

DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).zk201705059

低温贮藏期间 3 种独蒜兰芽发育及生理变化研究*

江鸣涛^{1,2}, 李云霞^{1,2}, 张艺祎^{1,2}, 彭东辉^{1,2}, 兰思仁^{1,2}, 吴沙沙^{1,2**}

(1. 福建农林大学 园林学院, 福建 福州 350002;

2. 福建农林大学 海峡兰花保育研究中心, 福建 福州 350002)

摘要:【目的】以艳花独蒜兰(*Pleione aurita*)、云南独蒜兰(*P. yunnanensis*)和黄花独蒜兰(*P. forrestii*)的休眠假鳞茎为试验材料, 研究低温贮藏期间独蒜兰芽发育和生理生化的变化, 为独蒜兰属植物的低温贮藏提供参考。【方法】将 3 种独蒜兰贮藏于(4±1)℃条件, 在 0、30、60、90、120 d 时测定新芽长度、可溶性蛋白含量、SOD 活性和 POD 活性。【结果】3 种独蒜兰假鳞茎在(4±1)℃低温冷藏 60 d 后芽开始伸长。艳花独蒜兰假鳞茎中可溶性蛋白含量无明显变化, SOD 活性在处理 120 d 时出现显著降低, POD 活性在 30~60 d 时呈现明显下降, 90~120 d 再上升。云南独蒜兰和黄花独蒜兰假鳞茎可溶性蛋白呈增加趋势, 而 SOD 活性无明显变化, POD 活性在 0~30 d 时明显下降, 30~60 d 呈上升趋势。【结论】艳花独蒜兰、云南独蒜兰和黄花独蒜兰落叶休眠假鳞茎在(4±1)℃条件贮藏 60 d 后可进行栽培, POD 活性的降低有利于三者新芽的萌动。

关键词: 低温贮藏; 休眠; 生理; 芽

中图分类号: S 682.310.1

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X(2018)03-0572-05

The Bud Development and Physiology of Three Species of *Pleione* during Cold Storage

JIANG Mingtao^{1,2}, LI Yunxia^{1,2}, ZHANG Yiyi^{1,2}, PENG Donghui^{1,2},
LAN Siren^{1,2}, WU Shasha^{1,2}

(1. College of Landscape Architecture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2. Fujian Cross-Straits Orchids Conservation and Research Center, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: [Purpose] In order to provide a reference for the cold storage of *Pleione* species, the dormant pseudobulbs of *P. aurita*, *P. yunnanensis*, and *P. forrestii* were used as materials to investigate the bud development and physiology during the cold storage. [Method] The pseudobulbs were stored at (4±1)℃, the lengths of new bud were measured, as well as the soluble protein content, SOD and POD activity after 0, 30, 60, 90, 120 days. [Result] The buds started to germinate after 60 days. For *P. aurita*, the soluble protein content decreased slightly, while SOD activity declined significantly on 120 day. POD activity declined from 30 to 60 days, and then increased from 90 to 120 days. The soluble protein content of *P. yunnanensis* and *P. forrestii* increased during this period, while the change of SOD activity was not significant. The POD activity declined from 0 to 30 days, and then in-

收稿日期: 2017-05-31

修回日期: 2017-11-04

网络出版时间: 2018-06-22

*基金项目: 国家教育部博士点基金(20133515120017); 福建省自然科学基金(2014J0102); 福建省教育厅新教师项目(JA13123)。

作者简介: 江鸣涛(1990—), 男, 福建漳州人, 博士研究生, 主要从事园林植物资源与应用研究。

E-mail: mtjiang1990@126.com

**通信作者 Corresponding author: 吴沙沙(1984—), 女, 河北邯郸人, 博士, 副教授, 主要从事园林植物资源与应用研究。E-mail: shashawu1984@126.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).zk201705059](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).zk201705059)

creased from 30 to 60 days. [Conclusion] After stored at $(4\pm 1)^\circ\text{C}$ for 60 days, the dormant pseudobulbs of *P. aurita*, *P. yunnanensis*, and *P. forrestii* should be planted. The decreased of POD activity promoted the germination of new bud.

