

上海适生白及属植物的耐湿性评价及其生理机制研究

朱娇^{1,2}, 黄卫昌^{2,*}, 曹建国¹, 周翔宇²

¹上海师范大学生命科学学院, 上海200234

²上海辰山植物园(中国科学院上海辰山植物科学研究中心), 上海201602

摘要: 以引种的12份白及属(*Bletilla*)种源为实验材料, 在人工水湿环境下结合形态变化测定5项生理指标, 结果发现: 形态变化方面, 主要是部分叶片发黄, 根部根系出现软化且根尖处有发黑的情况; 生理指标变化方面, 在水湿环境12、36、60 h下, 大多数白及属种源体内的丙二醛(MDA)含量先减少后增加, 脯氨酸(Pro)含量先增加后减少, 细胞膜透性先减少后增加, 叶绿素含量先增加后减少, 根系脱氢酶活性大多数先增加后减少, 在水湿环境下36 h达到调节极限。运用隶属函数对白及属植物耐水湿性进行综合评价, 得出耐水湿性从强到弱的排序是: 江西白及11号>重庆白及7号>湖北白及10号>湖北黄花白及3号>陕西白及12号>四川白及9号>陕西黄花白及5号>台湾小白及2号>云南小白及1号>广西黄花白及6号>安徽白及8号>四川小白及4号。

关键词: 白及属; 耐湿性; 生理特性; 隶属函数法

白及属(*Bletilla*)植物是多年生草本, 药用历史悠久, 假鳞茎均可供药用, 有止血补肺、生肌止痛之效。白及属植物约6种, 分布于亚洲的缅甸北部经我国至日本的区域内; 我国产4种, 即白及(*B. striata*)、黄花白及(*B. ochracea*)、小白及(*B. formosana*)和华白及(*B. sinensis*), 分布北起江苏、河南, 南至台湾, 东起浙江, 西至西藏东南部(中国科学院中国植物志编辑委员会1999)。

国内白及属研究主要集中在资源分布(任凤鸣等2016; 龚晔等2014), 假鳞茎、须根的药用物质提取及测试分析(颜智等2018; 饶文龙等2015), 临床医学作用(史珍珍等2015; 王大群等2016), 种子繁殖及组织培养(杨国鹏2017; 陈巧玲等2017), 遗传多样性分析(吴劲松2014)等研究方面。

目前国内仍有许多小商贩采挖野生白及使得白及资源越发匮乏。为了防止野生白及属植物濒危现象的发生, 以及更好地实行可持续发展战略, 人工栽培种植白及属植物显得尤为重要(石晶2010)。受气候、地形、土壤、水文及种植结构等诸多因素影响, 作物生长过程中时有湿害发生, 使其生产受损。作物遭受水湿灾害时, 土壤含水量过高, 积水及其引发的次生缺氧胁迫会改变植物正常的能量代谢途径和生理过程, 最终对植物的生长、发育和繁殖造成一系列不同程度的损害(刘承等2015)。湿害在世界范围内广泛发生, 在北美、澳洲、中国及印度等地尤为常见, 我国长江流域广大

地区每年夏秋季节也频发洪涝灾害。白及属植物在水湿环境下的生理变化研究报道较少。针对我国土壤湿害问题, 本研究进一步筛选和鉴定白及属植物的耐湿性, 研究水湿对白及属植物的生长和生理的影响, 探究适合其生长的湿度环境及生理机制, 为白及属植物的耐湿性育种和栽培提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本实验材料为白及属(*Bletilla* Rchb. f.)植物, 具体为白及[*Bletilla striata* (Thunb.) Rchb. f.]、黄花白及(*Bletilla ochracea* Schltr.)、小白及[*Bletilla formosana* (Hayata) Schltr.], 总共12份种源, 具体情况如表1所示。以下种源自2016~2018年期间从不同地方引种到上海, 均栽培于上海辰山植物园后备温室, 环境条件和管理措施基本一致, 且在上海辰山植物园适应性长势良好。

