

DOI:10.11937/bfyy.201704015

秋石斛“三亚阳光”幼苗对不同 程度低温胁迫的生理响应

何嘉琦^{1,2}, 陆顺教², 任羽², 杨光穗², 尹俊梅²(1. 海南大学 园艺园林学院, 海南 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所,
农业部华南作物基因资源与种质创制重点实验室, 海南 儋州 571737)

摘要:以秋石斛“三亚阳光”幼苗为试材, 采用人工模拟低温方法, 研究了不同温度(15、10、5℃)和时间处理(1、2、4、8、24 h 和 2、4、8、16 d)下, 秋石斛“三亚阳光”幼苗叶片的可溶性蛋白质、叶绿素、丙二醛(MDA)、游离脯氨酸 4 个生理指标的响应特征以及处理植株的黄叶率、落叶率及叶片恢复生长情况, 以探讨低温胁迫对秋石斛的抗寒机制。结果表明: 随着处理温度的降低和处理时间的延长, 可溶性蛋白质含量变化波动性较大, 呈先上升后下降再上升趋势, 以 15℃处理 16 d 最高, 为 $356.96 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; 而 MDA 和游离脯氨酸含量逐渐升高, 但递增的速度和幅度存在一定差异; 叶绿素含量逐渐降低, 以 5℃处理 16 d 最低, 为 $0.1094 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 秋石斛幼苗先出现大量黄叶后, 出现落叶现象; 从新生叶片数量上看, 5℃下处理 1~2 h 可以促进新叶的萌发, 且不影响植株正常生长。

关键词:秋石斛; 低温; 耐寒性

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)04-0062-05

秋石斛(*Dendrobium*)属兰科石斛属多年生附生草本植物, 其花形美丽, 色彩艳丽而高雅, 花期长而耐插, 为高档切花, 适宜制作胸花、花环、花盘、花束、花篮等鲜花装饰品, 在兰花切花中占有较大的市场^[1]。秋石斛原产东南亚和西太平洋岛屿, 主产地为新加坡、泰国、马来西亚和美国夏威夷, 以及澳洲北部与新几内亚一带^[2], 是典型的热带兰花, 适宜的生长温度 25~30℃, 相对湿度 60%~70%。高于 35℃、低于 15℃时秋石斛营养生长几乎停止。目前全国只有海南省是唯一在冬季无需加温即可进行石斛规模化栽培的地区。但即使在海南, 秋石斛冬季生产也会受到低温的严重影响。冬季的低温不仅

造成切花产量的下降, 严重影响了切花的品质, 同时由于生长停止, 还将影响翌年的秋石斛切花生产。目前, 国内外关于秋石斛的组织培养^[3]、花色^[4]、花香^[5]等方面的研究已有相关报道, 但低温胁迫对秋石斛生理生化的影响及恢复生长尚鲜见报道。该试验主要研究秋石斛“三亚阳光”幼苗在低温胁迫条件下叶片生理指标的变化及恢复生长情况, 以探究其低温胁迫的生理响应机理, 以为秋石斛的低温伤害防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试秋石斛“三亚阳光”(Den. ‘Sonia Hiasakul’)幼苗采自中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所热带花卉资源圃, 株高约 12 cm, 3~4 片叶期。

1.2 试验方法

将秋石斛幼苗放进人工气候箱中, 设置温度梯度 15、10、5℃, 分别低温处理 0(CK)、1、2、4、8、24 h 和 2、4、8、16 d, 光照时间设为光照/黑暗=14 h/10 h。各处理分别剪取顶端新鲜全展叶片用于生理指标测定, 3 次重复。处理后, 将幼苗置于苗圃内恢

第一作者简介:何嘉琦(1992-), 女, 海南海口人, 硕士研究生, 研究方向为植物抗逆生理。E-mail: hjqzmjcc@163.com.

责任作者:尹俊梅(1968-), 女, 云南曲靖人, 本科, 研究员, 研究方向为热带花卉种质资源与遗传育种。E-mail: yinjunmei2004@163.com.

