

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.01.018

李林轩, 闫海锋, 蒋水元, 等. 基于 FTIR 的三倍体罗汉果花粉直感效应研究[J]. 广西植物, 2014, 34(1): 95–99

Li LX, Yan HF, Jiang SY, et al. Xenia effect of triploid *Siraitia grosvenorii* based on fourier transform infrared spectroscopy[J]. *Guihaia*, 2014, 34(1): 95–99

基于 FTIR 的三倍体罗汉果花粉直感效应研究

李林轩¹, 闫海锋², 蒋水元³, 孔德鑫³, 黄夕洋^{3*}

(1. 广西药用植物园/广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 南宁 530023; 2. 广西农业科学院 经济作物

研究所, 南宁 530007; 3. 广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541600)

摘要: 以四个品系的三倍体罗汉果雌株为材料, 用五种不同的二倍体雄花分别对其授粉, 利用傅里叶变换红外光谱法(FTIR)测定了其子代果实的红外光谱, 并运用主成分分析和聚类分析研究了授粉雄花对子代果实化学成分的影响。结果表明: 不同雄花授粉后, 雌株 F302、F323 和 F322 各子代果实红外光谱中 1 050 cm⁻¹ 波数附近甜苷物质特征吸收峰的峰高有显著或极显著差异, 雌株 F311 子代无籽果实的差异不显著; 同时五种授粉雄花分别对雌株 F302、F323、F322 和 F311 子代果实在主成分二维投影图和聚类图中的排序也有明显的影响, 但对不同品系雌株子代果实的排序影响不同, 从而说明三倍体罗汉果的甜苷物质含量和整体成分含量均有较为明显的花粉直感效应, 并且存在品种特异性。

关键词: 傅里叶变换红外光谱; 三倍体罗汉果; 果实; 花粉直感效应

中图分类号: Q945.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2014)01-0095-05

Xenia effect of triploid *Siraitia grosvenorii* based on fourier transform infrared spectroscopy

LI Lin-Xuan¹, YAN Hai-Feng², JIANG Shui-Yuan³,
KONG De-Xin³, HUANG Xi-Yang^{3*}

(1. *Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant/Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and*

Genetic Improvement, Nanning 530023, China; 2. *Cash Crop Research Institute, Guangxi Academy of*

Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 3. *Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang*

Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract: The triploid female *Siraitia grosvenorii* of four strains were pollinated with five different diploid male flowers of *S. grosvenorii*, respectively. The infrared spectrums of the fruits of their offspring were measured by fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and the effects of male flowers on chemical component of offspring fruits were studied using principal component analysis(PCA) and clustering analysis. The results showed that there was significantly different between peak height of sweet glycosides material characteristic absorption peak in infrared spectroscopy 1 050 cm⁻¹ (wave number) among females (F302, F323 and F322) offspring fruits, which was not significantly different in female F311, while five kinds of female plants pollinated male F302, F323, F322 and F311 progeny fruit in two-dimensional projection of the main component and cluster diagram sort also had a significant impact, but for different strains of fruit sorting female

收稿日期: 2013-07-12 修回日期: 2013-09-04

基金项目: 国家自然科学基金(40961019); 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 11107010-2-10, 桂科重 1355001-2-6); 广西自然科学基金(2011GXNSFC018022); 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI01B03)。

作者简介: 李林轩(1986-), 男, 广西全州人, 助理研究员, 从事药用植物资源保护与开发利用研究, (E-mail)starry1125@sina.com。

*通讯作者: 黄夕洋, 副研究员, 主要从事药用植物学和分子生物学研究, (E-mail)xiyang0687@163.com。

plants affected offspring different, thus described triploid Mangosteen sweet glycosides ingredient content material content, and overall had a more significant effect Xenia, and there is variety-specific.