1.2 人工水湿胁迫

采用盆栽试验, 将盆栽的种源置于储水箱中。于2018年8月15日人工灌水模拟水湿环境, 设立湿地组(实验)和常规组(对照), 各湿地组和常规

收稿 2018-10-30 修定 2019-02-14

资助 上海市科委项目(16391900202)。

致谢 上海辰山植物园园艺部倪子轶和许如花对本实验取样过程的帮助。

* 通讯作者(hwc_zx@163.com)。

表1 白及属种源编号及名称

Table 1 The numbers and names of *Bletilla* spp. in this study

编号	种名	来源	编号	种名	来源
1	小白及	云南	7	白及	重庆
2	小白及	台湾	8	白及	安徽
3	黄花白及	湖北	9	白及	四川
4	小白及	四川	10	白及	湖北
5	黄花白及	陕西	11	白及	江西
6	黄花白及	广西	12	白及	陕西

组一一对应。湿地组在生长开花期开始进行人工灌水造湿,水面淹没土壤面2 cm,使植株完全浸没在水湿环境下,分别测定湿地组12、36、60 h下各项生理指标。常规组和湿地组的其他条件完全相同,最终利用隶属函数法对指标数据进行总体评估,最终筛选出耐湿性种源。

1.3 数据处理与统计分析

1.3.1 生理生化指标测定

根部脱氢酶活性测定采用氯化三苯基四氮唑(triphenyl tetrazolium chloride, TTC)比色法试剂盒(上海信帆生物科技有限公司),脯氨酸含量测定采用微量法试剂盒(上海索桥生物科技有限公司),丙二醛含量测定采用硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)比色法试剂盒(上海信帆生物科技有限公司),叶绿素含量测定使用植株养分速测仪(TYS-3N),细胞膜透性测定采用电导率法(张以顺等2009)。

1.3.2 统计分析

采用Excel 2007软件统计与整理试验数据,用Origin 8.5软件绘制图形,进一步用SPSS 19.0软件完成方差分析、因子分析、主成分分析和隶属函数计算(申惠翥和赵冰2018;张士超等2015)。

耐湿性系数(α 值)=湿地处理测定均值/对照测定均值 $\times 100\%$ 。

隶属函数值计算公式为: $U(X_j) = U(X_j - X_{\min}) / U(X_{\max} - X_{\min}) \times 100\%$, $j = 1, 2, \dots, n$ 。式中 X_j 表示第 j 个综合指标, $U(X_j)$ 表示第 j 个综合指标的隶属函数值, X_{\max} 和 X_{\min} 分别表示第 j 个综合指标的最大值与最小值(李琳等2016),如果耐湿性指标与耐湿性程度呈正相关,用耐湿性系数公式计算;耐湿性指标与耐湿性程度呈负相关,则用反耐湿性系数公式计算,保证所有指标的耐湿性系数都是正向。

各项综合指标的权重:

$$W_j = \sum_{j=1}^n |P_j|, j = 1, 2, \dots, n$$

式中 W_j 表示第 j 个综合指标在所有综合指标中的重要程度,即权重, P_j 为第 j 个综合指标的贡献率(李琳等2016)。

各白及属种源的综合耐湿能力大小:

$$D = \sum_{j=1}^n |U(X_j) W_j|, j = 1, 2, \dots, n$$

式中 D 值为各白及属种源在不同湿度条件下的耐湿性综合评价(李琳等2016)。

2 实验结果

2.1 水湿胁迫对白及属植物形态的影响

在水湿环境下12和36 h,白及属植物形态方面的变化不明显,不同种的根系硬度不同。在水湿环境60~108 h时,部分种源的叶子基部中线处出现少量发黄,茎干变软,有些种源的根部根系开始变软、脆弱、变黄,根尖处有的发黑有的嫩绿。其中小白及的根系明显比其他种脆弱,出现发黄、折断裂痕且透明化。

2.2 水湿胁迫对白及属植物生理指标的影响

2.2.1 水湿胁迫对白及属植物渗透调节物质含量的影响

如图1所示,在水湿环境下12和36 h时,白及属植物的丙二醛含量均下降。在水湿环境下60 h时,白及属植物体内的丙二醛含量均上升,3、5、9、11号的增长速度较快。在水湿环境下12~60 h期间,脯氨酸含量变化总体呈先增加后减少的趋势,36 h时脯氨酸含量达到最大值。例外的是,4号种源从12~60 h期间脯氨酸含量一直保持增长,2号和8号在12 h时脯氨酸含量为最大值。

