

自然低温下秋石斛田间耐寒性评价

何嘉琦^{1,2}, 陆顺教^{1*}, 黄少华¹, 张东雪^{1,3}, 尹俊梅¹

(1. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部海南作物基因资源与种质创制重点实验室, 海南儋州 571737; 2. 海南大学园艺园林学院, 海南海口 570228; 3. 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江大庆 163319)

摘要 [目的]了解不同秋石斛品种在低温灾害中的耐寒性表现。[方法]在2016年初的海南严重低温天气造成海南秋石斛严重低温伤害的情况下,对东方市迦南兰花种植农民专业合作社圃地秋石斛25个成苗品种、8个幼苗品种进行了寒害调查。[结果]成苗中的水晶宝宝、玉翡翠、水晶、秋石斛1号、秋石斛2号、金如意和纯绿花的黄叶率、落叶率及落花率均较低,耐寒性较强,而秋石斛41号、秋石斛709号、秋石斛513号和秋石斛699号的耐寒性较差,受低温伤害严重,黄叶率、落叶率和落花率均较高。幼苗中,水蜜桃、秋石斛5号和红霞的黄叶率及落叶率较低,耐寒性较强,而纯绿花和三亚阳光的耐寒性较差。[结论]试验结果为耐寒秋石斛品种筛选和亲本选配提供了理论依据。

关键词 自然低温;秋石斛;耐寒性;田间调查

中图分类号 S682.31 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)30-0012-04

Evaluation on Cold Resistance of *Dendrobium* in the Field under Natural Low Temperature

HE Jia-qi^{1,2}, LU Shun-jiao^{1*}, HUANG Shao-hua¹ et al (1. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, Danzhou, Hainan 571737; 2. College of Horticulture and Landscape, Hainan University, Haikou, Hainan 570228)

Abstract [Objective] To research the cold resistance performance of *Dendrobium* under low temperature disaster. [Method] In early 2016, the severe cold weather of Hainan caused the serious injury of *Dendrobium*. In that case, we investigated 25 adult seedlings and 8 seedlings of cold damage in Dongfang Jianan Orchid Planting Farmers' Professional Cooperative. [Result] In adults seedlings, the cold tolerance of *Den. Sripuratum* 'delight', *Den.* 'Burana Jade', *Den.* 'Burana Crystal', *Den.* '1#', *Den.* '2#', *Den.* 'Thongchai Gold' and *Den.* 'Burana Green' showed higher cold resistance, but had lower yellow leaf rate, defoliation rate, and drop flowers rate. However, *Den.* '41#', *Den.* '709#', *Den.* '513#', *Den.* '699#' showed lower cold resistance, but higher lower yellow leaf rate, defoliation rate, and drop flowers rate. As for seedlings, the cold tolerance of *Den.* Sirin Peach', *Den.* '5#', and *Den.* 'Rinabha-Jaq. Concer' were higher, but their the yellow leaf rate, defoliation rate, and drop flowers rate were a bit lower. However, the cold tolerance of *Den.* 'Burana Green', *Den.* 'SanyaBrown' was lower. [Conclusion] This research provides theoretical foundation for the variety screening and parent selection of cold-tolerance *Dendrobium*.

Key words Natural low temperature; *Dendrobium*; Cold resistance; Field investigation

