

徐 勇,马远潇,梁 悦,等. 玫瑰花瓣表皮分泌细胞的显微观察及其与精油含量的关系[J]. 江苏农业科学,2024,52(24):148-155.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.24.022

玫瑰花瓣表皮分泌细胞的显微观察 及其与精油含量的关系

徐 勇¹,马远潇¹,梁 悦¹,董桂芝²,白梦娟¹,冯立国¹

(1. 扬州大学园艺园林学院,江苏扬州 225000; 2. 平阴县玫瑰研究所,山东平阴 250407)

摘要:玫瑰精油提取的常规方法鉴定玫瑰品种精油含量高低需要大量的玫瑰花,不适用于玫瑰新品种的初步筛选,因此高油玫瑰新品种选育相关技术与开发对玫瑰资源选育及产业发展具有关键作用。基于玫瑰花瓣表皮分泌细胞是玫瑰精油合成的主要场所,选取 19 个同一地区栽培的玫瑰品种,开展玫瑰精油含量与表皮分泌细胞内油面积的相关关系研究。通过透射电镜观察染色后玫瑰盛花期时的花瓣上表皮分泌细胞可知,花瓣上表皮分泌细胞大多呈椭圆形,仅存的大液泡中有大量的嗜油性团块状或条块状沿细胞壁分布。重瓣白玫瑰(*R. rugosa* cv. *plena* f. *alba*)等 5 个玫瑰品种的上表皮分泌细胞中存在较多的嗜油性,油面积较大(106.6 ~ 184.4 μm^2)。西胡 2 号(*R. rugosa* Xihu Erhao)等 7 个品种的油面积处于中等水平(45.8 ~ 77.4 μm^2)。汉莎玫瑰(*R. rugosa* Hansha)等 7 个品种的油面积较低(5.8 ~ 44.7 μm^2),其中大马士革玫瑰(*R. damascena*)和大马士革白玫瑰(*R. damascena* f. *alba*)中存在较多的淀粉粒。通过水蒸汽蒸馏法提取获得各玫瑰品种的精油,不同品种之间的出油量差异较大,其中出油量大于 0.3 $\mu\text{L/g}$ 的包括平阴重瓣白玫瑰等 4 个品种。最后,对 19 个玫瑰品种花瓣上表皮分泌出油量和细胞内油面积的相关性进行分析表明,二者呈显著正相关关系($P < 0.05$),拟合的线性模型为 $y = 0.0015x + 0.0200$ 。各品种玫瑰精油均以醇类、烷烃类、酚类和酯类为主,但各类型相对含量与油面积大小不存在显著相关关系。此研究能够用于定量预测玫瑰新品种中的精油总量,可作为高油玫瑰新品种选育的细胞学方法。

关键词:表皮分泌细胞;油面积;精油含量;相关性

中图分类号:TQ645.1;O657.63;S685.120.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)24-0148-07

植物精油是一类存在于植物的叶、根、皮、花和果中的次级代谢产物,在植物界中分布广泛,可随水蒸气蒸馏提取出来的、具有一定气味的挥发性油状液体^[1]。松柏科、樟科、芸香科等植物中精油较为丰富。植物精油化学成分比较复杂,按化学结构可分为脂肪族、芳香族和萜类三大类化合物以及它们的含氧衍生物如醇、醛、酮、酸、醚、酯、内酯等。天然植物精油具有来源广泛和毒性小的特点,是一类富有潜力的生物资源,在医药、保健品、植物病虫害防治、日化生产、食品和环保等领域中具有广泛的用途^[2-3]。

玫瑰(*Rosa rugosa*)是蔷薇科蔷薇属多年生落叶灌木,原产我国、日本和俄罗斯远东地区,其栽培品

种是重要的香料用经济植物^[4]。从玫瑰花中提取的精油是一种高档的植物精油,其化学成分复杂,有 300 多种化合物,主要成分为萜类化合物,其质量分数之和占玫瑰精油总质量的 50% ~ 70%,主要包括香茅醇、香叶醇、橙花醇等及其乙酸酯类衍生物乙酸香茅酯和乙酸香叶酯等^[5-6]。玫瑰精油是名贵的天然香料,长期以来是国际市场上流行的花香型香料之一,常作为制造高级化妆品、食品、医药品等的重要原料,市场需求量巨大^[7]。由于玫瑰精油价值高,但含量很低,一般提取率为 0.03% 左右,因此被称为“液体黄金”。

国外种植的玫瑰主要用来生产精油,欧洲用来生产精油的主要品种是大马士革玫瑰,其中保加利亚种植大马士革玫瑰(*R. damascena*)的历史久、规模大,而且生产的玫瑰精油质量高,其被誉为玫瑰精油之都^[8]。大马士革玫瑰是世界上最好的精油生产品种之一,其产的玫瑰精油香气纯甜,是最受欢迎的香型^[9]。此外,千叶玫瑰(*R. centifolia*)和白玫瑰(*R. alba*)也是欧洲常用的品种。