2.2.2 水湿胁迫对白及属植物细胞膜透性和叶绿素含量的影响

如图2所示,在水湿环境下,白及属植物的叶绿素含量呈先减少后增加再减少的变化,白及属植物的叶绿素含量在12~36 h内呈现增长,60 h后降低。9、10、11、12号较其他种源在36 h时增速快。在水湿环境下12~60 h,白及属植物的细胞膜透性呈先增加后减少再增加的变化趋势。白及属

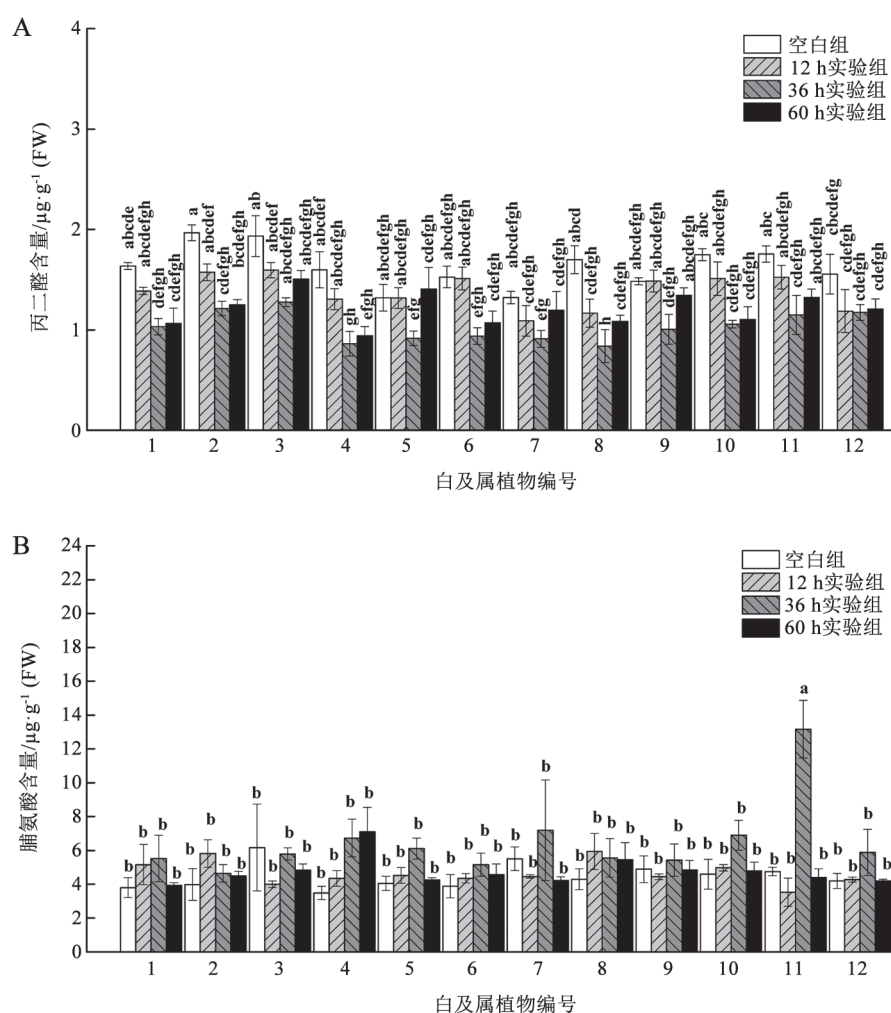


图1 水湿胁迫对白及属植物渗透调节物质含量的影响

Fig.1 Effect of waterlogging on osmotic adjustment substance content of *Bletilla* spp.