秋石斛(*Dendrobium* spp.)是石斛兰中最具观赏价值的种群,因其具有开花时间长、花姿优雅、花多、枝长等特点,不仅是高档的鲜切花材料,也是重要的观赏盆花,在兰花的商业生产中具有重要地位。目前,我国生产的秋石斛仅能少量供应国内市场,其余全部依靠进口,因此,我国秋石斛产业前景广阔。但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、美国夏威夷及澳洲北部与新几内亚一带,属于典型的热带兰花,整个生长期要求较高的温度和湿度。秋石斛适宜的生长温度为25~30℃,35℃以上和15℃以下营养生长几乎停止^[1]。我国大部分地区冬天温度均低于15℃,无法满足秋石斛最低生长温度的需求,只有少数热带地区适宜种植秋石斛。目前,我国秋石斛的主要产地是海南,种植面积在200 hm²以上,是设施条件下种植面积较大的热带花卉产业之一,但在海南仍存在冬季黄化落叶、植株生长停滞的现象,不仅造成其产量下降,也严重影响品质。筛选耐寒性强的秋石斛品种既可大大降低秋石斛冬季低温寒害造成的损失,也为秋石斛耐寒性杂交育种提供可靠的亲本资源。目前,人们对秋石斛资源的耐寒性评价鲜见报道。鉴于此,笔者对海南省东方市迦南兰花种植农民专业合作社圃地全部秋石斛品种的受害情况进行了调查,并对其耐寒性表

现进行了评价,旨在为耐寒性秋石斛品种筛选和亲本选配提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究地概况 东方市迦南兰花种植农民专业合作社位于海南省东方市八所镇市区,年平均气温为24.0~25.0℃,1月平均气温为18.4℃,7月平均气温为29.0℃,圃地为遮荫网搭建的简易阴棚。据海南省气象局资料分析,2016年1月21日至2月3日海南省经历了全岛范围的寒潮,东方市21—24日持续降温13.0~18.0℃,最低气温8.0℃,比去年最低温度低6.0℃。

1.2 试验材料 调查品种为圃地全部秋石斛品种,包括水芙蓉、水晶宝宝、秋石斛1号、玉翡翠、秋石斛2号、水晶、白花、秋石斛3号、金如意、纯绿花、贵妇人、水蜜桃、秋石斛791号、秋石斛41号、青苹果、秋石斛4号、秋石斛812号、三亚阳光、白钻石、秋石斛709号、秋石斛5号、秋石斛261号、红霞、秋石斛513号、秋石斛699号25个秋石斛成苗品种,以及水蜜桃、秋石斛5号、红霞、秋石斛6号、秋石斛1号、马来西亚绿花、纯绿花、三亚阳光8个秋石斛幼苗品种。

1.3 调查方法 于低温寒潮过后7 d(2016年2月3—4日)采用抽样调查方法对圃地所有的秋石斛进行调查,每个品种随机选择约30株苗,进行受冻后的形态指标统计,其中成苗统计叶片数、黄叶数、落叶数、花朵数、落花数等,小苗统计叶片数、黄叶数、落叶数等。

1.4 数据处理 采用Excel 2013软件进行数据处理,分别

作者简介 何嘉琦(1992-),女,海南海口人,硕士研究生,研究方向:植物抗逆生理。* 通讯作者,助理研究员,博士,从事生物技术及分子生物学研究。

收稿日期 2016-08-29

计算黄叶率、落叶率和落花率,并用 SPSS 20.0 统计软件对指标间的差异显著性进行分析。

$$\text{黄叶率} = \text{黄叶数} / \text{总叶片数} \times 100\%$$

$$\text{落叶率} = \text{落叶数} / \text{总叶片数} \times 100\%$$

$$\text{落花率} = \text{落花数} / \text{总花朵数} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 秋石斛试验品种成苗的耐寒性 由表 1、图 1 可知,在成苗的 25 个秋石斛品种资源中,所有的品种都出现黄叶现象,出现落叶现象的有 20 个品种,仅有 5 个品种未出现落叶现象,有花的 24 个品种中有 20 个品种出现落花现象。从黄叶率上看,黄叶率低于 10% 的有 8 个品种,其中水芙蓉(图 1a)、水晶宝宝(图 1b)的表现较好,分别为 2.05% 和 2.23%,黄叶率为 10% ~ 20% 的有 5 个品种,黄叶率为 20% ~ 30% 的有 9 个品种,黄叶率在 30% 以上的有 3 个品种,其中 699 的黄叶率最高,达 70.35%。

