

干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的生理反应及抗性分析

郭 红, 王有国, 李枝林

(云南农业大学 园林园艺学院, 云南 昆明 650201)

摘 要:盆栽条件下,通过人工控制水分,研究以桉树皮、泥炭、椰丝、梨树皮不同混合栽培基质下碧玉兰对干旱胁迫的生理响应,并用隶属函数法对其进行抗旱性的综合评价。结果表明:碧玉兰叶片的相对电导率含量随着含水量的降低而增加,丙二醛和游离脯氨酸以及抗氧化酶活性则表现为先增后降。各种指标变化幅度随不同栽培基质而不同。不同栽培基质下碧玉兰的抗旱能力依次为: M_6 、 M_5 栽培下的碧玉兰的抗旱性最强,而在 M_1 、 M_4 栽培下的碧玉兰的抗旱性较差。

关键词:碧玉兰;基质;抗旱性

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)01-0079-05

碧玉兰(*Cymbidiuml owianum* Rchb. f)为兰科(Orchidaceae)兰属虎头兰亚属的一种大花型植物,假鳞茎狭椭圆形,略扁。花淡黄色,硕大而美丽,唇上色彩艳丽醒目,叶型宽大、长,姿态优雅,是非常优秀的一种花卉盆景,且花期较长,品种多为野生驯化,由于碧玉兰生长于林中树上或溪边岩石上,大部分分布于广东、云南。随着人们生活水平的提高和碧玉兰知名度的提高,碧玉兰深受人们的喜爱。每年销量迅猛增加,发展前景广阔^[1-3]。近年来,干旱现象日趋严重,在中国,干旱的威胁不只发生在北方干旱、半干旱地区,年降水量大的南方湿润、半湿润地区也会因雨量时空分布不均而经常发生强季节性干旱。到目前为止,改良植物的抗旱性是一个应用前景广阔但研究比较薄弱的环节,仍处于探索阶段。从改良植物的抗旱性出发,从分子水平上阐明植物抗旱性的物质基础及其生理功能,从而通过基因工程手段进行抗旱基因重组,以创造抗旱新类型,并用这种基因的表达形式确定抗旱指标是当前研究的一个热点。但很少有人研究通过栽培基质来提高植物抗旱性的问题,现有的大多数栽培方式都是根据经验而来,缺少理

论依据。该试验是通过对不同栽培基质中碧玉兰干旱胁迫的研究,探索出碧玉兰最适宜的栽培基质,为碧玉兰的产业化开发提供技术支持,为其它兰花的最适宜栽培基质筛选提供研究思路,有利于兰花的产业化发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为野生驯化碧玉兰的组培苗,用于配方的盆栽基质包括云南泥炭、椰丝、桉树皮、梨树皮,其混合配比(体积) M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 、 M_5 、 M_6 、 M_7 、 M_8 、 M_9 如表1所示。通过对碧玉兰的栽培试验,挑选出最适宜碧玉兰生长的栽培基质。

表 1 基质配比(体积比)

Table 1 The proportion (volume ratio) of media formula

基质 Media formula	桉树皮 Qi tree bark	泥炭 Peat	椰丝 Coconut	梨树皮 Pear tree bark
M_1	1	0	0	0
M_2	0	1	0	0
M_3	0	0	1	0
M_4	0	0	0	1
M_5	2/5	1/5	1/5	1/5
M_6	1/5	2/5	1/5	1/5
M_7	1/5	1/5	2/5	1/5
M_8	1/5	1/5	1/5	2/5
M_9	1/4	1/4	1/4	1/4

