

外源 2,4-表油菜素内酯对低温胁迫下秋石斛幼苗生理特性的影响

韦心洁^{1,2,3}, 于晓云^{2,3}, 莫顺金^{2,3}, 陆顺教^{2,3}, 罗小燕^{2,3}, 易双双^{2,3}, 廖 易^{2,3}, 张佳琪^{1*}, 杨光穗^{2,3*}

1. 华中农业大学园艺林学学院, 湖北武汉 430070; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业农村部华南作物基因资源与种质创制重点实验室, 海南儋州 571737; 3. 海南省热带观赏植物种质创新利用工程技术研究中心, 海南儋州 571737

摘 要: 外施调节剂在一定程度上可以降低植物对低温胁迫的伤害, 而 2,4-表油菜素内酯 (2,4-epibrassinolide, EBR) 是一种可以增强植物抗寒性的调节剂。为探究外源 EBR 对秋石斛 (*Dendrobium hybrida*) 幼苗在低温胁迫下的生理特性的影响, 以马来西亚绿花 (*Den. 'Sweel Maple'*) 为试验材料, 以人工气候箱模拟低温 (5 °C) 环境, 采用不同浓度 EBR 溶液 (0、0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L) 对秋石斛幼苗进行喷施处理, 通过测定黄叶率、落叶率及可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸、叶绿素、丙二醛含量, 分析外施 EBR 对秋石斛幼苗低温胁迫下生理特性的影响。结果表明: EBR 能够显著降低低温胁迫下秋石斛幼苗的黄叶率、落叶率, 其中以 2.0 mg/L EBR 处理效果最佳。与对照相比, 2.0 mg/L EBR 处理 50% 黄叶率和 100% 黄叶率、落叶率分别降低 27.41%、16.55%、20.64%。2.0 mg/L EBR 能够有效减缓低温胁迫下幼苗叶片叶绿素含量、相对电导率及丙二醛含量的降低, 与对照相比, 其相对电导率值降低 14.33%, 丙二醛含量降低 29.03%。2.0 mg/L EBR 还能够有效提高低温胁迫下幼苗叶片渗透调节物质含量, 其中低温胁迫 8 d 后, 其可溶性蛋白和可溶性糖含量分别达到 1.68 mg/mL 和 46.49 mg/mL, 脯氨酸在常温恢复第 2 天, 达到 142.28 μg/mL, 显著高于对照。综上所述, EBR 能够通过调整生理特性响应缓解低温胁迫对秋石斛幼苗的伤害, 本研究发现 2.0 mg/L EBR 为最适处理浓度。

关键词: 秋石斛; 2,4-表油菜素内酯; 低温胁迫; 生理特性

中图分类号: S682.31 **文献标志码:** A

Influences of Exogenous 2,4-Epibrassinolide on Physiological Characteristics of *Dendrobium* Hybrid Seedlings under Low-Temperature Stress

WEI Xinjie^{1,2,3}, YU Xiaoyun^{2,3}, MO Shunjin^{2,3}, LU Shunjiao^{2,3}, LUO Xiaoyan^{2,3}, YI Shuangshuang^{2,3}, LIAO Yi^{2,3}, ZHANG Jiaqi^{1*}, YANG Guangsui^{2,3*}

1. College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China; 2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Innovation in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Danzhou, Hainan 571737, China; 3. Engineering and Technology Research Center for Innovation and Utilization of Tropical Ornamental Plant Germplasm, Danzhou, Hainan 571737, China

Abstract: External application of regulator can reduce the damage of plants under low temperature stress, and

收稿日期 2025-01-13; **接受日期** 2025-02-26

基金项目 海南省重大科技计划项目 (No. ZDKJ2021015); 海南省自然科学基金青年基金项目 (No. 324QN311); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630032022004)。

作者简介 韦心洁 (2001—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 秋石斛抗逆生理。*通信作者 (Corresponding author): 张佳琪 (ZHANG Jiaqi), E-mail: jiaqizhang@mail.hzau.edu.cn; 杨光穗 (YANG Guangsui), E-mail: 13976572870@163.com。

2,4-epibrassinolide (EBR) is a regulator that can enhance the cold resistance of plants. The study was aimed to investigate the influences of exogenous 2,4-epibrassinolide on the physiological characteristics of *Dendrobium hybrida* seedlings under low-temperature stress. In this study, the seedlings of *Dendrobium hybrida* 'Sweet Maple' were treated with various concentrations of EBR solutions (0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L) through foliar spraying, and then treated under 5 °C low-temperature in artificial climate chamber. The yellowing leaf rate, defoliation rate and the malondialdehyde (MDA), soluble sugar, soluble protein, proline and chlorophyll content of treated samples were measured. The results indicated that EBR could significantly reduce the rates of yellow leaves and defoliation in *D. hybrida* seedlings under temperature stress, with the optimal treatment concentration being 2.0 mg/L. Compared with the control, the rate of 50% yellow leaves, 100% yellow leaves, and defoliation decreased by 27.41%, 16.55% and 20.64%, respectively. Additionally, 2.0 mg/L EBR effectively mitigated the decline in chlorophyll content in seedlings' leaves under low-temperature stress and decreased the relative electrical conductivity and MDA content. Specifically, the relative electrical conductivity decreased by 14.33% and the MDA content by 29.03%, compared to the control. Furthermore, 2.0 mg/L EBR enhanced the content of osmotic adjustment substances in the seedlings' leaves under low-temperature stress. On the eighth day of stress, the soluble protein and soluble sugar contents reached 1.68 mg/mL and 46.49 mg/mL, respectively, while proline content peaked at 142.28 µg/mL on the second day after returning to normal temperature, which was significantly higher than that in the control. In summary, EBR effectively alleviated the damage caused by low-temperature stress to *D. hybrida* seedlings. Various indicators demonstrated that 2.0 mg/L EBR exhibited the most prominent effect in enhancing the seedlings' cold resistance, making it the optimal treatment concentration.

Keywords: *Dendrobium hybrid*; 2,4-epibrassinolide; low-temperature stress; physiological characteristics

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.06.013

秋石斛 (*Dendrobium hybrid*) 又名蝴蝶石斛, 属于兰科石斛属中多年生草本植物。该植物以其花朵的艳丽多姿与丰富多彩的颜色, 赢得了广泛的人气与青睐。在花卉领域中, 秋石斛占据着举足轻重的地位, 不仅是重要的切花素材, 也是盆栽花卉的优选之一, 其在全球多个花卉产业中发挥着不可或缺的作用, 对当地花卉行业的发展产生了深远的影响^[1]。我国花卉市场的结构正经历着不断的调整与优化, 目前已呈现出显著的区域化特征, 华东区域专注于花卉品种的选育, 华南地区则在园艺盆栽方面颇具特色, 西南地区致力于打造特色花卉品牌, 而西北地区则成为花卉贸易的重要集散地^[2]。这一系列区域化生产与经营模式, 不仅丰富了我国花卉市场的多样性, 也推动了花卉产业的持续发展。