植物的细胞膜透性在12~36 h内逐渐下降, 60 h后增大。其中在水湿环境下60 h时, 2号和4号种源的细胞膜透性较大。

2.2.3 水湿胁迫对白及属植物根系脱氢酶活性的影响

如图3所示, 在水湿环境下12~60 h, 1、3、9、11号种源的根部脱氢酶活性逐步降低, 2、7号种源的根部活性逐步增加, 4、5、6、8、10、12号种源的根部活性先增加后减少。经过60 h的水湿环境胁迫, 2号和7号种源的根部活性最强。

2.3 白及属种源耐水湿性综合评价

在水湿环境胁迫60 h时, 白及属各种源的各项指标变化较为明显, 能较好地反映其耐湿能力。

各指标的相关性分析及结果如表2和3所示, 细胞膜透性大小与脯氨酸含量存在强负相关性。各指标主成分分析结果如表4所示, 把原先的5个指标转换为3个新的相互独立的综合指标, 3个主要指标CI₁、CI₂、CI₃的贡献率分别为41.48%、27.10%、20.02%。各综合指标的对应特征矢量为: $Y_1=0.272X_1-0.036X_2-0.666X_3+0.668X_4+0.181X_5$; $Y_2=-0.628X_1+0.747X_2-0.180X_3+0.124X_4-0.026X_5$; $Y_3=-0.265X_1-0.158X_2+0.064X_3-0.09X_4+0.944X_5$ 。主成分分析结果中, 第一主成分CI₁中细胞膜透性(X₄)的系数较大, 第二主成分CI₂中根系脱氢酶活性(X₂)的系数较大, 第三主成分中叶绿素含量(X₅)的系数较