表 1 秋石斛试验品种成苗耐寒性调查结果

Table 1 Investigation result of cold resistance of *Dendrobium* adult seedling cultivar

编号 Code	品种名称 Cultivar name	黄叶率 Yellow leaf rate//%	落叶率 Defoliation rate//%	落花率 Drop flower rate//%
1	水芙蓉	2.05 k	0.51 c	20.00 cdef
2	水晶宝宝	2.23 k	0 c	0 f
3	秋石斛 1 号	4.19 jk	0.23 c	4.55 ef
4	玉翡翠	4.22 jk	0.22 c	0 f
5	秋石斛 2 号	4.62 jk	0.84 c	6.67 def
6	水晶	4.88 jk	1.22 c	0 f
7	白花	6.09 jk	0.32 c	9.68 def
8	秋石斛 3 号	8.72 ijk	0.25 c	39.84 bcde
9	金如意	10.13 hijk	0.74 c	0 f
10	纯绿花	10.13 hij	0 c	3.33 ef
11	贵妇人	15.38 fgh	0.53 c	11.74 cde
12	水蜜桃	15.55 ghi	0 c	43.48 b
13	秋石斛 791 号	17.19 efg	2.19 c	30.43 abc
14	秋石斛 41 号	21.76 def	10.13 b	18.92 cdef
15	青苹果	21.92 defg	0.25 c	33.56 bcdef
16	秋石斛 4 号	22.11 defg	0.79 c	30.86 bcde
17	秋石斛 812 号	23.02 def	0.38 c	37.50 bcde
18	三亚阳光	25.38 cde	2.70 bc	—
19	白钻石	25.59 cde	1.18 c	40.74 abc
20	秋石斛 709 号	25.70 cde	5.37 b	52.80 ab
21	秋石斛 5 号	26.06 cd	0 c	14.74 cdef
22	秋石斛 261 号	28.03 cd	0 c	13.70 cdef
23	红霞	32.48 c	0.77 c	57.30 a
24	秋石斛 513 号	34.45 b	20.40 a	9.49 cdef
25	秋石斛 699 号	70.35 a	3.74 c	54.55 abcd

注:同列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著。
Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences between treatments at 0.05 level.

从落叶率上看,大部分品种的落叶率均低于 1%,其中有 5 个品种未出现落叶现象,黄叶率为 0 ~ 1% 的有 12 个品种,黄叶率为 1% ~ 10% 的有 6 个品种,黄叶率在 10% 以上的有