收稿日期:2023-12-22

基金项目:国家自然科学基金(编号:32272749)。

作者简介:徐 勇(1986—),男,河南信阳人,博士,讲师,主要从事观赏植物种质资源评价与应用研究。E-mail:yongxu@yzu.edu.cn。

通信作者:冯立国,博士,教授,主要从事观赏植物种质资源与分子生物学研究。E-mail:lgfeng@yzu.edu.cn。

我国有约 2 000 多年的玫瑰种植历史,目前在我国各地均有种植,以山东省、甘肃省、云南省等区域为主^[10]。然而,我国对玫瑰种质资源的收集及新品种选育方面的研究较少,玫瑰栽培品种数量极为有限,主要栽培品种有山东平阴的平阴玫瑰(*R. rugosa* cv. plena)、甘肃的苦水玫瑰(*R. sertata* × *R. rugosa*)^[10]。玫瑰精油的提取率除了受提取工艺影响较大外,主要与玫瑰品种花瓣中的精油含量直接相关。培育高油玫瑰新品种是科学研究和产业发展关注的重要问题,目前已经通过分子生物学手段探究了调控玫瑰中一些关键香气成分的分子调控路径及机制,为今后通过基因工程手段培育高油玫瑰新种质提供有力的工具^[11-13]。

与此同时,新品种选育相关技术与开发对玫瑰资源选育具有十分重要的意义。通常,使用一些方法将精油从花瓣中提取出来后,通过计算精油提取率来衡量玫瑰品种精油含量的高低。植物精油常见的提取方法包括水蒸气蒸馏法、溶剂提取法、压榨法和超声波提取法等^[14]。不同植物适合的提取方法存在差异,需要根据植物的特性和提取目的选择最合适的提取方法,玫瑰精油提取通常使用的是蒸馏法和超声波提取法^[14]。然而,由于玫瑰的精油含量低,精油提取方法通常需要大量的玫瑰花,因此这些方法并不适用于玫瑰新品种含油量的鉴定。相关研究表明,玫瑰精油中主要成分萜类的合成途径主要包括细胞质中的甲羟戊酸(MVA)途径和质体中的甲基赤藓醇-4-磷酸(MEP)途径^[15]。精油的产生不仅仅是生物的合成和挥发过程,而且涉及细胞学中有组织的运输和排放过程。花朵作为玫瑰产生精油的器官,花瓣表皮分泌细胞(即花瓣表面第1层细胞)是玫瑰精油合成的主要场所,嗜钹油滴及黑色油状团块状物主要聚集在质体和细胞质中^[16]。同时,花朵从花蕾期向盛花期转变的过程中,灰色油滴首先在质体膜系统的加工下转化为黑色嗜钹油,在质体外膜解体后进入细胞质,然后经由内质网和高尔基体囊泡的加工与转运,成为电子密度高的黑色嗜钹油向中央大液泡中运输并在其中储存,在半开期和盛花期含量最多,约占据整个大液泡的1/5^[16]。由此可见,精油可以通过染色得到观察并且细胞内的油面积也在盛花期达到最大,与精油含量的变化趋势一致,然而有关花瓣表皮分泌细胞内油面积与精油含量的关系尚未见报道。

本研究拟首先提取精油以获得不同品种玫瑰精油的出油率,然后对不同品种玫瑰的上表皮分泌细胞进行系统观察和分析,探究玫瑰品种上表皮分泌细胞的特点,并计算花瓣上表皮分泌细胞中油面积的大小以及其与精油提取量的相关性,进而建立一种高油玫瑰品种筛选的细胞学方法,为玫瑰高油新品种的筛选提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究使用的玫瑰品种均种植于山东省平阴玫瑰研究所(以下简称玫瑰所)玫瑰种质资源圃(116.457 676 °E,36.288 978 °N),位于山东省济南市平阴县玫瑰镇。该地区属于暖温带半湿润区大陆性季风气候,四季分明,春季干燥多风,年平均气温 14.6 °C;年均降水量 641.7 mm,多集中于夏季;光照充足,年均日照时数 2 241.0 h;地势东南高西北低,东南部为丘陵,其中翠屏山最高,海拔 229 m,西北部为黄河滩区;土壤主要为褐土类。本试验于 2021 年 5—7 月在玫瑰所取样并开展相关试验,试验共选用 19 个玫瑰品种(图 1)。观察花瓣表皮分泌细胞的玫瑰花样品的采摘时期为花朵露出亮黄色花蕊时的盛花期,取样时间为每天 06:00 前(日出前),每个品种采取 6 朵鲜花作为重复,并将采摘后的花瓣立刻放入多聚甲醛-戊二醛固定。用于提取精油的花朵采摘时期也和前面一致,每个品种至少采摘 400 g。

1.2 水蒸气蒸馏法提取玫瑰精油

本试验采用玫瑰产业中应用最广泛的一种精油提取工艺——水蒸气蒸馏法提取玫瑰精油^[17]。将刚采摘的玫瑰鲜花取不少于 400 g,加入放有去离子水的圆底烧瓶中,花液比为 1 g : 4 mL。然后,将烧瓶放置于电热套上,再将蒸馏装置连接烧瓶,在挥发油测定器中提前加入其 2/3 体积的水,以便于观察精油。在花水混合物沸腾之前(约 0.5 h)温度设置为 240 °C,加热至挥发油测定器的冷凝管有水滴滴下时,将温度调为 180 °C,蒸馏过程持续 2 ~ 3 h。蒸馏结束停止加热后,待冷凝管处无水滴滴下,对最上层的黄色液体进行萃取,然后在萃取液中加入少量无水 Na₂SO₄除去精油中含有的水分,-20 °C 密封保存。最后测定各玫瑰品种精油的体积。

