

## 低温胁迫对秋石斛‘三亚阳光’成苗生理特性的影响

莫顺金<sup>1,2,4</sup>, 何嘉琦<sup>2,4</sup>, 陆顺教<sup>2,4</sup>, 张志群<sup>2,4</sup>, 尹俊梅<sup>3,4\*</sup>, 徐诗涛<sup>1\*</sup>

1. 海南大学园艺学院, 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/农业农村部华南作物基因资源与种质创制重点实验室, 海南海口 571101; 3. 中国热带农业科学院海口实验站, 海南海口 571101; 4. 海南省热带观赏植物种质资源创新利用工程技术研究中心, 海南儋州 571737

**摘要:** 秋石斛 (*Dendrobium* spp.) 是一类原产于热带地区的观赏植物, 适合在高温高湿的环境栽培, 易受到低温胁迫。为探究秋石斛成苗对低温胁迫的生理响应及耐寒性, 本研究以秋石斛‘三亚阳光’成苗为试验材料, 观察及测定在 15、10、5℃ 低温胁迫处理 1、2、4、8 h 和 1、2、4、8、16 d 后的外部形态变化和生理指标, 统计各处理材料恢复生长后的落叶率, 分析各处理材料的可溶性蛋白、可溶性糖、游离脯氨酸、丙二醛和叶绿素含量, 以及电导率等抗寒生理指标变化规律, 并根据不同温度处理的相对电导率, 拟合 Logistic 方程计算半致死温度 (LT<sub>50</sub>), 进行低温半致死温度 (LT<sub>50</sub>) 和抗寒生理指标相关性分析, 探究不同低温环境下秋石斛成苗形态及生理响应特性, 了解其生长发育的规律。结果表明, 低温胁迫导致秋石斛‘三亚阳光’成苗的相对电导率、游离脯氨酸含量、丙二醛含量及落叶率均随着胁迫时间的延长明显增长, 且处于较高水平; 可溶性蛋白含量和可溶性糖含量不断波动, 处于先上升后下降, 再上升的状态; 而叶绿素含量则逐渐减少, 经 5℃ 处理 16 d 后的叶绿素含量降到最低, 含量为 0.2534 mg/g。通过相关性分析发现游离脯氨酸含量、丙二醛含量、落叶率均与半致死温度有极显著的相关性, 叶绿素含量与半致死温度呈显著相关性, 推测这些生理指标含量可作为‘三亚阳光’成苗耐寒性鉴定的主要指标。本研究结果为确定秋石斛‘三亚阳光’成苗耐寒鉴定指标和处理秋石斛冷害问题提供了理论依据, 并为进一步研究秋石斛对低温损伤的抗性奠定了基础。

**关键词:** 秋石斛; 成苗; 低温胁迫; 生理特性; 耐寒性

中图分类号: S682.31 文献标识码: A

## Effects of Low Temperature Stress on the Physiological Characteristics of *Dendrobium* Sonia Hiasakul Mature Plant

MO Shunjin<sup>1,2,4</sup>, HE Jiaqi<sup>2,4</sup>, LU Shunjiao<sup>2,4</sup>, ZHANG Zhiqun<sup>2,4</sup>, YIN Junmei<sup>3,4\*</sup>, XU Shitao<sup>1\*</sup>

1. School of Horticulture, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, Hainan 571101, China; 3. Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China; 4. Hainan Engineering Technology Research Center of Tropical Ornamental Plant Germplasm Innovation and Utilization, Danzhou, Hainan 571737, China

**Abstract:** *Dendrobium* is a class of ornamental plants native to tropical regions, suitable for cultivation in high temperature and high humidity environment, and susceptible to low temperature stress. To investigate the physiological response and cold tolerance of *Dendrobium* to low temperature stress, *Dendrobium* ‘Sonia Hiasakul’ mature (SH) were treated in temperature 15℃, 10℃ and 5℃ for 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, and the physiological indexes and morphological changes of SH were surveyed 1 d, 2 d, 4 d, 8 d and 16 d after. The changes of physiological indexes included soluble

收稿日期 2022-04-24; 修回日期 2022-06-12

基金项目 国家重点研发计划项目子课题 (No. 2019YFD1001003); 海南省重大科技计划项目 (No. ZDKJ2021015); 海南省自然科学基金高层次人才项目 (No. 320RC722)。

作者简介 莫顺金 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 花卉遗传育种。\*通信作者 (Corresponding author): 尹俊梅 (YIN Junmei), E-mail: yinjunmei2011@sina.com; 徐诗涛 (XU Shitao), E-mail: xushitao@hainanu.edu.cn。

protein, soluble sugar, free proline, malondialdehyde (MDA), chlorophyll content, electrical conductivity and the defoliation rate of the treated plants. Based on the relative conductivity of different temperature treatments, a Logistic equation was fitted to calculate the half-lethal temperature ( $LT_{50}$ ) of SH, and a correlation analysis between the half-lethal temperature at low temperature ( $LT_{50}$ ) and the physiological indexes of cold resistance was conducted, with the aim to investigate the morphological and physiological response characteristics of SH under different low temperature environment and to understand the pattern of its growth and development. The electrical conductivity, free proline, malondialdehyde (MDA) content and the defoliation rate of SH increased significantly with the extension of the stress time and the soluble protein and soluble sugar content fluctuated continuously, in a state of rising, falling, then rising again. The chlorophyll content decreased gradually, reaching the lowest 0.2534 mg/g treated at 5°C for 16 d. Correlation analysis revealed that the free proline, malondialdehyde (MDA), defoliation rate and semi-lethal temperature were all highly significantly correlated and chlorophyll content and semi-lethal temperature were significantly correlated, and it was speculated that the content of the physiological indicators was related to the cold resistance characteristics of SH. The study would provide a theoretical basis for determining the cold tolerance identification index and dealing with cold damage in SH, and lay a foundation for further research on the resistance of *Dendrobium* hybrids to low temperature damage.