Keywords: cold storage; dormancy; physiology; bud

温度通过影响植物体内酶的活性引起相应的生理生化反应,导致植物体内的营养及结构等物质的含量发生变化,进而影响花芽分化和开花^[1]。低温处理对于促成春植球根和二年生春化植物具有重要的作用。有研究表明:唐菖蒲 (*Gladiolus gandavensis*) 在室温条件下可打破球茎休眠,但一致性很差, 5°C 低温处理有利于球茎解除休眠,促进萌芽和生长^[2]。常温处理的郁金香 (*Tulipa gesneriana*) 切花品质差,低温处理能明显提高切花质量^[3]。

独蒜兰属 (*Pleione* D. Don) 是兰科 (Orchidaceae) 植物中具有极高观赏价值的属,其花色鲜艳,深受人们的喜爱,为优良的盆栽观赏植物,在美、日、欧等地栽培较普遍且已实现规模化商业性栽培^[4]。该属植物属于亚热带高山植物,夏季需冷凉气候,落叶后球茎休眠以度过冬季的低温期。有研究表明:独蒜兰 (*P. bulbocodioides*) 休眠的假鳞茎不需要经过低温诱导解除休眠,维持冷凉的生长环境,相应的生长发育进程就会启动, $20^\circ\text{C}/15^\circ\text{C}$ 和 $15^\circ\text{C}/10^\circ\text{C}$ 培养温度有利于独蒜兰的生长和开花^[1]。台湾独蒜兰 (*P. formosana*) 不经过低温处理也可进行相应的发育进程,但球茎在 $2\sim 5^\circ\text{C}$ 冷藏 8~10 周比在 0°C 、 10°C 或者室温贮藏的球茎开花品质好,在 5°C 条件下冷藏 8 周可减少台湾独蒜兰的消蕾,且开花率最高,休眠期的假鳞茎运输途中宜以低温贮运^[5]。较为苛刻的生长温度条件限制了独蒜兰属植物的种植推广,低海拔地区冬季平均温度较高,往往会造成哑花的情况,导致观赏价值较低;因此低温储存对独蒜兰属植物的运输、花期调控和提高花卉品质有重要的意义。本试验探究低温贮藏过程中艳花独蒜兰 (*P. aurita*)、云南独蒜兰 (*P. yunnanensis*) 和黄花独蒜兰 (*P. forrestii*) 的形态和生理生化的变化规律,旨在为独蒜兰属假鳞茎的低温贮藏提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验选用的艳花独蒜兰、云南独蒜兰和黄花

独蒜兰均为中国云南原产,花期集中在 3—5 月^[6]。2015 年 1 月 10 日,去除供试材料的老根和杂质后,用 50% 多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液浸泡 10 min,取出后用清水冲洗干净置于阴凉通风处,晾干表面水分后,每种挑选 30 个同等大小的种球,装入未封口的自封袋内,填充基质为经过杀菌洗净后晾干的水苔,贮藏在 $(4\pm 1)^\circ\text{C}$ 的冷库中。每种选择 10 个假鳞茎,在贮藏 0、30、60、90、120 d 时分别测定新芽长度。在相应的时期,每次随机选取同种假鳞茎 3 个,在冰上将假鳞茎剪碎混匀后,每个样品称量 1 g 左右,锡箔纸分别包好后液氮速冻 30 min,此后转入 -80°C 的冰箱中保存备用。

1.2 试验方法

粗酶液制备:每个时期 3 个样品各取 0.1 g, 3 次重复,分别装入 5 mL 离心管中,并加入 1 个直径 6 mm 的钢珠。液氮冷浴后,用高通量组织研磨器研磨 5 min,加入 4 mL 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0) 混匀。将制备好的粗酶液置于 $(4\pm 1)^\circ\text{C}$ 、1 200 r/min 冷冻离心机中离心 15 min。离心后,将吸取的上清液置于 $(4\pm 1)^\circ\text{C}$ 冰箱保存。参照高俊凤^[7]考马斯亮蓝染色法测定可溶性蛋白含量,参照张蜀秋^[8]的方法测定 SOD 活性与 POD 活性。

