弯刺蔷薇均显著低于大花白木香, 落叶前两者升高至同一水平 (图 5, G); 在枝条中大花白木香直到次年 1 月初都处于缓慢上升状态, 而弯刺蔷薇则在脱驯化时存在明显的恢复 (图 5, H), 并且整个越冬过程中始终显著低于大花白木香。

上述结果表明, 弯刺蔷薇和大花白木香可能分别更多地依赖 SOD 和 POD 活性启动抗氧化反应来清除低温胁迫造成的活性氧物质, 但越冬过程中大花白木香较弯刺蔷薇受到了更多的膜脂过氧化伤害, 并且弯刺蔷薇枝条中修复损伤的能力强于大花白木香, 而越冬期间更低的膜脂过氧化损伤意味着更强的抗寒性。

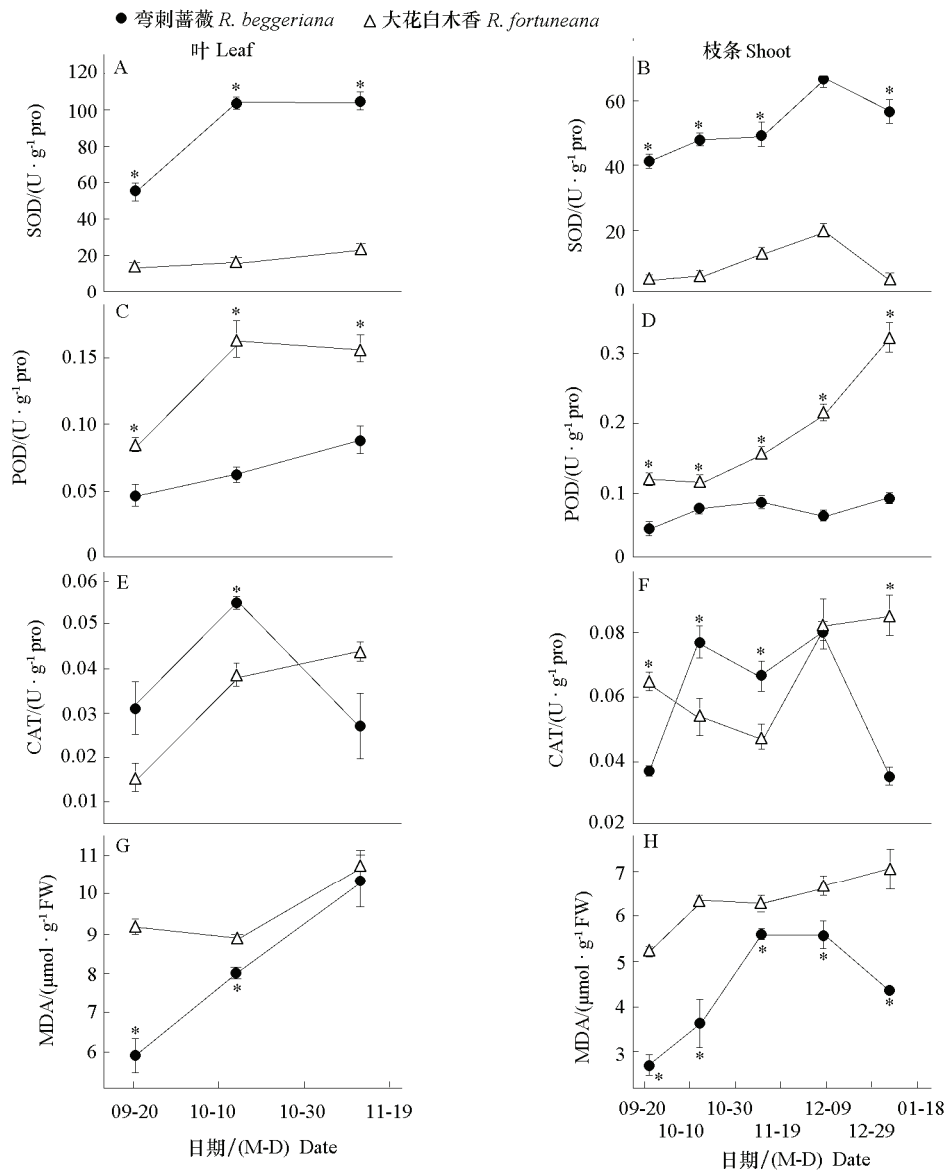


图 5 两种蔷薇叶片和枝条越冬过程中 SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量的动态变化

\* 表示 0.05 水平上的显著差异。

Fig. 5 The dynamic changes of SOD, POD, CAT activities and MDA content in leaves and shoots of two *Rosa* species during overwintering

\* means significance in 0.05 level.