**Keywords:** *Dendrobium*; mature plant; low temperature stress; physiological properties; cold resistance

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.02.011

秋石斛 (*Dendrobium* spp.) 别名蝴蝶石斛, 是兰科石斛属多年生草本植物, 其花色艳丽丰富, 且花期较长, 深受大众喜爱。秋石斛是重要的切花材料和盆花种类, 是许多国家和地区花卉产业的重要组成部分, 如澳大利亚、泰国、新加坡等。据统计, 我国花卉行业的市场规模在 2018 年已达 1562 亿元, 2019 年达 1656 亿元<sup>[1]</sup>。我国花卉市场形式逐渐改变, 正在形成“西南地区的鲜切花, 东南地区的苗木和盆栽, 西北寒冷地区的种球, 东北地区的花卉加工业”等四大生产布局<sup>[2]</sup>。在此环境下, 大力发展秋石斛花卉产业对地方经济、农民就业等有着至关重要的意义。

温度在植物生长过程中是一个十分重要的影响因子, 不同的生育期对温度的要求都不一样<sup>[3]</sup>。例如温度过高或过低都会使蝴蝶兰难以抽出花梗<sup>[4]</sup>, 持续足够的低温条件才能让春石斛完成花芽分化<sup>[5]</sup>, 当气温每升高 1°C 时, 兰科植物的结实物候期提前 2.6 d<sup>[6]</sup>, 由此可见适宜的温度对植株生长发育十分重要。秋石斛原产于热带及亚热带的一些岛屿和国家, 是典型的热带兰, 因此对生长环境有着十分严格的要求, 在气温为 25~30°C, 湿度为 60%~70% 的环境中才能正常生长和开花<sup>[7]</sup>。其独特的生长条件使得我国仅有部分地区能进行生产, 海南是全国唯一全部位于热带地区的省份, 地处热带北缘, 也是目前我国秋石斛的主要产地。但即使在海南, 冬季秋石斛栽培仍会受到低温的影响, 例如在 2016 年的低温气候就导致海南省东方市多个秋石斛品种受到低温损伤, 甚至

无法正常越冬<sup>[8]</sup>。随着全球环境气候的变化, 秋石斛更加容易遭受低温逆境胁迫。2021 年 1 月海南省多地气温创多年来 1 月上旬新低, 全岛平均气温降幅达 7~11°C, 部分乡镇最低气温降至 5°C 以下, 严重影响了秋石斛的冬季供花。且兰花暴露在寒冷下, 植株外部形态会明显发生变化, 叶片变黄, 植株倒伏等大大影响了兰花的观赏性, 对产业发展十分不利。我国引入秋石斛的时间较晚, 对其基础研究仍较少, 目前针对秋石斛的研究主要集中在栽培管理<sup>[9-10]</sup>、花色<sup>[11-12]</sup>及组织培养<sup>[13-14]</sup>等方面。在耐寒性方面研究相对欠缺, 文献报道较少, 因此, 本研究以市场上广泛栽培品种‘三亚阳光’成苗为试验材料, 通过测定不同低温条件下叶片生理指标变化规律, 探索其对不同程度低温耐受时间, 以期为‘三亚阳光’成苗生产中应对低温逆境问题提供理论依据。

## 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‘三亚阳光’成苗为试验材料, 挑选生长健壮, 状态良好, 长势相对一致的植株, 株高约 35~40 cm, 苗龄为 15 个月。

### 1.2 方法

1.2.1 试验设计 将植株放在温度梯度分别为 15、10、5°C 的人工气候培养箱中, 光暗比 14 h/10 h, 光强为 20 000 lx, 相对湿度为 85%, 在此

环境下分别设置 0 (CK)、1、2、4、8 h 和 1、2、4、8、16 d 的低温处理时间，每个处理 20 株，设 5 次生物学重复。处理结束后，将植株放回苗圃内恢复生长，观察记录落叶情况，并统计落叶率，同时观察开花情况。

**1.2.2 样品采集** 各低温处理结束后的植株随机采集 5 株顶端的全展叶片，用超纯水将叶片表明擦拭干净，后剪碎叶片混匀，用于各项生理指标的测定。测定相对电导率的植株设置同样的栽培环境，温度梯度为 10、5、0、-5℃，分别低温处理 12 h，同样随机取 5 株顶端的全展叶片用于电导率测定。每个处理重复 5 次，取平均值。

**1.2.3 测定方法** 可溶性蛋白、游离脯氨酸、丙二醛、叶绿素及可溶性糖含量的测定方法分别参照李合生<sup>[15]</sup>的考马斯亮蓝法、磺基水杨酸比色法、硫代巴比妥酸法、95%乙醇浸提法、蒽酮比色法进行测定。

### 1.3 数据处理

实验数据为 5 次重复，利用 Excel、SPSS、Origin 等软件进行数据统计分析和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫对秋石斛成苗生理指标的影响

**2.1.1 可溶性蛋白含量** 可溶性蛋白是植物体内一种重要的调节物质，能在植物感受到低温时起到一定的保护作用。由图 1A 可以看出，在不同低温处理下，秋石斛‘三亚阳光’的成苗叶片中可溶性蛋白含量呈现出一定规律，整体规律为降低-上升-降低-上升。在低温前期处理条件下，可溶性蛋白含量的下降可能是由于秋石斛对低温产生的应激反应，到 1 h 后又全部上升。15℃和 5℃处理的叶片在 2 h 又下降，到 1 d 时下降至最低点。而 10℃处理则从 1 h 上升至 4 h 后又显著下降，到 2 d 时下降至最低点，然后从最低点持续上升至至最高点，而 15℃和 5℃处理从 1 d 上升至 4 d 后又下降，到第 8 天时才显著上升。

**2.1.2 可溶性糖含量** 低温会影响植物水分的吸收，可溶性糖是新陈代谢的主要原料，可溶性糖含量的增多能提高细胞渗透浓度，增强保水能力，是一个重要的抗寒性指标。在 10℃与 15℃低温胁迫下，秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片中可溶性糖含量变化差异并不明显（图 1B），与可溶性蛋白量变化类似，刚开始略微下降，且变化趋势一致，后又呈现上升，下降，上升的变化规律。但是 5℃