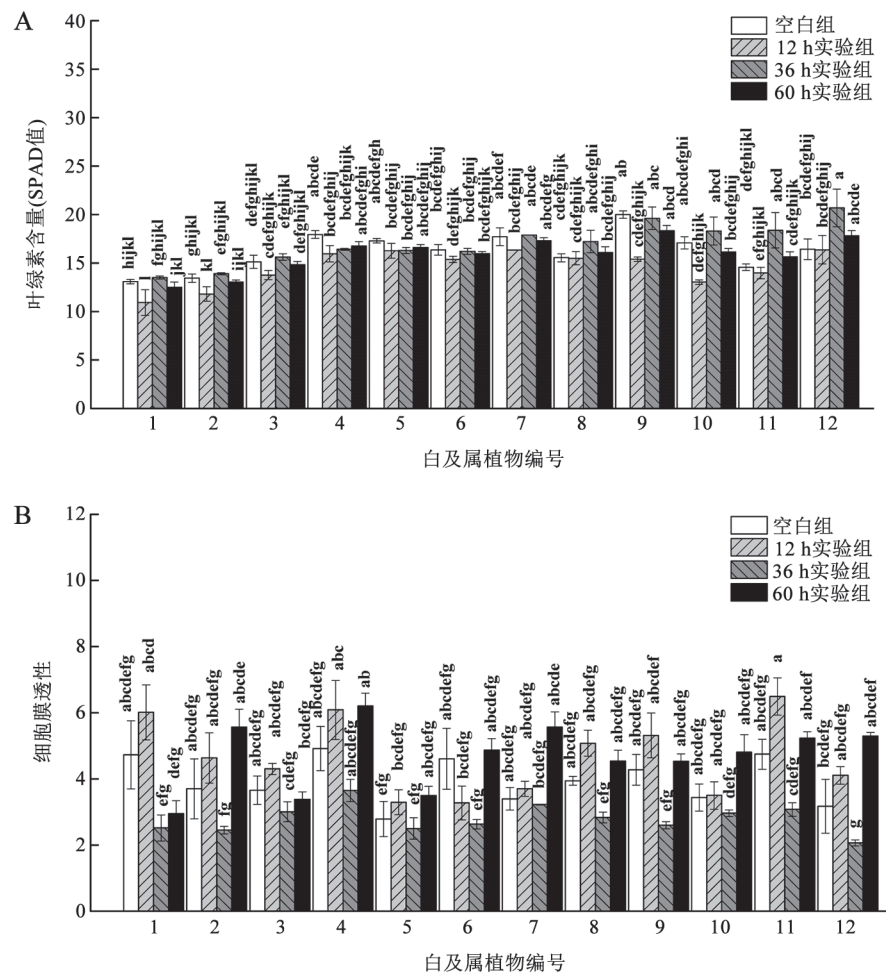


图2 水湿胁迫对白及属植物细胞膜透性和叶绿素含量的影响

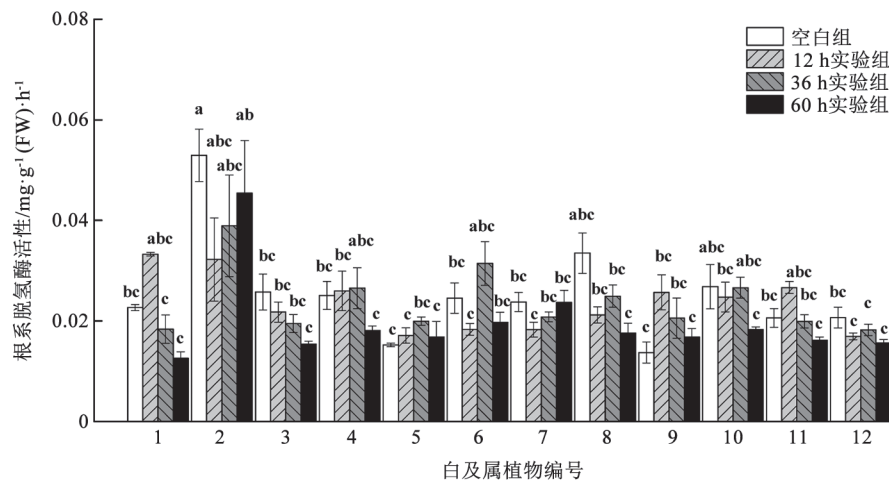
Fig.2 Effect of waterlogging on membrane permeability and chlorophyll content of *Bletilla* spp.

图3 水湿胁迫对白及属植物根系脱氢酶活性的影响

Fig.3 Effect of waterlogging on root dehydrogenase activity of *Bletilla* spp.

表2 不同白及属种源的耐湿系数(α 值)Table 2 Waterlogging resistant coefficient (α value) of different *Bletilla* samples

编号	丙二醛含量	根系脱氢酶活性	脯氨酸含量	细胞膜透性	叶绿素含量
1	1.601	0.554	0.877	1.139	0.955
2	0.616	0.857	1.127	0.887	0.971
3	1.081	0.598	0.783	1.276	0.980
4	0.761	0.722	2.018	0.495	0.935
5	0.798	1.101	1.048	0.953	0.961
6	1.019	0.804	1.177	0.849	0.976
7	0.609	0.996	0.817	1.222	0.977
8	0.889	0.525	1.269	0.787	1.034
9	0.942	1.223	0.990	1.009	0.916
10	0.761	0.682	0.853	1.171	0.945
11	0.906	0.785	0.925	1.080	1.073
12	0.607	0.756	0.998	1.001	1.085

表3 各项指标的相关系数矩阵

Table 3 Correlation analysis of physiological indexes

指标	丙二醛含量	根系脱氢酶活性	脯氨酸含量	细胞膜透性	叶绿素含量
丙二醛含量	1	—	—	—	—
根系脱氢酶活性	-0.385	1	—	—	—
脯氨酸含量	0.199	-0.100	1	—	—
细胞膜透性	0.226	0.025	-0.950**	1	—
叶绿素含量	-0.030	-0.100	-0.164	0.134	1

**：在0.01水平双侧上显著相关。

表4 综合指标的系数及贡献率

Table 4 Coefficients and contribution rates of comprehensive indicators

主成分	丙二醛含量	根系脱氢酶活性	脯氨酸含量	细胞膜透性	叶绿素含量	贡献率/%
CI ₁	0.272	-0.368	-0.666	0.668	0.181	41.48
CI ₂	-0.628	0.747	-0.180	0.124	-0.026	27.10
CI ₃	-0.265	-0.158	0.064	-0.090	0.944	20.02

大。综合分析结果得出细胞膜透性、根系脱氢酶活性、叶绿素含量在白及属植物的耐湿性评价中起主要作用,可作为白及属植物耐湿性的筛选指标。

通过主成分分析、相关性分析以及隶属函数值分析后结果如表5所示,最终得出耐水湿能力强的种源:江西白及11号>重庆白及7号>湖北白及10号>湖北黄花白及3号>陕西白及12号>四川白及9号>陕西黄花白及5号>台湾小白及2号>云南小白及1号>广西黄花白及6号>安徽白及8号>四川小白及4号。