1.2 试验方法

试验于2010年10月26日至2011年4月18日在

第一作者简介:郭红(1985-),女,山东济南人,在读硕士,研究方向为园林植物与观赏园艺。E-mail:guohongbm@163.com。

责任作者:王有国(1970-),男,甘肃张掖人,博士,副教授,研究方向为园林植物与观赏园艺。E-mail:wyg9988@sohu.com。

基金项目:云南省教育厅科学研究基金资助项目(2010J042);云南省教育厅资助项目(09Y0195);云南省科技厅资助项目(2009BB013)。

收稿日期:2011-09-23

云南农业大学温室大棚内进行。采用随机区组试验设计,将不同的栽培基质按设计要求配制,然后选取健壮的碧玉兰 2 a 生组培苗进行定植上盆(2010 年 10 月),花盆采用黑色塑料花盆(ϕ 上 15 cm \times ϕ 下 10 cm \times 高 20 cm);每种基质 3 次重复,然后在温室大棚中进行正常的养护管理,干旱胁迫采用连续干旱法(即在试验前一次性浇足水,然后不再浇水)进行试验,然后每 7 d 对植物叶片分别进行一次生理指标的测定。通过数据分析在干旱胁迫下不同栽培基质对碧玉兰抗旱生理指标的影响。

1.3 项目测定

碧玉兰叶片原生质膜透性采用电导仪法测定,以相对电导率表示细胞膜受胁迫伤害的程度(相对电导率=处理电导率/煮沸后电导率 \times 100%);叶片游离脯氨酸(Pro)含量采用茚三酮法测定;丙二醛(MDA)的测定采用 MDA 在高温、酸性条件下可与硫代巴比妥酸(TBA)反应,形成红棕色;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 光化还原法测定,以抑制 50% NBT 反应为 1 个酶活性单位(U/每克根鲜重);过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,以 1 min 内 A_{470} 变化 0.01 为 1 个酶活性单位;过氧化氢酶(CAT)活性采用过氧化氢比色法测定,以 1 min 内 A_{240} 变化 0.1 为 1 个酶活性单位^[4]。

1.4 数据分析

采用 Excel 软件结合数据统计软件 Spss 17.0 对数据进行整理和分析。抗旱性综合评价参照薛慧勤等^[5]和韩瑞宏等^[6]方法,采用数学分析隶属函数法对测定的各项指标进行数据标准化转换和综合分析评价。根据抗旱隶属函数数值进行排序,确定其抗旱能力强弱。各指标隶属函数计算公式为: $U(X_{ij}) = (X_{ij} - X_{imin}) / (X_{imax} - X_{imin})$ 。式中, $U(X_{ij})$ 为测定指标的抗旱隶属函数值, X_{ij} 为各材料的指标测定值, X_{imin} 为各材料中测定指标的最小值, X_{imax} 为各材料中测定指标的最大值。若某指标与抗旱性为负相关,采用反隶属函数计算其抗旱隶属函数值。其计算公式为: $U(X_{ij}) = 1 - (X_{ij} - X_{imin}) / (X_{imax} - X_{imin})$ 。

2 结果与分析

2.1 9 种不同配比栽培基质物理性质

基质的容重代表基质的疏松紧实程度,容重大或过小都对植物的生长不利,研究发现作物在容重 0.1~0.8 g/cm³ 的基质上均可正常生长^[7]。由表 2 可知,4 种基质容重的范围在 0.504~0.632 g/cm³ 之间,在适宜植物生长的范围内,混合基质的容重差异较小,单一基质差异大。总孔隙度是基质持水和通气孔隙的总和,总孔隙度大的水气容纳量就大,反之就小。该试验中单一基质中椰丝总孔隙度比其它几种基质都要大。持水孔隙

度代表基质保持水分的能力。单一基质中泥炭和椰丝的持水孔隙度比较大,通气孔隙反应基质的通气能力。碧玉兰的根为肉质根,对基质通气性能的要求较高。4 种基质的通气孔隙度 M_1 和 M_6 比较好, M_3 和 M_7 含水率最高。由图 1 可知, M_7 与 M_3 的前期持水率较高,2 种基质中含有椰丝比例较多, M_6 和 M_5 前期持水率不高,但保水性较好。