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资助项目(1630032014014); 海南自然科学基金面上资助项目(20163131)。

收稿日期:2016-10-08

复生长,苗圃内温度 30 ℃,观察黄叶、落叶及叶片恢复生长情况,并于恢复生长第 15 天统计黄叶数,第 30 天统计落叶数及新生叶片数量。计算黄叶率及落叶率,黄叶率(%)=黄叶数/总叶片数×100;落叶率(%)=落叶数/总叶片数×100。

1.3 项目测定

可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定;游离脯氨酸含量采用磺基水杨酸比色法测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸比色法测定;叶绿素含量采用 95%乙醇浸提法测定;可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定^[6]。每重复测定 3 次吸光度值,取平均值。

1.4 数据分析

采用 Excel 2013 软件对试验数据进行处理,并用 SPSS 20.0 统计软件进行显著性分析及相关性分析。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对秋石斛幼苗生理指标的影响

2.1.1 可溶性蛋白质含量 可溶性蛋白质是植物细胞内一个重要的渗透调节物质,可以增强植物的抗寒能力,在相同低温胁迫条件下,可溶性蛋白质含

量越高,植物体的抗寒性就越高^[7-8]。由图 1a 可以看出,各个温度处理下秋石斛“三亚阳光”幼苗叶片的可溶性蛋白质含量随着处理时间的延长呈现有规律的波动,先小幅度上升,在 15、10、5 ℃分别处理 4、8、4 h 后达到峰值,然后又逐渐下降,在处理 1 d 时达到低点之后又逐渐上升,在处理 2 d 时达到高峰后又逐渐下降,在处理 8 d 时达到低点后又开始上升,在 16 d 时达到最高,其中以 15 ℃处理为最高,为 $356.96 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.1.2 叶绿素含量 叶绿素是光合作用的重要色素,低温会影响叶绿素合成酶的活性,并且低温能够造成植物自身水分逆境,植物体内的蛋白质导致叶绿体分解加强,叶绿素含量下降,最终致使植物的光合作用强度降低^[9-10]。低温胁迫会造成叶绿素含量的下降。由图 1b 可以看出,随着处理时间的延长,秋石斛“三亚阳光”幼苗叶片的叶绿素含量呈现明显下降趋势,最低为处理 16 d。在同一处理温度下,前 4 d 处理叶绿素含量下降不明显,处理 4 d 后出现骤降,尤其是 10 ℃和 5 ℃处理下降尤为显著,其中 5 ℃处理 16 d 时达到最低,仅为 $0.1094 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

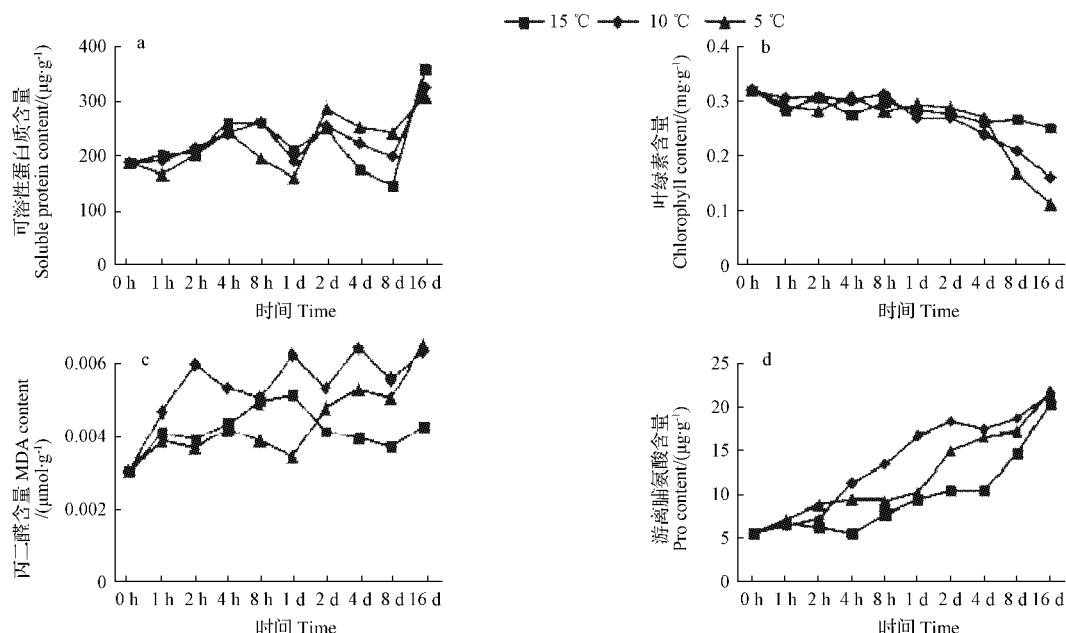


图 1 不同程度胁迫下“三亚阳光”幼苗各生理指标含量变化

Fig. 1 Change of physiological indexes of *Den. 'Sonia Hiasakul'* seedling under different low temperature stress