## 2.6 各指标间相关性分析

相关性分析发现, 叶片和枝条的抗寒性与其它生理指标之间存在明显相关关系 (表 1)。两种蔷薇叶片和枝条在越冬过程中 LT<sub>50</sub> 与 RWC、脯氨酸含量分别存在极显著正相关和负相关; 除弯刺蔷薇叶片外, 与可溶性糖含量存在极显著负相关关系; 除大花白木香叶片外, 与 MDA 含量极显著负相关。对于抗氧化酶活性而言, 弯刺蔷薇枝条和大花白木香叶片 LT<sub>50</sub> 均与 SOD 活性极显著负相关关系, 弯刺蔷薇叶片、大花白木香叶片和枝条 LT<sub>50</sub> 均与 POD 活性极显著负相关, 大花白木香叶片 LT<sub>50</sub> 与 CAT 活性极显著负相关。



**表 1 LT<sub>50</sub> 与各生理指标间相关性分析**  
**Table 1 Correlation analysis between LT<sub>50</sub> and physiological indexes**

材料 Material	器官 Organ	相对含水量 RWC	脯氨酸 Proline	丙二醛 MDA	可溶性糖 Soluble sugars	SOD	POD	CAT
弯刺蔷薇	叶 Leaf	0.951**	- 0.981**	- 0.894**	0.116	- 0.590	- 0.908**	0.450
<i>R. beggeriana</i>	枝条 Shoot	0.874**	- 0.789**	- 0.653**	- 0.674**	- 0.879**	- 0.469	- 0.319
大花白木香	叶 Leaf	0.996**	- 0.802**	- 0.596	- 0.968**	- 0.875**	- 0.929**	- 0.885**
<i>R. fortuneana</i>	枝条 Shoot	0.762**	- 0.917**	- 0.744**	- 0.884**	- 0.324	- 0.962**	0.592

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

### 3 讨论

利用测定不同冷冻温度下的电导率并拟合 Logistic 方程计算半致死低温 (LT<sub>50</sub>), 是木本植物抗寒性鉴定较为常用的方法 (张钢, 2005)。但是, 冷冻处理过程中的降温速率、梯度以及极限温度会很大程度地影响抗寒性测定的准确性 (Lim & Arora, 1998)。在现有的蔷薇属植物 LT<sub>50</sub> 测定研究中, 普遍存在降温速率较快、降温梯度太少等问题, 极限低温多数只持续到 - 30 ℃ (王明启 等, 1993; 张涛 等, 2006; 邓菊庆 等, 2012, 2013), 或者 - 45 ℃ (马燕和陈俊愉, 1991)。在本研究中, 材料在越冬严寒时期测定的极限低温达到 - 68 ℃, 降温梯度最高达到 17 个, 较为精确地测定了 LT<sub>50</sub>。

本研究表明, 弯刺蔷薇和大花白木香叶片存在抗寒驯化速度的差别, 驯化能力无显著差异。但是, 两种蔷薇枝条驯化速度和抗寒能力均有很大差异, 弯刺蔷薇枝条低温驯化能力极强, 抗寒性在 11 月中旬时即显著高于大花白木香, LT<sub>50</sub> 最低达到了 - 55 ℃, 超过大花白木香的最强抗寒能力近 40 ℃, 即作为落叶灌木的弯刺蔷薇枝条抗寒性远大于在原栽培地区为常绿灌木的大花白木香。类似的结果也出现在桃树 (Arora et al., 1992, 1996) 的抗寒性研究上。马燕和陈俊愉 (1991) 利用低温冷冻处理枝条结合统计扦插成活率的方法估算了 9 种蔷薇属资源的抗寒性, 认为弯刺蔷薇半致死温度约为 - 45 ℃, 大花白木香的野生亲缘种木香 (*R. banksiae*) 半致死温度为 - 15 ℃左右, 其中弯刺蔷薇的结果与本研究稍有差异。这可能是由于采用不同的测定方法造成的。