处理时含量变化呈现较大差异，在处理 1 h 时就上升至最高值，可能是由于 5℃低温胁迫程度较大导致可溶性糖含量大幅度增长来避免较低温度带来的伤害，上升至 1 h 含量又显著下降至 4 h，之后又上升，到第 8 小时持续下降，直至第 8 天到达最低点后又迅速上升，变化幅度较大，与另外 2 种温度处理的可溶性糖含量变化不太一致。

**2.1.3 游离脯氨酸含量** 由图 1C 可以看出 15℃处理时，游离脯氨酸含量一直处于上升状态，但幅度较小，5℃与 10℃处理时波动上升，但增加趋势较大，而 5℃处理的游离脯氨酸含量在第 8 天上升至峰值后，随着处理天数的增加，游离脯氨酸含量不升反降，有可能是此温度太低，在这种强度温度下，秋石斛成苗的自身保护系统受到了破坏，造成了生理损伤，导致合成的游离脯氨酸含量下降。到 16 h 时 3 种温度处理的秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片游离脯氨酸含量都显著比对照高，其中 10℃时含量最高。游离脯氨酸是一种广泛存在于植物体内的蛋白质组分，本研究中游离脯氨酸含量变化和 MDA 含量变化类似，在 3 种低温处理下整体呈相近的上升趋势，表明这 2 类物质含量在低温胁迫下敏感程度类似。

**2.1.4 MDA 含量** 丙二醛 (MDA) 是脂膜过氧化的最终分解产物，其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度。从图 1D 中可以看出，秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片 MDA 含量在 3 种低温处理下整体呈上升趋势，其中 5℃处理时除了从第 2 小时至第 4 小时有小幅下降外，整体含量增长十分明显，表明植株在处理过程中持续受低温伤害。15℃处理在开始持续上升，从 4 h 到 2 d 时间范围内含量不断波动，2 d 后又持续上升到达最高点，表明植株在刚开始受到低温胁迫时受到伤害后，一段时间后出现了一定适应性，但是 2 d 后 MDA 含量不断增多，表明随着处理时间越久植株受到的伤害加剧。10℃处理时开始小幅度下降，4 h 时持续上升至第 4 天，之后又下降至第 8 天才上升至最高值。3 种温度处理的 MDA 含量均都在第 16 天时到达最高值，且含量相近，说明低温胁迫随着处理时间的延长加剧了 MDA 含量的积累。

**2.1.5 叶绿素含量** 叶绿素是植物光合作用必不可少的一种色素，叶绿体对低温较为敏感，低温胁迫会对叶绿体内造成伤害，破坏叶绿素结构，使得相关合成酶活性降低导致叶绿素合成速率降低，而且分解速度加快，进而减少叶绿素积累<sup>[16]</sup>。

从图 1E 中可以看出, 秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片的叶绿素含量 15℃处理时先小幅度上升至 1 h, 之后总体呈现下降的趋势。10℃处理时先略微下降, 而后呈现上升又下降的规律, 大体也呈降低趋势, 5℃处理同样呈上升-下降-上升趋势, 直至处理 1 d 时, 叶绿素含量大幅度下降。第 16 天时, 3 种低温处理的叶绿素含量都到达了最低值, 其中 15℃和 10℃处理呈一定波动性, 虽有下降趋势, 但下降不明显, 5℃处理的下降幅度最大, 可见秋石斛对 5℃冷胁迫的抵御能力较弱。

2.1.6 相对电导率及半致死温度 随着处理温度的降低, 秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片的相对电导率逐渐升高, 在 15、10、5、0℃时电导率分别为 26.9%、30.8%、56.6%、72.8%, 在-5℃时达到 96.0%, 表明叶片的细胞膜受伤害程度不断增大, 植物状态逐渐变差。-5℃时电导率大幅度上升, 接近 100%, 表明叶片细胞膜遭受到了严重伤害, 此时植株已基本死亡。根据不同温度处理下的相对电导率, 拟合 Logistic 方程, 求得‘三亚阳光’成苗的半致死温度 (LT<sub>50</sub>) 为 6.1℃。LT<sub>50</sub> 可代表植物在低温环境下细胞膜系统保持稳定性和完整性的能力, 所以 LT<sub>50</sub> 的高低也反映了植物抗寒能力的强弱<sup>[17-18]</sup>。

2.2 低温胁迫下对秋石斛成苗落叶的影响

叶片是植物光合作用的主要器官, 生长状况

的好坏会直接影响光合效率与光合产物的积累, 在植物感受到低温胁迫时, 叶片不仅生理状况会改变, 外部形态也会发生明显的变化, 秋石斛在低温胁迫后部分叶片变黄及脱落, 因此以胁迫后植株的落叶率来判断其抗寒性是比较直观的方法。从图 1F 可以看出 15℃条件下, 秋石斛‘三亚阳光’成苗的落叶率变化不明显, 比较稳定, 在处理第 8 天时落叶率到达最高, 但低于 20%, 从图 2 也可以明显看出, 15℃处理后的植株叶子仍然挺立。10℃和 5℃条件下落叶率随着处理时间的延长整体呈明显上升趋势, 在处理 8 h 以前, 落叶率较低并且处于波动状态, 均低于 20%, 落叶并不多, 但从 8 h 后落叶率开始上升, 处理 2 d 的落叶率开始骤升, 落叶开始增多, 10℃和 5℃处理的落叶率都在第 16 天到达最高值, 16 d 时 10℃处理落叶率达 95.92%, 叶片几乎落光, 5℃处理落叶率高达 100%, 叶子全部落光。表明秋石斛‘三亚阳光’成苗在 5℃低温下可以耐受 8 d, 10℃条件下最少可以耐受 16 d。从图 2~4 中也可以看出, 低温对秋石斛‘三亚阳光’成苗的开花也有影响, 15℃处理条件下, 实验材料的开花和花苞并没有受到多大影响, 处理后正常开花, 10℃和 5℃处理下, 随着处理时间延长, 从处理第 4 天开始, 花朵明显受到低温胁迫影响而凋落。