表 2 不同配方基质物理分析结果

Table 2 Physical properties of various media formula

基质 Media formula	容重 Density /g \cdot cm ⁻³	总孔隙度 Total porosity /%	持水孔隙 Porosity of hold water /%	通气孔隙 Porosity of ventilation /%	基质含水率 Matrix moisture content / %
M_1	0.609	0.520	0.126	0.394	0.011
M_2	0.632	0.415	0.155	0.260	0.021
M_3	0.504	0.788	0.164	0.624	0.176
M_4	0.541	0.562	0.102	0.460	0.099
M_5	0.608	0.552	0.126	0.426	0.042
M_6	0.611	0.534	0.122	0.412	0.029
M_7	0.603	0.586	0.142	0.444	0.065
M_8	0.601	0.602	0.140	0.462	0.038
M_9	0.603	0.542	0.120	0.422	0.046

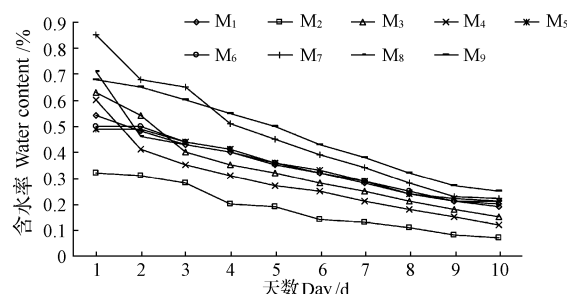


图 1 9 种基质的保水特性曲线

Fig. 1 Changes in relative water content of media with time

2.2 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的原生质膜透性的影响

植物在脱水时,常因伤害细胞膜结构而引起细胞膜透性增大,细胞内含物不同程度外渗,使外渗液电导值增大;膜透性变化越大,表示受伤越重,抗性越弱。

由图 2 可知,随着干旱天数的持续,9 种基质栽培的碧玉兰的叶片细胞膜透性呈上升趋势,相对来说,在整个试验周期内, M_7 、 M_9 、 M_8 的相对电导率变化幅度较小,所以 M_7 、 M_9 、 M_8 的抗旱性相对较强;在干旱 7~14 d 内, M_2 ~ M_6 的相对电导率变化幅度较为接近,而 M_1 的变化幅度有明显的增大,细胞膜相对透性发生了明显变化,所以说 M_1 的抗旱性较弱。

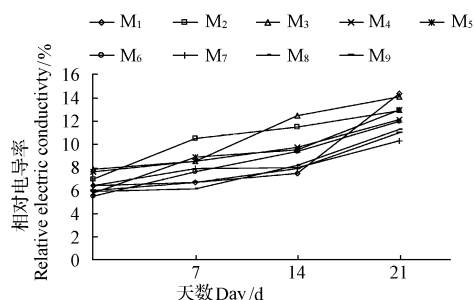


图2 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的叶片相对电导率的影响

Fig. 2 Effect of drought stress on leaf relative electric conductivity of various media formula

2.3 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的游离脯氨酸的影响

植物体内的游离脯氨酸是主要的渗透调节物质,一般认为,脯氨酸在植物的抗旱适应方面的作用主要是参与渗透调节、减少氨毒害和保护生物大分子,因此,植物体内脯氨酸含量越高,植物的抗旱性越强。

在水分充足的情况下, M_6 栽培的碧玉兰其游离脯氨酸含量最高。由图3可知,经过较轻度胁迫(7 d),9种基质的碧玉兰脯氨酸含量都增加了,其中 M_9 的增加最剧烈;随着胁迫的持续天数和强度加大,干旱持续到第14天, M_5 、 M_8 、 M_9 的脯氨酸含量较高; M_7 、 M_6 、 M_4 、 M_1 的脯氨酸含量居中,其中 M_7 、 M_6 的脯氨酸含量又较高于 M_4 、 M_1 ; M_2 、 M_3 的脯氨酸含量较低。结合9种基质的含水率可知, M_2 、 M_3 的脯氨酸含量最低,其保水能力也相对较差; M_7 、 M_6 、 M_4 、 M_1 的脯氨酸含量居中,其保水能力也相对较好,保水能力的顺序为 $M_7 > M_6 > M_4 > M_1$; M_5 、 M_8 、 M_9 的脯氨酸含量在整个胁迫试验周期内发生了较多的积累,产生了明显的高峰,干旱持续到第21天,脯氨酸含量开始下降, M_8 、 M_4 、 M_1 、 M_6 含量比较好。