然而, 在实际栽培过程中常常会面临低温环境的挑战。低温胁迫会对秋石斛幼苗的生长发育产生不利影响。低温是影响植物生长发育及地理分布的重要环境因素^[3], 低温会引起植物细胞膜通透性增大, 各种酶活力降低, 各项新陈代谢受到抑制, 导致其受伤甚至死亡的现象^[4]。低温伤害分为直接伤害和间接伤害, 气温骤降引起的伤害为直接伤害。间接伤害是指持续的低温胁迫会导致植物生理代谢过程的紊乱, 植物的合成代谢速率低于分解代谢, 造成植物组织内膜脂、糖类和功能性蛋白的水解, 最终造成植物整体受到伤

害^[5]。研究指出, 大多数植物遭受低温胁迫后, 丙二醛 (MDA) 含量呈现上升趋势, MDA 的积累不利于植物的正常生长发育, 影响花器官的发育与种子的生成^[6], 严重时植株会表现出根系生理功能下降、叶片萎蔫、黄化、细胞大量死亡^[7]。叶绿素在植物进行光合作用所用色素中有着十分重要的地位, 能够较为准确地反映植物所遭受胁迫的程度^[8]。其含量变化与植物受低温损伤程度相关, 且对光合作用影响显著, 进而决定植物低温耐受性^[9]。许多研究结果显示, 在低温胁迫条件下, 植物叶绿素含量随着胁迫程度的加深呈现下降趋势^[10]。因此研究秋石斛幼苗生长的耐寒机制, 提升秋石斛耐寒性, 对帮助种植者科学应对低温灾害, 降低秋石斛种植中的损失, 以及提高产量和品质、增加经济效益具有重要意义。

2,4-表油菜素内酯 (EBR) 属于甾醇类植物激素家族, 它在国际上被广泛认为是活性最强且作用范围最广的植物生长激素之一, 仅需极低浓度的应用, 植物就能展现出明显的生理反应^[11]。EBR 可通过调控抗氧化酶活性影响植物体内的可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸含量^[12]。这些渗透调节物质各司其职, 可溶性糖是植物体内重要的渗透调节物质, 可以增加胞质液浓度, 维持植物细胞内外渗透压平衡, 增强植物对低温的耐受性^[13]; 可溶性蛋白是一种重要的渗透调节物质, 能提高细胞的保水能力从而保护细胞膜、维持酶活性以及调节

各项生理活动；脯氨酸作为渗透调节物质，维持植物细胞水分平衡，同时作为抗氧化剂，清除由于逆境产生的活性氧，减少细胞损害^[14]。其对细胞膜和蛋白质的稳定性至关重要，能有效减缓低温引起的渗透压波动，同时作为抗氧化剂协助植物抵抗氧化应激。三者的协同作用能大幅提高植物对低温胁迫的抵抗能力^[15]。黄科文等^[16]发现表油菜素内酯可以不同程度地提高枇杷幼果的可溶性糖、可溶性蛋白质、脯氨酸含量，说明在低温条件下，表油菜素内酯能够有效提升枇杷幼果的渗透调节物质的含量，显著增强枇杷幼果的耐寒能力。众多研究表明，相对电导率可以有效量化低温胁迫下植物细胞膜受损情况，相对电导率和半致死温度（LT₅₀）是反映植物在遭受低温胁迫后的损伤程度与耐寒能力的重要指标^[17]。WANG 等^[18]在研究葡萄的抗寒性机制时，运用拟合 Logistic 方程测定 LT₅₀，为界定葡萄在低温环境下的生存阈值提供参考。张军保等^[19]的研究表明 *Rab15-like* 基因可能参与冬小麦低温胁迫响应，且 EBR 处理能增强其表达。马媛媛等^[20]在探究外源 2,4-表油菜素内酯（EBR）缓解芸豆幼苗盐碱胁迫伤害的生理机制时发现，EBR 外源处理可增强芸豆叶片中渗透调节物质水平，缓解盐碱环境导致的膜脂过氧化损伤，从而促进幼苗发育并提升其耐盐碱性能。

尽管 EBR 在提升多种植物耐寒性方面已有应用^[12, 21-22]，但在提高秋石斛耐寒性的研究中，EBR 的作用机制尚未被探索。秋石斛易受低温胁迫的影响，包括抑制生长、影响代谢过程等，严重时甚至可能导致死亡。本研究将 EBR 应用于秋石斛，旨在深入探究外施 EBR 能否提高秋石斛耐寒性，通过测定黄叶率、落叶率、丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸、叶绿素等生理指标，分析对提升秋石斛耐寒性的最适 EBR 浓度，以减轻低温对秋石斛生长发育的损害，为其在更广泛的地理区域种植提供可能，以扩大我国秋石斛的种植规模和产业布局；同时丰富植物低温响应机制的理论体系，为兰科植物乃至其他花卉植物的抗逆性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以栽植于中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所热带兰花资源圃内的秋石斛低温敏感

品种马来西亚绿花（*Den. 'Sweel Maple'*）幼苗为试验材料，挑选生长健壮，状态良好，长势相对一致的植株，株高约 10~15 cm，苗龄为 5 个月。

1.2 方法

设 6 个浓度梯度的 EBR，分别为 0（对照，喷蒸馏水）、0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L。在低温胁迫前，每天上午 9:00 进行叶面喷施处理，每盆定量喷施 20.0 mL，连续喷施 3 d 后再放置 2 d，确保植株叶面恢复干燥，再将植株放进温度 5℃ 的冷库中，光暗比为 14 h/10 h，光强为 20 000 lx，相对湿度为 85%，在此环境下低温处理 8 d，之后常温恢复 7 d，每个处理 12 株，设 3 次生物学重复。

在低温处理及常温恢复第 0、2、4、6、8、11、15 天进行采样，每个处理每个时间点各随机采集 3 株顶端的全展叶片，用超纯水迅速将叶片表面擦拭干净，后置于液氮速冻，放在 -80℃ 冰箱中保存，用于后续测定各项生理生化指标。

1.2.1 叶片相对电导率测定 植株设置同样的 EBR 处理，温度梯度为 10、5、0、-5℃，分别低温处理 12 h，随机取 5 株顶端的全展叶片用于电导率测定。每个处理重复 3 次，取平均值。

1.2.2 叶片形态指标统计 在植株出现黄叶时，开始统计黄叶数量直至处理结束。以发黄面积大小区分为 50% 黄叶、100% 黄叶 2 个标准。50% 黄叶指发黄面积占总叶面积的 25%~75% 的叶片，100% 黄叶指发黄面积在 75% 以上的叶片，发黄面积小于 25% 的叶片忽略不计。当植株出现落叶时，开始统计落叶数量直至处理结束。最终的黄叶、落叶数量为统计总和。

1.2.3 生理指标测定 可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法；可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法；丙二醛（MDA）含量测定采用硫代巴比妥酸（TBA）法；脯氨酸（PRO）含量测定采用酸性茚三酮法；叶绿素含量测定采用丙酮提取法。

1.3 数据处理

使用 Microsoft Excel 2013 软件进行数据整理，利用 IBM SPSS Statistics 25、Origin 2022 和 Graphpad prism 9.5 软件进行数据统计和聚类分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 EBR 对低温胁迫下植株相对电导率测定的影响

