

影响蝴蝶兰类原球茎耐脱水性的主要因素

刘福平, 张文惠

(福建省亚热带植物研究所, 福建省亚热带植物生理生化重点公共实验室, 福建 厦门 361006)

摘要:为探讨蝴蝶兰(*Phalaenopsis* spp.)类原球茎(protocol-like body, PLB)耐脱水性的主要影响因素,对 PLB 的平均粒重、含水率、脱水相对湿度、时间、温度、光周期与耐脱水性的关系进行了研究。结果表明,PLB 的平均粒重与脱水后失水率、含水率、相对电导率、成活率呈显著或极显著相关。在较高湿度下脱水,PLB 的平均粒重越大,其脱水后的相对电导率下降幅度和成活率提高幅度也越大。脱水 PLB 的失水率或含水率与脱水湿度呈显著回归,与脱水时间都不显著回归。含水率较高的 PLB 脱水后的成活率明显提高,但在较高湿度下脱水,成活率提高幅度较小。52%的湿度下脱水 2 d 的 PLB 达到质膜损伤或干燥致死的临界值。当 PLB 脱水至相近含水率,慢速脱水的 PLB 有较低的相对电导率和较高的成活率;在较低温度或暗中脱水可使 PLB 成活率提高。因此,蝴蝶兰 PLB 的耐脱水性与其自身重量、含水率有关,脱水湿度、时间、温度以及光照是影响耐脱水性的主要外部因素。

关键词: 蝴蝶兰; 类原球茎; 脱水条件; 耐脱水性

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2011)05-0430-08

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2011.05.007

Main Influence Factors on the Dehydration Tolerance of *Phalaenopsis* Protocorm-like Bodies

LIU Fu-ping, ZHANG Wen-hui

(Fujian Institute of Subtropical Botany, Fujian Key Laboratory of Physiology and Biochemistry for Subtropical Plant, Xiamen 361006, China)

Abstract: The influence factors on the dehydration tolerance of *Phalaenopsis* PLB (protocorm-like body) were studied, including average grain weight and water content of PLB, as well as relative humidity, time, temperature, light period, et al. The results showed that average grain weight of PLB had very significant or significant correlations with water loss rate, water content, relative conductivity and survival after dehydration, respectively. When PLB were dehydrated at high humidity, the bigger average grain weight of PLB, the greater relative conductivity reduced and the survival increased. Both water loss rate and water content of dehydrated PLB had obvious regression relations with dehydration humidity, but not significantly regression relations with dehydration time. The survival of PLB with high water content increased obviously after dehydration, but the percentage of increasing was smaller at high dehydration humidity than that at low dehydration humidity. Under dehydrated at 52% RH for 2 days, plasma membrane damage and mortality of PLB reached critical values. Although the water contents of dehydrated PLB were close, the PLB dehydrated at slow speed had lower relative conductivity and higher survival than those dehydrated at rapid speed. Survival of PLB was high when dehydrated at low temperature or in the dark. Therefore, the dehydration tolerance of *Phalaenopsis* PLB was extremely sensitive to its weight and water content. Besides of the dehydration relative humidity and time, the dehydration temperature and light period were the main exterior factors that influenced on the dehydration tolerance of PLB.

收稿日期: 2010-08-17

接受日期: 2011-12-28

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2009J01079);福建省省属公益类科研院所基本科研专项(2009R10005-4)资助

作者简介: 刘福平(1963 ~),男,副研究员,主要从事植物生理学研究, email: fpliu@21cn.com

Key words: *Phalaenopsis* spp.; PLB; Dehydration condition; Dehydration tolerance

兰科植物种质离体保存日益受到重视和普及,原球茎或离体培养诱导的 PLB (类原球茎, protocorm-like body) 是种质离体保存最常采用的材料,种质(低温)离体保存的脱水方法主要有:空气干燥法^[1-6]、包埋脱水法^[7-8]、和玻璃化法^[2,9],这些方法的实质都是通过脱水避免种质在超低温贮存时发生胞内冰晶损伤^[2]。目前对影响兰科植物离体材料耐脱水性的主要因素进行研究时,一般取一定重量或大小的原球茎或 PLB,在一定温度下观察其脱水湿度、时间的影响规律。其实,脱水材料的体积、含水率、表面积、密度及脱水的湿度、时间、温度、光照等也可能是影响耐脱水性指标的因素。

