

# 低温处理过程中 B<sub>9</sub>对蝴蝶兰叶片生理指标的影响

乔永旭

(唐山师范学院 生命科学系 河北 唐山 063000)

**摘要:**以蝴蝶兰叶片为试材,研究 4℃低温胁迫 4~12 h 期间不同浓度的 B<sub>9</sub>(二甲基氨基琥珀酰胺酸)处理下,叶片的活性氧系统、可溶性糖、可溶性蛋白、MDA、细胞膜透性和电渗率等生理指标的变化情况。结果表明:低温胁迫期间,叶片的可溶性糖、可溶性蛋白含量先上升后下降,MDA 含量和膜透性上升趋势减缓。O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量有先上升再下降的趋势,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量则是先上升再下降然后再上升,在 4~8 h,500~2 000 mg/L 的 B<sub>9</sub>浓度范围内二者出现了相反的变化趋势。这说明喷施 B<sub>9</sub>明显增强了蝴蝶兰叶片的抗低温能力。试验证明,1 000~2 000 mg/L 浓度的 B<sub>9</sub>能够提高蝴蝶兰叶片的耐低温能力。

**关键词:**蝴蝶兰;低温;B<sub>9</sub>;生理指标

**中图分类号:**S 682.2<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)23-0148-03

蝴蝶兰(*Phalaenopsis amabilis*)属于兰科蝴蝶兰属,又名蝶兰,有“洋兰皇后”之美誉,是目前国内外花卉市场上最畅销的高档花卉之一<sup>[1]</sup>。其属于热带植物,在我国北方需要生长在日光温室内,必要时需要加温提高温度。目前通过施用水杨酸等生长调节剂,可以明显提高植物的耐低温能力。也有报道 B<sub>9</sub>可以提高菊花<sup>[2]</sup>等植物的抗寒性,但对于 B<sub>9</sub>能否提高蝴蝶兰的耐寒性没有

报道。为了减轻低温对植株的伤害,该试验研究 B<sub>9</sub>对低温胁迫下蝴蝶兰抗寒性的影响,探究提高蝴蝶兰抗寒性的 B<sub>9</sub>的最佳浓度,为提高蝴蝶兰的抗寒性提供技术支撑。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

试验于 2010 年 3 月至 4 月间进行,以唐山师范学院生命科学系花卉示范基地 1 a 生的生长良好、具 3 片叶龄的蝴蝶兰为试材。

### 1.2 试验方法

在室温下,分别将蝴蝶兰幼苗喷施 0(CK)、500、1 000、2 000、4 000 mg/L B<sub>9</sub>的水溶液,每周喷施 1 次,连

**作者简介:**乔永旭(1978-),男,硕士,讲师,研究方向为植物细胞工程和植物资源开发与利用。E-mail:qiaoyx123@163.com。

**基金项目:**河北省科技厅生物工程资助项目(04547008D-2)。

**收稿日期:**2010-09-06

[9] 夏然.草莓果实特异表达基因 amfaf 的克隆体外表达及遗传转化的研究[D].沈阳:辽宁师范大学,2002.

[10] 张志宏,杨洪一,代红艳等.应用多重 RT-PCR 检测草莓斑驳病毒和草莓轻型黄边病毒[J].园艺学报,2006,33(3):507-510.

[11] 牛建新,李西平,赵英,等.利用内标为基础的 RT-PCR 技术检测葡萄茎痘伴随病毒[J].园艺学报,2006,33(5):1083-1086.

## Study of Detection Virus on Seedling of Virus-free Strawberry by RT-PCR

CHEN Xiao-jun, WANG Jing-dong, MA Hong-ai, CHEN Yu-chao, SONG Yu-xia

(Key Lab of Agricultural Biotechnology of Ningxia Yinchuan, Ningxia 750002)

**Abstract:** Using RT-PCR technology to the actin gene sequence of strawberry as the internal standard, with 4 strawberry virus-specific amplification, the virus-free conditions of virus-free seedlings of strawberry were detected. The results showed that the internal standard and the specific amplification of strawberry virus binding, can better achieve the purpose of virus detection, reducing the blindness of estimate on results, for accurate, rapid detection of virus-free seedlings of strawberry to provide a set more complete test method.