不同品种玫瑰精油出油率计算公式:出油量 = V/M 。



A—丰花玫瑰(*R. rugosa* Fenghua); B—香水玫瑰(*R. centifolia*); C—平阴重瓣白玫瑰(*R. rugosa* cv. *plena* f. *alba*); D—杂交单瓣红玫瑰(*R. rugosa* Danbanhong); E—平阴重瓣红玫瑰(*R. rugosa* cv. *plena*); F—保加利亚白玫瑰(*R. damascena* Baojialiya f. *alba*); G—亮叶玫瑰(*R. rugosa* Liangye); H—苦水玫瑰(*R. sertata* × *R. rugosa*); I—平阴 11 号(*R. rugosa* Pingyin shiyihao); J—西胡 1 号(*R. rugosa* Xihu Yihao); K—西胡 2 号(*R. rugosa* Xihu Erhao); L—西胡 3 号(*R. rugosa* Xihu Sanhao); M—大果玫瑰(*R. rugosa* Daguao); N—汉莎玫瑰(*R. rugosa* Hansa); O—茶薇玫瑰(*R. rubus*); P—紫枝玫瑰(*R. rugosa* Zizhi); Q—大红紫枝玫瑰(*R. rugosa* Dahong Zizhi); R—大马士革玫瑰(*R. damascena*); S—大马士革白玫瑰(*R. damascena* f. *alba*)

图1 试验使用的 19 个玫瑰品种盛花期

式中: V 表示玫瑰精油体积数, μL ; M 表示鲜花重量, g 。

1.3 花瓣包埋

选择盛花期花朵,选取由外向内的第 3 轮花瓣,从花瓣中部切片,切成长 × 宽 = $1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ 的组织小块,立即放入盛有 4% 多聚甲醛溶液(0.1 mol/L , pH 值为 7.2 PBS 配制)的小离心管中,抽真空直至样品下沉,置于室温下 1 h,吸去多聚甲醛固定液,加入 2.5% 的戊二醛固定液(0.1 mol/L , pH 值为 7.2 PBS 配制),置于室温下 2 h,弃戊二醛固定液,用 0.1 mol/L PBS 清洗 3 ~ 4 次,每次停留 15 ~ 20 min,弃 0.1 mol/L PBS,加入 1% 锇酸(0.2 mol/L , pH 值为 7.2 PBS 配制)后固定 3 ~ 4 h,弃锇酸固定液,使用 0.1 mol/L PBS 清洗 3 ~ 4 次,每次停留 15 ~ 20 min,吸去缓冲液,系列乙醇逐级脱水;100% 丙酮和树脂过渡,Spurr 树脂浸透、包埋、聚合^[18]。

1.4 花瓣上表皮分泌细胞的定位

将前期制得的花瓣包埋块用超薄切片机切成厚度为 $1\text{ }\mu\text{m}$ 的半薄切片,将载玻片放置于多功能热台上并滴上蒸馏水,再将切片放置于载玻片上,并

待切片水分蒸发消失后使用甲苯胺蓝染色,通过电镜观察并找到上表皮分泌细胞后去掉其他组织部分。将已经染色定位好的玫瑰花瓣的包埋块用超薄切片机切成厚度为 50 nm 的超薄切片,然后再用醋酸双氧铀、硝酸铅双重染色后用透射电镜观察并拍照^[18]。最后,使用 CAD 软件将花瓣上表皮分泌细胞内的油面积进行勾选和计算。

1.5 玫瑰精油香气成分的测定

首先,使用微量注射器吸取 $2\text{ }\mu\text{L}$ 玫瑰精油溶解到 $498\text{ }\mu\text{L}$ 正己烷中,添加过量无水硫酸钠(约 0.7 g)除去水分,取 $50\text{ }\mu\text{L}$ 混合 $50\text{ }\mu\text{L}$ $0.006\text{ }\text{25\%}$ 3 - 壬酮内标液加入进样瓶,通过 trace ISQ 气相色谱 - 质谱联用仪器进行自动进样,参照实验室前期的方法^[11]进行香气成分的测定,使用色谱柱型号为 (ECONO - CAP, EC - 1000, Alltech Corporation, Lexington, KY, USA),氮流速为 1.00 mL/min ,程序如下: $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min (初始温度),然后以 $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 的速度增加到 $140\text{ }^{\circ}\text{C}$,持续 5 min ,最后以 $4\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 的速度增加到 $210\text{ }^{\circ}\text{C}$,持续 15 min 。然后以 $100:1$ 的分离比和 $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的进样温度注入 1 mL 样品。质谱电离温度

为 200 ℃, 自动扫描 50 ~ 550 amu, 电子能是 70 eV。基于 NIST17 MS 数据库的定性分析和基于内标归一化峰面积的定量分析。再利用 Xcalibur 软件在 NIST 17 MS 数据库进行定性分析和基于内标归一化峰面积的定量分析。每个样品进行 3 次测定。

各成分的绝对含量 = [各组分的峰面积/内标的峰面积 × 内标浓度 × 4 mL]/样品量(g), ng/g;