2.1.3 MDA 含量 活性氧的毒害之一是引发或加剧膜脂过氧化作用,造成细胞系统的损伤,膜脂过氧化产物 MDA 含量的变化是质膜损伤程度的重要标志之一,MDA 含量的多少体现了细胞膜被破坏的程

度^[11]。由图 1c 可以看出,秋石斛“三亚阳光”幼苗叶片的 MDA 含量变化趋势与可溶性蛋白质含量相似,均是随着处理时间的延长呈现一定的波动性,但整体呈现上升趋势,其中 10 ℃和 5 ℃处理上升尤为明

显,以 5℃处理 16 d 最高,达 $0.006\ 53\ \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.1.4 游离脯氨酸含量 脯氨酸有亲水性、促进渗透调节、降低冰点、稳定胶体和储氮的作用,因此当植物受到冻害等逆境胁迫时,会在植物体内大量积累 MDA^[12]。由图 1d 可以看出,各温度处理的游离脯氨酸含量均随着处理时间的延长而逐渐增加,且均在处理 16 d 达到最大值,且不同温度处理间差异不显著。

2.2 不同程度低温胁迫下秋石斛幼苗叶片各单项生理指标的相关分析

在较低强度的胁迫水平下,秋石斛幼苗叶片受损程度较轻,而随着胁迫温度降低,胁迫时间延长,叶片受损程度加重,细胞生理代谢紊乱。进一步对较低胁迫温度(5℃)和较长胁迫时间(8 d 和 16 d)处理下秋石斛幼苗的各生理指标进行相关性分析。由表 1 可知,经 5℃胁迫处理后,叶片可溶性蛋白质与 MDA、Pro 间存在极显著正相关关系;叶绿素与 MDA、Pro 间也存在极显著负相关关系,均呈负相关关系;而 MDA 和 Pro 间存在极显著正相关关系。在 8 d 和 16 d 处理水平下,叶绿素和 MDA 间存在显著负相关关系。

2.3 低温胁迫对秋石斛幼苗叶片的影响

2.3.1 黄叶率和落叶率 黄叶和落叶现象是当植物受到低温胁迫时的一种正常的生理现象,能够直观的反应出植物受胁迫状况。由图 2 可以看出,随着处理温度的降低和处理时间的延长,“三亚阳光”

幼苗的黄叶率及落叶率均逐渐升高。在恢复生长初期,开始出现黄叶现象,随着恢复生长时间的延长,黄叶会掉落成落叶。由图 2a、b 可知,在 15℃低温处理时,幼苗的黄叶率及落叶率均较低,黄叶率及落叶率均为处理 16 d 最高,分别为 11.11%和 33.33%,而对照未出现黄落叶现象。在 10℃低温处理时,黄叶率随着处理时间的延长逐渐升高,处理 8 d 最高,为 30.43%;而落叶率随着处理时间的延长表现出明显的上升趋势,处理 2 d 的落叶率开始出现骤升,处理 8 d 和 16 d 时分别达到 86.96%和 100.00%。5℃低温处理 2 d 的“三亚阳光”幼苗黄叶率明显上升,为 30.43%,黄叶率处理 8 d 最高,为 75.00%;而落叶率在处理 2 d 时显著升高,处理 8 d 和 16 d 最

表 1 不同程度低温胁迫下秋石斛“三亚阳光”幼苗叶片各生理指标间的相关性分析

Table 1 Correlation analysis among physiological indexes of Den. 'Sonia Hiasakul' under different low temperature stress

指标 Index	可溶性蛋白质 Soluble protein	叶绿素 Chlorophyll	丙二醛 MDA	游离脯氨酸 Free proline
可溶性蛋白质 Soluble protein		-0.939	0.427	0.868
叶绿素 Chlorophyll	-0.584		-0.907*	-0.634
丙二醛 MDA	0.873**	-0.827**		0.772
游离脯氨酸 Free proline	0.811**	-0.806**	0.934**	

注:左下角区域表示胁迫温度(5℃)下生理指标的相关系数;右上区域表示胁迫时间(8 d 和 16 d)下各生理指标的相关系数;* 和 ** 分别表示 0.05 和 0.01 显著性水平。

Note:;Data in bottom-left corner represents correlation of stress temperature (5℃);data in upper-right corner represents correlation of stress time (8 days and 16 days);* is significant at 0.05 level,** is significant at 0.01 level.