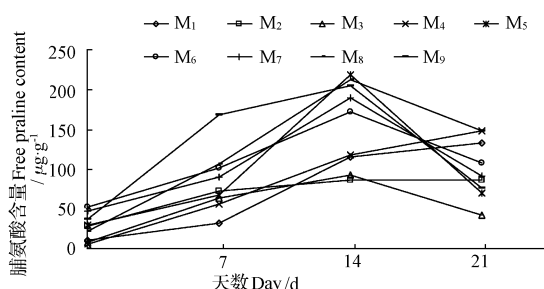


图3 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的叶片游离脯氨酸的影响

Fig. 3 Effect of drought stress on free proline content of various media formula

2.4 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的丙二醛的影响

丙二醛含量变化是反映细胞膜脂过氧化作用强弱

的一个重要指标^[8],在相同干旱胁迫下丙二醛含量增幅小的碧玉兰,其栽培基质保水能力较高,增幅越大的碧玉兰,其栽培基质保水能力越低。

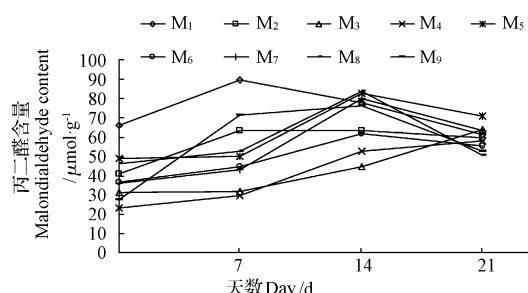


图4 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的叶片丙二醛的影响

Fig. 4 Effect of drought stress on malondialdehyde content of various media formula

由图4可知,随着干旱天数的持续,9种基质栽培的碧玉兰叶片中丙二醛(MDA)的含量都有显著的上升趋势。在前期处理的1~7 d内, $M_3 \sim M_8$ 的丙二醛含量还处于一个平稳的状态,说明 $M_3 \sim M_8$ 在干旱前期,具有一定的保水性;但7 d后 M_5 、 M_7 、 M_8 出现了明显地升高,说明当干旱胁迫积累到一定程度时,基质的保水性也达到了极限,就不能很好地保护碧玉兰了;而 M_3 、 M_6 、 M_4 在7 d后丙二醛含量的增幅小,变化幅度逐渐趋于平缓,说明该基质保水性较好,在长时间的干旱下,能较稳定地涵养住水分,以供给植物水分。前期处理中, M_1 、 M_2 、 M_9 的丙二醛含量都有明显的增加,到了后期,含量又开始下降,总体起伏显得不稳定,因此对于丙二醛(MDA)这个指标来说是不稳定的指标。

2.5 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的抗氧化酶系统的影响

由图5~7可知,随水分胁迫程度的增加,碧玉兰叶片的SOD、POD、CAT活性均表现为先增后降。SOD是需氧生物细胞中普遍存在的一种含金属的抗氧化酶,是植物抗氧化系统的中心,广泛存在于各种植物体内。其与过氧化物酶、过氧化氢酶等酶协同作用,可防御活性氧或其它过氧化物自由基对细胞膜系统的伤害,从而防止细胞衰老。在逆境和衰老过程中,植物产生的氧自由基是导致植物伤害和衰老的重要原因之一。在干旱胁迫下, M_4 的超氧化物歧化酶活性值在第7天时达到最大值,达到最大值后数值的下降变化趋势逐渐增大;干旱14 d后,除了 M_5 ,其余基质SOD活性开始下降,干旱21 d只有 M_5 在上升, M_6 和 M_9 的SOD酶活性高于其它基质, M_4 的SOD酶活性最低。在干旱胁迫下第7天时, M_5 、 M_1 的POD酶活性极显著高于其它基质,幅度较大;当水分胁迫进一步加重时, M_6 、 M_2 、 M_9 的POD酶活性极显著高于其它基质,而 M_8 、 M_7 的POD酶活性最