各成分的相对含量 = 样品中某一组分的绝对含量/样品中所有组分的绝对含量之和 × 100%。

2 结果与分析

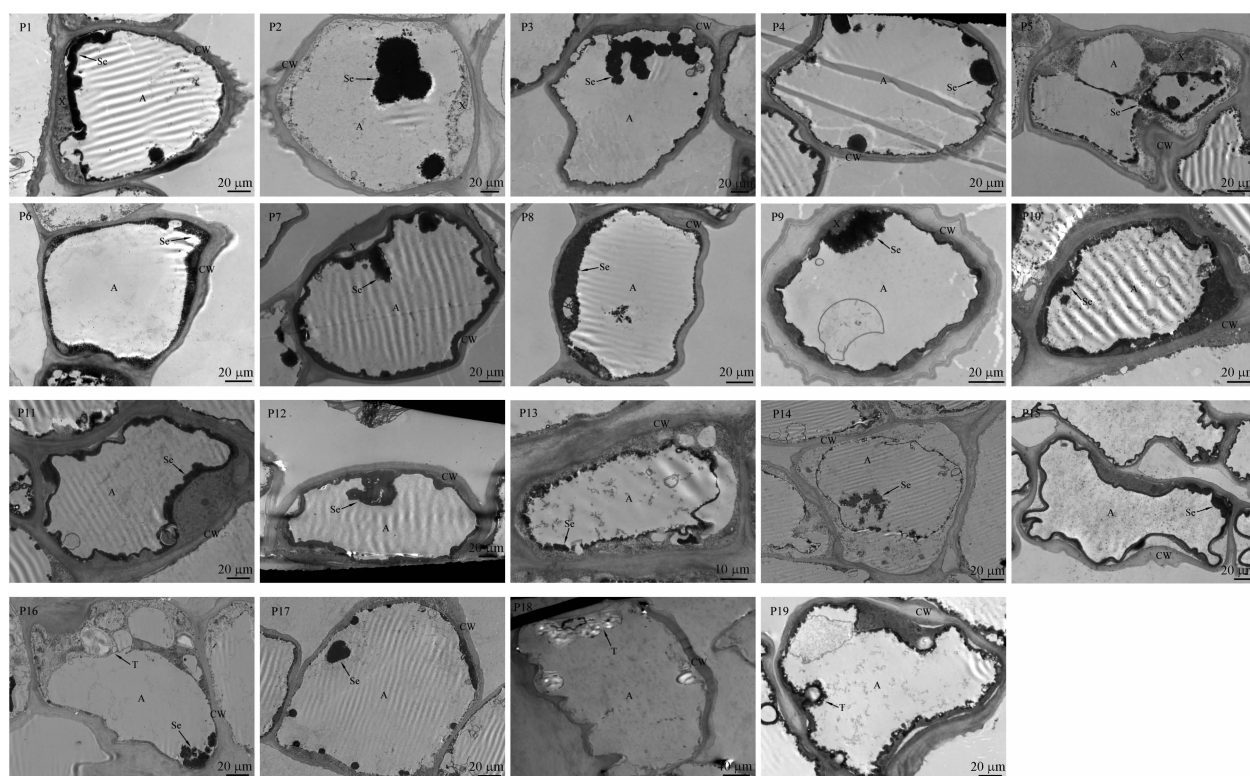
2.1 不同玫瑰品种花瓣上表皮分泌细胞形态观察

通过透射电镜观察获得 19 种玫瑰花瓣中上表皮分泌细胞横切图(图 2)。观察发现, 这些品种的上表皮分泌细胞形状大体相同, 大多呈近圆形、椭圆形或倒三角形, 仅极少数玫瑰品种的上表皮分泌细胞形态奇特。在盛花期, 上表皮分泌细胞内主要被扩展向边缘挤压的大液泡占据, 液泡中有大量的嗜钼油, 大部分嗜钼油团块状分布于液泡边缘(如香水玫瑰、平阴重瓣白玫瑰、苦水玫瑰等), 部分沿

液泡边缘贴于细胞壁条块状分布(西胡 2 号、大果玫瑰、汉莎玫瑰等)。丰花玫瑰、香水玫瑰、平阴重瓣白玫瑰、杂交单瓣红玫瑰、平阴重瓣红玫瑰这 5 个玫瑰品种的花瓣上表皮分泌细胞中都存在较多的嗜钼油, 亮叶玫瑰、苦水玫瑰等 6 个玫瑰品种的花瓣上表皮分泌细胞中嗜钼油量少于丰花玫瑰等品种, 汉莎玫瑰、茶薇玫瑰等 7 个品种中则存在少量嗜钼油, 而大马士革玫瑰分泌细胞内嗜钼油极少。此外, 紫枝玫瑰中存在少量淀粉粒, 而大马士革玫瑰和大马士革白玫瑰中存在较多的淀粉粒。所有品种的细胞内膜边缘分布有已被酶解的细胞器和其他分泌物质, 被中央大液泡挤压到细胞壁内侧, 而且部分品种的细胞壁向外凸起呈乳突状, 细胞壁外层积累有灰色物质, 这可能是由于分泌细胞内的挥发性油分泌出进入细胞壁后所导致, 如西胡 2 号、茶薇玫瑰等。

2.2 不同品种玫瑰花瓣上表皮分泌细胞精油面积大小

19 种玫瑰的细胞内油面积(S)大小及分类如表 1 所示。细胞内油面积较高(大于 100 μm²)的有丰



A—中央大液泡; X—细胞壁的灰色沉积物质; Se—嗜钼油; T—淀粉粒; CW—细胞壁; P1—丰花玫瑰; P2—香水玫瑰; P3—平阴重瓣白玫瑰; P4—杂交单瓣红玫瑰; P5—平阴重瓣红玫瑰; P6—保加利亚白玫瑰; P7—亮叶玫瑰; P8—苦水玫瑰; P9—平阴 11 号; P10—西胡 1 号; P11—西胡 2 号; P12—西胡 3 号; P13—大果玫瑰; P14—汉莎玫瑰; P15—茶薇玫瑰; P16—紫枝玫瑰; P17—大红紫枝玫瑰; P18—大马士革玫瑰; P19—大马士革白玫瑰