随着处理温度逐渐降低，秋石斛幼苗叶片相对电导率逐渐上升，当处理温度从 10℃ 逐步降至

-5℃, CK 的相对电导率增幅最大, 其相对电导率从 34.75% 升至 97.60%, 显示出严重的膜损伤, 而当施加不同浓度的 EBR 处理后, 各组的相对电导率有明显变化且均低于 CK, 通过显著性分析发现, 各处理组与 CK 的相对电导率均存在显著性差异 ($P<0.05$), 但各处理组之间相对电导率不存在显著差异 (表 1)。说明 EBR 处理能够显著降低秋石斛幼苗的相对电导率以及减轻细胞膜的损伤, 其中 EBR-2.0 处理的效果最好, 其相对电导率相较于 CK 降低了 14.33%。通过拟合 Logistic 方程, 求得各组的半致死温度 (LT_{50}), 从低到高排序为 EBR-2.0 (2.96℃) < EBR-1.0 (3.25℃) < EBR-1.5 (3.90℃) < EBR-0.5 (3.96℃) < EBR-0.1 (4.14℃) < CK (6.67℃) (表 2)。由此可见, 浓度为 2.0 mg/L 的 EBR 处理能够最大限度地降低秋石斛幼苗的低温半致死温度。

2.2 不同浓度 EBR 对低温胁迫下植株黄叶率、落叶率的影响

如图 1、图 2 所示, 经过低温处理和常温恢复后的秋石斛幼苗, 不同 EBR 浓度处理下的 50% 黄叶率显著低于未喷施 EBR 的对照, 从低到高排序为 EBR-2.0 (9.07%) < EBR-1.0 (9.76%) < EBR-0.5 (10.75%) < EBR-1.5 (10.95%) < EBR-0.1 (15.51%) < CK (36.48%), 说明浓度为 2.0 mg/L 的 EBR

处理表现最佳; 不同 EBR 浓度处理下的 100% 黄叶率低于对照, 其从低到高排序为 EBR-2.0 (22.18%) < EBR-1.0 (22.24%) < EBR-0.5 (23.64%) < EBR-1.5 (25.85%) < EBR-0.1 (25.89%) < CK (38.73%), 说明浓度为 2.0 mg/L 的 EBR 处理表现最佳; 0.1 mg/L EBR 处理的落叶率与 CK 无显著差异, 但其余浓度的处理与 CK 均有显著性差异, 从低到高排序为 EBR-2.0 (57.02%) < EBR-1.0 (58.70%) < EBR-0.5 (62.45%) < EBR-1.5 (63.87%) < EBR-0.1 (73.32%) < CK (77.66%)。由此可见, 浓度为 2.0 mg/L 的 EBR 处理能够最有效地减少植株因低温胁迫而产生的黄叶、落叶。

2.3 不同浓度 EBR 对低温胁迫下植株 MDA 含量的影响

如图 3 所示, 随着胁迫时间的延长, MDA 的积累呈先升后降的趋势, 在 6 d 时 MDA 含量达到最高, CK 与其他 5 个处理组相比 MDA 含量最高 (39.93 nmol/g), 2.0 mg/L EBR 处理 MDA 积累的含量最低 (10.91 nmol/g), 说明浓度为 2.0 mg/L EBR 处理对维持细胞膜的稳定性, 减少低温对细胞膜的伤害的效果最好, 从而降低 MDA 的产生。

2.4 不同浓度 EBR 对低温胁迫下植株可溶性蛋白含量的影响

如图 4 所示, 随着胁迫时间的延长, 可溶性

表 1 低温胁迫下 EBR 对植株相对电导率的影响
Tab. 1 Effect of EBR on relative electrical conductivity of plants under low temperature stress

温度 Temperature/℃	相对电导率 Relative conductivity/%					
	CK	EBR-0.1	EBR-0.5	EBR-1.0	EBR-1.5	EBR-2.0
10	34.75 ^a	24.54 ^b	24.64 ^b	22.04 ^{bc}	22.70 ^{bc}	20.42 ^c
5	59.25 ^a	52.40 ^b	49.60 ^{bc}	53.01 ^c	53.64 ^{ab}	47.04 ^{bc}
0	75.84 ^a	62.01 ^b	62.18 ^b	59.69 ^{bc}	61.34 ^b	58.19 ^c
-5	97.60 ^a	84.83 ^b	84.44 ^b	77.22 ^c	83.36 ^b	81.60 ^{bc}

注: 同行不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same row indicate significant difference ($P<0.05$).

表 2 不同浓度 EBR 处理低温下相对电导率回归方程及低温半致死温度
Tab. 2 Regression equations of relative electrical conductivity at low temperature and semi-lethal low temperature in treatments with different concentrations

处理 Treatment	拟合方程 Equation	相关度 Relevance	半致死温度 $LT_{50}/^{\circ}\text{C}$	排序 Ranking
EBR-2.0	$y=0.1799x-0.5329$	0.9728	2.96	1
EBR-1.0	$y=0.1546x-0.5031$	0.9325	3.25	2
EBR-1.5	$y=0.1767x-0.6886$	0.9532	3.90	3
EBR-0.5	$y=0.1790x-0.7091$	0.9797	3.96	4
EBR-0.1	$y=0.1787x-0.7399$	0.9668	4.14	5
CK	$y=0.2745x-1.8293$	0.9215	6.67	6