3 讨论

3.1 水湿胁迫对白及属植物形态的影响

湿害是重大农业灾害。随着全球气候变化,局部范围内湿害越来越严重。植物对湿害胁迫的形态适应主要表现为以下两个方面:一是植物水分过多导致厌氧胁迫下植物体的能量供应骤减,在此情况下植物通过减少生长来适应湿害胁迫,直观表现为:主根停止生长,茎叶失水,叶片发黄变红,加快脱落,新叶形成受阻;随着淹水时间的延长及淹水深度的增加,植物的根尖变黑,活力下

表5 白及属各种源综合指标值、权重、*D*值及综合评价Table 5 Comprehensive index, weight value, *D* value and comprehensive evaluation of *Bletilla* spp.

编号	$U(X_1)$	$U(X_2)$	$U(X_3)$	$Y(X_1)$	$Y(X_2)$	$Y(X_3)$	<i>D</i> 值	耐湿性排序
1	0.992	0	0	0.464	0	0	0.464	9
2	0.486	0.778	0.247	0.227	0.237	0.055	0.520	8
3	1	0.378	0.131	0.468	0.115	0.029	0.612	4
4	0	0.390	0.288	0	0.119	0.063	0.182	12
5	0.507	0.911	0.131	0.237	0.277	0.029	0.545	7
6	0.536	0.481	0.169	0.251	0.146	0.038	0.436	10
7	0.746	1	0.177	0.349	0.305	0.040	0.694	2
8	0.541	0.283	0.333	0.253	0.086	0.075	0.414	11
9	0.541	0.953	0.012	0.253	0.290	0.002	0.547	6
10	0.825	0.617	0.170	0.386	0.188	0.038	0.612	3
11	0.858	0.577	1	0.401	0.176	0.225	0.802	1
12	0.646	0.724	0.381	0.302	0.221	0.085	0.609	5
权重值	0.468	0.305	0.225	—	—	—	—	—

降。二是在湿害下,植物根皮层细胞常发生程序性死亡,形成通气组织,建立避缺氧机制(童伟平等2013)。本研究中白及属植物的湿害表现为叶片发黄,茎干变软失水,根部根系脆弱、变软萎蔫、发黄,部分根尖处变黑。

3.2 水湿胁迫对白及属植物生理指标的影响

3.2.1 水湿胁迫对白及属植物渗透调节物质含量的影响

植物适应水涝胁迫的重要方式之一就是内部生理指标发生变化。植物体通过增加渗透调节物质来增大细胞质浓度,防止液泡从细胞质中吸水,避免细胞质这个代谢中心受到影响,以减轻伤害。脯氨酸能清除过多的活性氧,并通过渗透调节提高组织保水能力(徐延浩等2015)。在水涝逆境下,植物体内的酶保护系统受到破坏从而导致叶片内的丙二醛含量增加(戢小梅等2015)。本试验中水湿环境下36 h内,白及属植物脯氨酸含量增加,清除植物体内过多的活性氧,同时丙二醛含量减少,酶保护系统未受到破坏,白及属植物整体维持正常生长。由于长期处于水湿环境,36 h时白及属植物体内的脯氨酸渗透物质调节达到限度(最大值),随后脯氨酸含量逐渐减少,丙二醛含量逐渐增加,酶保护系统受到破坏,细胞膜系统损坏,因此不同种源在形态上出现不同程度的伤害。

3.2.2 水湿胁迫对白及属植物细胞膜透性和叶绿素含量的影响

细胞膜是细胞与外界环境进行物质和能量交换的场所,生物体的多种生理活动都与其有密切的关系。叶绿素作为植物体光合作用的基础物质,其含量的高低直接反映了植物的生长状态和光合能力的高低,大量研究表明逆境胁迫会不同程度降低植物体叶片中叶绿素的含量(廖德志等2017)。本试验中,前36 h脯氨酸等渗透调节物质增加以维持细胞膜的完整性和选择透过性,保证植物体叶片的正常生长状态和光合能力,因而细胞膜透性降低,叶绿素含量增加。在水湿环境下胁迫36 h后,白及属植物渗透调节机制达到极限,细胞膜系统受到损伤,难以维持叶片的正常生长,从而细胞膜透性逐渐增大,叶绿素含量降低。此研究结果表明在水湿环境36 h内,白及属植物能较好地调节渗透物质以维持自身生长,促进叶绿素形成,减少细胞膜透性,以维持植物稳定。