低。在干旱胁迫下第7天时, M_7 、 M_4 的 CAT 酶活性相对较高, 当水分胁迫进一步加重时, CAT 酶活性继续增加, 干旱 21 d 时, M_5 、 M_6 、 M_8 继续增大, CAT 酶活性未造成损害, M_2 、 M_4 、 M_9 造成损害。

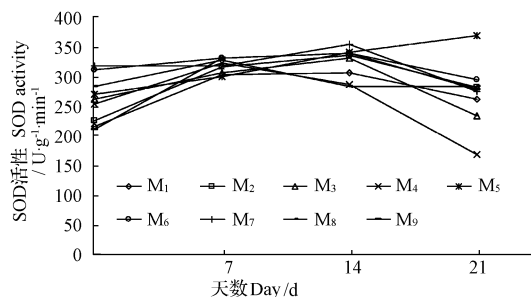


图5 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的叶片 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effect of drought stress on SOD activity of various media formula

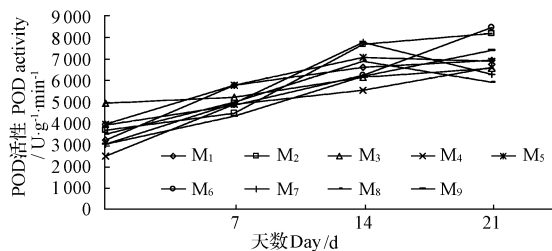


图6 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的叶片 POD 活性的影响

Fig. 6 Effect of drought stress on POD activity of various media formula

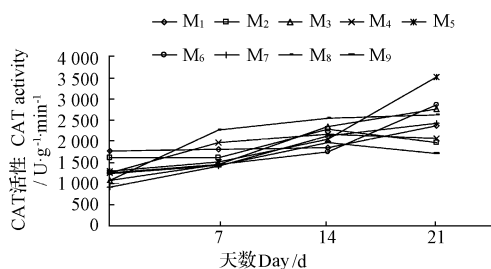


图7 干旱胁迫对不同栽培基质下碧玉兰的叶片 CAT 活性的影响

Fig. 7 Effect of drought stress on CAT activity of various media formula

2.6 不同栽培基质下碧玉兰抗旱特性的隶属函数分析

由上述测定结果可以看出, 在不同水分胁迫条件下, 不同栽培基质下碧玉兰各生理指标的反应不同, 表明不同栽培基质下内在生理生化机制有所差异, 根据单一指标很难做出判断。而运用隶属函数法, 通过综合多个性状指标进行评价可提高判断的准确性^[9]。因此表3仅计算水分胁迫条件下各指标测定数值经过数据标准化转换后的隶属函数值, 其中相对电导率、丙二醛与抗

旱性呈负相关, 采用反隶属函数公式计算。通过比较各种材料的隶属函数平均值可以看出, 以 M_6 抗旱性最强, 而 M_1 和 M_4 材料抗旱性较弱。混合基质比单一基质抗旱性强。

表3 干旱胁迫条件下不同栽培基质下碧玉兰各测定指标的隶属函数值

Table 3 Subordinate function value of every indexes of different media formula under drought stress