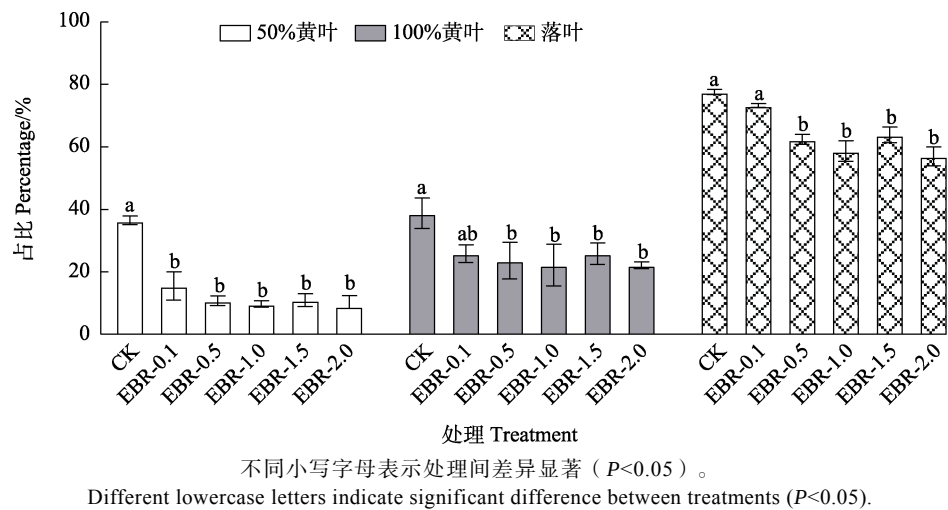
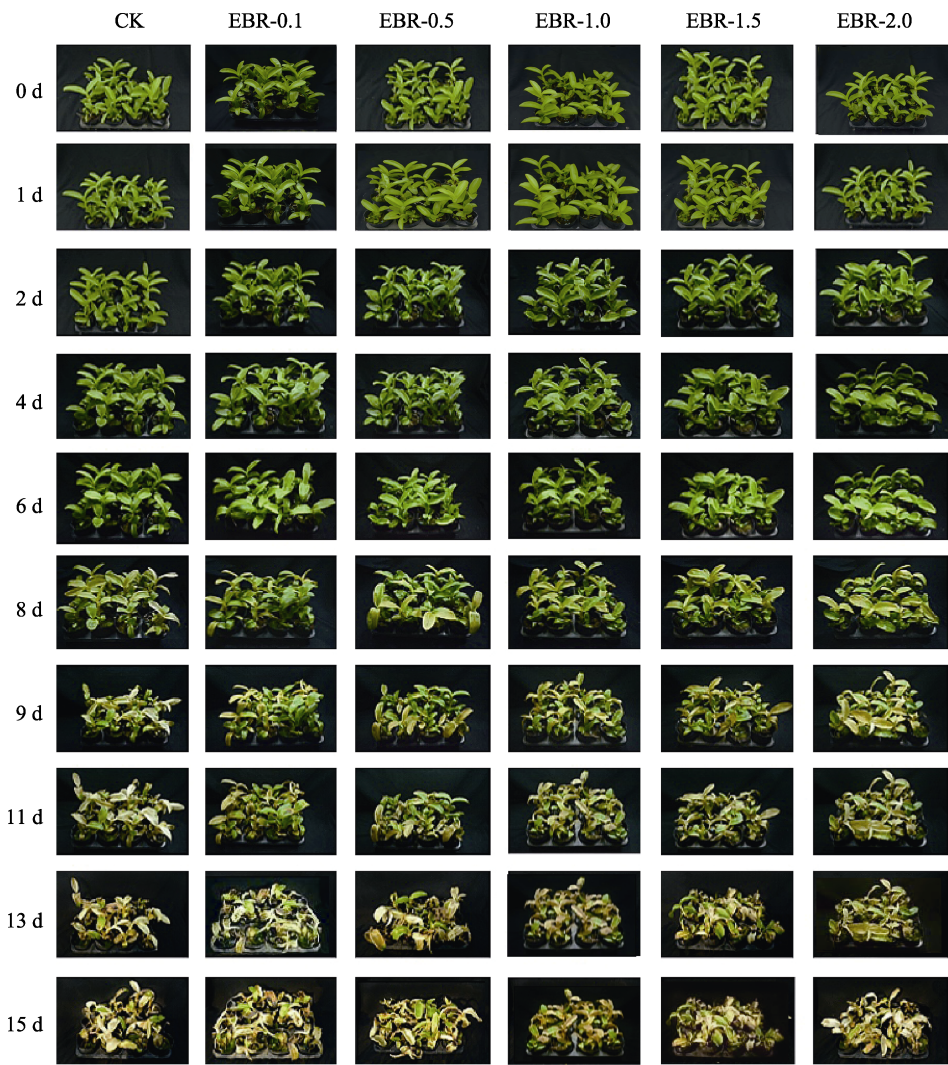


图 1 不同浓度 EBR 对低温胁迫后植株黄叶率及落叶率的影响

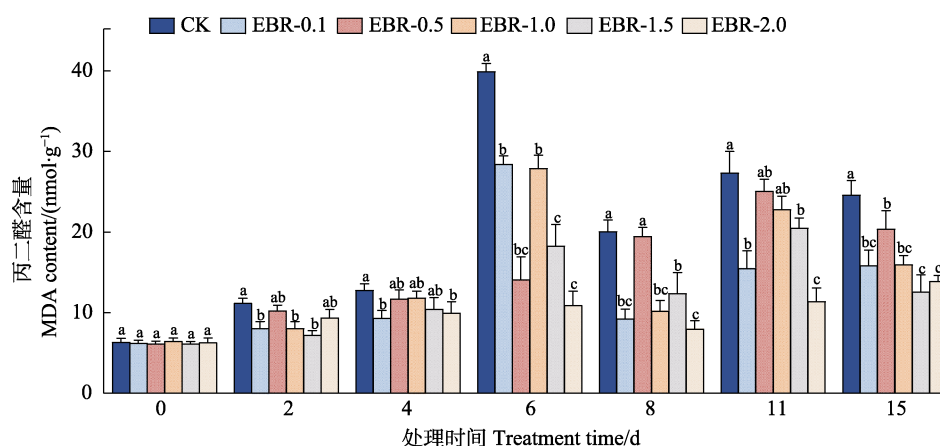
Fig. 1 Influence of different concentrations of EBR on yellow leaf rate and defoliation rate of plants after low temperature stress



1~8 d 在 5 °C 环境下进行低温胁迫，9~15 d 移入常温环境中进行恢复生长。
From day 1 to day 8, low temperature stress was carried out under 5 °C, from day 9 to day 15, the plants were transferred to normal temperature environment for recovery growth.

图 2 不同浓度 EBR 处理后植株的形态变化

Fig. 2 Morphological changes of plants after treatment with different concentrations of EBR

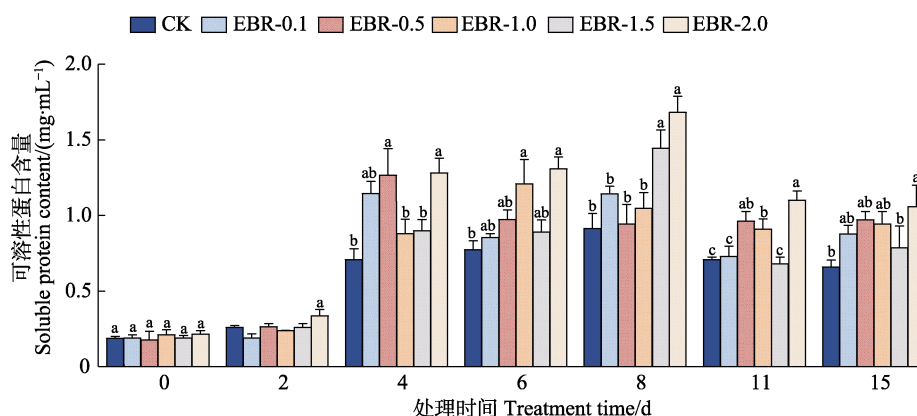


不同小写字母表示同一时间处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference between treatments at the same time ($P < 0.05$).

图 3 不同浓度 EBR 处理后植株的 MDA 含量变化

Fig. 3 Changes in MDA content of plants after treatment with different concentrations of EBR



不同小写字母表示同一时间处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference between treatments at the same time ($P < 0.05$).