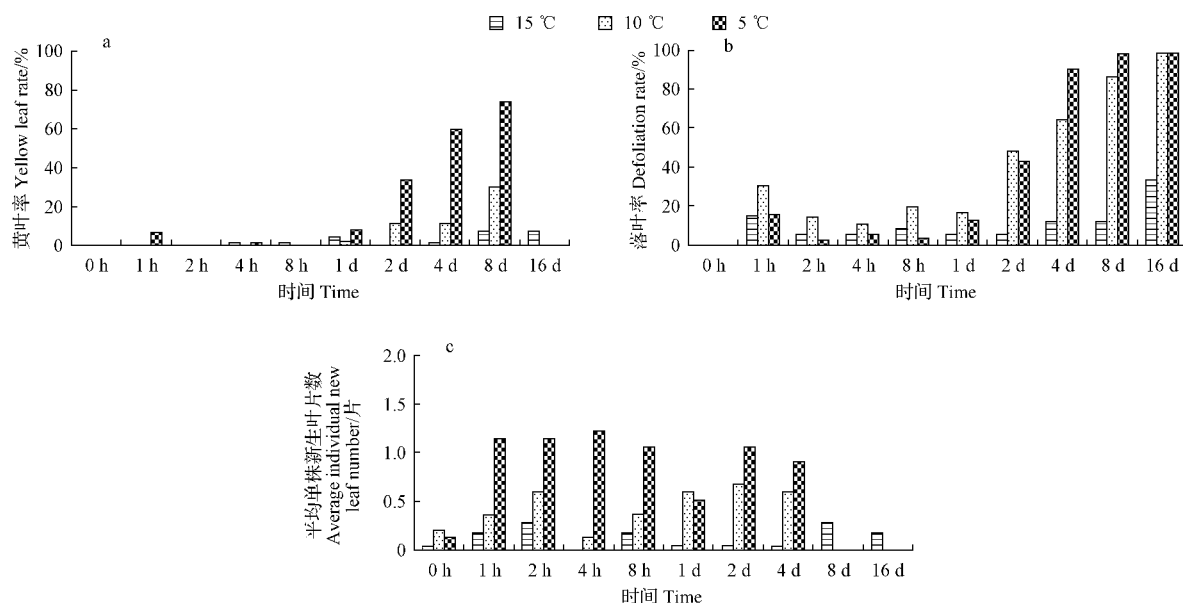


图 2 低温胁迫下秋石斛“三亚阳光”幼苗的叶片变化

Fig. 2 Change of Den. 'Sonia Hiasakul' seedling leaves under low temperature stress

高,均为 100.00%。表明“三亚阳光”幼苗能在 5℃低温环境下耐受 2 d,10℃环境下耐受 4 d。

2.3.2 新生叶 新生叶片数是植物受低温胁迫后评价植物恢复生长状态优劣的一个重要指标。由图 2c 可以看出,低温处理植株的新生叶片数明显高于对照的叶片数,并且随着处理温度的降低,新生叶片

数量越高,但低温处理时间过长会导致植株死亡。单株苗平均新生叶片数最高处理为 5℃下 1、2、4 h,分别为 1.15、1.15、1.23 片,而对照最高仅为 0.23 片,但处理 8 d 和 16 d 会造成植株死亡。由图 3 进一步表明低温处理一定时间能够促进秋石斛的营养生长,但处理时间不能过长。