**Key words:** strawberry virus-free plantlets; RT-PCR; SmoV; SMYEV; SVBV; SCV

续喷施 3~4 周后,放入 4℃光照培养箱内,3 000 lx 光照培养 4、8、12 h 后取样测定其生理指标。其中每组混合取样,3 次重复。

### 1.3 测定项目

称取低温处理后的叶片,分别测定  $O_2^-$  含量、 $H_2O_2$  含量、MDA 含量、电导率值、可溶性糖和蛋白含量<sup>3</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 $B_9$ 对低温处理过程中蝴蝶兰叶片中活性氧的影响

**2.1.1  $O_2^-$ 含量的变化** 如图 1 所示,随着低温处理时间的增加, $O_2^-$  含量先升高后降低,处理 8 h  $O_2^-$  的含量达到最高,之后迅速降低。 $B_9$  处理后  $O_2^-$  的含量较 CK 明显降低,在 500~1 000 mg/L 的浓度范围内,降低幅度随着  $B_9$  浓度的增加而增加。处理 4 h,2 000 mg/L  $B_9$  的  $O_2^-$  含量升到最大;处理 8 h,2 000 mg/L  $B_9$  的  $O_2^-$  含量降低到最小;处理 12 h,当  $B_9$  的浓度达到 2 000 mg/L 时, $O_2^-$  含量降至最低。总体上,当  $B_9$  的浓度达到 2 000 mg/L 时, $O_2^-$  的含量达到最小值。

**2.1.2  $H_2O_2$ 含量的变化** 如图 2 所示,随着冷处理时

间的增加, $H_2O_2$  含量呈升高趋势。处理 8 h  $H_2O_2$  含量达到最小值,之后迅速升高。 $B_9$  处理后  $H_2O_2$  含量上升较 CK 的明显,在 1 000~4 000 mg/L 的浓度范围内,变化幅度随着  $B_9$  浓度的增加而增大。处理 4 h,500 mg/L  $B_9$  的  $H_2O_2$  含量升至最高;处理 8 h,2 000 mg/L  $B_9$  的  $H_2O_2$  含量降低至最低。

**2.2  $B_9$ 对低温处理过程中蝴蝶兰叶片膜脂过氧化的影响**

**2.2.1 MDA 含量的变化** 如图 3 所示,随着冷处理时间的增加,MDA 含量逐渐增加。 $B_9$  处理后的 MDA 含量较 CK 略低。在 500~2 000 mg/L  $B_9$  的浓度范围内,降低的幅度随着  $B_9$  浓度的增加而增大。随着低温处理时间的延长,叶片中 MDA 的含量持续上升,其中 CK 增幅最大。而 0~8 h 期间 MDA 含量上升趋势缓慢,8~12 h 期间 MDA 含量迅速上升。处理 4、8、12 h,均是 1 000 mg/L  $B_9$  的 MDA 含量最小。因此 1 000 mg/L  $B_9$  较其它浓度更能提高蝴蝶兰对低温的抗性。