图 4 不同浓度 EBR 处理后植株的可溶性蛋白含量变化

Fig. 4 Changes in soluble protein content of plants after treatment with different concentrations of EBR

蛋白的积累呈先升后降的趋势, 在第 8 天时可溶性蛋白含量达到最高, 各 EBR 处理均高于 CK, 2.0 mg/L EBR 处理上升幅度最大, 可溶性蛋白含量达到 1.68 g/mL, 说明 EBR 有利于植株积累可溶性蛋白以抵抗逆境, 其中 2.0 mg/L EBR 处理效果最好。

2.5 不同浓度 EBR 对低温胁迫下植株可溶性糖含量的影响

如图 5 所示, 随着胁迫时间的延长, 可溶性糖的积累呈先升后降的趋势, 在第 8 天时可溶性糖含量达到最高, 2.0 mg/L EBR 处理的上升幅度最大, 可溶性糖含量达到 46.49 mg/mL, 说明 2.0 mg/L EBR 处理协助植株抵抗低温胁迫的效果最好。

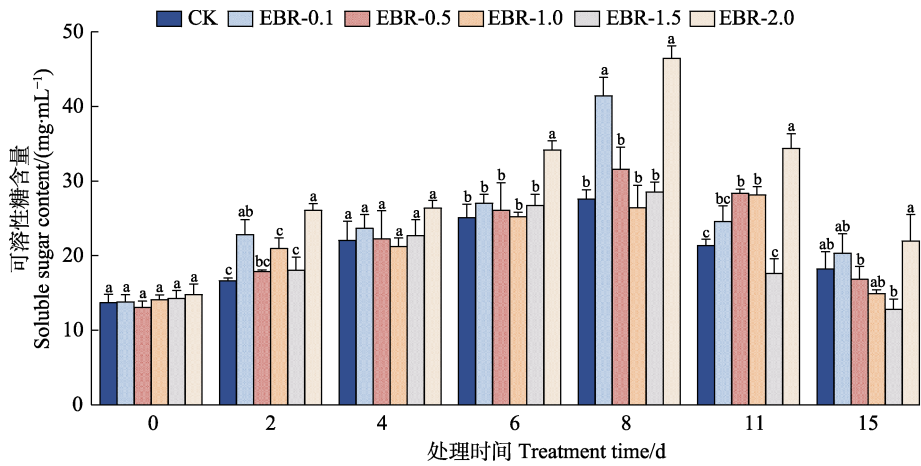
2.6 不同浓度 EBR 对低温胁迫下植株脯氨酸含量的影响

如图 6 所示, 随着胁迫时间的延长, 脯氨酸

逐渐积累, 在第 11 天时达到最高, 各 EBR 处理均高于 CK, 2.0 mg/L EBR 处理的上升幅度最大, 脯氨酸含量达到 142.28 $\mu\text{g/mL}$ 。在常温恢复阶段, 脯氨酸含量的积累明显高于低温胁迫的阶段, 这可能是由于应急残留与滞后反应, 虽然在第 8 天之后移至室外进行常温恢复, 但植物在经历长时间低温胁迫后, 其生理响应可能存在一定的滞后性。

2.7 不同浓度 EBR 对低温胁迫下植株叶绿素含量的影响

秋石斛幼苗经低温胁迫处理后, 随时间延长叶绿素 (Chl) 总含量变化整体较为平缓, 呈逐步下降的趋势, 但在低温处理前期各处理间未达到显著水平, 其中 2.0 mg/L EBR 处理的下降幅度最小, 在低温处理第 15 天仍达到 0.39 mg/g (图 7)。说明各处理中 2.0 mg/L EBR 处理对缓解 Chl 总含量降低效果最佳。

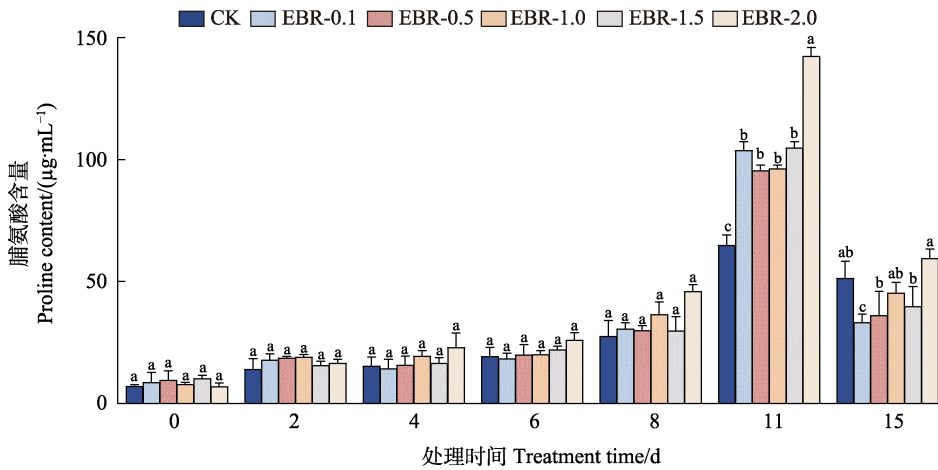


不同小写字母表示同一时间处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference between treatments at the same time ($P<0.05$).

图 5 不同浓度 EBR 处理后植株的可溶性糖含量变化

Fig. 5 Changes in soluble sugar content of plants after treatment with different concentrations of EBR

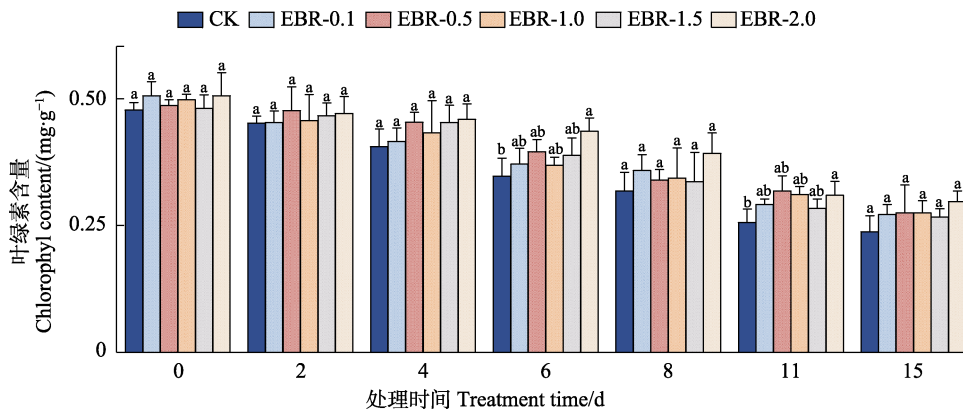


不同小写字母表示同一时间处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference between treatments at the same time ($P<0.05$).

图 6 不同浓度 EBR 处理后植株的脯氨酸含量变化

Fig. 6 Changes in proline content of plants after treatment with different concentrations of EBR



不同小写字母表示同一时间处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference between treatments at the same time ($P<0.05$).