蝴蝶兰(*Phalaenopsis*)产业的蓬勃发展必将推动种质的相关应用基础研究,蝴蝶兰 PLB 培养技术的成熟为种质离体保存创造了条件,但有关种质离体保存报道极少。我们^[10]在对不同脱水条件下蝴蝶兰 PLB 的失水程度与耐脱水性研究中,选择外观匀称的中等大小的蝴蝶兰 PLB 作为脱水样品,以避免 PLB 自身差异而导致耐脱水性指标的误差。本文研究了蝴蝶兰 PLB 的鲜重(大小)、含水率、脱水时间、湿度、温度、光照对耐脱水性指标的影响,探讨影响蝴蝶兰 PLB 耐脱水性的主要因素,为蝴蝶兰的种质离体保存提供科学依据。

1 材料和方法

蝴蝶兰 PLB 的培养参照刘福平等^[11]的方法,从 PLB 团拨下单粒 PLB 为实验材料。在蝴蝶兰 PLB 不同单粒鲜重对耐脱水性的影响试验中,分别挑取外观匀称的大粒(直径约 3.5 mm, 17 粒重 >400 mg)、中粒(直径约 3 mm, 17 粒重为 350 ~ 400 mg)、小粒(直径约 2 mm, 17 粒重 <350 mg) PLB 进行观察。而其它影响因素试验中,仅挑取外观匀称的中粒 PLB 为材料。在 PLB 起始含水率对脱水效果的影响试验中,新鲜 PLB 于 25℃ 下用 H₂O 浸泡 1 h 后吸干 PLB 表面水分。

待脱水 PLB 置入直径 2.5 cm、高度 4 cm 的玻璃称量瓶,每瓶 17 粒,平铺瓶底,以一层中速定量滤纸封口,称量瓶放入一定湿度的无色透明玻璃干燥器(内径 18.5 cm),每个干燥器放 4 个称量瓶。干燥器下层盛装各种溶液以保持容器上层空气相对湿度(RH)恒定,这些溶液分别是:饱和 KAc 溶液(达

到相对湿度为 23%,下同)、饱和 CaCl₂ 溶液(32%)、50.1% H₂SO₄ 溶液(37%)、饱和 K₂CO₃ 溶液(43%)、44.5% H₂SO₄ 溶液(47%)、饱和 Ca(NO₃)₂ 溶液(52%),沸水在干燥器内自然冷却(100%),以德图 608-H2 温湿度表(RH 精度为 ±2%,温度精度为 ±0.5℃)测定干燥器内即时温湿度。PLB 的脱水温度为 25℃,干燥器内光照强度为 27 μmol m⁻² s⁻¹ 左右,光照时间为 12 h d⁻¹。

在温度对蝴蝶兰 PLB 耐脱水性的影响试验中,PLB 的脱水温度设置为 20℃、25℃ 和 28℃,相对湿度为 43% (干燥器内 H₂SO₄ 浓度分别为 46.29%、46.86%、46.86%)。在不同光照时间下蝴蝶兰 PLB 耐脱水性的影响试验中,相对湿度为 43%,温度 25℃,光照周期分别为 0 h d⁻¹、12 h d⁻¹ 和 24 h d⁻¹。

PLB 脱水一定时间后从干燥器中取出,测定 PLB 的失水率(单位鲜重 PLB 损失掉的水分质量与样品鲜重的百分比)和含水率(单位干重 PLB 所含的水分质量, g g⁻¹ DW):用相对电导率表示质膜的损伤程度,按汤章成^[12]的方法。PLB 成活率的测定:将脱水 PLB 接入 1/2MS + 6-BA 3.0 mg L⁻¹ + 20%(V/V) CW(椰子汁) + 2%(W/V)蔗糖的培养基,在培养温度 24℃ ~ 26℃,光照强度 27 μmol m⁻² s⁻¹ 左右,光照时间为 12 h d⁻¹ 条件下培养,1 个月后统计 PLB 成活率。每种分析测定重复 3 次以上。实验数据用 Excel 软件进行统计分析。

2 结果和分析

2.1 蝴蝶兰类原球茎平均粒重与耐脱水性的关系

2.1.1 类原球茎平均粒重与脱水后膜损伤程度的关系

不同单粒鲜重的 PLB 分别于 RH 为 32% 和 43% 下脱水 2 d 后取出,其含水率和相对电导率见表 1,在两种相对湿度下,随着 PLB 平均粒重的增加,脱水后的含水率有提高趋势,而相对电导率呈下降趋势。统计结果(表 2)表明,RH = 32% 下的样本脱水处理的相关系数临界值 $r_{0.01}=0.798$;而 RH = 43% 处理的相关系数临界值 $r_{0.01}=0.834$,两种湿度下 PLB 单粒平均重与含水率的相关系数均大于各自临界值 $r_{0.01}$,关系为极显著正相关。在 32% 相对湿度下脱水,平均粒重与相对电导率呈极显著负相