1.3 数据处理

数据采用 Excel 2010 (Microsoft, 美国) 进行数据统计和图形绘制,采用 SPSS 19.0 (IBM, 美国) 统计软件对结果进行方差分析,并使用 Duncan 法进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 新芽生长情况

3 种独蒜兰贮藏 30~60 d 后开始伸长,90~120 d 时,新芽生长达到高峰,其中艳花独蒜兰与黄花独蒜兰新芽伸长长度显著高于前期(表 1),同时少数植株母球开始皱缩,并出现花苞和根。贮藏 120 d 后艳花独蒜兰新芽平均增长 9.86 mm,黄花独蒜兰平均增长 11.20 mm,云南独蒜兰新芽平均增长 4.95 mm。

表 1 低温贮藏过程新芽长度
Tab. 1 The new buds length during cold storage

贮藏天数/d storage time	新芽长度/mm length of the new buds		
	艳花独蒜兰 <i>P. aurita</i>	黄花独蒜兰 <i>P. forrestii</i>	云南独蒜兰 <i>P. yunnanensis</i>
0	18.88±2.57 b	15.13±1.93 b	11.64±3.15 a
30	18.75±3.11 b	15.26±2.02 b	11.80±4.03 a
60	19.48±4.26 b	16.23±3.50 b	12.55±4.46 a
90	20.78±5.09 b	18.05±4.63 b	13.19±5.01 a
120	28.74±9.99 a	26.33±10.00 a	16.59±7.63 a

注：同列数据后附不同字母表示在 0.05 水平上差异显著。
Note: Different letters in each column indicate significant difference at $P<0.05$ level.

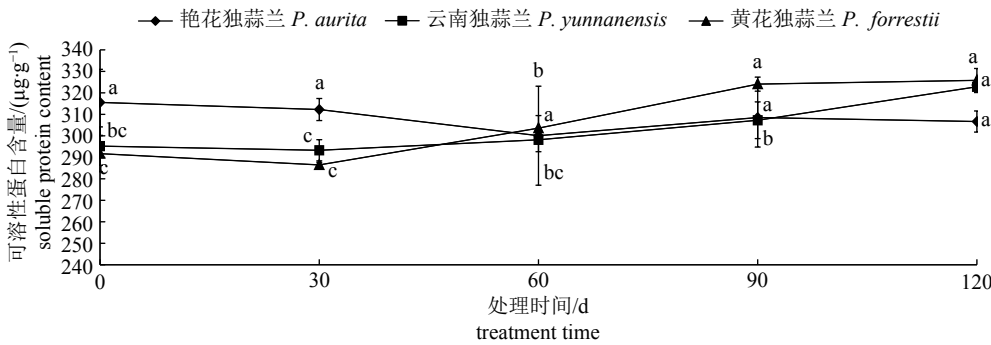


图 1 低温贮藏过程可溶性蛋白含量变化

Fig. 1 Changes of the soluble protein content during cold storage

2.3 SOD 活性

如图 2 所示：艳花独蒜兰假鳞茎在处理 120 d 时活性为 701.07 U/(g·min)，较未进行低温处理时显著降低 44.11 U/(g·min)，前期均未有明显变化。云南独蒜兰假鳞茎 SOD 活性 90 d 内无明显变化，120 d 时活性达到最高值 741.93 U/(g·min)，比处理 30 d 和 60 d 有显著增加，但与处理前并无显著差异。低温贮藏过程中黄花独蒜兰假鳞茎 SOD 活性在 638.47~697.44 U/(g·min) 范围内浮