Key words: fourier transform infrared spectroscopy; triploid *Siraitia grosvenorii*; fruit; xenia effect

罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)为葫芦科罗汉果属多年生攀援藤本植物,主产于广西桂北地区,是药食兼用中药,常用于治疗肺火燥咳、咽痛失音、肠燥便秘等疾病(鞠伟等,2001);甜苷是罗汉果的主要食用和药用活性成分,其中苷 V 甜度为蔗糖的 300~400 倍,罗汉果甜苷不能被人体消化分解,是优质的食品增甜剂。近年来罗汉果种质资源破坏与退化严重,借鉴已成功在枸杞等药用植物育种中运用的多倍体育种方法培育出的三倍体罗汉果在主要活性物质含量和整果利用率等方面具有明显的优势,市场开发前景广阔(蒋水元等,2009)。

花粉直感效应是指采用不同外源花粉授粉同一雌株,在当年内花粉影响果实和种子生长发育及其性状表现的效应,该技术已被成功应用于多种植物果实品质的改善(陈庆红等,1996;张兴旺等,1997;Gérard *et al.*,2001;Mohammad *et al.*,2006);近年来对常规二倍体罗汉果研究后发现,外源花粉对其果实的甜苷和微量元素等成分的含量影响作用较大,通过授粉雄花的合理选配对果实品质的改善有很大潜力(马小军等,2008;马静等,2009),但授粉雄花对三倍体罗汉果果实的影响作用还鲜见报道。

傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术整体特征性强,取样微量,价格低廉且简便而迅速,近年来在物质定性和定量分析等方面已取得广泛应用(邵咏妮等,2007;吴宏等,2006)。本文以三倍体罗汉果为材料,采用傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术,研究了授粉雄花对三倍体罗汉果子代果实化学成分含量的影响,以期对三倍体罗汉果授粉雄花的合理选配提供实验和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

试验材料于 2009 年 4 月定植于广西桂林市兴安 县漠川乡由广西植物研究所和亦元生现代生物技术 有限公司共建的罗汉果种植基地,采用随机区组 设计,栽培管理措施相同。于 8 月上旬选择晴朗天 气在早晨 8:00~11:00 统一人工授粉,授粉后 80 d 于 10 月下旬统一采收,每一授粉组合选择 5 株,每

株各采集 3 个果实用于试验测定,具体信息见表 1。

表 1 三倍体罗汉果果实来源

Table 1 Source of triploid *Siraitia grosvenorii* fruits

子代果实编号 Code of fruit	3x 罗汉果雌株 Female of triploid <i>Siraitia grosvenorii</i>	授粉雄花 Pollination male flower
G3027	F302[♀伯林 3 号(4n)× ♂长滩果(2n)]	M207(红毛果,2n)
G3022	F302[♀伯林 3 号(4n)× ♂长滩果(2n)]	M202(青皮果 1,2n)
G3023	F302[♀伯林 3 号(4n)× ♂长滩果(2n)]	M213(青皮果 2,2n)
G3024	F302[♀伯林 3 号(4n)× ♂长滩果(2n)]	M214(青皮果 3,2n)
G3025	F302[♀伯林 3 号(4n)× ♂长滩果(2n)]	M215(红毛果 3,2n)
G3117	F311[♀农家品系(4n)× ♂长滩果(2n)]	M207(红毛果,2n)
G3112	F311[♀农家品系(4n)× ♂长滩果(2n)]	M202(青皮果 1,2n)
G3113	F311[♀农家品系(4n)× ♂长滩果(2n)]	M213(青皮果 2,2n)
G3114	F311[♀农家品系(4n)× ♂长滩果(2n)]	M214(青皮果 3,2n)
G3115	F311[♀农家品系(4n)× ♂长滩果(2n)]	M215(红毛果 3,2n)
G3227	F316[♀永青 1 号(4n)× ♂冬瓜果(2n)]	M207(红毛果,2n)
G3222	F316[♀永青 1 号(4n)× ♂冬瓜果(2n)]	M202(青皮果 1,2n)
G3223	F316[♀永青 1 号(4n)× ♂冬瓜果(2n)]	M213(青皮果 2,2n)
G3224	F316[♀永青 1 号(4n)× ♂冬瓜果(2n)]	M214(青皮果 3,2n)
G3225	F316[♀永青 1 号(4n)× ♂冬瓜果(2n)]	M215(红毛果 3,2n)
G3237	F323[♀农家品系(4n)× ♂雄株 4 号(2n)]	M207(红毛果,2n)
G3232	F323[♀农家品系(4n)× ♂雄株 4 号(2n)]	M202(青皮果 1,2n)
G3233	F323[♀农家品系(4n)× ♂雄株 4 号(2n)]	M213(青皮果 2,2n)
G3234	F323[♀农家品系(4n)× ♂雄株 4 号(2n)]	M214(青皮果 3,2n)
G3235	F323[♀农家品系(4n)× ♂雄株 4 号(2n)]	M215(红毛果 3,2n)