关,在 43% 相对湿度下脱水则呈显著负相关。两种湿度下,PLB 平均粒重与相对电导率的回归方程均呈不显著的线性关系(决定系数小于 0.95),两个方程式的斜率不同,说明脱水的湿度不同,PLB 平均粒重每增加 1 mg,脱水后的相对电导率下降的幅度也不同,43% 相对湿度下脱水的相对电导率下降的幅度要大一些(降低 3.75%)。

表 1 不同平均粒重的蝴蝶兰类原球茎脱水后的含水率、相对电导率
Table 1 Water content (WC) and relative conductivity (RC) of *Phalaenopsis* PLB after dehydration

RH = 32%			RH = 43%		
平均粒重 Average grain weight (mg)	含水率 WC (g g ⁻¹ DW)	相对电导率 RC (%)	平均粒重 Average grain weight (mg)	含水率 WC (g g ⁻¹ DW)	相对电导率 RC (%)
18.84	3.01	74.1	17.89	7.155	44.1
20.55	4.32	67.2	19.00	6.254	30.6
21.02	3.28	71.1	20.83	8.63	15.8
21.88	3.10	83.1	21.70	12.95	26.9
22.74	3.15	69.4	21.91	7.906	17.1
24.09	4.35	53.0	21.94	10.96	21.7
24.84	4.93	52.3	24.85	13.05	15.4
28.73	5.65	35.3			
36.24	9.00	34.3			

表 2 蝴蝶兰类原球茎平均粒重与脱水后含水率、相对电导率的关系
Table 2 Relationships between average grain weight of *Phalaenopsis* PLB with water content (WC) and relative conductivity (RC) after dehydration

相对湿度 RH (%)	平均粒重与含水率 Average grain weight and WC	平均粒重与相对电导率 Average grain weight and RC		
	相关系数 <i>r</i>	相关系数 <i>r</i>	方程式 Equation	
			斜率 Slope	决定系数 <i>R</i> ²
32	0.952	-0.861	-2.79	0.741
43	0.862	-0.814	-3.75	0.662

2.1.2 类原球茎平均粒重与脱水后成活率的关系

PLB 于 RH = 32%、RH = 43% 下脱水 2 d 后取出,接种于培养基进行成活率试验,无法用于含水率测定(需 105℃ 烘干),所以只测定了 PLB 的失水率及成活率(表 3)。从表 3 可见,在两种相对湿度下,随着 PLB 平均粒重的增加,脱水后的失水率有所降低,而成活率有所提高。

表 3 不同平均粒重的蝴蝶兰类原球茎脱水后的失水率、成活率
Table 3 Water loss rate and survival of *Phalaenopsis* PLB after dehydration

RH = 32%			RH = 43%		
平均粒重 Average grain weight (mg)	失水率 Water loss rate (%)	成活率 Survival (%)	平均粒重 Average grain weight (mg)	失水率 Water loss rate (%)	成活率 Survival (%)
16.35	93.54	0	16.29	91.34	5.9
19.00	91.31	11.8	18.24	91.61	17.0
20.71	91.76	5.9	19.88	87.87	11.8
21.76	91.97	5.9	20.53	87.40	23.5
2.76	91.73	11.8	21.82	71.11	35.3
23.53	91.35	17.6	24.00	78.58	47.1
25.88	90.91	23.5	27.47	72.02	59.0
			29.41	67.80	70.6
			30.82	64.09	64.7
			33.88	59.73	76.5

就表 3 数据进行统计分析(表 4),RH = 32% 脱水处理的样本相关系数临界值 $r_{0.01} = 0.874$, $r_{0.05} = 0.754$; RH = 43% 处理的相关系数临界值 $r_{0.01} = 0.765$, $r_{0.05} = 0.632$ 。在 32% 和 43% 相对湿度下脱水,PLB 平均粒重与失水率分别达显著负相关和极显著负相关。在 32% 相对湿度下脱水,PLB 平均粒

重与脱水后成活率呈显著正相关,在 43% 相对湿度下脱水,则呈极显著正相关,但两种湿度下的回归方程线性关系均不明显(决定系数小于 0.95),两方程斜率不同,说明 PLB 平均粒重每增加 1 mg,在 43% 相对湿度下脱水,PLB 成活率的升高幅度要大一些(提高 4.3%)。