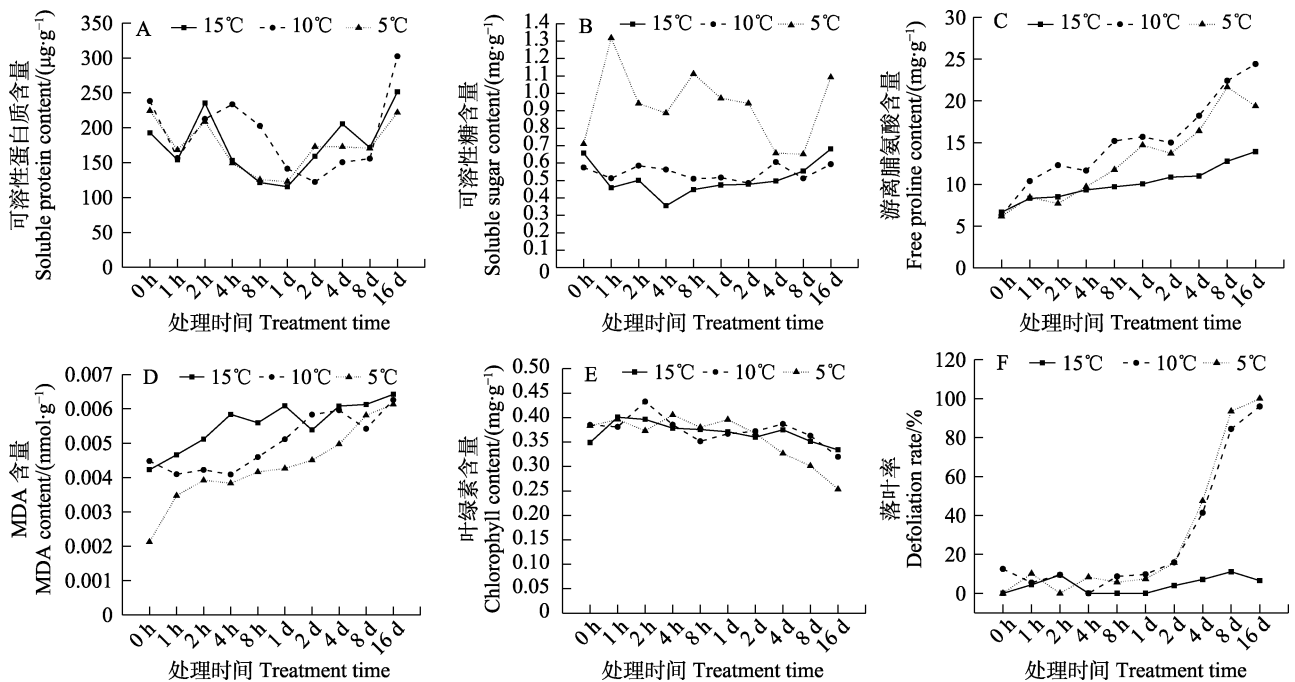


图 1 不同低温对秋石斛‘三亚阳光’成苗生理指标和落叶的影响

Fig. 1 Effects of different low temperatures on physiological indexes and defoliation rate of *Dendrobium* ‘Sonia Hiasakul’ mature plants

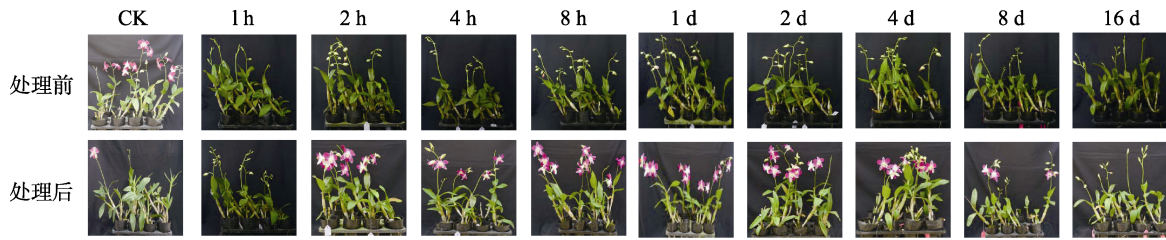


图 2 秋石斛‘三亚阳光’成苗 15°C 处理前后状况

Fig. 2 Condition of *Dendrobium* ‘Sonia Hiasakul’ mature plants before and after 15°C treatment

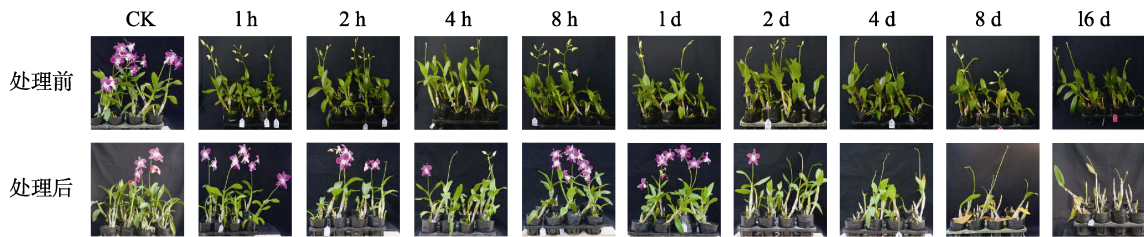


图 3 秋石斛‘三亚阳光’成苗 10°C 处理前后状况

Fig. 3 Condition of *Dendrobium* ‘Sonia Hiasakul’ mature plants before and after 10°C treatment

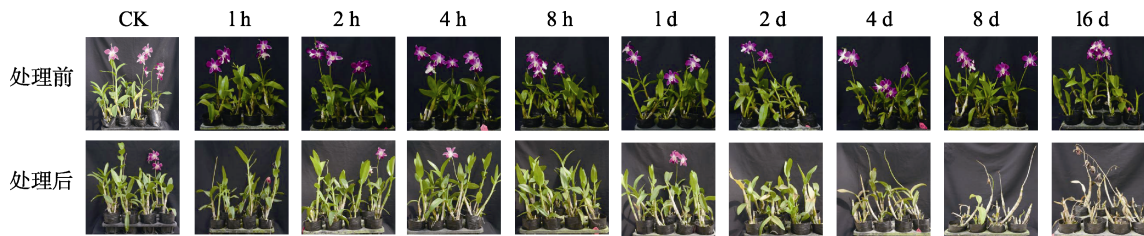


图 4 秋石斛‘三亚阳光’成苗 5°C 处理前后状况

Fig. 4 Condition of *Dendrobium* ‘Sonia Hiasakul’ mature plants before and after 5°C treatment