图2 19 个玫瑰品种花瓣上表皮分泌细胞横切图

花玫瑰、香水玫瑰、平阴重瓣白玫瑰、杂交单瓣红玫瑰、平阴重瓣红玫瑰 5 个品种,油面积为 106.6 ~ 184.4 μm^2 。含有中等油面积 ($45 \mu\text{m}^2 < S \leq 100 \mu\text{m}^2$) 的玫瑰品种有西胡 1 号、西胡 2 号、西胡 3

号等 7 个品种,油面积分别为 45.8 ~ 77.4 μm^2 。汉莎玫瑰和茶薇玫瑰等 7 个品种细胞内油面积较低,为 5.8 ~ 44.7 μm^2 。

表 1 19 个玫瑰品种花瓣上表皮分泌细胞内油面积(S)大小及分类

$S > 100 \mu\text{m}^2$		$45 \mu\text{m}^2 < S \leq 100 \mu\text{m}^2$		$S \leq 45 \mu\text{m}^2$	
品种	面积(μm^2)	品种	面积(μm^2)	品种	面积(μm^2)
丰花玫瑰	125.5	亮叶玫瑰	47.7	汉莎玫瑰	30.5
香水玫瑰	171.3	苦水玫瑰	58.8	茶薇玫瑰	32.7
平阴重瓣白玫瑰	184.4	平阴 11 号	52.0	紫枝玫瑰	36.0
杂交单瓣红玫瑰	106.6	西胡 1 号	75.5	大马士革玫瑰	6.4
平阴重瓣红玫瑰	128.4	西胡 2 号	77.4	大马士革白玫瑰	5.8
		西胡 3 号	63.9	大果玫瑰	44.7
		大红紫枝玫瑰	45.8	保加利亚白玫瑰	36.4

2.3 不同玫瑰品种出油量与花瓣上表皮分泌细胞精油面积的关系

使用水蒸汽蒸馏法提取获得 19 个玫瑰品种的精油,并对精油出油量进行统计(图 3)。研究发现,玫瑰品种出油量的变异系数为 58.36%,表明这些品种之间的出油量有较大差异。其中,出油量大于 0.3 $\mu\text{L/g}$ 的有 4 个品种,即丰花玫瑰、香水玫瑰、平阴重瓣白玫瑰、平阴重瓣红玫瑰。出油量介于 0.2 ~ 0.3 $\mu\text{L/g}$ 之间的有 6 个品种,即杂交单瓣红玫瑰、亮叶玫瑰、西胡 1 号、西胡 2 号、西胡 3 号、大

马士革玫瑰。出油量介于 0.1 ~ 0.2 $\mu\text{L/g}$ 之间的有 6 个品种,即保加利亚白玫瑰、苦水玫瑰、平阴 11 号、大果玫瑰、大红紫枝玫瑰、大马士革白玫瑰。出油量小于 0.1 $\mu\text{L/g}$ 的有 3 个品种,分别为汉莎玫瑰、茶薇玫瑰、紫枝玫瑰。结果表明,不同品种之间的出油量差异较大,平阴重瓣白玫瑰的出油量最高(0.416 $\mu\text{L/g}$),约是出油量最低的汉莎玫瑰(0.035 $\mu\text{L/g}$)的 12 倍。本研究中绝大部分玫瑰品种の出油量与细胞内油面积大小的对应关系较为一致。

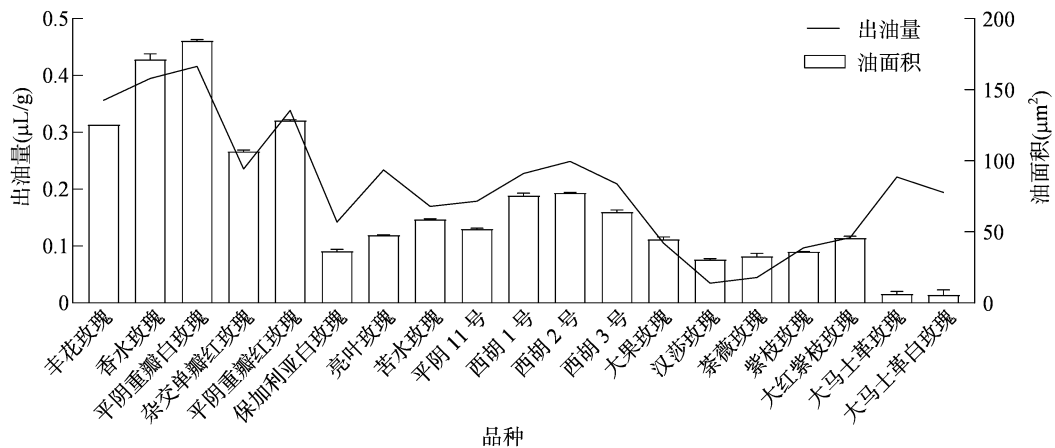


图3 19 个品种分泌细胞内油面积与出油量

最后,对 19 个玫瑰品种花瓣上表皮分泌细胞内油面积和出油量进行相关性分析,结果(图 4)表明,玫瑰出油量与分泌细胞内的油面积呈显著正相关关系($r^2 = 0.55$),线性拟合的方程为 $y = 0.0015x + 0.0200$ 。因此,只需基于花瓣上表皮分泌细胞内油面积,就能够使用该模型定量预测玫瑰新品种中的精油含量。