表 4 蝴蝶兰类原球茎单粒平均鲜重与脱水后失水率、成活率关系的统计分析
Table 4 Relationships between average grain weight of *Phalaenopsis* PLBs with water loss rate and survival after dehydration

相对湿度 RH (%)	平均粒重与失水率 Average grain weight and water loss rate		平均粒重与成活率 Average grain weight and survival rate		
	相关系数 r		相关系数 r	方程式 Equation	
				斜率 Slope	决定系数 R^2
32	-0.793		0.856	2.17	0.733
43	-0.984		0.974	4.30	0.947

2.2 蝴蝶兰类原球茎起始含水率与对脱水性的关系

蝴蝶兰 PLB 用 H₂O 浸泡 1 h,重量增加了 1.93%,即组织含水率提高了,不同起始含水率的 PLB 在不同相对湿度下脱水处理 2 d 后的失水率、成活率见表 5。

随着脱水湿度的提高,新鲜或浸水 PLB 的失水率都有所降低,且浸水 PLB 的失水率比新鲜 PLB 的低(表 5)。新鲜或经水浸泡的 PLB 脱水后的成活率随脱水湿度提高而提高,脱水湿度从 32% 提高到 52%,新鲜 PLB 和浸水 PLB 的成活率分别提高了 8.6 倍和 2.0 倍,即浸水 PLB 脱水后的成活率对脱水湿度的敏感性降低了。虽然浸水 PLB 在不同湿度下脱水后的成活率都比新鲜 PLB 的成活率提高,但随着脱水湿度的提高,成活率提高的倍数有所降低,在 32% 和 52% 相对湿度下,浸水 PLB 脱水后的成活率分别是新鲜 PLB 的 3.40 倍和 1.06 倍,也就

是说,浸水后 PLB 的鲜重提高了 1.93%,其脱水后的成活率提高了 1.06 ~ 3.40 倍。

2.3 脱水湿度与蝴蝶兰类原球茎的耐脱水性的关系

蝴蝶兰 PLB 在不同湿度下脱水处理 2 d,脱水湿度较低时,PLB 的含水率和相对电导率的变化趋势相反,相对湿度大于 52% 时,虽然 PLB 的含水率继续上升,相对电导率几乎持平(图 1),所以在相对湿度 52% 下脱水 2 d 的 PLB 含水率(13.32 g g⁻¹ DW)是质膜损伤的临界含水率。随着脱水湿度的提高,PLB 失水率降低、成活率明显上升,且相对湿度大于 52% 时,PLB 的成活率几乎达 100% (图 1),所以在相对湿度 52% 下脱水 2 d 的 PLB 失水率(58.87%)是 PLB 致死的临界失水率。

脱水处理后 PLB 的含水率(Y_1)或失水率(Y_2)与脱水湿度(X_1)建立的方程见表 6,决定系数都大于 0.95 小于 0.99,说明两个方程都显著回归。

表 5 新鲜或浸水的蝴蝶兰类原球茎脱水后的失水率、成活率变化
Table 5 Changes in water loss rate and survival of fresh and water soaked PLB

相对湿度 RH (%)	失水率 Water loss rate (%)		成活率 Survival (%)	
	新鲜类原球茎 Fresh PLB	浸水类原球茎 Water soaked PLB	新鲜类原球茎 Fresh PLB	浸水类原球茎 Water soaked PLB
32	91.51 ± 0.93	90.30 ± 1.99	9.8 ± 1.11	33.33 ± 6.81
37	89.14 ± 2.88	88.40 ± 1.67	21.2 ± 2.98	37.27 ± 6.81
43	82.32 ± 3.25	82.09 ± 3.16	41.2 ± 5.90	54.90 ± 8.97
52	59.38 ± 5.23	57.93 ± 5.09	94.1 ± 5.08	100.00 ± 0