2.2 可溶性蛋白含量

如图 1 所示：低温贮藏期 120 d 后艳花独蒜兰假鳞茎中可溶性蛋白较贮藏前下降 8.90 μg/g，贮藏期间无明显变化。云南独蒜兰假鳞茎可溶性蛋白呈上升趋势，处理 120 d 时显著增加达到最大值 322.85 μg/g，且显著高于处理前期含量，较贮藏前上升 27.63 μg/g。黄花独蒜兰可溶性蛋白含量也呈增加趋势，30 d 时未有明显变化，处理 60 d 开始显著增加、处理 120 d 时达到 324.08 μg/g，较贮藏前上升 34.12 μg/g。

动，各时期并无明显差异。

2.4 POD 活性

如图 3 所示：3 种独蒜兰假鳞茎 POD 活性均呈现先下降后上升趋势，艳花独蒜兰假鳞茎处理 60 d 时活性显著下降，处理 90 d 时达到最低值 61.72 U/(g·min)，120 d 时活性再升高；云南独蒜兰处理 30 d 时出现下降，POD 活性达到最低值 102.99 U/(g·min)，60 d 时 POD 活性上升达到最高值 155.31 U/(g·min)，其他时期无显著差异；黄

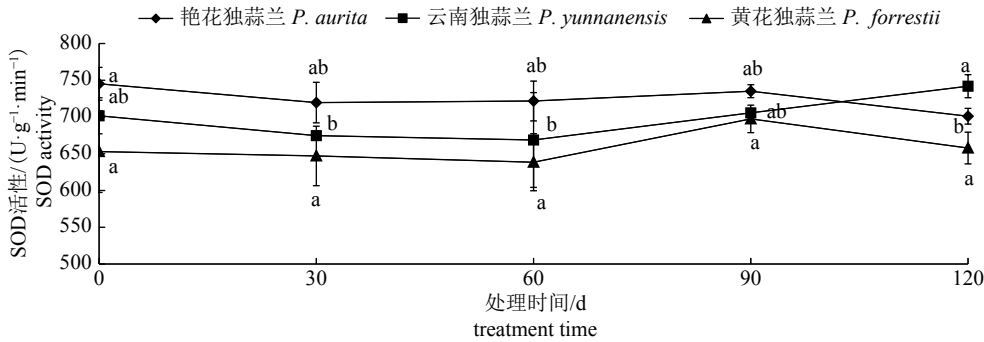


图 2 低温贮藏过程 SOD 活性变化

Fig. 2 Changes of the SOD activity during cold storage

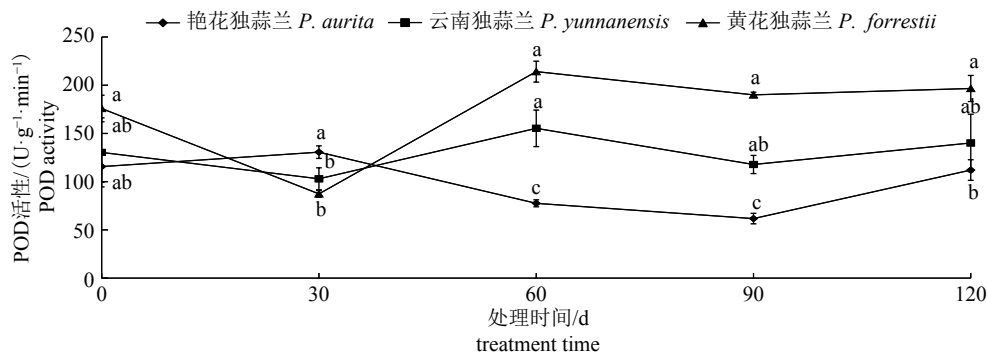


图3 低温贮藏过程 POD 活性变化

Fig. 3 Changes of the POD activity during cold storage

花独蒜兰假鳞茎在处理 30 d 时 POD 活性显著下降, 达到最低值 87.33 U/(g·min), 60 d 时明显升高, 达到 214.13 U/(g·min), 此后保持较高活性。