注: 4n 均为 2n 的同源四倍体 Note: 4n was autotetraploid of 2n.

1.2 仪器和试剂

Nicolet 5700 型红外光谱仪(美国 Thermo 公司),DTGS 检测器,FW-4A 型压片机(天津光学仪器厂);药品 KBr 为光谱纯(天津市光复精细化工研究所)。

1.3 果实红外光谱测定方法

果实经清洗后于 55 °C 烘干,然后粉碎,相同授粉组合的样品混合、过 200 目筛,以 1:200 比例与溴化钾碎晶混合,用压片法测定,扫描范围 4 000~400 cm⁻¹,分辨率为 4 cm⁻¹,扫描累加 32 次,扫描时

扣除水和二氧化碳干扰,每个样品设置 7 个重复,每次测试 3 次,然后求平均值以消除误差。

1.4 数据分析

利用 SPSS(11.5 版)软件,对果实 FTIR 数据进行主成分分析和聚类分析;用 OMNIC7.3 软件进行特定波数处峰高测量,并对峰高数据进行一元方差分析(One-Way ANOVO)和邓肯氏多重比较(Duncan's multiple comparison),不同小写字母表示差异达显著水平($P < 0.05$),不同大写字母表示差异达极显著水平($P < 0.01$);绘图用 Origin7.5 和 Excel 2003 软件。

2 结果与分析

2.1 果实的 FTIR 图谱解析

3x 罗汉果 F302、F322、F311、F323 分别用 M202、M207、M213、M214、M215 五种雄花授粉后其果实的红外光谱谱图见图 1。从图 1 可以看出,3x 罗汉果果实 FTIR 图谱的峰形、峰位基本一致,但吸收峰强度有所不同。其中 $3\ 382\ \text{cm}^{-1}$ 附近是 NH_2 对称伸缩振动, $2\ 926\ \text{cm}^{-1}$ 附近为 CH_2 烷烃对称伸缩振动吸收峰, $1\ 742\ \text{cm}^{-1}$ 附近是饱和脂肪酸酯 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩吸收峰, $1\ 640\ \text{cm}^{-1}$ 附近为氨基酸的 NH_2 变角振动吸收峰, $1\ 550\sim 1\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 附近是芳香族 NO_2 反对称伸缩振动吸收峰, $1\ 266\ \text{cm}^{-1}$ 附近为 C-H 变角振动吸收峰, $1\ 050\ \text{cm}^{-1}$ 附近为苷键的特征吸收峰,因此看出 F1 代 3x 罗汉果果实主要含有脂类、蛋白质、甜苷等主要成分。