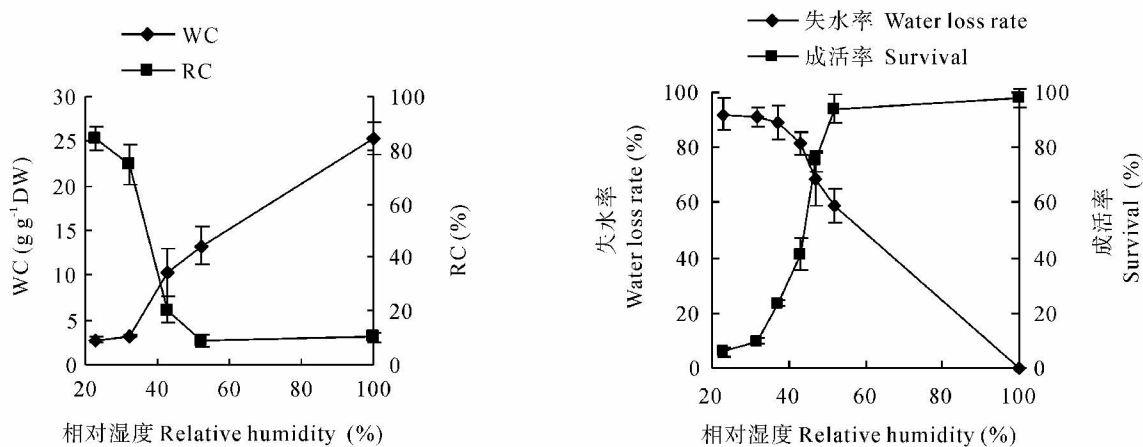


图 1 脱水湿度对蝴蝶兰类原球茎耐脱水性的影响。WC: 含水率; RC: 相对电导率。
Fig. 1 Effects of dehydration relative humidity on dehydration tolerance of *Phalaenopsis* PLB. WC: Water content; RC: Relative conductivity.

表 6 脱水条件与蝴蝶兰类原球茎失水程度的线性关系

Table 6 Linear relation between dehydration conditions and dehydrated degree of *Phalaenopsis* PLB

	含水率 Water content (Y_1)		失水率 Water loss rate (Y_2)	
	方程式 Equation	决定系数 R^2	方程式 Equation	决定系数 R^2
湿度 RH (X_1)	$Y_1 = 0.302X_1 - 4.116$	0.967	$Y_2 = -1.291X_1 + 130.33$	0.971
时间 Time (X_2)	$Y_1 = -4.498X_2 + 23.461$	0.943	$Y_2 = 18.023X_2 + 10.505$	0.920

2.4 脱水时间与蝴蝶兰类原球茎耐脱水性的关系

从图 2 可见,蝴蝶兰 PLB 在 52% 的相对湿度下脱水,在脱水前期,PLB 含水率迅速下降,相对电导率在脱水 2 d 后急剧上升,此外随着脱水时间的延长,PLB 的失水率几乎呈直线上升,PLB 成活率在脱水 2 d 后急剧下降。从表 6 可见,PLB 含水率(Y_1)或失水率(Y_2)与脱水时间(X_2)的决定系数均略小于 0.95,直线回归都不显著。

脱水速度与脱水湿度和时间有关,在相对湿度 32% 脱水下 2 d,PLB 的含水率为 3.2% (图 1),在 52% 相对湿度下脱水 5 d,PLB 的含水率为 3.0% (图 2),后者稍低一些,但相对湿度 32% 下脱水的 PLB 相对电导率为 74.6% (图 1),成活率为 9.8% (图 1),

52% 湿度下脱水的 PLB 相对电导率较低为 66.95% (图 2),成活率为 27.4% (图 2)。虽然两种脱水方式使 PLB 达到接近的含水率,但慢速脱水(52% 相对湿度下脱水 5 d)的 PLB 有较低的相对电导率和较高的成活率。

2.5 脱水温度、光照周期与蝴蝶兰类原球茎耐脱水性的关系

相对湿度为 43%,蝴蝶兰 PLB 在不同温度、不同光照周期下脱水的耐脱水指标见表 7。脱水温度越高,PLB 的失水率越高,脱水后的成活率越低。在 28℃ 下脱水,PLB 的失水率是在 20℃ 下脱水失水率的 1.32 倍,成活率仅为 20℃ 下脱水的 69.5%。

表 7 脱水温度和光照周期对蝴蝶兰类原球茎失水率、成活率的影响

Table 7 Effects of tempture and light period on water loss rate and survival of *Phalaenopsis* PLB

	温度 Temperature (°C)			光照周期 Light period (h d ⁻¹)		
	20	25	28	0	12	24
失水率 Water loss rate (%)	69.25 ± 1.19	82.32 ± 3.25	91.35 ± 2.88	83.62 ± 2.94	82.32 ± 3.25	82.96 ± 3.39
成活率 Survival (%)	52.94 ± 10.7	41.2 ± 5.90	36.77 ± 5.63	58.83 ± 8.32	41.2 ± 5.90	42.64 ± 7.40