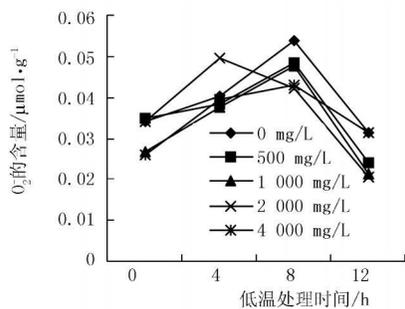


图 1 不同浓度的  $B_9$ 对  $O_2^-$  含量的影响

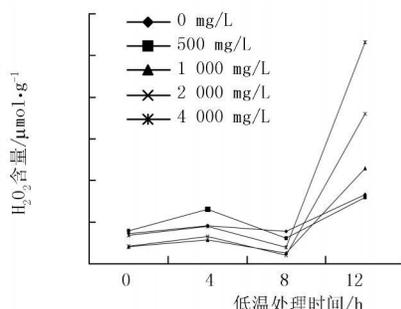


图 2 不同浓度的  $B_9$ 对  $H_2O_2$  含量的影响

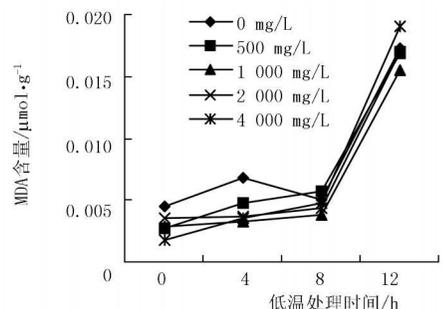


图 3 不同浓度的  $B_9$ 对 MDA 含量的影响

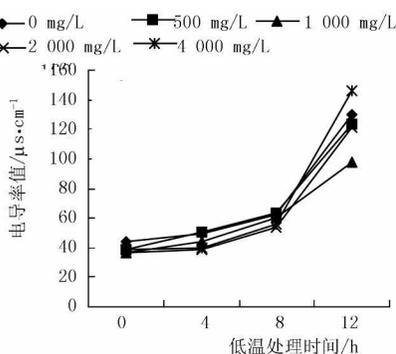


图 4 不同浓度的  $B_9$ 对电导率值的影响

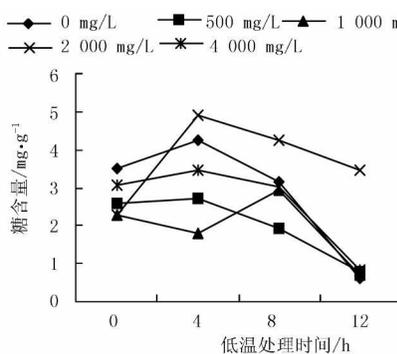


图 5 不同浓度的  $B_9$ 对可溶性糖含量的影响

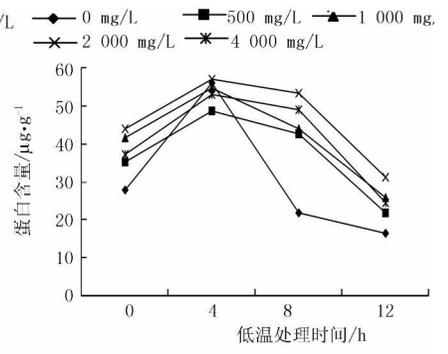


图 6 不同浓度的  $B_9$ 对可溶性蛋白含量的影响

**2.2.2 细胞膜透性的变化** 如图 4 所示,随着低温处理时间的增加,电导率逐渐升高,处理 12 h 电导率达到最

大值。 $B_9$  处理后的电导率较 CK 明显降低,其中以 1 000 mg/L 的  $B_9$  溶液效果最佳。

2.3 B<sub>9</sub>对低温处理过程中蝴蝶兰叶片可溶性糖和蛋白的影响

2.3.1 可溶性糖含量的变化 如图5所示,低温胁迫后,喷施B<sub>9</sub>溶液提高了可溶性糖含量,而2 000 mg/L B<sub>9</sub>在低温处理4 h糖含量最高。其它浓度在冷处理12 h均达到了最低。由于可溶性糖通过降低细胞的冰点来减小低温对细胞的伤害。因此2 000 mg/L的B<sub>9</sub>更能有效提高蝴蝶兰对低温的耐受性。

2.3.2 可溶性蛋白含量的变化 如图6所示,低温下喷施B<sub>9</sub>溶液减缓了可溶性蛋白含量的降低。2 000 mg/L B<sub>9</sub>在冷处理4 h效果最为明显,可溶性蛋白含量均高出其它处理。由于蛋白质的降解是叶片衰老的重要标志,其含量的降低会直接影响到植物细胞内酶的活性,从而进一步影响到细胞内新陈代谢的进行。因此B<sub>9</sub>浓度为2 000 mg/L时更能有效提高蝴蝶兰对低温的抗性。

### 3 讨论与结论

活性氧对许多生物分子和生物膜有破坏作用,植物有相应的防御系统降低或消除其对生物膜的攻击能力<sup>[4]</sup>。该研究发现冷处理能使蝴蝶兰叶片中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量不同程度的升高,施用B<sub>9</sub>均可降低二者的含量,以提高植物的耐冷性。低温下生物膜由液晶态转变为凝胶态,细胞内含物外渗,细胞质相对电导率增加,电导率越高表明死亡的细胞越多。试验中喷施B<sub>9</sub>后叶片的电导率明显低于CK,随着冷处理时间的延长,这种现象越明显,这与马艳青等<sup>[5]</sup>的研究相一致。另外MDA是脂质氧化的主要产物之一,其可与生物膜上的蛋白质等反应,破坏生物膜的结构,从而导致细胞膜破裂<sup>[6]</sup>。MDA在正常植物内含量较低,当植物处于不良环境时,MDA含量会上升<sup>[7]</sup>。而喷施1 000 mg/L的B<sub>9</sub>明显降