2.2 不同雄花授粉后 3x 罗汉果果实甜苷类物质含量分析

$1\ 050\ \text{cm}^{-1}$ 附近是苷键的特征吸收峰,可以根据该峰的峰强来定量分析罗汉果果实中总甙的含量(王一兵等,2009)。五种不同雄花授粉后 3x 罗汉果的无籽果实在 $1\ 050\ \text{cm}^{-1}$ 附近波数处吸收峰峰高见图 2,从图 2 可以看出,大多数果实在 $1\ 050\ \text{cm}^{-1}$ 附近波数处吸收峰强度明显不同,反映出 3x 罗汉果雌株分别经不同雄花授粉所得的无籽果实中甜苷含量有所差异,其中雌株 F302 的无籽果实的甜苷含量普遍存在显著或极显著差异,其中 G3025 的甜苷含量最高,G3023 的甜苷含量最低;F322 的无籽果实甜苷含量也存在显著或极显著差异,其中 G3225 的甜苷含量最高,G3223 的甜苷含量最低;授粉雄花对

F323 的无籽果实的甜苷含量也有显著或极显著影响,其中 G3234 的甜苷含量最高,G3237 的甜苷含量最低;而经五种不同雄花授粉后雌株 F311 的无籽果实甜苷含量并未显示出显著差异,说明雌株 F311 的甜苷含量没有受到授粉雄花的显著影响。

综上所述可以看出,供试的大多数 3x 罗汉果果实中甜苷类物质的含量受到授粉雄花的显著影响,即存在较为明显的花粉直感效应;但五种雄花对雌株 F311 果实的甜苷含量没有产生显著影响,同时发现同一雄花对不同品系 3x 罗汉果果实甜苷含量的影响不同,没有找到对所有供试 3x 罗汉果果实甜苷含量影响作用一致(均较好或较差)的雄花,从而说明 3x 罗汉果子代果实在甜苷含量方面对授粉雄花的选择存在一定特异性。

2.3 果实的 FTIR 主成分分析

对不同雄花授粉的 3x 罗汉果无籽果实的 FTIR 数据作主成分分析,前三个主成分的贡献率分别为 77.57%、12.77% 和 4.37%,前三个主成分的累积贡献率达到 94.71%,所以前三个主成分可以表示不同雄花授粉后 3x 罗汉果的果实 FTIR 数据的主要信息,采用第一与第三主成分作二维投影图见图 3。从图 3 可以看出,不同雄花授粉后所得到的 3x 罗汉果果实大致可以分为四类,即第一类为 G3027、G3024、G3022、G3223、G3224、G3115、G3113、G3112、G3114;第二类为 G3025、G3227、G3222、G3117、G3237、G3233、G3232;第三类为 G3225、G3235、G3234;第四类为 G3023。

图中位置相距较近的说明其化学成分含量也相近,所以同一类样品间其化学成分含量相差较小,不同类样品间其化学成分含量相差较大。

2.4 果实的 FTIR 聚类分析

对不同雄花授粉所得的 3x 罗汉果果实的 FTIR 数据通过基于欧式平方距离的样本聚类分析,不同样本间通过类间平均距离联接,得到其聚类图如图 4 所示。聚类图以距离水平清晰显示了不同雄花授粉所得的 3x 罗汉果果实的差异,在距离水平为 3 附近,可以将其分为四大类,分类结果与通过主成分分析所作的二维投影图的结果一致。

从主成分二维投影图和聚类图均可以看出,授粉雄花对子代果实在图中的排序有较为明显的影响,具体表现在两方面:首先,雄花对同一 3x 罗汉果的子代果实的排序有明显影响,如雌株 F302 分别