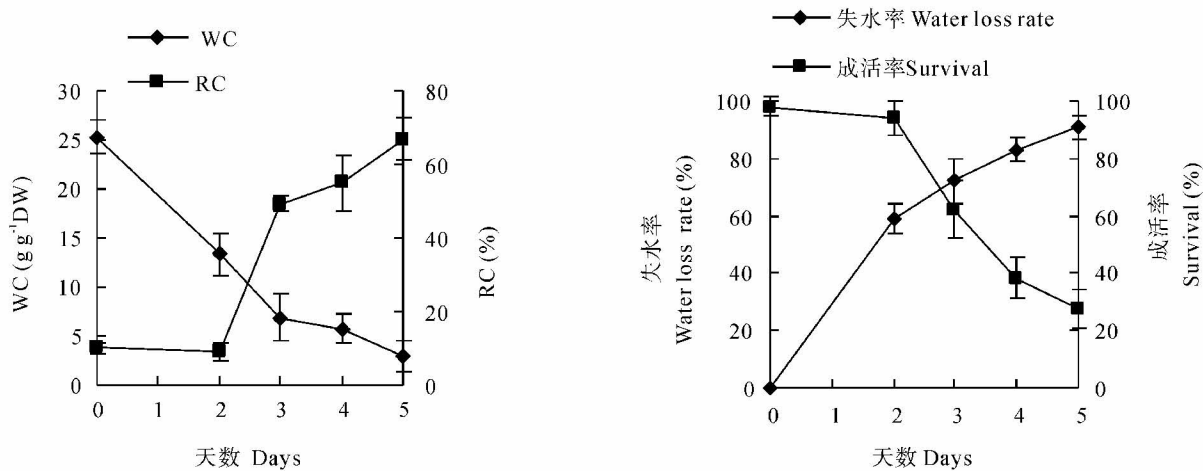


图2 脱水时间对蝴蝶兰类原球茎耐脱水性的影响。WC: 含水率; RC: 相对电导率。
Fig. 2 Effects of dehydration time on dehydration tolerance of *Phalaenopsis* PLB. WC: Water content; RC: Relative conductivity.

3 种光周期下,脱水后的 PLB 失水率差别不大,但以全暗条件下脱水的 PLB 的成活率最高,是 12 h d⁻¹光照下脱水成活率的 1.43 倍,脱水期间有光照的 PLB 脱水后成活率差别不大。

3 讨论

3.1 蝴蝶兰类原球茎指标对耐脱水性的影响

就材料本身而言,组织块大小(重量)、表面积(形状)、含水率等是影响组织耐脱水性的关键因素。在以往的研究中,有些只取一定重量的原球茎或 PLB 进行脱水处理^[3,6]或超低温保存^[2],然后测量含水率或存活率,这样具有操作便捷的优点;而在国外,普遍是选取一定大小的原球茎^[4,7]或 PLB^[8-10]进行脱水保存试验。Wang 等^[5]同时从原球茎直径和重量来规范取样材料,但在实际操作中,尤其在超净工作台上,取材的大小均一性仍会有一定误差,而且效率低下。较小的原球茎或 PLB 有较大的表面积体积比,而且可能因发育未完全成熟,积累的干物质较少等原因对脱水敏感。Poobathy 等^[8]用相同培养时间的 3 mm² 和 6 mm² 的千代兰 (*Ascoenda* ‘Princess Mikasa’) PLB 经高渗预处理及低温保存后,结果表明 6 mm² 的 PLB 有较高的存活率。Hooi 等^[13]用 4 周龄的直径 1 ~ 2 mm 和 3 ~ 4 mm 的索尼亚石斛 (*Dendrobium* ‘Sonia-28’) PLB 在附加蔗糖的培养基上预培养,用甘油脱水,结果表明 3 ~ 4 mm 的 PLB 冷藏效果较好。本研究结果表明,PLB 的平均粒重与脱水后的含水率、失水率、恢

复培养后的成活率呈显著或极显著正相关,与相对电导率呈显著或极显著负相关(依脱水湿度而异)。而且,在较高脱水湿度(43%)下,PLB 的平均粒重增加,脱水后其相对电导率的下降幅度、成活率的提高幅度都较大。