### 2.3 低温胁迫下秋石斛成苗叶片各生理指标及落叶率的相关性分析

通过对较低温度（5°C）和较长胁迫时间（16 d）处理下的秋石斛‘三亚阳光’成苗的各项生理指标进行相关性分析（表 1）发现，经 5°C 处理后，LT<sub>50</sub> 与游离脯氨酸、MDA 含量、落叶

率均有极显著的正相关，LT<sub>50</sub> 与叶绿素含量呈显著负相关；可溶性蛋白含量与叶绿素含量呈显著负相关；可溶性糖含量与游离脯氨酸含量呈显著正相关；叶绿素含量与可溶性蛋白、游离脯氨酸、MDA 含量、落叶率呈显著或极显著的负相关；游离脯氨酸含量和 MDA 含量呈极显著正相关，与

表 1 不同程度低温胁迫下秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片各生理指标及形态指标的相关性

Tab. 1 Correlation between physiological and morphological indexes of leaves of *Dendrobium* ‘Sonia Hiasakul’ mature plants under different degrees of low temperature stress

项目 Item	LT <sub>50</sub>	可溶性蛋白 Soluble protein	可溶性糖 Soluble sugar	叶绿素 Chlorophyll	游离脯氨酸 Free proline	MDA	落叶率 Defoliation rate
LT <sub>50</sub>							
可溶性蛋白	0.395						
可溶性糖	0.633	-0.212					
叶绿素	-0.880*	-0.719*	0.357				
游离脯氨酸	0.947**	0.338	0.744*	-0.872*			
MDA	0.958**	0.500	0.479	-0.953**	0.930**		
落叶率	0.885**	0.563	0.478	-0.967**	-0.910**	0.960**	

注：\*表示显著相关（ $P<0.05$ ），\*\*表示极显著相关（ $P<0.01$ ）。

Note: \* indicates significant correlation ( $P<0.05$ ), \*\* indicates extremely significant correlation ( $P<0.01$ ).

落叶率呈极显著负相关。

### 3 讨论

植物抗寒性受多个方面因素的影响,其耐寒机制是一个较为复杂的过程,目前评价植物抗寒性的指标包括生理生化指标、形态指标、基因、蛋白等。在正常生长时,植株体内的各种生理指标都是稳定而协调的,当植株感受到逆境时,体内的生理指标都相应地发生变化来应对逆境<sup>[19]</sup>。目前的研究发现,与植物抗寒性密切相关的生理指标有相对电导率、可溶性糖、可溶性蛋白、丙二醛、游离脯氨酸、叶绿素含量等。

细胞膜是植物与外界环境交换信息的重要受体,在低温逆境时细胞膜的生理变化反映了膜系统稳定性,也反映了抗性的强弱,植物受到低温胁迫会导致膜透性改变,破坏膜的完整性,造成胞内离子外渗,引起电导率升高,丙二醛是膜脂过氧化作用相关的产物,因此相对电导率和丙二醛含量常作为耐寒指标<sup>[20-21]</sup>。本研究中,秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片的电导率随着处理温度降低而不断上升,表明随着温度的降低,细胞膜透性不断下降,秋石斛受胁迫更加严重,这个结果与许多植物的研究结果一致,如蓝花楹<sup>[22]</sup>、文心兰<sup>[23]</sup>、微型月季<sup>[24]</sup>、黄金菊<sup>[25]</sup>等。丙二醛的含量也是随着胁迫温度的降低和处理时间的延长呈上升趋势,说明质膜受损加剧,与油茶<sup>[26]</sup>、茶树<sup>[27]</sup>、豆梨<sup>[28]</sup>等结果一致。低温胁迫下植物可以通过积累脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等渗透调节物质降低细胞渗透势,提高植物对逆境的适应性<sup>[29]</sup>。本研究发现秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片游离脯氨酸的含量与丙二醛,电导率类似,呈上升趋势,脯氨酸含量变化与蝴蝶兰<sup>[30]</sup>、垂穗披碱草<sup>[31]</sup>一致。而可溶性蛋白与可溶性糖的变化比较类似,并不是单纯上升趋势,而是在处理初期先出现降低,后又上升-降低-再上升的波动,上升并不明显,可能是这 2 种物质对低温不敏感,导致在低温胁迫过程中合成的量很少。

植物正常的生命活动离不开光合作用,在低温胁迫环境下为了抵御低温,各项生命活动速率会有一定程度的降低,从而导致叶绿素含量降低<sup>[32]</sup>。随着温度的降低和胁迫时间的延长,秋石斛‘三亚阳光’成苗叶片的叶绿素含量都呈下降趋势,这与低温条件处理下的柱花草<sup>[33]</sup>、蝴蝶兰<sup>[30]</sup>、茶树<sup>[27]</sup>叶绿素含量变化一致。

LT<sub>50</sub> 作为植物抗寒能力的重要生理指标之一,可以确定植物生态分布的最低温度<sup>[34]</sup>。该方法在红掌<sup>[35]</sup>、睡莲<sup>[36]</sup>等热带植物中都被用于快速鉴定植物的抗寒性。在本研究中,根据电导率求得的‘三亚阳光’成苗的半致死温度为 6.1℃,并且 LT<sub>50</sub> 与游离脯氨酸、MDA 含量、落叶率均有极显著的正相关,与叶绿素含量呈极显著负相关,说明这些指标可以作为秋石斛‘三亚阳光’成苗抗寒性评价指标。而在秋石斛‘三亚阳光’中苗的研究中,可溶性糖也可以作为抗寒性评价指标,说明不仅在不同植物中抗寒关键指标存在差异,即使是同一种植物,不同年龄段期间指标选择也略有不同<sup>[37]</sup>。