3 讨论

前人研究表明: 台湾独蒜兰在 5℃ 条件下冷藏 8 周可减少消蕾, 且开花率最高^[5]。本试验发现: 在 (4±1)℃ 低温条件下艳花独蒜兰、黄花独蒜兰和云南独蒜兰假鳞茎在贮藏 30 d 时开始萌动, 贮藏 60 d 时可将假鳞茎转移出冷库进行栽培, 120 d 时少数植株假鳞茎开始皱缩, 并出现花苞和根, 此时可能会影响开花品质, 因此冷藏不宜超过 90 d。

低温引起植物细胞蛋白质的变化主要表现在可溶性蛋白和酶类的变化以及产生抗寒性蛋白^[9]。可溶性蛋白具有较强的亲水性, 它能明显增强细胞的持水力, 而可溶性蛋白含量的增加可以束缚更多的水分, 减少低温条件下原生质因结冰而受伤害致死的机会^[10]。相关鳞茎植物的研究表明: 低温贮藏中鳞茎可溶性蛋白质含量增加是解除休眠的原因之一, 通常鳞片中可溶性蛋白质含量越高, 其休眠程度越低, 萌发所需时间越少^[11]。本试验表明: 在低温贮藏期间, 3 种独蒜兰可溶性蛋白含量保持较高水平, 其中云南独蒜兰和黄花独蒜兰假鳞茎可溶性蛋白含量有所增加, 此时也是两者芽开始萌动伸长的时间, 因此可能与两者假鳞茎生理活动不断增强, 在此温度下的保护性调节反应。艳花独蒜兰假鳞茎中可溶性蛋白含量并无明显差异, 可能与母球营养状况和不同种类有关, 具体原因还需进一步研究。

SOD 是生物体内普遍存在的一种活性氧清除

剂, 它能清除对生物体有毒害作用的氧自由基, 保护细胞膜的稳定性, 有效地防止细胞膜的衰老^[12]。艳花独蒜兰假鳞茎 SOD 活性在 120 d 时有明显下降但前期均较稳定, 可能与前期生理活动不明显有关。黄花独蒜兰和云南独蒜兰低温贮藏 90 d 时 SOD 活性略有增加, 可能跟两者假鳞茎生理活动增强有关, 在贮藏 90 d 时假鳞茎的新芽开始伸长, 假鳞茎迅速消耗自己的养分, 以供给整个新芽的生长, 假鳞茎的生理活动迅速增加, SOD 的活性也随之增强, 此结果与百合的研究^[12]相似。

POD 是植物中普遍存在的一种氧化还原酶, 参与植物的许多生理过程, 如植物对低温及病虫害的抵抗, 植物细胞壁木质素的合成及细胞内自由基的清除等。POD 活性有保持细胞结构的完整性, 提高细胞对衰老及不良环境抗性的作用^[13]。此外, POD 活性影响植物的生长, 其大小直接影响 IAA 的代谢与分布, 而 IAA 含量控制着植物的生长发育, 高活性 POD 可加强对 IAA 的氧化分解, 从而减轻对生长的刺激^[14]。3 种独蒜兰的 POD 在贮藏 30~90 d 时均有下降趋势, 此时也是新芽开始萌动的时间。本试验与 BENKEBLIA 等^[15]的洋葱试验相似, 其研究表明: POD 活性的降低与洋葱的萌发一致, POD 活性的降低有利于鳞茎的萌发。该现象也发生在马铃薯^[16]和葡萄^[17]的研究中, 两者在休眠解除后, 萌芽前 POD 活性迅速降低。此外, 有研究表明: POD 和 SOD 的活性与大花蕙兰类原球茎抗逆性呈正相关, 低温胁迫下, 两者活性呈增加趋势^[18]。本试验发现: 3 种独蒜兰在 30~90 d 时 POD 活性降低可能促进 3 种独蒜兰属植物新芽的萌动, 后期 POD 升高可