植物抗寒性的获得是一个复杂的信号传导与生理生化响应的过程。本研究发现, 两种蔷薇叶片和枝条在越冬过程中大多数生理指标的动态变化较为一致, 即相对含水量下降、脯氨酸含量升高、抗氧化酶活性增强等, 表明均通过减少细胞内结冰, 提高渗透调节物质增加细胞渗透压, 以及启动抗氧化系统等抗寒生理机制抵御冷冻低温。相关性分析结果也进一步支持了上述结论, 而且这与过去在蔷薇属植物中的研究结果 (王明启 等, 1993; 邓菊庆 等, 2012, 2013) 一致。但是通过比较分析发现, 两种蔷薇在越冬过程中抵御冷冻低温的生理机制上存在明显物种差异。首先, 弯刺蔷薇叶片中可溶性糖含量在驯化初期较大花白木香更加迅速大量地累积, 但在落叶前又下降到与大花白木香同一水平; 而在弯刺蔷薇枝条中发现其可溶性糖累积含量显著高于大花白木香。两种蔷薇枝条在越冬期间淀粉累积变化也存在差异, 弯刺蔷薇在落叶前转运并累积到茎组织中的大量淀粉, 在严冬时期基本降解消耗殆尽, 但大花白木香中仍累积一定数量的淀粉粒。对于梨、苹果和木本绣球的研究也发现, 越冬期间枝条抗寒性增强与组织细胞中可溶性糖含量升高及淀粉粒大量水解密切相关 (魏先荣和王国泽, 2004; 刘艳 等, 2006; Pagtera et al., 2008; Rubio et al., 2016)。其次, 弯刺蔷薇叶片 ABA 含量在脱落前较大花白木香显著升高, 作为逆境响应的信号传导物质, 其可能在促进叶片脱落的同时也启动了促进各器官休眠的调控适应机制。有研究表明, ABA 含量的升高能够促进蔗糖转运蛋白基因的表达, 调节植物体内蔗糖的运输 (Peng et al., 2011; Gong et al., 2015)。结合同一时期叶片和枝条中可溶性糖含量变化, 可以推测弯刺蔷薇叶片中含量显著升高的 ABA 可能

参与了叶片中糖分的外运, 造成枝条中的可溶性糖增加, 从而提高了其抗寒性。对于大花白木香而言, 由于其枝条中脯氨酸含量在越冬过程中显著高于弯刺蔷薇, 推测其可能更多地利用脯氨酸而非可溶性糖作为渗透调节物质。此外, 弯刺蔷薇和大花白木香在抗氧化机制上也存在差异, 前者可能更多地依赖 SOD 活性, 后者则主要通过 POD 活性清除低温胁迫造成的细胞膜伤害。

综上所述, 作为落叶灌木的弯刺蔷薇在低温驯化初期累积了较大花白木香更多的可溶性糖, 并推测其在叶片脱落前通过逆境信号物质 ABA 的升高, 调控产生的可溶性糖由叶片向茎中运输与积累, 并以淀粉的形式贮存起来, 等到严冬来临之时又重新将淀粉水解转化成可溶性糖以形成更多的渗透调节物质, 并通过比大花白木香更高的 SOD 活性以清除过剩的氧自由基; 但是, 大花白木香只以较弯刺蔷薇更高的脯氨酸含量和 POD 活性难以维持其抗寒能力, 并造成了比弯刺蔷薇更多的膜脂过氧化伤害, 从而最终导致其枝条的抗寒性远小于弯刺蔷薇。