图 7 不同浓度 EBR 处理后植株的叶绿素含量变化

Fig. 7 Changes in the chlorophyll content of plants after treatment with different concentrations of EBR

3 讨论

近年来,随着秋石斛生产规模的不断扩大,秋石斛耐低温研究越来越受到重视^[23-25]。表油菜素内酯作为一种植物生长调节物质,在植物由萌芽至果实成熟的整个生长发育周期内发挥着调节作用,这一观点已在多项研究中得到证实^[26-27]。通过外部施用表油菜素内酯,可以有效调控植物的多种生理机能,并显著增强植物应对各类环境胁迫的耐受力,包括低温、盐胁迫以及干旱等多种胁迫条件^[28-32]。而表油菜素内酯展现出极为突出的生物活性。该物质已被证明能够显著提升番茄、茶树、以及水稻等作物对低温胁迫的抵抗能力^[33-35]。

本研究发现,低温胁迫抑制了秋石斛幼苗的生长,导致叶绿素大量降解,产生黄叶、落叶。但是施用 EBR 后叶绿素含量降低速率明显低于 CK,可能是因为 EBR 通过提升叶片的光捕获效能、促进光合电子的传递过程以及增加叶绿素的合成量,以此达到减轻胁迫对秋石斛光合作用负面影响的效果。这也与前人在棉花^[36]、小麦^[37]、甜瓜^[38]等作物上的研究结果一致。同时,2.0 mg/L EBR 处理的秋石斛幼苗中可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量均明显高于 CK,说明外施 EBR 可以通过调控这些渗透调节物质合成,从而提升秋石斛的耐寒性。这与张小贝等^[39]、普布卓玛等^[40]的研究结果一致。此外,低温处理初期可溶性蛋白含量均呈现一定的上升趋势,与秦文斌等^[41]、元春宇等^[42]的研究结果一致。但也与沙伟等^[43]的研究结果不同,其原因可能是胁迫初期激活了秋石斛幼苗应激响应机制,导致防御蛋白的合成有所增加,若长时间处于低温环境,可能使得蛋白质合成速度低于蛋白质降解速度而导致含量下降。本研究中,CK 的 MDA 含量在低温处理前期与 EBR 处理组无较大差异,而在低温处理第 6 天各组 MDA 含量急剧上升,CK 显著高于其余 5 个 EBR 处理组,说明外施 EBR 处理能有效减缓低温条件下植物体内 O_2^- 的产生速率和 H_2O_2 含量,进而减少 MDA 的产生,这结果与在低温胁迫下外源油菜素内酯对水稻幼苗生长及生理特性的影响结果^[44]相似。

综上所述,外源 EBR 能够降低 MDA 积累、提升可溶性糖、可溶性蛋白以及脯氨酸含量,并减缓叶绿素的降解,且存在剂量效应,其中 2.0 mg/L EBR 施用效果最佳。说明适宜浓度的

EBR 处理可以减轻低温胁迫对秋石斛幼苗的伤害,提高秋石斛幼苗的耐寒性。

参考文献

- [1] 连青龙. 中国花卉产业的发展现状、趋势和战略[J]. 农业工程技术, 2018, 38(13): 28-35.
LIAN Q L. The current development status, trends, and strategies of the floriculture industry in China[J]. Agricultural Engineering Technology, 2018, 38(13): 28-35. (in Chinese)
- [2] 杨园. 中国花卉产业的发展现状、趋势和战略[J]. 现代园艺, 2019(11): 44-45.
YANG Y. The current development status, trends, and strategies of the floriculture industry in China[J]. Modern Horticulture, 2019(11): 44-45. (in Chinese)
- [3] 徐燕, 薛立, 屈明. 植物抗寒性的生理生态学机制研究进展[J]. 林业科学, 2007(4): 88-94.
XU Y, XUE L, QU M. Advances in research on the physiological mechanisms of plant cold resistance[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2007(4): 88-94. (in Chinese)
- [4] 林榕燕, 钟淮钦, 陈艺荃, 宋志强, 彭少兵, 陈姣姣, 张雪. 秋石斛钙依赖蛋白激酶基因的克隆及表达分析[J]. 西北植物学报, 2022, 42(11): 1818-1826.
LIN R Y, ZHONG H Q, CHEN Y Q, SONG Z Q, PENG S B, CHEN J J, ZHANG X. Cloning and expression analysis of calcium-dependent protein kinase genes in *Dendrobium nobile* Lindl.[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2022, 42(11): 1818-1826. (in Chinese)
- [5] 杨勇. 狗牙根品种草坪质量评价及耐寒性生理生化机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
YANG Y. Evaluation of lawn quality and study on the physiological and biochemical mechanisms of cold tolerance in bermudagrass varieties[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015. (in Chinese)
- [6] 徐晓昀, 郁继华, 颜建明, 胡琳莉, 李杰. 水杨酸和油菜素内酯对低温胁迫下黄瓜幼苗光合作用的影响[J]. 应用生态学报, 2016, 27(9): 3009-3015.
XU X Y, YU J H, XIE J M, HU L L, LI M. Effects of exogenous salicylic acid and brassinolide on photosynthesis of cucumber seedlings under low temperature stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27(9): 3009-3015. (in Chinese)
- [7] 杨欢欢. 紫花苜蓿低温胁迫过程的基因调控机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2021.
YANG H H. Study on the gene regulatory mechanisms during low temperature stress in alfalfa[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021. (in Chinese)
- [8] 毛林鲜, 朱芸琦, 吴美丽, 江丽华, 沈丽君, 王珮珩, 杨丽