基质 Media formula	M_1	M_2	M_3	M_4	M_5	M_6	M_7	M_8	M_9
相对电导率 Relative conductivity	0.00	0.36	0.07	0.56	0.34	0.58	1.00	0.76	0.83
丙二醛 Malondialdehyde	0.16	0.53	1.00	0.81	0.03	0.57	0.10	0.00	0.19
游离脯氨酸 Proline	0.41	0.00	0.27	0.42	1.00	0.73	0.83	0.96	0.92
CAT 活性 CAT activity	0.56	0.00	0.58	0.08	1.00	0.91	0.22	0.38	0.01
POD 活性 POD activity	0.33	0.86	0.52	0.00	0.27	1.00	0.40	0.46	0.51
SOD 活性 SOD activity	0.47	0.29	0.33	0.00	1.00	0.63	0.54	0.58	0.55
隶属函数平均值 Average value	0.32	0.34	0.46	0.31	0.61	0.74	0.52	0.52	0.50
抗旱性排序 Rank	7	6	5	8	2	1	3	3	4

3 讨论与结论

细胞质膜是细胞与外界环境相隔离的屏障, 同时也是细胞与外界环境进行物质交换、能量传递和信息交流的界面, 在细胞中执行多种功能, 在正常生长条件下, 叶片细胞质膜透性很小, 在逆境中细胞质膜透性增加。在相同干旱胁迫条件下, 不同配方的基质栽培的碧玉兰叶片膜透性明显增大, 随着干旱胁迫时间的延长, 膜透性也随之增大。该试验中, 干旱胁迫下, 相对电导率大小能反映不同配方基质栽培的碧玉兰抗旱性强弱, 可作为碧玉兰抗旱的生理指标之一, 并在一定程度上和基质有较高相关性。

MDA 是膜质过氧化作用的最终产物, 也是膜系统受伤害的重要标志之一^[10]。该试验中, 干旱胁迫处理过的 9 种基质栽培的碧玉兰的叶片 MDA 含量, 总体上是随着干旱胁迫的不断加重而呈逐渐上升的趋势。这说明随着水分胁迫程度的加剧, 胁迫时间的延长, 碧玉兰叶片中过氧化物 MDA 的含量升高, 表明干旱引起氧化作用加强, 细胞膜伤害更加严重, 对植株体的伤害更为严重^[11]。因此能缓解干旱, 保水状态好, 保护植物的基质才能更适合逆境下生长的植物。

植物的抗旱性是植物在干旱环境中生长、繁殖或生存以及在干旱解除后迅速恢复生长的能力。大量研究表明, 脯氨酸是植物蛋白质的主要组成部分, 当植物受到干旱胁迫时, 脯氨酸可作为渗透剂参与植物的渗透调

节作用,因此干旱胁迫会导致植物体内的游离脯氨酸含量积累增加^[12],该试验结果与前人研究小麦、豌豆等的结论基本一致:碧玉兰受到干旱胁迫时,叶片中游离脯氨酸含量发生增加和累积的变化,且积累量与胁迫时间、胁迫强度以及不同的栽培基质有关。同一胁迫强度,胁迫初期(7 d)脯氨酸积累较快,胁迫后期(7~14 d)积累较慢,说明水分胁迫在 7 d 时是游离脯氨酸调节碧玉兰抗旱性的敏感时期。此时生成的游离脯氨酸可以维持各器官较强的渗透能力,以提高植株对干旱的适应能力,但随着干旱胁迫的进一步持续,碳水化合物合成受阻,影响谷氨酸合成,进而影响脯氨酸合成,导致在水分胁迫后期其积累减缓甚至最终停止;也可能是因为随着胁迫的强度加强,碧玉兰的植物组织细胞损伤加剧且不能修复,体内的其它营养物质和酶活性降低而毒素增多会影响脯氨酸的累积。