通过对生理和形态指标分析发现,秋石斛‘三亚阳光’成苗能抵御 5℃ 低温持续 2 d 时间,抵御 10℃ 低温 4 d 时间,5℃ 低温下超过 2 d 或 10℃ 低温下超过 4 d 可能导致‘三亚阳光’成苗植株收到损伤无法恢复,这与中苗和小苗的研究结果一致<sup>[37-38]</sup>。说明‘三亚阳光’并没有因为苗期的增长导致抗寒性增加,只是评价指标略有差别。不像在乔木植物望天树中,随着树龄的增长,其抗寒性不断增强<sup>[39]</sup>。因此在实际生产中遭遇低温灾害时,不能因为秋石斛‘三亚阳光’苗龄大就放松警惕降低保护,在面对不同苗龄的秋石斛低温胁迫时,要同样重视,保护措施需要到位。大多数植物经过低温锻炼能增强其抗寒能力,在了解了‘三亚阳光’的耐寒温度与时间后,可以根据此数据进行低温锻炼,例如 10℃ 低温锻炼 2 d,5℃ 低温锻炼 1 d 等。前人在自然低温条件下和模拟低温实验的研究中,‘三亚阳光’与其他秋石斛品种比较,都属于是抗寒性较差品种<sup>[8, 40]</sup>。但是在 16 个秋石斛品种的资源评价与筛选中,‘三亚阳光’被认为是最具商业开发和产业化生产的品种,综合得分最高,表明其市场价值、经济效益都比较好<sup>[41]</sup>。因此本研究阐述了秋石斛‘三亚阳光’在低温下的生理变化,探究‘三亚阳光’不同苗龄低温胁迫下的生理反应,对其今后生产应用,抗寒育种提供理论依据,具有一定的意义。

但现如今秋石斛耐寒品种相对较少,为选育出更多有价值的耐寒性品种,后续研究可以对市场上较受欢迎的一些品种进行低温胁迫试验,测定生理指标,进行耐寒能力评价。如‘水晶’‘金如意’,经调查是较受欢迎的品种<sup>[41]</sup>,且在自然低温下耐寒性较强<sup>[8]</sup>,可以进一步对这些品种进

行低温胁迫试验, 探究其生理响应机制, 筛选更加优质的抗寒种质资源, 为今后秋石斛产业发展奠定基础。宏观上可以通过对植物形态以及生理生化变化的研究来鉴定植物的抗寒性; 微观上可以对植物的基因表达水平进行研究从而对植物的抗寒性进行评价。目前已经有许多与植物低温诱导表达相关的基因已经得到分离、鉴定, 也获得了无需经过低温驯化抗寒能力就大有提高的转基因拟南芥植株<sup>[42]</sup>, 但是秋石斛在耐寒基因方面的研究较少, 今后也可以从分子方面入手, 通过过表达耐寒基因培育出耐寒性较好的秋石斛品种。

## 参考文献

- [1] 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 development status trends and strategies of China's flower industry[J]. Contemporary Horticulture, 2019(11): 44-45. (in Chinese)
- [2] 李思, 李慧婷, 徐诗涛, 武华周, 余文刚, 王健. 自贸港建设背景下海南热带花卉产业发展刍议[J]. 安徽农学通报, 2021, 27(13): 81-87.  
LI S, LI H T, XU S T, WU H Z, YU W G, WANG J. Development of Hainan's tropical flower industry under the background of free trade port construction[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2021, 27(13): 81-87. (in Chinese)
- [3] 廖雪萍. 南宁市引种金花茶的气候分析与评价[J]. 广西气象, 1998(3): 36-38.  
LIAO X P. Climatic analysis and evaluation of the introduction of *Camellia sinensis* in Nanning[J]. Journal of Meteorological Research and Application, 1998(3): 36-38. (in Chinese)
- [4] 唐芸妃, 徐旭华, 丰锋, 赖思婷, 杨世茵, 区健晴, 廖菲. 温度对蝴蝶兰成花诱导的影响[J]. 广东农业科学, 2020, 47(9): 47-52.  
TANG Y F, XU X H, FENG F, LAI S T, YANG S Y, OU J Q, LIAO F. Effect of temperature on flower induction of *Phalaenopsis amabilis*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2020, 47(9): 47-52. (in Chinese)
- [5] 郑宝强, 邓茜玫, 李奎, 缪崑, 王雁. 不同温度处理对石斛兰花芽分化和发育的影响[J]. 林业科学研究, 2017, 30(3): 460-464.  
ZHENG B Q, DENG Q M, LI K, MU K, WANG Y. Effects of temperature treatment on flower bud differentiation and development of *Dendrobium*[J]. Forest Research, 2017, 30(3): 460-464. (in Chinese)
- [6] 张娜, 孙露, 张伟, 张石宝. 中国兰科植物结实物候与主要气候因子关系初探[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(5): 1-9.  
ZHANG N, SUN L, ZHANG W, ZHANG S B. Preliminary study on relationship between fruiting phenology of Orchidaceae in China and major climatic factors[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2021, 30(5): 1-9. (in Chinese)
- [7] 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.  
WU R H, LI Z J, WANG Y. *Dendrobium* species and their greenhouse cultivation[J]. Agricultural Engineering Technology, 2007(1): 34-35. (in Chinese)
- [8] 何嘉琦, 陆顺教, 黄少华, 张冬雪, 尹俊梅. 自然低温下秋石斛田间耐寒性评价[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(30): 12-15.  
HE J Q, LU S J, HUANG S H, ZHANG D X, YIN J M. Evaluation on cold resistance of *Dendrobium* in the field under natural low temperature[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2016, 44(30): 12-15. (in Chinese)
- [9] 谢光明, 李秀梅, 刘进平. 盆栽秋石斛兰花大规模育苗和种植管理技术[J]. 中国热带农业, 2021(5): 94-96.  
XIE G M, LI X M, LIU J P. Techniques of large-scale growing and planting management for potted *Phalaenopsis*-type *Dendrobium*[J]. China Tropical Agriculture, 2021(5): 94-96. (in Chinese)
- [10] 廖易. 秋石斛栽培与养护[J]. 中国花卉园艺, 2018(24): 28-30.  
LIAO Y. Cultivation and maintenance of *Dendrobium*[J]. China Flowers & Horticulture, 2018(24): 28-30. (in Chinese)
- [11] 殷涵泰, 尹俊梅, 廖易, 陆顺教, 李崇晖. 基于秋石斛花朵颜色、色素分布及表皮细胞形态的表型分类[J]. 园艺学报, 2021, 48(10): 1907-1920.  
YIN H T, YIN J M, LIAO Y, LU S J, LI C H. Phenotype classification based on flower color, pigment distribution and epidermal cell shape of *Dendrobium* hybrids[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(10): 1907-1920. (in Chinese)
- [12] 李崇晖, 任羽, 黄素荣, 黄少华, 杨光穗. 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.  
LI C H, REN Y, HUANG S R, HUANG S H, YANG G S. Floral colors of *Phalaenopsis* type *Dendrobium* and their flavonoid composition[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2013, 40(1): 107-116. (in Chinese)
- [13] 游云飞. 秋石斛茎段离体再生体系的建立[J]. 亚热带农业研究, 2018, 14(4): 271-275.  
YOU Y F. Establishment of *in vitro* stalk regeneration system from stem explants of *Dendrobium hybridum*[J]. Subtropical Agriculture Research, 2018, 14(4): 271-275. (in Chinese)