- 娟. 低温胁迫对 3 种蕨类植物生理指标的影响[J]. 西南农业学报, 2022, 35(12): 2772-2779.
- MAO L X, ZHU Y Q, WU M L, JIANG L H, SHEN L J, WANG P H, YANG L J. Effects of low temperature stress on physiological indicators of three fern plants[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(12): 2772-2779. (in Chinese)
- [9] 方宇辉, 华夏, 韩留鹏, 梁学刚, 葛东璞, 张振岐, 高贵, 冯晓娟, 卢少威, 戚灵灵, 沈宝卿, 黄毅斌, 高晶. 非生物胁迫因素对小麦光合作用的影响研究进展[J]. 河南农业科学, 2023, 52(10): 1-13.
- FANG Y H, HUA X, HAN L P, LIANG X G, GE D P, ZHANG Z Q, GAO G, FENG X J, LU S W, QI L L, SHEN B Q, HUANG Y B, GAO J. Research progress on the effects of abiotic stress factors on wheat photosynthesis[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2023, 52(10): 1-13. (in Chinese)
- [10] 李丽菁, 张智韦, 薛云, 何军, 王克, 张亚玲, 程鹏勇. 低温胁迫对日本结缕草叶绿素代谢的影响[J]. 北京林业大学学报, 2022, 44(2): 91-99.
- LI L J, ZHANG Z W, XUE Y, HE J, WANG K, ZHANG Y L, CHENG P Y. Effects of low temperature stress on chlorophyll metabolism in *Zoysia japonica*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2022, 44(2): 91-99. (in Chinese)
- [11] 邓天福, 吴艳兵, 李广领, 王英, 胡冬青, 刘志明. 油菜素内酯提高植物抗逆性研究进展[J]. 广东农业科学, 2009(11): 21-25.
- DENG T F, WU Y B, LI G L, WANG Y, HU D Q, LIU Z M. Advances in research on brassinolide enhancing plant stress resistance[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2009(11): 21-25. (in Chinese)
- [12] PARVIZ H, MAHDI E, AMIN E, SAJJAD K, SAEID H. Exogenous EBR ameliorates endogenous hormone contents in tomato species under low-temperature stress[J]. Horticulturae, 2021, 7(4): 84.
- [13] 冯爱青, 彭格格. 外源水杨酸在杏鲍菇高低温胁迫中的作用[J]. 农业与技术, 2023, 43(13): 19-22.
- FENG A Q, PENG G G. The role of exogenous salicylic acid in *Pleurotus eryngii* under high and low temperature stress[J]. Agriculture and Technology, 2023, 43(13): 19-22. (in Chinese)
- [14] 刘楚非. 基于转录组和代谢组研究海藻糖对高温胁迫下茶树生理代谢的影响[D]. 福州: 福建农林大学, 2023.
- LIU C F. Study on the effects of trehalose on the physiological metabolism of tea plants under high temperature stress based on transcriptome and metabolome[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2023. (in Chinese)
- [15] CHEN H Y, CHEN X L, CHEN D, LI J F, ZHANG Y. A comparison of the low temperature transcriptomes of two tomato genotypes that differ in freezing tolerance: *Solanum lycopersicum* and *Solanum habrochaites*[J]. BMC Plant Biology, 2015, 15: 1-16.
- [16] 黄科文, 邓群仙, 李婉芝, 潘文新, 廖胜泉, 罗先金. 低温胁迫下油菜素内酯对枇杷幼果生理特性的影响[J]. 中农农业科技, 2024, 45(4): 23-26, 30.
- HUANG K W, DENG Q X, LI W Z, PAN W X, LIAO S Q, LUO X J. Effects of brassinolide on physiological characteristics of loquat young fruits under low temperature stress[J]. Central South Agricultural Science and Technology, 2024, 45(4): 23-26, 30. (in Chinese)
- [17] LU Y Z, HU Y G, LI P P. Consistency of electrical and physiological properties of tea leaves on indicating critical cold temperature[J]. Biosystems Engineering, 2017, 159: 89-96.
- [18] WANG Z L, WU D, HUI M, WANG Y J, ZHANG Y, ZHU L, LI S Y, WANG C H, JI Y H, LIU Z S, LIU C H. Screening of cold hardiness-related indexes and establishment of a comprehensive evaluation method for grapevines (*V. vinifera*)[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1014330.
- [19] 张军保, 陈宇姝, 田诗, 谢涛, 李泽红, 盖娟, 朱兰, 孙金才. 油菜素内酯对低温胁迫下冬小麦 *Rab15-like* 基因表达的影响[J]. 东北农业大学学报, 2024, 55(5): 28-34, 45.
- ZHANG J B, CHEN Y S, TIAN S, XIE T, LI Z H, GAI J, ZHU L, SUN J C. Effects of brassinolide on the expression of *Rab15-like* gene in winter wheat under low temperature stress[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2024, 55(5): 28-34, 45. (in Chinese)
- [20] 马媛媛, 王智, 曹金萍, 魏臻, 刘凤, 刘亚敏, 王秋月. 2,4-表油菜素内酯对盐碱胁迫下芸豆幼苗生长及生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2024, 44(8): 1181-1189.
- MA Y Y, WANG Z, CAO J P, WEI Z, LIU F, LIU Y M, WANG Q Y. Effects of 2,4-epibrassinolide on growth and physiological characteristics of kidney bean seedlings under saline-alkali stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2024, 44(8): 1181-1189. (in Chinese)
- [21] ANWAR A, BAI L Q, LI M, LIU Y M, LI S Z, YU X C, LI Y S. 2,4-epibrassinolide ameliorates endogenous hormone levels to enhance low-temperature stress tolerance in cucumber seedlings[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(9): 2497.
- [22] ZHAO X Q, HE F Q, QI G X, SUN S Q, SHI Z, NIU Y N, WU Z F. Transcriptomic and physiological studies unveil that brassinolide maintains the balance of maize's multiple metabolisms under low-temperature stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(17): 9396.

- [23] 何嘉琦. 秋石斛耐寒性评价体系的建立及应用[D]. 海口: 海南大学, 2017.
HE J Q. Establishment and application of cold tolerance evaluation system for *Dendrobium nobile* Lindl.[D]. Haikou: Hainan University, 2017. (in Chinese)
- [24] 刘涛, 梁晋豪, 邓祥平, 何嘉琦, 粟兴华, 肖德荣, 杜宏. 低温胁迫对“泼墨”秋石斛形态和生理指标的影响[J/OL]. 分子植物育种, 1-15 (2024-02-27)[2025-01-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240227.1435.004.html>.
LIU T, LIANG J H, DENG X P, HE J Q, SU X H, XIAO D R, DU H. Effects of low temperature stress on morphology and physiological indexes of *Dendrobium nobile* Lindl. ‘Pompei’[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 1-15 (2024-02-27) [2025-01-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240227.1435.004.html>. (in Chinese)
- [25] 陆顺教, 何嘉琦, 易双双, 王怡静, 何佑, 张博, 叶腾波. 秋石斛‘三亚阳光’中苗低温胁迫生理响应研究及耐寒指标筛选[J]. 热带作物学报, 2021, 42(1): 116-122.
LU S J, HE J Q, YI S S, WANG Y J, HE Y, ZHANG B, YE T B. Study on physiological responses and selection of cold tolerance indicators of *Dendrobium nobile* Lindl. ‘Sanya Sunshine’ under low temperature stress[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(1): 116-122. (in Chinese)
- [26] CHOUDHARY S P, YU J Q, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K, TRAN L S P. Benefits of brassinosteroid crosstalk[J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(10): 594-605.
- [27] LIN W H. Designed manipulation of the brassinosteroid signal to enhance crop yield[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 854.
- [28] 董亚茹, 孙景诗, 王照红, 耿兵, 赵东晓, 李云芝, 聂玉霞. 外源 2,4-表油菜素内酯对干旱胁迫下桑树根系生长的影响[J]. 蚕业科学, 2023, 49(2): 97-104.
DONG Y R, SUN J S, WANG Z H, GENG B, ZHAO D X, LI Y Z, NIE Y X. Effects of exogenous 2,4-epibrassinolide on root growth of mulberry under drought stress[J]. Acta Sericologica Sinica, 2023, 49(2): 97-104. (in Chinese)
- [29] KOU J. Mitigating effect of exogenous 2,4-epibrassinolide on the inhibition of oat seed germination under salt stress[J]. Pratacultural Science, 2020, 37(5): 916-925.
- [30] 宋建超, 杨才艳, 杨航, 鱼小军. 外源 2,4-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下垂穗披碱草种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 草原与草坪, 2023, 43(6): 121-129.
SONG J C, YANG C Y, YANG H, YU X J. Effects of exogenous 2,4-epibrassinolide on seed germination and seedling physiological characteristics of *Elymus nutans* under NaCl stress[J]. Grassland and Turf, 2023, 43(6): 121-129. (in Chinese)
- [31] 吴旺娉, 周伟江, 唐才宝, 刘坤, 曾红丽, 王悦. 2,4-表油菜素内酯对低温胁迫下水稻种子萌发及生理特性的影响[J]. 分子植物育种, 2020, 18(13): 4427-4434.
WU W B, ZHOU W J, TANG C B, LIU K, ZENG H L, WANG Y. Effects of exogenous 2,4-epibrassinolide on germination and physiological characteristics of rice seeds under chilling stress[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(13): 4427-4434. (in Chinese)
- [32] 朱瑞婷, 牛奎举, 张娣君, 杨阳, 宋云, 马晖玲. 外源 2,4-表油菜素内酯对镉胁迫下草地早熟禾叶绿素代谢的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(4): 635-643.
HU R T, NIU K J, ZHANG D J, YANG Y, SONG Y, MA H L. Effect of exogenous 2,4-epibrassinolide on the chlorophyll metabolism of kentucky bluegrass under cd stress[J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(4): 635-643. (in Chinese)
- [33] 李鑫, 李梦菡, 余红伟, 徐晨野, 刘亮, 李旭明, 管旺达, 康凯博, 王聪. 外源 2,4-表油菜素内酯诱导茶树低温抗性的生理机制研究[J]. 茶叶通讯, 2022, 49(3): 283-291.
LI X, LI M H, YU H W, XU C Y, LIU L, LI X M, GUAN W D, KANG K B, WANG C. Physiological mechanism of exogenous 2,4-epibrassinolide inducing low temperature resistance in tea plants[J]. Tea Communication, 2022, 49(3): 283-291. (in Chinese)
- [34] 刘丽杰, 丁美云, 刘晓娜, 王守忠, 苏燕, 殷惠琴, 丁维迎. 外源表油菜素内酯对小麦幼苗抗冷性的诱导效应[J]. 分子植物育种, 2020, 18(20): 6815-6821.
LIU L J, DING M Y, LIU X N, WANG S Z, SU Y, YIN H Q, DING W Y. Inducing effect of exogenous epibrassinolide on cold resistance of wheat seedlings[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(20): 6815-6821. (in Chinese)
- [35] 杨莲, 高欢, 吴凤芝. 2,4-表油菜素内酯对亚低温胁迫下番茄幼苗生长与钾积累的影响[J]. 中国蔬菜, 2021(1): 48-55.
YANG L, GAO H, WU F Z. Effects of 2,4-epibrassinolide on growth and potassium accumulation of tomato seedlings under sub-low temperature stress[J]. China Vegetables, 2021(1): 48-55. (in Chinese)
- [36] 李进, 张军高, 刘梦丽, 杜鹏程, 郗江, 杨久嗣, 雷斌. 4种外源物质对低温胁迫下棉花(*Gossypium hirsutum*)幼苗的缓解效应分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(17): 5792-5800.
LI J, ZHANG J G, LIU M L, DU P C, XI J, YANG J S, LEI B. Mitigation effect analysis of four exogenous substances on *Gossypium hirsutum* seedlings under low temperature stress[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(17): 5792-5800. (in Chinese)
- [37] 张奥深, 雍晓宇, 韩巧霞, 姚永伟, 师焕婷, 李鸽子, 康国章. 外施 2,4-表油菜素内酯缓解冬小麦拔节期冻害胁迫效应[J]. 华北农学报, 2022, 37(2): 78-83.
ZHANG A S, YONG X Y, HAN Q X, YAO Y W, SHI H T, LI G Z, KANG G Z. Alleviating effect of external applica-