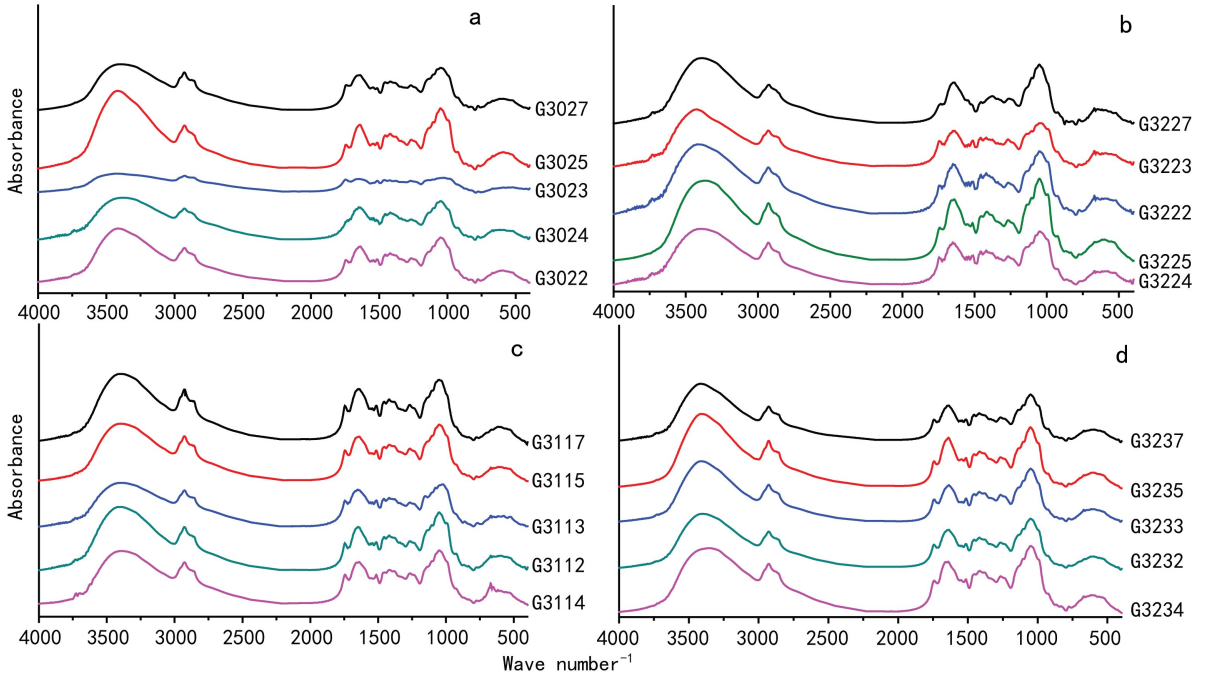


图 1 五种不同雄花授粉所得果实的 FTIR 图谱

Fig. 1 FTIR spectra of fruit of triploid *S. grosvenorii* under 5 different male flowers pollination

a. F302; b. F322; c. F311; d. F323.

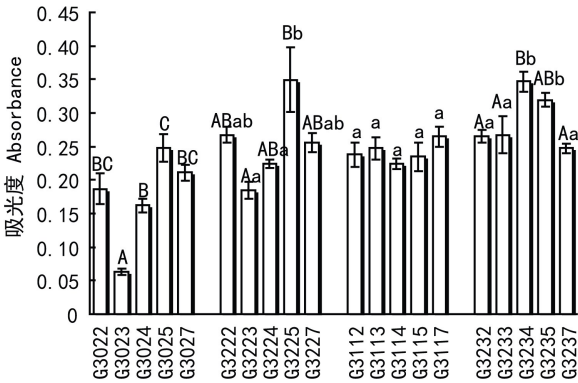


图 2 不同雄花授粉所得的 3x 罗汉果果实
在 1 050 cm⁻¹ 波数处吸收峰峰高

Fig. 2 Change of absorption-peak height at the band of 1 050 cm⁻¹ in FTIR spectra of fruits of triploid *S. grosvenorii* under 5 different male flowers pollination