- Chinese)
- [14] 陈齐明, 鲍晓红, 高小坤, 舒婷. 秋石斛丛生芽诱导增殖技术研究[J]. 福建林业, 2017(6): 33-37.  
CHEN Q M, BAO X H, GAO X K, SHU T. The techniques of cluster bud induction and propagation for *Dendrobium hybrida*[J]. Fujian Forestry, 2017(6): 33-37. (in Chinese)
- [15] 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, 2000: 257-261.  
LI H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher education press, 2000: 257-261. (in Chinese)
- [16] 李文明, 辛建攀, 魏驰宇, 田如男. 植物抗寒性研究进展[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(12): 6-11.  
LI W M, XIN J P, WEI C Y, TIAN R N. Advances in plant cold resistance research[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(12): 6-11. (in Chinese)
- [17] 孙宜, 石青松, 孙猛, 樊金龙, 施文斌. 以电导法配合 Logistic 方程测定 6 个紫薇新品种抗寒性[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(1): 20-22.  
SUN Y, SHI Q S, SUN M, FAN J L, SHI W B. Determination of cold resistance of six new cultivars of *Lagerstroemia indica* by conductivity method with Logistic equation[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2019, 60(1): 20-22. (in Chinese)
- [18] 王莉婷, 吴海东, 杨攀, 郭凤民, 孙桂琴. 电导法配合 Logistic 方程测定施肥对月季抗寒性的影响[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(10): 101-104.  
WANG L T, WU H D, YANG P, GUO F M, SUN G Q. Effects of fertilization on the cold resistance of Chinese rose base on conductivity method and the Logistic equation[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2020, 59(10): 101-104. (in Chinese)
- [19] 张亚军, 王丽学, 陈超, 王堃. 植物对逆境的响应机制研究进展[J]. 江西农业学报, 2011, 23(9): 60-65.  
ZHANG Y J, WANG L X, CHEN C, WANG K. Research progress in response mechanism of plants to adversity stress[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2011, 23(9): 60-65. (in Chinese)
- [20] 杨德浩, 杨敏生, 王进茂, 王世兰, 李帅英. 欧洲白桦苗期低温胁迫时膜系统的变化[J]. 东北林业大学学报, 2004(6): 13-15.  
YANG D H, YANG M S, WANG J M, WNAG S L, LI S Y. Europe birch's membrane system changes under low temperature menace in the period of seedling[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2004(6): 13-15. (in Chinese)
- [21] 杜永吉, 于磊, 孙吉雄, 鲁为华. 结缕草 3 个品种抗寒性的综合评价[J]. 草业学报, 2008(3): 6-16.  
DU Y J, YU L, SUN J X, LU W H. Comprehensive assessment of cold resistance of three *Zoysia japonica* varieties[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2008(3): 6-16. (in Chinese)
- [22] 周静, 曾学英, 贺维, 李佳泳, 张炜. 低温胁迫下蓝花楹的耐寒生理机制分析[J]. 西南农业学报, 2016, 29(1): 74-80.  
ZHOU J, ZENG X Y, HE W, LI J Y, ZHANG W. Mechanism of chilling injury in *Jacaranda acutifolia* Humb. et Bonpl. under chilling stress[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2016, 29(1): 74-80. (in Chinese)
- [23] 罗远华, 黄敏玲, 林榕燕, 钟淮钦. 文心兰顶叶对低温胁迫的生理响应[J]. 福建农业学报, 2017, 32(10): 1101-1105.  
LUO Y H, HUANG M L, LIN R Y, ZHONG H Q. Physiological responses of apical leaves on *Oncidium* plants under low temperature stress[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2017, 32(10): 1101-1105. (in Chinese)
- [24] 朱晓非, 曾丽, 刘洋, 刘晓丛, 彭勇政. 微型月季低温处理后生理指标变化及其耐寒性评价[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2017, 35(4): 21-25.  
ZHU X F, ZENG L, LIU Y, LIU X C, PENG Y Z. Changes of physiological indexes and evaluation of cold tolerance of miniature rose after low temperature treatment[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University(Agricultural Science), 2017, 35(4): 21-25. (in Chinese)
- [25] 陈嫣嫣, 王瑛, 张林娟. 黄金菊抗寒性生理指标的测定研究[J]. 上海建设科技, 2018(5): 63-66.  
CHEN Y Y, WNAG Y, ZHANG L J. Determination of physiological indexes of cold resistance of golden *Chrysanthemum*[J]. Shanghai Construction Science & Technology, 2018(5): 63-66. (in Chinese)
- [26] 程军勇, 姜德志, 邓先珍, 窦坦祥, 涂炳坤. 低温胁迫下的油茶品种耐寒性评价[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(18): 3484-3488.  
CHENG J Y, JIANG D Z, DENG X Z, DOU T X, TU B K. Comprehensive evaluation of cold tolerance of *Camellia oleifera* cultivars in different low temperature stress[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017, 56(18): 3484-3488. (in Chinese)
- [27] 刘宇鹏, 陈芳, 胡家敏, 谷晓平. 低温对茶树叶片生理生化指标的影响[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(7): 1120-1122.  
LIU Y P, CHEN F, HU J M, GU X P. Effects of low temperature on physiological and biochemical indexes of tea leaves[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2018, 59(7): 1120-1122. (in Chinese)
- [28] 李清亚, 路斌, 赵佳伟, 栗浩, 李艳. 不同豆梨品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, 48(1): 86-94.  
LI Q Y, LU B, ZHAO J W, LI H, YI Y. Physiological response and cold resistance evaluation of different *Pyrus calleryan* varieties under low temperature stress[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition),