2.4 不同玫瑰品种精油组成成分及其与花瓣上表皮分泌细胞精油面积的关系

根据测定的各玫瑰品种精油成分及含量,将各组划分为 8 种类型并计算相应的相对含量。结果(表 2)表明,不同玫瑰品种间的香气类型存在明显差异。玫瑰精油中以醇类、烷烃类、酚类和酯类为主,4 种占有成分的 80% 以上。其中,醇类物质占

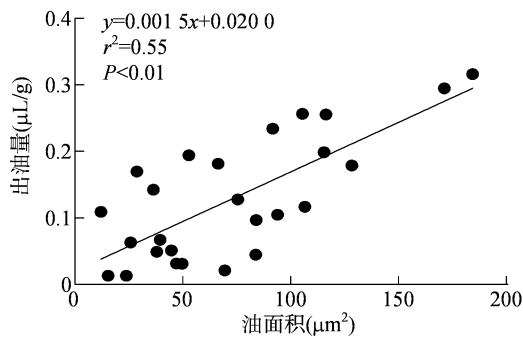


图4 19个品种油面积与出油量相关性

总成分的31.4%~65.1%,平均值高达51.65%;烷烃类物质占总成分的8.8%~41.1%,平均为19.44%;酚类物质占总成分的0~18.3%,平均为9.82%;酯类物质占总成分的5.4%~14.5%,平均

为9.28%。烯烃类、酮类和醛类的平均占比分别为1.34%、2.93%、2.91%。仅2个品种含有酸类物质,且占比仅为1.2%和0.4%。就各个品种而言,除了醇类,烷烃类物质占比较高(≥25%)的品种有平阴重瓣白玫瑰、平阴11号、西胡2号、大果玫瑰、大马士革白玫瑰;酚类物质占比较高(≥14%)的品种有西胡2号、大果玫瑰、紫枝玫瑰;酯类物质占比较高(≥12%)的品种有西胡2号、西胡3号;酮类物质占比较高(≥7%)的品种有香水玫瑰、大红紫枝玫瑰;醛类物质占比较高(≥6%)的品种有汉莎玫瑰、茶薇玫瑰。此外,通过玫瑰各类型组分相对含量与油面积大小的相关性分析可知,二者之间不存在显著相关关系。

表2 19种玫瑰精油测定的有机化合物相对含量

品种	烷烃类 (%)	烯烃类 (%)	醇类 (%)	酚类 (%)	酯类 (%)	酮类 (%)	醛类 (%)	酸类 (%)
丰花玫瑰	12.8	3.4	50.8	12.0	11.3	2.7	3.7	0.0
香水玫瑰	14.7	0.0	57.1	10.3	7.1	7.7	2.2	0.0
平阴重瓣白玫瑰	27.1	0.0	50.9	2.3	9.7	1.3	2.8	0.0
杂交单瓣红玫瑰	12.8	1.6	51.3	12.0	11.3	5.4	0.0	1.2
平阴重瓣红玫瑰	16.9	0.5	59.5	9.9	6.3	4.3	3.1	0.0
保加利亚白玫瑰	16.9	0.0	59.5	9.9	9.7	0.8	1.3	0.0
亮叶玫瑰	20.2	2.4	50.4	11.7	9.7	2.7	1.8	0.0
苦水玫瑰	14.7	2.5	56.8	4.8	9.9	3.0	3.2	0.0
平阴11号	25.5	1.9	48.2	12.9	7.1	1.3	3.2	0.0
西胡1号	13.3	0.0	61.1	12.8	10.2	0.0	1.8	0.0
西胡2号	33.2	0.0	33.8	14.7	14.5	1.6	2.9	0.0
西胡3号	16.9	0.0	56.9	6.4	12.2	0.2	2.4	0.0
大果玫瑰	41.1	2.8	31.4	14.7	5.4	1.5	3.5	0.4
汉莎玫瑰	8.8	0.7	65.1	0.0	11.0	3.0	6.0	0.0
茶薇玫瑰	12.9	0.0	60.7	0.0	11.0	3.0	6.0	0.0
紫枝玫瑰	20.0	0.0	43.6	18.3	7.8	2.7	2.1	0.0
大红紫枝玫瑰	24.1	6.4	42.4	10.3	6.7	7.7	2.3	0.0
大马士革玫瑰	11.9	3.2	54.0	10.6	8.3	5.1	4.2	0.7
大马士革白玫瑰	25.5	0.0	47.9	12.9	7.1	1.3	3.2	0.0

3 讨论与结论

本研究观察到的花瓣上表皮分泌细胞中大部分细胞器已被酶解,整个细胞内几乎仅存在大液泡,有利于精油的储存与运输。大部分嗜钹油沿液泡边缘贴于细胞壁线性分布,这样可能更有利于精油从细胞壁释放。细胞器的酶解使细胞缺乏存活及代谢活动必须的物质和能量,这可能是玫瑰花盛开后很快凋谢的原因之一。

本研究发现,19个玫瑰品种的出油量介于

0.035~0.416 μL/g之间,差异较大,由于鲜花采摘时间、精油提取方式和种植条件均一致,所以玫瑰品种的不同是造成这种差异的主要原因。大部分玫瑰品种的上表皮分泌细胞中精油的存在形式主要为嗜钹油,其作为合成精油的前体物质或聚集体,与精油的生物合成和储存直接相关^[19]。盛开期玫瑰上表皮分泌细胞内精油含量最大,主要储存在液泡中,而且嗜钹油滴之间通过吸附聚集在一起形成团块状或者条块状,因此方便细胞内油面积的统计,减少统计误差。本研究通过19个玫瑰品种的观