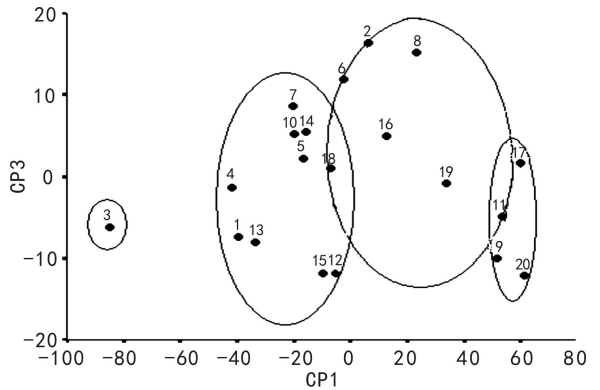


图 3 五种雄花授粉所得 3x 罗汉果果实的
FTIR 主成分分析二维投影图

Fig. 3 Planar projection of FTIR spectra of fruits in triploid *S. grosvenorii* under 5 different male flowers pollination based on PCA

- 1. G3027; 2. G3025; 3. G3023; 4. G3024; 5. G3022; 6. G3227;
- 7. G3223; 8. G3222; 9. G3225; 10. G3224; 11. G3117; 12. G3115;
- 13. G3113; 14. G3112; 15. G3114; 16. G3237; 17. G3235;
- 18. G3233; 19. G3232; 20. G3234.

用 M202、M207、M213、M214、M215 五种不同雄花授粉后所得到的果实中，G3027、G3024 和 G3022 相聚较近，G3025 与 G3227 相聚较近，而 G3023 与其它相聚较远，单独聚为一类；从而说明 3x 罗汉果果实整体化学成分含量上存在明显的花粉直感效应；其次，五种雄花对不同品系 3x 罗汉果子代果实的排序分别有不同影响，如雌株 F302 和 F311 分别用五种雄花授粉后子代果实的聚类结果不同，F302

的子代果实聚类结果为 G3027、G3024、G3022 聚为一类，G3025 与其它果实聚为一类，而 G3023 却单独聚为一类；F311 的果实聚类结果是 G3115、G3113、G3112、G3114 聚为一类，G3117 与其它果实聚为一类，说明 F302 经五种雄花授粉后果实整体

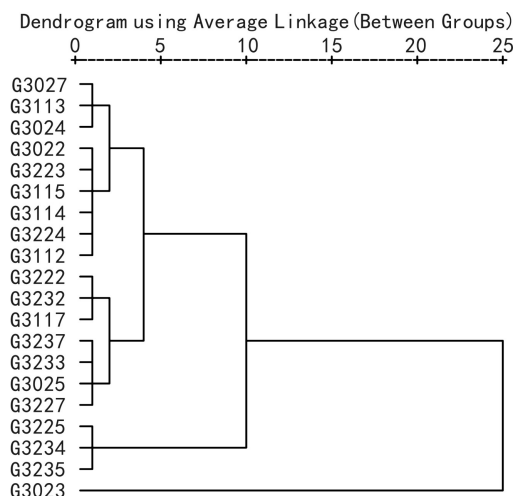


图 4 五同雄花授粉所得 3x 罗汉果果实的 FTIR 聚类分析图

Fig. 4 Dendrogram of FTIR spectra of fruits in triploid *S. grosvenorii* under 5 different male flowers pollination based on Euclidean square distance index

化学成分含量有较大差异,而 F311 经五种雄花授粉后果实整体化学成分含量相差较小,从而说明 3x 罗汉果整体化学成分含量表现出的花粉直感效应存在品种特异性。

3 结论与讨论

3x 罗汉果果实中甜苷类物质的含量和果实整体化学成分含量均存在较为明显的花粉直感效应,可以通过授粉雄花改善果实的品质;同时 3x 罗汉果在花粉直感效应方面具有品种特异性,在授粉时要针对不同雌株来选择相应恰当的雄花花粉。以上研究结果与前人对普通 2x 罗汉果花粉直感效应的研究结果是类似的(马小军等,2008)。马静等(2009)对常规 2x 罗汉果研究表明,罗汉果微量元素含量存在较为显著的花粉直感效应,选用适当的雄花不仅可以有效降低 Pb 和 Al 等有毒元素的含量,还可以显著提高 Mn 和 B 等对糖和苷 V 生成和积累有促进作用的微量元素含量,周晶(2010)对板栗花粉直感效应研究后指出,同一授粉雄花对不同性状的影响作用不同,选用早熟品种花粉可以使果实提早成熟,所以在选择 3x 罗汉果的授粉雄花时要针对不同授粉雌株,扬长避短,综合考虑,选择最佳组合,用活和用足授粉雄花。本研究运用 FTIR 技术对 3x 罗