在生物进化过程中植物细胞内形成了防御活性氧毒害的保护机制,即被称为保护酶系统的过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等几种酶类是细胞抵御活性氧伤害的重要保护酶系统,它们在清除超氧自由基、过氧化氢和过氧化物以及阻止或减少羟基自由基形成等方面起着重要作用。通过 CAT 测定来确定酶活性大小,进一步得出碧玉兰在抗逆性环境中的生长情况。过氧化氢酶是抗氧化酶系统的重要组成部分,过氧化氢酶是一种酶类清除剂,它可促使 H_2O_2 分解为分子氧和水,清除体内的过氧化氢,从而使细胞免于遭受 H_2O_2 的毒害,是生物防御体系的关键酶之一。在植物体的抗氧化生物体系中,过氧化氢酶最为有效。酶的活性越高,消除自由基的能力也越强,植物的抗逆性也越强。酶在清除过氧化氢时,出现的值越晚,说明植物的抗逆性越强;而在出现的最大值中,活性值越小、变化趋势越平缓,则说明植物受到的伤害越小,此植物的抗逆性就越强。该试验中,发现干旱使碧玉兰叶片 SOD 的活性

于碧玉兰生长前期升高,而在后期降低。在干旱胁迫下,所有配方的碧玉兰都呈上升趋势,但 M_6 、 M_5 的上升值较缓慢,最后达到最大值,所以该配方相对较好。POD、CAT 活性也有随着干旱胁迫的增加而递增的趋势。

综上所述,植物细胞膜透性,MDA、游离脯氨酸及 SOD 活性变化等均可作为鉴定植物抗旱性的指标,通过比较, M_6 、 M_5 是比较适宜碧玉兰在干旱情况下生长的基质,混合基质比单一基质适合碧玉兰生长,和前人结果一致。但是由于植物抗旱性的机制十分复杂,仅从某一侧面或某些层次去研究是远远不够的,要彻底了解植物的抗旱机制,尚需进一步研究。

参考文献

- [1] 曹受金. 碧玉兰的组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(21): 5519-5520.
- [2] 杨静坤, 黄丽萍, 唐敏, 等. 碧玉兰试管植株辐射诱变初探[J]. 现代园艺, 2008(10): 6-9.
- [3] 刘仲健, 陈心启, 茹正忠. 中国兰属植物[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [4] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000, 92: 192-201.
- [5] 薛慧勤, 孙兰珍, 甘信民. 花生品种抗旱性综合评价及其抗旱机理的数量分析[J]. 干旱地区农业研究, 1999, 17(1): 83-87.
- [6] 韩瑞宏, 卢欣石, 高桂娟, 等. 紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. 草地学报, 2006, 14(2): 142-146.
- [7] 李天林, 沈兵, 李红霞. 无土栽培中基质培选料的参考因素与发展趋势[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 1999(3): 250-258.
- [8] 李会云, 郭修武. 盐胁迫对葡萄砧木叶片保护酶活性和丙二醛含量的影响[J]. 果树学报, 2008, 25(2): 240-243.
- [9] 李壮, 许文娟, 薛兵东, 等. 玉米苗期抗旱性评价方法探讨[J]. 玉米科学, 2004, 12(2): 73-75.
- [10] Pallitt K E, Young A J, Carotenoid S. Antioxidants in higher plants[M]. Boca Raton: CRC Press, 1992: 59-60.
- [11] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207-210.
- [12] 王娟, 李德全. 逆境条件下植物体内渗透调节物质的积累与活性氧代谢[J]. 植物学通报, 2001, 18(4): 459-465.

Effect of Drought Stress on Physiological Characteristics of *Cymbidium lowianum* of Various Media and Analysis on Drought-resistance

GUO Hong, WANG You-guo, LI Zhi-lin

(College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201)

Abstract: The drought-resistance of *Cymbidium lowianum* of various media was studied under the conditions of artificial drought stress through measuring morphological indexes and physiological indexes related to drought resistance, and then valued integratively with subordinate function. The results showed that the relative elective conductivity would increase when soil relative water content descended. Malondialdehyde content, proline content and antioxidant activities would increase firstly and then descend in the same condition. By subordinate function analysis, M_6 and M_5 had higher drought resistance, the resistance of M_1 and M_4 was the lowest.

Key words: *Cymbidium lowianum*; media formula; drought-resistance