2 个品种,分别是秋石斛 41 号(10.13%)和秋石斛 513 号(20.40%)。

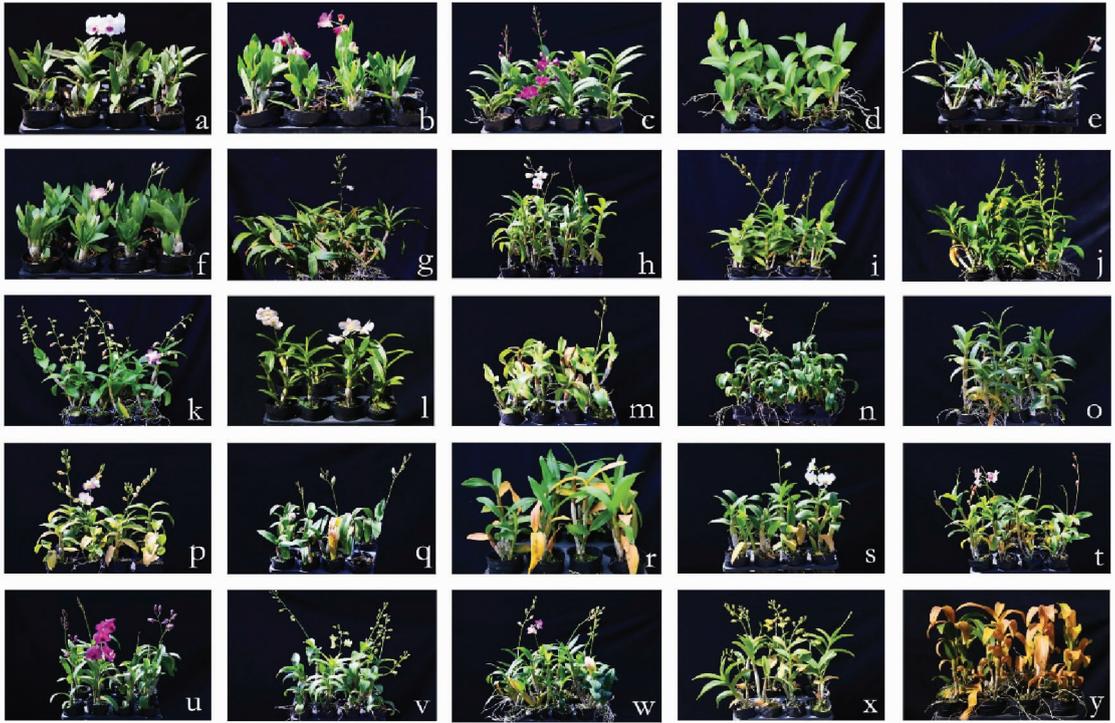
从落花率上看,除了三亚阳光(图 1r)因不在花期无花可统计之外,其余 24 个品种中有 4 个品种落花率为 0,0 ~ 10% 的有 5 个品种,10% ~ 20% 的有 5 个品种,30% ~ 40% 的有 5 个品种,落花率超过 40% 的有 5 个品种,其中大于 50% 的有 3 个品种,以红霞的落花率最高,达 57.30%。

综合黄叶率、落叶率和落花率分析,水晶宝宝的耐寒性表现最好,其黄叶率仅为 2.23%,而落叶率和落花率均为 0,其次是秋石斛 1 号(图 1c)、玉翡翠(图 1d)、秋石斛 2 号(图 1e)和水晶(图 1f),该 4 个品种的黄叶率、落叶率和落花率均较低,在海南栽培可较安全越冬。金如意(图 1i)和纯绿花(图 1j)虽然黄叶率超过 10%,但落叶率和落花率均较低,所以耐寒性较好,该 2 个品种在海南栽培亦可勉强安全越冬。水芙蓉和秋石斛 3 号(图 1h)虽然黄叶率和落叶率均较低,但其落花率较高,分别达 20.00% 和 39.84%,表明其植株的耐寒性较好,但花朵的耐寒性较差,因此在栽培中应通过花期调控避免其花期在冬季低温季节。水蜜桃(图 1l)、秋石斛 791 号(图 1m)、青苹果(图 1o)、秋石斛 4 号(图 1p)、秋石斛 812 号(图 1q)、白钻石(图 1s)、秋石斛 5 号(图 1u)、秋石斛 261 号(图 1v)和红霞(图 1w)虽然落叶率较低,但黄叶率和落花率均较高,表明这些品种对低温较敏感,尤其是花朵。秋石斛 41 号(图 1n)、秋石斛 709 号(图 1t)、秋石斛 513 号(图 1x)和秋石斛 699 号(图 1y)则是黄叶率、落叶率和落花率均较高,尤其是秋石斛 699 号的黄叶率和落花率极高,表明这几个品种不适合在海南栽培。

2.2 秋石斛试验品种幼苗的耐寒性 由表 2、图 2 可知,在幼苗的 8 个秋石斛品种资源中,所有的品种都出现黄叶现象,出现落叶现象的有 6 个品种,仅有 2 个品种未出现落叶现象。从黄叶率上看,黄叶率低于 10% 的有 4 个品种,其中水蜜桃(图 2a)、秋石斛 5 号(图 2b)、红霞(图 2c)的表现较好,分别为 1.57%、3.93% 和 4.73%;黄叶率在 10% ~ 20% 的品种仅有秋石斛 1 号(图 2e),黄叶率在 20% ~ 30% 的品种仅有马来西亚绿花(图 2f),黄叶率在 30% 以上的有纯绿花(图 2g)和三亚阳光(图 2h)2 个品种,其中三亚阳光的黄叶率高达 37.38%。