能与新芽生长、假鳞茎生理活动增强,清除自由基危害有关,也间接揭示了长时间的低温贮藏对 3 种独蒜兰造成胁迫,对后期的开花生长不利。

4 结论

3 种独蒜兰假鳞茎在 $(4\pm 1)^\circ\text{C}$ 低温冷藏 60 d 后,可转移出冷库进行栽培,冷藏不宜超过 90 d。艳花独蒜兰假鳞茎中可溶性蛋白含量无明显变化,SOD 活性在处理 120 d 时出现显著降低。云南独蒜兰和黄花独蒜兰假鳞茎可溶性蛋白呈增加趋势,而 SOD 活性无明显变化。POD 活性的降低有利于三者新芽的萌动。

[参考文献]

- [1] 龙聪颖,邓辉茗,张筱秋,等.不同温度对独蒜兰开花和生长的影响[J].西北植物学报,2016,36(12): 2498. DOI: 10.7606/j.issn.1000-4025.2016.12.2498.
- [2] 孙延智,义鸣放.贮藏温度对唐菖蒲球茎打破休眠和萌芽的影响[J].河北农业大学学报,2004,27(5): 46. DOI: 10.3969/j.issn.1000-1573.2004.05.011.
- [3] 梁顺祥,唐道城,王玉花,等.温度和时间对郁金香种球芽发育及切花品质的影响[J].青海大学学报,2007,25(3): 6. DOI: 10.3969/j.issn.1006-8996.2007.03.002.
- [4] 李洪林,付志惠,杨波.独蒜兰的离体快速繁殖[J].植物生理学通讯,2005,41(5): 632.
- [5] 滕蕙兰,李晖,蔡牧起.球茎熟度,贮温贮期对台湾一叶兰开花与碳水化合物含量之影响[J].中国园艺,1985,31(3): 174.
- [6] CRIBB P, BUTTERFIELD I. The genus *Pleione*[M]. Miami: America Orchid Society, 1999.
- [7] 高俊凤.植物生理学试验指导[M].北京:高等教育出版社,2006.
- [8] 张蜀秋.植物生理学试验技术教程[M].北京:科学出版社,2011.
- [9] 王毅,杨宏福,李树德,等.园艺植物冷害和抗冷性的研究[J].园艺学报,1994,21(3): 239. DOI: 10.3321/j.issn:0513-353X.1994.03.013.
- [10] 沙伟,刘焕婷,谭大海,等.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(自然科学版),2008,24(2): 1. DOI: 10.3969/j.issn.1007-984X.2008.02.001.
- [11] 陶贵荣.低温作用影响鳞茎植物休眠的研究[J].西安教育学院学报,1999,40(3): 42.
- [12] 高晓辰.百合鳞茎发育和冷藏期间生理生化变化的研究[D].杭州:浙江大学,2002.
- [13] SANCHEZ M A, DE FORCHETTI S M, PLIEGO F, et al. Peroxidase activity and isoenzymes in the culture medium of NaCl adapted tomato suspension cells[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1996, 44(2): 161. DOI: 10.1007/BF00048195.
- [14] 徐继忠,史宝胜,马宝焜.苹果不同矮砧与其对应中间砧植株 POD, IOD 酶活性的研究[J].中国农业科学,2002,35(4): 415. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2010.09294.x.
- [15] BENKEBLIA V, SHIOMI N. Chilling effect on soluble sugars, respiration rate, total phenolics, peroxidase activity and dormancy of onion bulbs[J]. Scientia Agricola, 2004, 61(3): 281. DOI: 10.1590/S0103-90162004000300007.
- [16] 王鹏,连勇,金黎平.马铃薯块茎休眠及萌发过程中几种酶活性变化[J].华北农学报,2003,18(1): 33. DOI: 10.3321/j.issn:1000-7091.2003.01.010.
- [17] 张昂,郑瑜琬,陈腾,等.葡萄休眠解除过程中冬芽组织活性氧与抗氧化系统的变化特征[J].西北植物学报,2012,32(10): 2075. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4025.2012.10.022.
- [18] 周珊珊,谢利,王辰辉,等.环境胁迫对不同倍性大花蕙兰类原球茎增殖和分化的影响[J].植物生理学报,2015,51(8): 1265.

责任编辑:何承刚