- tion of 2,4-epibrassinolide on freezing stress in winter wheat at jointing stage[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2022, 37(2): 78-83. (in Chinese)
- [38] 张永平, 陈幼源, 杨少军. 高温胁迫下 2,4-表油菜素内酯对甜瓜幼苗生理及光合特性的影响[J]. *植物生理学报*, 2012, 48(7): 683-688.
- ZHANG Y P, CHEN Y Y, YANG S J. Effects of 2,4-epibrassinolide on physiological characteristics and photosynthesis of melon seedlings under high temperature stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2012, 48(7): 683-688. (in Chinese)
- [39] 张小贝, 祝志欣, 南文卓, 孙言博, 朱国鹏. 2,4-表油菜素内酯(EBR)对菜用甘薯抗寒生理生化的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2017, 44(3): 525-529.
- ZHANG X B, ZHU Z X, NAN W Z, SUN Y B, ZHU G P. Effects of 2,4-epibrassinolide (EBR) on cold resistance-related physiological-biochemical indexes of vegetable sweet potato[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2017, 44(3): 525-529. (in Chinese)
- [40] 普布卓玛, 罗艺岚, 高金柱, 孙鹏越, 赵东豪, 苗彦军, 付娟娟, 呼天明. 2,4-表油菜素内酯对低温胁迫下西藏野生垂穗披碱草幼苗抗氧化保护和渗透调节的影响[J]. *草地学报*, 2019, 27(3): 547-552.
- PUBU Z M, LUO Y L, GAO J Z, SUN P Y, ZHAO D H, MIAO Y J, FU J J, HU T M. Effect of 2,4-epibrassinolide on antioxidant defense and osmotic adjustment of *Elymus nutans* under low temperature stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2019, 27(3): 547-552. (in Chinese)
- [41] 秦文斌, 山溪, 张振超, 胡安明, 王慧忠. 低温胁迫对甘蓝幼苗抗逆生理指标的影响[J]. *核农学报*, 2018, 32(3): 576-581.
- QIN W B, SHAN X, ZHANG Z C, HU A M, WANG H Z. Effects of low temperature stress on stress-resistance physiological indicators of *Brassica oleracea* seedlings[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(3): 576-581. (in Chinese)
- [42] 亓春宇, 刘凤歧, 刘杰淋, 杨文娟, 张文杰. 低温胁迫下紫花苜蓿杂交代抗氧化酶及可溶性蛋白的动态聚类分析[J]. *中国草地学报*, 2017, 39(2): 53-58, 70.
- QI C Y, LIU F Q, LIU J L, YANG W J, ZHANG W J. Dynamic cluster analysis of antioxidant enzymes and soluble proteins in alfalfa hybrids under low temperature stress[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2017, 39(2): 53-58, 70. (in Chinese)
- [43] 沙伟, 刘焕婷, 谭大海, 李玉琪, 张春丽. 低温胁迫对扎龙芦苇 SOD、POD 活性和可溶性蛋白含量的影响[J]. *齐齐哈尔大学学报*, 2008(2): 1-4.
- SHA W, LIU H T, TAN D H, LI Y Q, ZHANG C L. Effects of low temperature stress on SOD, POD activities and soluble protein content in *Phragmites australis* in Zhalong[J]. *Journal of Qiqihar University*, 2008(2): 1-4. (in Chinese)
- [44] 周伟江, 吴旺斌, 唐才宝, 廖强, 罗高鹏, 罗俊安, 邓明珠, 郑敏华, 周兰兰. 外源油菜素内酯对低温胁迫下水稻幼苗生长及生理特性的影响[J]. *西北农业学报*, 2020, 29(9): 1410-1416.
- ZHOU W J, WU W P, TANG C B, LIAO Q, LUO G P, LUO J A, DENG M Z, ZHENG M H, ZHOU L L. Effects of exogenous brassinolide on growth and physiological characteristics of rice seedlings under low temperature stress[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2020, 29(9): 1410-1416. (in Chinese)