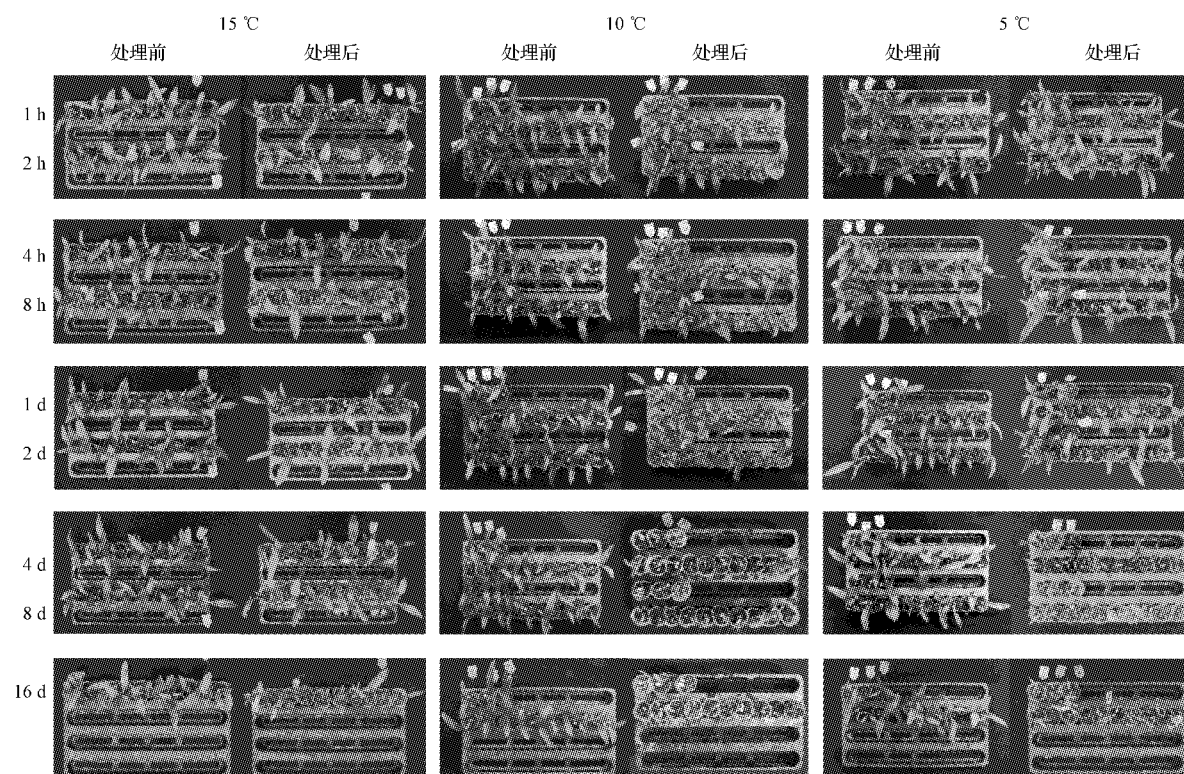


图 3 秋石斛“三亚阳光”低温处理前后叶片生长情况对比

Fig. 3 Before and after comparison of *Den. 'Sonia Hiasakul'* seedling leaves under low temperature stress

3 讨论与结论

该研究发现低温胁迫下,秋石斛幼苗叶片的可溶性蛋白质会随着胁迫时间的延长呈现有规律的波动,这与自然低温条件下杜鹃花的可溶性蛋白质含量变化规律基本一致^[12]。这可能是刚开始的低温处理导致植物体内展开低温胁迫响应,从而使可溶性蛋白质含量上升,之后开始出现胁迫适应而使可溶性蛋白质含量出现下降,而连续长时间的低温胁迫使植物出现胁迫响应到适应的周期反应现象,导致可溶性蛋白质含量呈现先升后降的规律性变化。低温胁迫下叶绿素合成酶活性降低,从而造成叶绿素的合成受到影响,最终导致叶绿素含量的降低,该研究结果与大部分植物的研究结果一致,如牧草^[13]、苹果^[14]、狗牙根^[15]等。该研究表明,秋石斛幼苗叶片的 MDA 含量随着温度的降低和处理时间的延长,在一定范围内波动上升。这与 WANG 等^[17]、王蓉

等^[18]的研究结果相似,但由于试验处理温度梯度及处理时间设计不一致,MDA 含量变化结果不一致。牟德生等^[19]在葡萄砧木耐寒性生理指标的研究中发现游离脯氨酸会随着低温胁迫时间的延长而逐渐增加,而 THEOCHARIS 等^[20]和 COLTON-GAGNON 等^[21]亦有同样的发现,与该研究发现结果一致。从黄落叶率来看,“三亚阳光”幼苗最低能够耐受 5℃处理 2 d、10℃处理 4 d。而从恢复生长试验结果上看,低温处理后植株的新生叶片数量明显多于对照植株,说明适当的低温处理,如 5℃下处理 1 h 或 2 h 能够促进秋石斛幼苗的营养生长。

参考文献

- [1] 卢思聪. 秋石斛及其栽培[J]. 中国花卉盆景, 1999(7): 6-7.
- [2] 武荣花, 李振坚, 王雁. 秋石斛品种及其温室栽培[J]. 农业工程技术(温室园艺), 2007(1): 34-35.
- [3] 陈亚鸿, 洪磊, 陈雄庭. 减少秋石斛在组织培养中的褐化研究[J]. 现代农业科学, 2009, 3(16): 44-48.