- 2020, 48(1): 86-94. (in Chinese)
- [29] 李高志, 朱亚军, 周生财, 陆云峰, 张俊红. 2种叶型桢楠对低温胁迫的生理响应及耐寒性分析[J]. 浙江农林大学学报, 2017, 34(2): 310-318.  
LI G Z, ZHU Y J, ZHOU S C, LU Y F, ZHANG J H. Physiological indices at low temperature stress for two types of *Phoebe zhenan*[J]. Journal of Zhejiang A & F University, 2017, 34(2): 310-318. (in Chinese)
- [30] 郝平安, 梁芳, 张燕, 程邵丽, 袁秀云. 低温胁迫对蝴蝶兰光合及生理特性的影响[J]. 热带作物学报, 2018, 39(10): 1955-1962.  
HAO P A, LIANG F, ZHANG Y, CHENG S L, YUAN X Y. Effects of cold stress on the photosynthetic and physiological characteristics of *Phalaenopsis*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(10): 1955-1962. (in Chinese)
- [31] 梁坤伦, 贾存智, 孙金豪, 王明艳, 傅华, 毛祝新. 高寒地区垂穗披碱草种质对低温胁迫的生理响应及其耐寒性评价[J]. 草业学报, 2019, 28(3): 111-121.  
LIANG K L, JIA C Z, SUN J H, WANG M Y, FU H, MAO Z X. Evaluation of physiological responses and tolerance to low-temperature stress of ten *Elymus nutans* varieties[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(3): 111-121. (in Chinese)
- [32] 杨阳, 王红丽, 高平. 低温胁迫对矮斗菜叶片形态和生理特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(23): 151-153.  
YANG Y, WANG H L, GAO P. Effects of low temperature stress on leaf morphology and physiological characteristics of columbine[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(23): 151-153. (in Chinese)
- [33] 刘华. 低温胁迫对3种柱花草幼苗抗性生理指标的影响[J]. 青海草业, 2018, 27(1): 14-19.  
LIU H. Physiological index effects of 3 kinds of *Stylosanthes* by cold stress[J]. Qinghai Prataculture, 2018, 27(1): 14-19. (in Chinese)
- [34] 张天翔, 曹明华, 林艺华, 林宗铿. 应用电导法配合 Logistic 方程确定‘多福’甜椒的抗寒性[J]. 分子植物育种, 2018, 16(12): 4068-4071.  
ZHANG T X, CAO M H, LIN Y H, LIN Z K. Measurement of cold tolerance in *Capsicum annuum* ‘Duofu’ based on REC and the Logistic equation[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(12): 4068-4071. (in Chinese)
- [35] 杨克彬, 孟凡志, 郭先锋. 七个切花红掌品种对低温胁迫的生理响应及耐低温能力评价[J]. 植物生理学报, 2017, 53(9): 1609-1618.  
YANG K B, MENG F Z, GUO X F. Physiological response to low temperature stress and comprehensive evaluation of low temperature tolerance among seven cut *Anthurium andraeanum* cultivars[J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(9): 1609-1618. (in Chinese)
- [36] 程哲. 热带睡莲品种资源的耐寒性评价[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.  
CHENG Z. Evaluation of cold tolerance of tropical water lily varieties[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [37] 陆顺教, 何嘉琦, 易双双, 廖易, 李克烈. 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, LIAO Y, LI K L. Physiological response of low temperature stress and screening of cold-resistant assessment indicators of middle age plantlets *Dendrobium Sonia Hiasakul*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(1): 116-122. (in Chinese)
- [38] 何嘉琦, 陆顺教, 任羽, 杨光穗, 尹俊梅. 秋石斛‘三亚阳光’幼苗对不同程度低温胁迫的生理响应[J]. 北方园艺, 2017(4): 62-66.  
HE J Q, LU S J, REN Y, YANG G S, YIN J M. Physiological response of *Dendrobium Sonia Hiasakul* seedling on different degrees of low temperature stress[J]. Northern Horticulture, 2017(4): 62-66. (in Chinese)
- [39] 陈凯, 江秀章, 马松亚, 程飞, 杨梅. 望天树苗期叶片对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(3): 67-73.  
CHEN K, JIANG X Z, MA S Y, CHENG F, YANG M. Physiological response and cold resistance evaluation of the leaves of *Parashorea chinensis* seedlings to low temperature stress[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34(3): 67-73. (in Chinese)
- [40] 林榕燕, 钟淮钦, 方能炎, 林兵, 叶秀仙. 秋石斛抗寒性生理的综合评价[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(9): 111-116.  
LIN R Y, ZHONG H Q, FANG N Y, LIN B, YE X X. Comprehensive evaluation of cold resistance physiology of autumn *Dendrobium* spp[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(9): 111-116. (in Chinese)
- [41] 高小坤. 秋石斛品种资源的评价与筛选[J]. 山东林业科技, 2018, 48(5): 9-13.  
GAO X K. Value assessment and selection of *Dendrobium hybridus* cultivars[J]. Journal of Shandong Forestry Science and Technology, 2018, 48(5): 9-13.
- [42] GILMOUR S J, SEBOLT A M, SALAZAR M P, EVERARD J D, THOMASHOW M F. Overexpression of the *Arabidopsis* CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation[J]. Plant physiology, 2000, 124(4): 1854-1865.