从落叶率看,大部分品种的落叶率低于 1%,其中 2 个品种未出现落叶现象,落叶率在 0 ~ 1% 的有 3 个品种,落叶率在 1% ~ 10% 的有 2 个品种,落叶率超过 10% 的品种有三亚阳光(21.50%)。

综合黄叶率、落叶率分析,水蜜桃的耐寒性表现最好,其黄叶率仅为 1.57%,而落叶率为 0,其次是秋石斛 5 号、红霞、秋石斛 6 号(图 2d),该 3 个品种的黄叶率、落叶率均较低,上述 4 个品种的小苗在海南可较安全越冬。马来西亚绿花、纯绿花虽然落叶率较低,但黄叶率较高,表明该 2 个品种小苗对低温较敏感,在海南越冬具有一定的困难。秋石斛 1 号、三亚阳光则是黄叶率和落叶率均较高,表明该 2 个品种小苗在海南越冬具有较大困难。

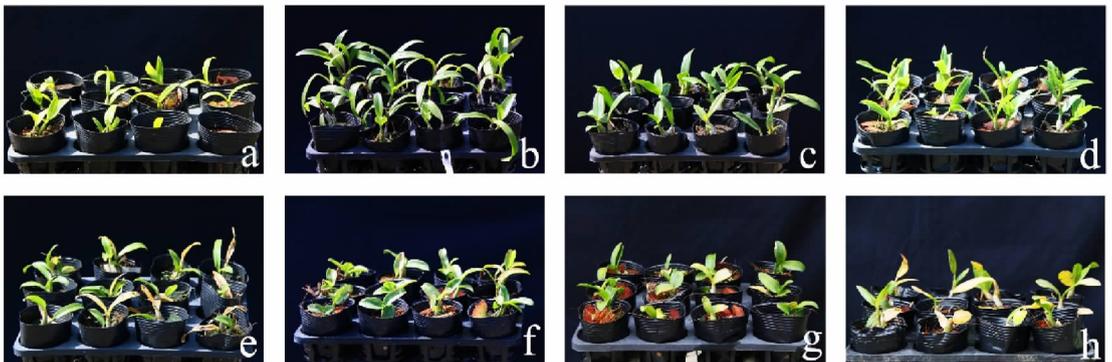


注:a.水芙蓉;b.水晶宝宝;c.秋石斛1号;d.玉翡翠;e.秋石斛2号;f.水晶;g.白花;h.秋石斛3号;i.金如意;j.纯绿花;k.贵妇人;l.水蜜桃;m.秋石斛791号;n.秋石斛41号;o.青苹果;p.秋石斛4号;q.秋石斛812号;r.三亚阳光;s.白钻石;t.秋石斛709号;u.秋石斛5号;v.秋石斛261号;w.红霞;x.秋石斛513号;y.秋石斛699号。

Note: a. *Den.* 'Rainbow'; b. *Den.* *Sripratum* 'delight'; c. *Den.* '1#'; d. *Den.* 'Burana Jade'; e. *Den.* '2#'; f. *Den.* 'Burana Crystal'; g. *Den.* 'Burana White'; h. *Den.* '3#'; i. *Den.* 'Nopporn green star'; j. *Den.* 'Burana Green'; k. *Den.* 'Aridang Blue'; l. *Den.* 'Sirin Peach'; m. *Den.* '791#'; n. *Den.* '41#'; o. *Den.* 'Nopporn green star'; p. *Den.* '4#'; q. *Den.* '812#'; r. *Den.* 'Sonia Hiasakul'; s. *Den.* 'Diamond'; t. *Den.* '709#'; u. *Den.* '5#'; v. *Den.* '261#'; w. *Den.* 'Nopporn pink'; x. *Den.* '513#'; y. *Den.* '699#'.