## References

- Arora R, Michael W, Lisa J. 1996. Rowland cold acclimation and alterations in dehydrin-like and bark storage proteins in the leaves of sibling deciduous and evergreen peach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121 (5): 915 - 919.
- Arora R, Wisniewski M E, Scorza R. 1992. Cold Acclimation in genetically related (Sibling) deciduous and evergreen peach (*Prunus persica* Batsch) 1. Seasonal changes in cold hardiness and polypeptides of bark and xylem tissues. *Plant Physiology*, 99: 1562 - 1568.
- Azzarello E, Mugnai S, Pandolfi C, Masi E, Marone E, Mancuso S. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. *Trees*, 23: 159 - 167.
- Burke M J, Gusta L V, Quamme H A, Weiser C J, Li P H. 1976. Freezing and injury in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 27: 507 - 528.
- Chinnusamy V, Zhu J, Zhu J K. 2007. Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in Plant Science*, 12: 444 - 451.
- Deng Ju-qing, Jian Hong-ying, Li Shu-bin, Wang Qi-gang, Guo Yu-long, Zhang Hao. 2012. Comprehensive evaluation of five wild *Rosa* species in cold tolerance ability. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 37 (4): 70 - 75. (in Chinese)
- 邓菊庆, 蹇洪英, 李淑斌, 王其刚, 郭余龙, 张 颢. 2012. 五种野生蔷薇属植物抗寒力的综合评价. *西南师范大学学报*, 37 (4): 70 - 75.
- Deng Ju-qing, Jian Hong-ying, Li Shu-bin, Wang Qi-gang, Guo Yu-long, Zhang Hao. 2012. Cold tolerance of several wild *Rosa* resources endemic of Yunnan. *Southwest China Journal of Agricultural Science*, 26 (2): 723 - 727. (in Chinese)
- 邓菊庆, 蹇洪英, 李淑斌, 王其刚, 郭余龙, 张 颢. 2013. 几种云南特有蔷薇资源的抗寒性研究. *西南农业学报*, 26 (2): 723 - 727.
- Gong Xue, Liu Ming-li, Zhang Li-jun, Ruan Yan-ye, Ding Rui, Ji Yu-qi, Zhang Ning, Zhang Shao-bin, Farmer J. 2015. *Arabidopsis AtSUC2* and *AtSUC4*, encoding sucrose transporter, are required for abiotic stress tolerance in an ABA-dependent pathway. *Physiologia Plantarum*, 153: 119 - 136.
- Gudin S. 2000. Rose: genetics and breeding. *Plant Breeding Reviews*, 17: 159 - 189.
- Guo Xue-min, Liu Jian-zhen, Liu Yong-jun, Xiao Xiao, Gao Rong-fu. 2014. Overview of cold resistance in woody plants. *Subtropical Plant Science*, 43 (4): 329 - 338. (in Chinese)
- 郭学民, 刘建珍, 刘永军, 肖 啸, 高荣孚. 2014. 木本植物抗寒性概述. *亚热带植物科学*, 43 (4): 329 - 338.
- Guy C L. 2003. Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. *Canadian Journal of Botany*, 81: 1216 - 1223.
- Hakam N, Khanizadeh S, DeEll J R, Richer C. 2000. Assessing chilling tolerance in roses using chlorophyll fluorescence. *HortScience*, 35 (2): 184 - 186.
- Huang Shan-wu, Ge Hong. 1989. Study on the use of *Rosa beggeriana* Schrenk as a source of cold resistance in rose breeding. *Acta Horticulturae Sinica*, 16 (3): 237 - 240. (in Chinese)
- 黄善武, 葛 红. 1989. 弯刺蔷薇在月季抗寒育种上的研究利用初报. *园艺学报*, 16 (3): 237 - 240.
- Krussmann G. 1981. The history of the modern garden rose. *The Complete Book of Roses*, USA: Timber Press.
- Li He-sheng. 2000. Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)

- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社.
- Lim C C, Arora R. 1998. Comparing Gompertz and Richards functions to estimate freezing injury in *Rhododendron* using electrolyte leakage. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123 (2): 246 – 252.
- Liu Yan, Li Xiao-yan, Wang Li-xue, Wang You-nian. 2006. The dynamic change of starch grain in apple shoots and its relationship to cold resistance. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*, 27 (2): 79 – 83. (in Chinese)
- 刘 艳, 李晓燕, 王丽雪, 王有年. 2006. 苹果枝条冬季淀粉粒动态变化与抗寒力的关系. *内蒙古农业大学学报*, 27 (2): 79 – 83.
- Ma Hong-qi, Chen Min-dong, Zhu Hai-sheng, Wen Qing-fang. 2014. Rapid method for the extraction of abscisic acid from strawberry and analysis by ultra-high performance liquid chromatography. *Acta Horticulturae Sinica*, 41 (3): 577 – 584. (in Chinese)
- 马宏棋, 陈敏氢, 朱海生, 温庆放. 2014. 草莓 ABA 的快速提取方法及超高效液相色谱分析. *园艺学报*, 41 (3): 577 – 584.
- Ma Yan, Chen Jun-yu. 1991. Study on difference in cold hardiness of *Rosa* species. *Acta Horticulturae Sinica*, 18 (4): 351 – 356. (in Chinese)
- 马 燕, 陈俊愉. 1991. 几种蔷薇属植物抗寒性指标的测定. *园艺学报*, 18 (4): 351 – 356.
- Pagtera M, Jensen C R, Petersen K K, Liu F, Arora R. 2008. Changes in carbohydrates, ABA and bark proteins during seasonal cold acclimation and deacclimation in *Hydrangea* species differing in cold hardiness. *Physiologia Plantarum*, 134: 473 – 485.
- Peng Chang-cao, Xu Yan-hong, Xi Ru-chun, Zhao Xiao-lan. 2011. Expression, subcellular localization and phytohormone stimulation of a functional sucrose transporter (*MdSUT1*) in apple fruit. *Scientia Horticulturae*, 128: 206 – 212.
- Rubio S, Dantas D, Bressan-Smith R, Pérez F J. 2016. Relationship between endodormancy and cold hardiness in grapevine buds. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35: 266 – 275.
- Wang Ming-qi, Zhang Yin-hui, Chen Bao-jing. 1993. Study on hardiness indicators of the genus *Rosa*. *Journal of Jilin Forestry Institute*, 9 (1): 51 – 58. (in Chinese)
- 王明启, 张银慧, 陈宝晶. 1993. 蔷薇属植物抗寒性指标的研究. *吉林林学院学报*, 9 (1): 51 – 58.
- Wang Ning. 2014. Research progress on cold resistance physiology of plant. *Northern Horticulture*, (4): 174 – 177. (in Chinese)
- 王 宁. 2014. 植物抗寒生理性研究进展. *北方园艺*, (4): 174 – 177.
- Wei Xian-rong, Wang Guo-ze. 2004. The relationship between micro character of tissue and cold resistance of pear. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*, 25 (2): 73 – 75. (in Chinese)
- 魏先荣, 王国泽. 2004. 梨组织显微特性与抗寒力的关系研究. *内蒙古农业大学学报*, 25 (2): 73 – 75.
- Wisniewski M, Nassuth A, Teulière C, Marque C, Rowland J, Cao P B, Brown A. 2014. Genomics of cold hardiness in woody plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 33: 92 – 124.
- Yang Shu-hua, Li Qiu-xiang, Jia Rui-dong, Huang Shan-wu, Ge Hong. 2016. New rose cultivars *Rosa* ‘Tianxiang’, ‘Tianshan Baixue’, ‘Tianshan Taoyuan’, ‘Tianshan Zhiguang’, ‘Tianshan Zhixing’. *Acta Horticulturae Sinica*, 43 (3): 607 – 608. (in Chinese)
- 杨树华, 李秋香, 贾瑞冬, 黄善武, 葛 红. 2016. 月季新品种 ‘天香’、‘天山白雪’、‘天山桃园’、‘天山之光’与 ‘天山之星’. *园艺学报*, 43 (3): 607 – 608.
- Yang Yang, Jia Zhong-kui, Chen Fa-ju, Sang Zi yang, Ma Lu-yi. 2015. Comparative analysis of natural cold acclimation and deacclimation of two *Magnolia* species with different winter hardiness. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37: 129.
- Yu De-jun. 1985. The flora of China. Vol. 37. Beijing: Science Press. (in Chinese)
- 俞德浚. 1985. 中国植物志. 37 卷. 北京: 科学出版社.
- Zhang Gang. 2005. Review on methods for measuring frost hardiness in woody plants abroad. *World Forestry Research*, 18 (5): 14 – 20. (in Chinese)
- 张 钢. 2005. 国外木本植物抗寒性测定方法综述. *世界林业研究*, 18 (5): 14 – 20.
- Zhang Tao, Duan Da-juan, Wang Zhen-yi, Wang Jian-zhao. 2006. Comparison of freezing resistance among five climbing rose varieties. *Journal of Northwest Forestry University*, 21 (5): 81 – 83. (in Chinese)
- 张 涛, 段大娟, 王振一, 王建召. 2006. 五种藤本月季抗寒性比较研究. *西北林学院学报*, 21 (5): 81 – 83.