察和统计,证明了油面积的大小与出油量存在显著正相关关系,因此,可以使用花瓣上表皮分泌细胞切片电镜观察的方式进行玫瑰含油量的衡量,并且可以使用拟合的模型预测精油的含量。

本研究结果表明,玫瑰表皮分泌细胞的油面积与精油含量呈显著正相关关系,但是依然存在部分品种两者之间不符合拟合的线性模型。研究表明,部分嗜钹油经过小囊泡的转运,以胞吐的方式通过细胞质膜,一部分嗜钹油滴直接穿过断裂的细胞质膜,转化为体积更小的颗粒穿过细胞壁纤维层,最后沉积在细胞壁外^[16],因此部分品种的一部分精油可能已经穿越细胞壁后从细胞间隙散发^[20]。上述现象可能导致细胞内油面积偏小,但是提取获得的精油量可能依然较高,如亮叶玫瑰。与之相反,玫瑰花瓣除了合成精油还会合成多酚类、类黄酮等物质,也可能存在于分泌细胞中,因此测算的细胞内油面积大小相对于精油含量而言偏高^[21],如茶薇玫瑰和汉莎玫瑰。此外,虽然有些品种的油面积相对较低,但是出油量较高,这可能是由于细胞质内含有较多的淀粉颗粒,淀粉提供了合成精油的前体物质并在合成过程中提供碳源和能量,并且可以通过质体转化成精油成分^[16,22-23],如大马士革玫瑰和大马士革白玫瑰。

本研究对玫瑰花瓣上表皮细胞内油面积与精油成分的相关性进行了分析,研究发现,只有花瓣的上表皮细胞表面呈覆盖有表皮纹的锥形乳头状凸起上面会分泌精油,表明上表皮细胞的分泌较为活跃,是精油分泌和储存的主要场所^[21,24]。然而下表皮细胞内壁平坦,覆盖有条纹角质层,没有向外凸出,但玫瑰花瓣的下表皮细胞也会合成部分萜烯类精油成分^[23]。基于玫瑰上下表皮细胞的结构和分泌芳香物质方面存在差异,后期有必要进一步研究不同玫瑰品种下表皮细胞的细胞学特征对精油含量的影响,以期更全面地使用细胞观察方法衡量玫瑰精油的含量。

本研究通过开展 19 个玫瑰品种上表皮分泌细胞形态特征的观察,以及油面积大小的测定和精油的提取,并分析油面积与精油含量的相关关系。结果表明,玫瑰花瓣表皮分泌细胞形态各异,大多呈椭圆形,仅存的大液泡中有大量的团块状或条块状嗜钹油沿细胞壁分布。5 个玫瑰品种的上表皮分泌细胞中存在较多的嗜钹油,油面积较大。油面积中等和较低的均有 7 个品种,部分品种油面积小但存

在较多的淀粉粒。不同玫瑰品种的精油出油量存在差异,大部分玫瑰品种的出油量与花瓣上表皮分泌细胞内油面积呈显著正相关关系,拟合的线性模型为 $y = 0.0015x + 0.0200$,可用于定量预测玫瑰新品种中的精油总含量,但是精油各类型成分的含量与油面积大小不存在显著相关关系。

参考文献:

- [1] Pal P K. Evaluation, genetic diversity, recent development of distillation method, challenges and opportunities of *Rosa damascena*; a review[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2013, 16(1): 1-10.
- [2] 王广要,周虎,曾晓峰. 植物精油应用研究进展[J]. 食品科技, 2006, 31(5): 11-14.
- [3] 王巨媛,翟胜. 植物精油应用进展及开发前景展望[J]. 江苏农业科学, 2010, 38(4): 1-3.
- [4] Venkatesha K T, Gupta A, Rai A N, et al. Recent developments, challenges, and opportunities in genetic improvement of essential oil-bearing rose (*Rosa damascena*); a review[J]. Industrial Crops and Products, 2022, 184: 114984.
- [5] 应丽亚. 玫瑰精油化学成分及其功能性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [6] 冯立国,生利霞,赵兰勇,等. 玫瑰花发育过程中芳香成分及含量的变化[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4341-4351.
- [7] Rusanov K, Kovacheva N, Rusanova M, et al. Traditional *Rosa damascena* flower harvesting practices evaluated through GC/MS metabolite profiling of flower volatiles[J]. Food Chemistry, 2011, 129(4): 1851-1859.
- [8] Kovacheva N, Rusanov K, Atanasov I. Industrial cultivation of oil bearing rose and rose oil production in Bulgaria during 21ST Century, directions and challenges[J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2010, 24(2): 1793-1798.
- [9] 王伟玲,王晓玲. 不同产地大马士革玫瑰花精油化学成分的研究[J]. 中国测试, 2019, 45(3): 59-64.
- [10] 侯秋梅,周洪英. 玫瑰种质资源及杂交育种研究现状[J]. 贵州农业科学, 2022, 50(1): 14-22.
- [11] Feng L G, Chen C, Li T L, et al. Flowery odor formation revealed by differential expression of monoterpene biosynthetic genes and monoterpene accumulation in rose (*Rosa rugosa* Thunb.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 75: 80-88.
- [12] Magnard J L, Roccia A, Caissard J C, et al. Biosynthesis of monoterpene scent compounds in roses [J]. Science, 2015, 349(6243): 81-83.
- [13] Bergman M E, Bhardwaj M, Phillips M A. Cytosolic geraniol and citronellol biosynthesis require a Nudix hydrolase in rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*) [J]. The Plant Journal, 2021, 107(2): 493-510.
- [14] 张瑞,唐四叶. 玫瑰精油的提取方法及研究现状[J]. 轻工科技, 2020, 36(10): 30-31, 45.