低了MDA的含量,而MDA含量的降低能够减缓细胞的膜脂过氧化,减轻细胞受损伤的程度,从而提高蝴蝶兰的抗寒作用。低温胁迫能诱导植物体内可溶性糖和蛋白含量的增加,二者是植物细胞内重要的渗透调节物质,它能够增大细胞质浓度,降低细胞的冰点来减小低温对植物细胞的伤害。因此低温处理后,植物组织中可溶性糖和蛋白含量明显增加以增强植物的抗寒性<sup>[8]</sup>。在试验中,喷施B<sub>9</sub>在一定程度上提高了可溶性糖和蛋白的含量,使二者较CK的含量增加明显。

总的来说,在低温胁迫期间,施用B<sub>9</sub>均能够通过降低活性氧的含量、膜过氧化程度和细胞膜透性,提高可溶性糖和可溶性蛋白含量来抵抗低温的胁迫作用增强其抗寒性,其中以1 000、2 000 mg/L的B<sub>9</sub>最为明显。

#### 参考文献

- [1] 宁书祥,张希太.蝴蝶兰的组织培养快速繁殖技术[J].农业科技与信息,2007(7):32-33.
- [2] 杨秀坚,龚萍珍.B<sub>9</sub>对菊花观赏性状及其有关特性的影响[J].湛江师范学院学报,2000(1):30-32.
- [3] 乔永旭.低温处理过程中水杨酸对红掌叶片生理指标的影响[J].东北林业大学学报,2010(2):11-12.
- [4] 逯明辉,宋慧,李晓明,等.冷害过程中黄瓜叶片SOD、CAT和POD活性的变化[J].西北植物学报,2005,25(8):1570-1573.
- [5] 马艳青,戴雄泽.低温胁迫对辣椒抗寒性相关生理指标的影响[J].湖南农业大学学报,2000,26(6):461-462.
- [6] 庞金安,马德华,霍振荣,等.水杨酸预处理对提高黄瓜幼苗耐低温能力的影响[J].华北农学报,2000,15(1):112-115.
- [7] 王毅,杨宏福,李树德.园艺植物冷害和抗冷性的研究[J].园艺学报,1994,21(3):239-244.
- [8] 吴能表,钟永达,肖文娟.零上低温对甘蓝幼苗逆境指标的动态影响[J].西南师范大学学报,2005,30(3):525-528.

## Effect of B<sub>9</sub> on Physiological Index of *Phalaenopsis amabilis* Leaves During the Course of Cold Treatment

QIAO Yong-xu

(Department of Life Science, Tangshan Teachers College, Tangshan, Hebei 053000)

**Abstract:** The changes of activity oxygen system, soluble sugar content, soluble protein, MDA, membrane permeability and electrolytic leakage were performed to investigate of B<sub>9</sub> of different concentrations during the course of cold treatment on *Phalaenopsis amabilis* leaves. The results showed that the content of soluble sugar and protein showed an upward-downward curve, MDA and membrane permeability slow upward trend, However, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content and the release rate of activated oxygen O<sub>2</sub><sup>-</sup> showed an upward-downward curve. They showed the different trend in the treatment of 500 ~ 2 000 mg/L B<sub>9</sub> for 4 ~ 8 hours. They showed that appropriate concentration B<sub>9</sub> treatment significantly enhanced the anti-leaf *Phalaenopsis amabilis* capacity of low temperature, the physiological indicators of the leaves has been obvious impacted by the treatment of B<sub>9</sub>. Test showed that 1 000 ~ 2 000 mg/L concentration B<sub>9</sub> *Phalaenopsis amabilis* leaves can increase cold tolerance.

**Key words:** *Phalaenopsis amabilis*; Low-temperature; B<sub>9</sub>; Physiological index