虽然 PLB 平均粒重与脱水后的含水率呈极显著正相关,但从表 1 可看出,某些 PLB 的平均粒重增加,脱水后其含水率反而下降,这可能与新鲜 PLB 自身(起始)的含水率有关。组培时培养瓶内的 PLB 团下部的 PLB 因接触或部分埋入培养基而具有较高的含水率。我们曾把培养瓶中未接触到培养基的新鲜 PLB 整个埋入培养基 4 h 后,结果其鲜重提高了 1.7%,即 PLB 含水率提高了。从 Wang 等^[4]建立的数学模型 $WC = \alpha \exp(\beta t)$ (WC 为脱水后的含水率,α 为起始含水率,β 为失水速率常数,t 为脱水时间)来看,脱水后 PLB 的含水率与其起始含水率成正比。因此,虽然单粒 PLB 鲜重较高,但其起始含水率较低的话,脱水后的含水率也可能较低。脱水后 PLB 含水率直接关系到样品损伤程度,本研究将新鲜 PLB 在 H₂O 中浸泡 1 h 以提高含水率,结果新鲜和浸泡过的 PLB 在 43% 的相对湿度下脱水 2 d 后的含水率分别为 $(7.37 \pm 1.47) \text{ g g}^{-1} \text{ DW}$ 和 $(10.36 \pm 2.724) \text{ g g}^{-1} \text{ DW}$,含水率的提高降低了 PLB 的脱水损伤程度,因而可以获得较高的成活率。此外,浸水 PLB 的鲜重较浸水前提高了 1.93%,脱水后的成活率提高了 1.06 ~ 3.40 倍,可见 PLB 的耐脱水性对脱水前的含水率十分敏感。

本研究在测定新鲜 PLB 的电解质渗漏率时,把 PLB 投入高纯水,大部分 PLB 上浮,少数下沉,反复抽气后,大部分 PLB 下沉,振荡 2.5 h 后才全部下沉,说明每粒鲜 PLB 的密度(细胞间隙大小)是有差异的,所以虽然 PLB 平均粒重较高,如果 PLB 细胞间隙较大的话,失水速度也较快,脱水后的含水率就会较低,这也是影响 PLB 耐脱水性的因素之一。

所以,PLB 的自身含水率、密度对耐脱水性指标也有很大影响。PLB 大小近似,但由于发育成熟度不同(常发生在 PLB 生长旺盛而十分拥挤的培养瓶内),可能会使 PLB 自身含水率、密度有所不同。

3.2 脱水条件对蝴蝶兰类原球茎耐脱水性的影响

不同脱水湿度对蝴蝶兰 PLB 耐脱水指标有影响。Wang 等^[4]指出原球茎脱水胁迫水平与脱水速度有关,原球茎在不同相对湿度下脱水,脱水损伤的临界含水率是不同的。快速干燥的 PLB 的再生率比慢速干燥的低^[1]。本研究结果也表明,蝴蝶兰 PLB 在不同湿度和时间下脱水至相近的含水率时,以慢速脱水对组织细胞的伤害较小,其相对电导率较低,且成活率较高。

林伟强等^[6]报道,铁皮石斛(*Dendrobium candidum*)的 PLB 在 25℃ 和 RH=25% 下脱水,时间为 5~90 h,结果 PLB 的含水率(g g^{-1} DW)与脱水时间呈直线回归。本研究在 25℃,RH=52%,脱水时间为 0~120 h 的条件下,PLB 的含水量与脱水时间的直线回归不显著,但决定系数接近显著回归的临界值 0.95。此外,Wang 等^[4]在 25℃ 和 RH 分别为 7%、80%、93% 下对苞舌兰(*Spahoglottis plicata*)原球茎进行脱水研究,脱水时间为 0~250 h,通过数学模型表明含水率与脱水时间呈指数关系。由此推测,在脱水起始的较短时间内,PLB 的含水量与脱水时间可以呈直线关系,但随着脱水时间延长,它们的关系已不呈直线关系,趋向于符合 Wang 等^[4]的前高后低凹弧形关系。

脱水温度对 PLB 的耐脱水指标也有影响。这可能是在较高温度下,PLB 水分蒸发较多,干燥器内硫酸溶液能吸收水分,以维持干燥器内的相对湿度,所以在较高温度下,PLB 有较快的干燥速度,以

致失水率较高,成活率较低。

植物严重脱水时,光合作用会受抑制,植物吸收的过剩光能增加,进而导致过多活性氧的产生和积累,不可避免地会破坏光合机构^[14]。在本研究的 3 种光周期下,脱水处理后 PLB 失水率差别不大,但 PLB 在光照条件下脱水,其成活率较低,虽然光照强度不大,时间也不长,但由于蝴蝶兰本来为阴生植物,在光照下脱水可能对 PLB 产生一定的伤害,这还有待于进一步的研究。