马 蓉,任元龙,邓文霞,等. 不同菌剂与生物刺激素组合对盐碱胁迫、低温干旱盐碱复合胁迫下西瓜幼苗生长及生理的影响[J]. 江苏农业科学,2024,52(24):155-165.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.24.023

不同菌剂与生物刺激素组合对盐碱胁迫、低温干旱盐碱复合胁迫下西瓜幼苗生长及生理的影响

马 蓉,任元龙,邓文霞,王晓卓,张雪艳

(宁夏大学葡萄酒与园艺学院,宁夏银川 750021)

摘要:为了探究由芽孢杆菌与不同种类生物刺激素组合的外源添加剂在盐碱、低温干旱盐碱复合胁迫条件下对西瓜生长生理及抗逆境能力的影响,设置 4 个不同种类的添加剂处理(鱼蛋白+氨基寡糖素、解淀粉芽孢杆菌+壳寡糖+香菇多糖、枯草芽孢杆菌+海藻寡糖+香菇多糖、解淀粉芽孢杆菌+枯草芽孢杆菌+鱼蛋白,分别记作 T1、T2、T3、T4 处理),对重要的生长生理参数(植株生物量、株高、茎粗、叶面积、光合色素含量、根参数、氧化应激系统、抗氧化酶活性)进行评估。结果表明,在初筛阶段,T1、T2 处理显著提高了西瓜幼苗的株高、叶面积、生物量;在不同胁迫处理下,T1、T2 处理的西瓜幼苗表现出较强的抗性。隶属函数分析结果显示,初筛阶段以 T1 处理的效果最佳,在盐碱胁迫下 T1 处理的效果最佳,T2 处理次之,在低温干旱盐碱复合胁迫下,T4 处理的效果最佳。本研究结果为筛选出能有效促进西瓜植株生长的添加剂组合、培育西瓜优质壮苗提供理论依据。

关键词:芽孢杆菌;生物刺激素;盐碱胁迫;西瓜;幼苗;生长指标;生理指标

中图分类号:S651.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)24-0155-11

近年来,压砂瓜成为宁夏地区砂田种植的一种

主要作物,具有个大、汁多、瓤红、果肉甘甜、营养物质丰富等特点^[1],经济效益较高。目前压砂瓜在宁夏的种植范围已覆盖了中卫市城区兴仁镇、香山乡等地,涉及 20 个乡镇^[2]。宁夏地区常年低温干旱且土壤大多是盐碱性土壤,使西瓜遭受着较严重的逆境胁迫,因此健壮幼苗的培育对西瓜产量和品质的提升至关重要。

在低温盐碱地中生长的西瓜体内活性氧增加,

收稿日期:2023-11-22

基金项目:宁夏重点研发计划(编号:2022BBF02024)。

作者简介:马 蓉(2001—),女,宁夏固原人,硕士研究生,研究方向为设施蔬菜栽培与生理。E-mail:mr0115@qq.com。

通信作者:王晓卓,博士,副教授,硕士生导师,研究方向为设施蔬菜栽培与生理,E-mail:catree1988@qq.com;张雪艳,博士,教授,博士生导师,研究方向为设施蔬菜栽培与生理,E-mail:zhangxueyan123@sina.com。

[15] Nagegowda D A. Plant volatile terpenoid metabolism: biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation [J]. FEBS Letters, 2010, 584(14): 2965-2973.

[16] Wei T T, Zhu M, Zhou J X, et al. Cytological evidence for the pathway of synthesis, accumulation, and secretion of rose essential oil [J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2019, 22(2): 301-310.

[17] 张媛媛. 水蒸气蒸馏提取玫瑰精油的工艺研究[J]. 吉林农业, 2016(20): 119.

[18] House A, Balkwill K. FIB-SEM: an additional technique for investigating internal structure of pollen walls [J]. Microscopy and Microanalysis, 2013, 19(6): 1535-1541.

[19] Suire C, Bouvier F, Backhaus R A, et al. Cellular localization of isoprenoid biosynthetic enzymes in *Marchantia polymorpha*. uncovering a new role of oil bodies [J]. Plant Physiology, 2000, 124(3): 971-978.

[20] Han Y J, Wang H Y, Wang X D, et al. Mechanism of floral scent production in *Osmanthus fragrans* and the production and regulation of its key floral constituents, β -ionone and linalool [J]. Horticulture Research, 2019, 6: 106.

[21] Sulborska A, Weryszko-Chmielewska E, Chwil M. Micromorphology of *Rosa rugosa* Thunb. petal epidermis secreting fragrant substances [J]. Acta Agrobotanica, 2012, 65(4): 21-28.

[22] Sood S, Vyas D, Nagar P K. Physiological and biochemical studies during flower development in two rose species [J]. Scientia Horticulturae, 2006, 108(4): 390-396.

[23] Bergounoux V, Caissard J C, Jullien F, et al. Both the adaxial and abaxial epidermal layers of the rose petal emit volatile scent compounds [J]. Planta, 2007, 226(4): 853-866.

[24] Sulborska A, Weryszko-Chmielewska E. Characteristics of the secretory structures in the flowers of *Rosa rugosa* Thunb. [J]. Acta Agrobotanica, 2014, 67(4): 13-24.