汉果果实化学成分的花粉直感效应进行了初步探讨,证明通过傅里叶变换红外光谱,结合多元统计的主成分与聚类分析可以反映出三倍体罗汉果的花粉直感的影响情况,但 3x 罗汉果果实外在性状和特定化合物花粉直感效应情况还需进一步研究。

参考文献:

- 王一兵,吴卫红,陈植成,等. 2009. 傅里叶变换红外光谱法和紫外—可见谱线组法分析广西特产罗汉果[J]. 光谱实验室, **26**(4):907—911
- 陈庆红,张忠慧,秦仲麟,等. 1996. 金魁猕猴桃的雄株选配及其花粉直感研究[J]. 中国果树, (2):23—24
- 邵咏妮,何勇,潘家志,等. 2007. 基于光谱技术的桔子汁品种鉴别方法的研究[J]. 光谱学与光谱分析, **27**(9):1 739—1 742
- 鞠伟,程云燕. 2001. 罗汉果研究概况综述[J]. 广西轻工业, **4**:4—6
- Duc G, Moessner A, Moussy F, et al. 2001. A xenia effect on number and volume of cotyledon cells and on seed weight in faba bean (*Vicia faba* L.)[J]. *Euphytica*, **117**(2):169—174
- Gérard D, Anniem, Françoise M, et al. 2001. Axenia effect on number and volume of cotyledon cells and seed weight in faba bean (*Vicia faba*) L. [J]. *Euphytica*, **117**(2):169—174
- Jiang SY(蒋水元), Jiang XJ(蒋向军), Qin JS(覃吉胜), et al. 2009. Preliminary study on selection of seedless *Siraitia grosvenorii*(无籽罗汉果选育的初步研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **29**(4):506—509
- Ma J(马静), Yang XH(杨晓红), Ma XJ(马小军), et al. 2009. Study on xenia effect on trace elements of *Siraitia grosvenorii*(罗汉果微量元素的花粉直感效应研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **26**(6):905—908
- Ma XJ(马小军), Shi L(石磊), Mo CM(莫长明), et al. 2008. Xenia effect on main qualitative characters of *Siraitia grosvenorii*(罗汉果主要品质性状的花粉直感效应)[J]. *Acta Horti Sin*(园艺学报), **35**(11):1 695—1 700
- Mohammad HP, Kheirollah A. 2006. Xenia effect on seed and embryo size in cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *J Appl Gen*, **47**(4):331—335
- Pahlavani MH, Abolhasani K. 2006. Xenia effect on seed and embryo size in cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *J Appl Gen*, **47**(4):331—335
- Wu H(吴宏), Lin ZY(林志勇), Qian H(钱浩). 2006. Quantitative analysis of two content polymer blends(PEG/PE) by infrared spectroscopy(FTIR 定量分析聚乙二醇/聚乙烯共混物组成)[J]. *Spectr Spectr Analy*(光谱学与光谱分析), **26**(1):70—74
- Zhang XW(张兴旺). 1997. The effect on percentage of setting fruit and fruit size of pear by pollination(授粉对梨树坐果率和果实大小的影响)[J]. *J Yunnan Agric Univ*(云南农业大学学报), **12**(5):304—307
- Zhou J(周晶). 2010. Effect of xenia and soil physical and chemical properties on *Castanea mollissima* Bl. fruit quality(花粉直感与土壤理化性质对板栗果实品质的影响)[D]. Beijing(北京): Beijing Forestry University(北京林业大学)