图1 秋石斛试验品种成苗受冻情况

Fig. 1 Situation of *Dendrobium* adult seedling cultivars with cold damage



注:a.水蜜桃;b.秋石斛5号;c.红霞;d.秋石斛6号;e.秋石斛1号;f.马来西亚绿花;g.纯绿花;h.三亚阳光。

Note: a. *Den.* 'Orange rosy'; b. *Den.* '5#'; c. *Den.* 'Rinabha-Jaq. Concer'; d. *Den.* '6#'; e. *Den.* '1#'; f. *Den.* 'Malaysia Green'; g. *Den.* 'Burana Green'; h. *Den.* 'SanyaBrown'.

图2 秋石斛试验品种幼苗受冻情况

Fig. 2 Situation of *Dendrobium* seedling cultivars with cold damage

3 结论与讨论

对秋石斛现有品种资源进行耐寒性评价,筛选耐寒性较强的品种资源进行推广及杂交育种研究具有重要意义。在自然低温条件下进行资源耐寒性的田间鉴定评价耗费少,省时、省力,是一种经济有效的方法,特别是在罕见的极端自然

天气条件下。目前,利用自然低温条件进行资源的耐寒性评价已经在多个物种上得到了应用,如水稻^[2-3]、红树植物^[4]、菠萝^[5]、德国鸢尾^[6]等。该研究在自然低温条件下,通过对黄叶率、落叶率、落花率等生物学指标的测定,对海南省东方市迦南兰花种植农民专业合作社圃地的所有秋实斛种质资

表 2 秋石斛试验品种幼苗耐寒性调查结果

Table 2 Investigation result of cold resistance of *Dendrobium* seedling cultivars

编号 Code	品种 Cultivar	黄叶率 Yellow leaf rate//%	落叶率 Defoliation rate//%
1	水蜜桃	1.57 c	0 c
2	秋石斛 5 号	3.93 c	0.56 c
3	红霞	4.73 c	0 c
4	秋石斛 6 号	7.37 c	0.46 c
5	秋石斛 1 号	18.57 b	7.86 b
6	马来西亚绿花	22.98 b	1.24 c
7	纯绿花	33.11 a	0.66 c
8	三亚阳光	37.38 a	21.50 a

注:同列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著。
Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences between treatments at 0.05 level.

源进行了初步的耐寒性评价,结果表明部分品种具有较好的耐寒性,能在海南安全越冬,如水晶、秋石斛 1 号、玉翡翠、水晶宝宝等;部分品种耐寒性一般,在不出现极端低温天气情况下亦可在海南越冬,但会受低微的低温伤害,如金如意、纯

绿花等;部分品种对低温非常敏感,耐寒性较低,在海南栽培越冬较困难,若出现极端低温,将造成重大损失,如秋石斛 41 号、秋石斛 709 号、秋石斛 513 号、秋石斛 699 号等。上述结果可为适栽品种的筛选、耐寒杂交育种的亲本选择等方面提供参考。

由于自然低温发生的强度和存在年度间差异,根据 1 个鉴定点、1 次鉴定结果对种质的耐寒性进行评价不够准确,因此,还需对初步鉴定筛选出的耐寒性强或极强的种质材料在人工控制条件下进行多次鉴定。

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] 刘广林, 陈传华, 罗群昌, 等. 2009 年自然低温下优质稻种质资源耐冷性初步鉴定评价[J]. 南方农业学报, 2012, 43(4): 407-412.
- [3] 马增凤, 刘驰, 张月雄, 等. 低温寡照自然条件对不同水稻材料苗期耐寒性的影响[J]. 西南农业学报, 2015, 28(2): 447-452.
- [4] 陈鹭真, 王文卿, 张宜辉, 等. 2008 年南方低温对我国红树植物的破坏作用[J]. 植物生态学报, 2010, 34(2): 186-194.
- [5] 吕庆芳, 李映志, 余伟, 等. 持续低温引起菠萝蜜田间寒害症状调查及抗寒性分析[J]. 果树学报, 2012, 29(1): 81-85.
- [6] 王冠群, 李丹青, 张佳平, 等. 德国鸢尾 6 个品种的耐寒性比较[J]. 园艺学报, 2014, 41(4): 773-780.