植物离体材料在现代种质保存上的应用日益广泛,植物组织的耐脱水性、与组织大小、表面积、起始含水率等有重要关系。本研究结果表明,蝴蝶兰 PLB 的耐脱水性对其大小(单粒重量)、含水率非常敏感,最好采用统计方法分析 PLB 自身规格与耐脱水指标的关系。同样大小 PLB 的含水率、密度等差异(无法直观甄别),可能与 PLB 的发育程度有关,所以使培养瓶内的 PLB 同步发育是关系到操作时取材均一性的关键因素之一。本文揭示的蝴蝶兰 PLB 单粒鲜重、含水率与脱水胁迫后组织含水率、膜损伤程度、恢复培养后的成活率的关系,对以大、中粒种子、愈伤组织、胚状体、原球茎等不可切割组织、器官材料进行类似研究有一定的启示作用。本研究还表明,影响蝴蝶兰类原球茎耐脱水性的外部因素除脱水湿度、时间外,脱水温度和光照周期也与类原球茎的耐脱水性有关。

参考文献

- [1] Fumiaki K, Koujirou T. Efficient method for the preservation and regeneration of orchid protocorm-like bodies [J]. *Sci Hort*, 1997, 68(1/2/3/4): 149-156.
- [2] Wang J H (王君晖), Zhang Y X (张毅翔), Liu F (刘峰), et al. Cryopreservation of seeds, protocorm and protocorm-like-bodies of *Dendrobium candidum* [J]. *Acta Hort Sin* (园艺学报), 1999, 26(1): 59-61. (in Chinese)
- [3] Bian H W, Wang J H, Lin W Q, et al. Accumulation of soluble sugars, heat-stable proteins and dehydrins in cryopreservation of protocorm-like bodies of *Dendrobium candidum* by the air-drying method [J]. *J Plant Physic*, 2002, 159(10): 1139-1145.
- [4] Wang X J, Loh C S, Yeoh H H, et al. Drying rate and dehydrin synthesis associated with abscisic acid-induced dehydration tolerance in *Spahoglottis plicata* (Orchidaceae) protocorms [J]. *J Exp Bot*, 2002, 53(368): 551-558.
- [5] Wang X J, Loh C S, Yeoh H H, et al. Differential mechanisms to induce dehydration tolerance by abscisic acid and sucrose in

- Spathoglottis plicata* (Orchidaceae) protocorms [J]. Plant Cell Environ, 2003, 26: 737–744.
- [6] Lin W Q(林伟强), Bian H W(边红武), Wang J H(王君晖), et al. Analysis of dehydrins in cryopreservation protocorm like-bodies of *Dendrobium candidum* by the air-drying method [J]. Acta Hort Sin(园艺学报), 2004, 31(1): 64–68.(in Chinese)
- [7] Maneerattananurong P, Bunnag S, Monthatong M. *In vitro* conservation of *Cleisostoma aretinum* (Rchb. f.) Garay, rare Thai orchid species by an encapsulation-dehydration method [J]. Asian J Plant Sci, 2007, 6(8): 1235–1240.
- [8] Poobathy R, Nair H, Subramaniam S. Optimisation of encapsulation-dehydration protocol for the orchid hybrid *Ascocenda* ‘Princess Mikasa’ [J]. Adv Environ Biol, 2009, 31(1): 69–83.
- [9] Yin M H, Hong S R. Cryopreservation of *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. protocorm-like bodies by encapsulation-vitrification [J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2009, 98: 179–185.
- [10] Liu F P(刘福平), Chen L X(陈丽璇). Dehydration degree and dehydration tolerance of *Phalaenopsis* PLB dried under different conditions [J]. Genom Appl Biol(基因组学与应用生物学), 2010, 29(5): 931–936.(in Chinese)
- [11] Liu F P(刘福平), Chen Y L(陈移亮). Effect of cytokinin on induction and macromolecules metabolic kinesis of somatic embryogenesis in *Phalaenopsis* spp. [J]. Fujian J Agri Sci(福建农业学报), 2007, 22(2): 162–166.(in Chinese)
- [12] 汤章成. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 302–303.
- [13] Hooi T H, James J, Julkiflee A, et al. A novel approach for preliminary PVS2 vitrification optimization parameters of *Dendrobium sonia*-28 orchid with Evan Blue staining [J]. Adv Environ Biol, 2010, 4(2): 284–290.
- [14] Selote D S, Khanna-Chopra R. Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing co-ordinated antioxidant defense at cellular and subcellular level in leaves of wheat seedlings [J]. Physiol Plant, 2006, 127(3): 494–506.