- [4] 李崇晖,任羽,黄素荣,等. 蝴蝶石斛兰花色表型及类黄酮成分分析[J]. 园艺学报,2013,40(1):107-116.
- [5] 丁灵,李崇晖,尹俊梅. 七种秋石斛鲜花挥发性成分差异性分析[J]. 广西植物,2016,36(3):361-368.
- [6] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2005.
- [7] 张兆英,宋立立. 园林植物抗寒性鉴定指标的分析[J]. 黑龙江农业科学,2012(2):60-62.
- [8] 唐敏. 持续低温胁迫下大花蕙兰不同组织器官耐寒响应[J]. 北方园艺,2015(3):84-87.
- [9] 刘兵,张世权,郭家保. 植物抗逆研究概况[J]. 安徽农学通报,2006,12(8):39-121.
- [10] 郭爱华,陈钮钰,姚月俊. 自然降温对不同杏品种1年生枝条抗寒性的影响[J]. 山西林业科技,2007(1):33-34.
- [11] 陈禹兴,付连双,王晓楠,等. 低温胁迫对冬小麦恢复生长后植株细胞膜透性和丙二醛含量的影响[J]. 东北农业大学学报,2010,41(10):10-16.
- [13] 刘冰,曹莎,周泓,等. 杜鹃花品种耐寒性比较及其机制研究[J]. 园艺学报,2016,43(2):295-306.
- [14] 严青,马玉涛,施建军,等. 低温胁迫对3种牧草幼苗抗性生理指标的影响[J]. 青海大学学报(自然科学版),2007,25(1):54-57.
- [15] 刘国君,作春涛,徐斌. 小苹果休眠期纸条花青素和叶绿素的含量变化与抗寒关系[J]. 北方园艺,2002(5):58-59.
- [16] 李秋丽. 4个狗牙根品种(系)的耐寒性评价[D]. 武汉:华中农业大学,2010.
- [17] WANG Q, CHENG T R, YU X N, et al. Physiological and biochemical responses of six herbaceous peonycultivars to cold stress[J]. South African Journal of Botany,2014,94:140-148.
- [18] 王蓉,刘进平,赵慧琴. 海南胡椒属植物抗寒性评价[J]. 热带生物学报,2013,4(2):119-123.
- [19] 牟德生,张兆铭,史星云,等. 葡萄砧木抗寒生理指标测定及其评价应用[J]. 北方园艺,2015(3):6-8.
- [20] THEOCHARIS A, CIÉMENT C, BARKAEA. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures[J]. Planta,2012,235:1091-1105.
- [21] COLTON-GAGNON K, ALI-BENALI M A, BORIS F, et al. Comparative analysis of the cold acclimation and freezing tolerance capacities of seven diploid *Brachypodium distachyon* accessions[J]. Annals of Botany,2014,113:681-693.

Physiology Response of *Dendrobium* ‘Sonia Hiasakul’ Seedling on Different Degrees of Low Temperature Stress

HE Jiaqi^{1,2}, LU Shunjiao², REN Yu², YANG Guangsu², YIN Junmei²

(1. College of Horticulture and Landscape, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 2. Tropical Crops Genetic Resource Institute, Chinese Academy of Tropical Agriculture Science/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Danzhou, Hainan 571737)

Abstract: Using the method of artificial simulation of low temperature, the four physiological indexes of *Dendrobium* ‘Sonia Hiasakul’ seedling leaves, including the soluble protein, chlorophyll, malondialdehyde (MDA) and free proline were measured to study the response of *Dendrobium* to different low temperature (15, 10, 5 °C) and different times (1, 2, 4, 8, 24 hours and 2, 4, 8, 16 days). Meanwhile, the situation of yellow leaves rate, defoliation rate and restoration of treatment plants were analyzed to discuss the effects of different temperature stress on cold resistance mechanism of *Dendrobium*. The results showed that with the decrease of treatment temperature and the prolonging of treatment time, the content of soluble protein fluctuated greatly and increased at first then decreased finally increased, and at 15 °C, 16 days treatment to the peak, $356.96 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; the contents of MDA and free proline gradually increased, nevertheless, there was a certain difference in the increasing speed and amplitude; the content of chlorophyll generally decreased, at 5 °C, 16 days to the lowest, was $0.1094 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. *Dendrobium* seedlings first appeared a large number of yellow leaves, then the yellows turned into fallen leaves. According to the number of newborn leaves, treatment of 5 °C, 1 or 2 hours could promote the germination of new leaves, and did not affect normal growth of plants.

Keywords: *Dendrobium*; low temperature; cold tolerance