(上接第 8 页)

表 2 正交试验设计与结果

Table 2 Design and results of orthogonal experiment

试验号 Test code	因素 Factor				生物量 Biomass (OD_{600})
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	42.323
2	1	2	2	2	49.878
3	1	3	3	3	48.020
4	2	1	2	3	47.216
5	2	2	3	1	43.355
6	2	3	1	2	50.442
7	3	1	3	2	48.337
8	3	2	1	3	49.504
9	3	3	2	1	42.055
K_1	46.740	45.959	47.423	42.578	
K_2	47.004	47.579	46.383	49.552	
K_3	46.632	46.839	46.571	48.247	
R	0.372	1.620	1.040	6.974	

长,并开始形成芽孢,这是因为发酵罐搅拌和溶氧量远高于摇瓶,更有利于菌体生长;12 h 后进入稳定期,镜检菌体基本全部形成芽孢;20 h 进入衰亡期,菌体明显变少,芽孢开始脱落。12 h 发酵液活菌计数达 1.6×10^{10} cfu/mL,芽孢率为 96%。

3 结论

通过单因素试验和正交试验确定了蜡样芽孢杆菌最适发酵培养基为:葡萄糖 15.00 g/L,可溶性淀粉 40.00 g/L,蛋白胨 10.00 g/L,玉米浆干粉 30.00 g/L,硫酸铵 3.00 g/L,磷酸氢二钾 5.00 g/L,磷酸二氢钠 5.00 g/L,硫酸镁 1.25 g/L,

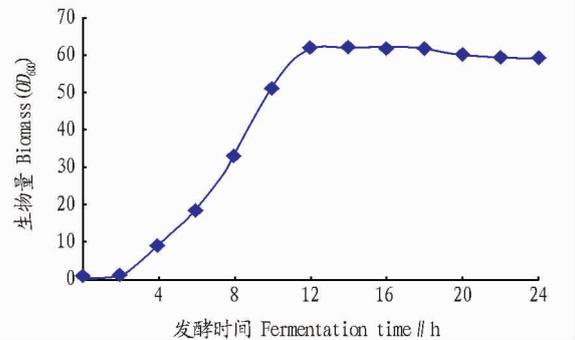


图 4 蜡样芽孢杆菌在 50 L 发酵罐中的生长曲线

Fig. 4 Growth curve of *Bacillus cereus* in 50 L fermentation tank

硫酸锰 0.60 g/L,氯化钙 2.00 g/L。优化后摇瓶 OD 值达 52.335,是优化前的 4 倍,50 L 不锈钢发酵罐中试发酵的 OD 值为 61.505,发酵液活菌数达 1.6×10^{10} cfu/mL,较优化前的发酵液活菌数提高了 1 个数量级,表明优化后的发酵培养基显著提高了蜡样芽孢杆菌的生物量,具有实际应用价值,可为今后规模化生产提供理论依据。

参考文献

- [1] STEIN T. *Bacillus subtilis* antibiotics: Structures, synthesis and specific functions[J]. Mol Microbiol, 2005, 56(4): 845-857.
- [2] 秦玉昌,潘宝海,于荣,等. 芽孢杆菌对畜禽生产性能的影响[J]. 中国饲料, 2004(16): 8-10.
- [3] 聂实践,林伯荃,朱桂茹,等. 益生多(S-586)饲用微生态制剂的防病作用实验[J]. 饲料研究, 1999(5): 27-28.
- [4] 张惠云. 微生态制剂在水产养殖中的应用[J]. 饲料博览, 2000, 21(6): 46-47.