3.2.3 水湿胁迫对白及属植物根系脱氢酶活性的影响

根系活力是根系生理特性的重要指标,根系活力高说明根系吸收水分和养分的能力强。根部淹水,减少了根系对氧气的利用,有氧呼吸被无氧呼吸所取代。在无氧呼吸下,根系活力迅速衰竭,对水分和有机物的吸收和利用下降,形成生理干

旱甚至饥饿,从而使植株形态、生理和代谢过程发生变化(Gorai和Neffati 2011)。本试验中白及属植物的根部活性因种源而异,在水湿环境60 h内,少部分种源云南小白及、湖北黄花白及、四川白及、江西白及根部活性一直下降,少部分台湾小白及和重庆白及种源根部活性保持增长,大部分种源四川小白及、陕西黄花白及、广西黄花白及、安徽白及、湖北白及、陕西白及种源根部活性在36 h时达到最大值。从白及属根部活性总体上看,白及的根部活性较强,其次是黄花白及,最后是小白及。

3.3 白及属种源耐水湿综合评价

植物的抗逆性不但是一个受多种因素影响的复杂数量性状,且不同品种的抗逆机制也不尽相同,从而使得不同品种在逆境条件下对某一具体指标的反应也不尽相同。因为单一指标难以全面准确地反应植物品种抗逆性强弱,所以多指标被应用于综合评价作物对逆境的适应能力。评价植物抗逆性的指标较多,指标间又存在一定的相关性,使得它们所提供的植物对逆境反应的信息发生交叉与重叠,且各指标在综合评价时的重要性(权重)也不同,如果直接利用这些指标来综合评价植物的抗逆性则会对结果造成偏差(周广生等2003)。因此,利用主成分分析法将多个评价指标转化为几个主要具有代表性的评价指标,在此基础上,求出各品种的综合指标值(CI值)及相应的隶属函数值后,依据各综合指标的相对重要性进行加权,即可得到各品种抗逆性的综合评价值(D值)。

木犀科(Oleaceae)四个树种耐水淹能力的比较研究结果中叶绿素 $a+b$ 含量、叶绿素 a/b 值、丙二醛含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量和超氧化物歧化酶活性与四个树种耐淹性关系最为密切(李雪2013)。罗祺等(2007)筛选出游离脯氨酸、丙二醛含量以及相对电导率三个主要指标作为10个树种的耐水性能力大小的评价指标。本研究利用隶属函数,并结合相关性分析、主成分分析对12个不同种源耐湿性进行综合评价并排序,筛选出3个主成分,其中叶绿素含量、细胞膜透性、根系脱氢酶活性在白及属植物的耐湿性评价中起主要作用,可作为白及属植物耐湿性的筛选指标。通过

主成分分析、相关性分析以及隶属函数值分析后,最终得出耐水湿能力强的种源:江西白及11号>重庆白及7号>湖北白及10号>湖北黄花白及3号>陕西白及12号>四川白及9号>陕西黄花白及5号>台湾小白及2号>云南小白及1号>广西黄花白及6号>安徽白及8号>四川小白及4号;同时,白及属植物的三个种的总体耐水湿强弱是:白及>黄花白及>小白及。

参考文献(References)

- CAS Editorial Committee of the Flora of China (1999). Flora of China. 8. Beijing: Science Press, 46–47 (in Chinese) [中国科学院中国植物志编辑委员会(1999). 中国植物志. 8. 北京: 科学出版社, 46–47]
- Chen QL, Yang GC, Cheng Q, et al (2017). Establishment of rapid propagation system on tissue culturing of *Bletilla*. Hubei Agr Sci, 56 (24): 4807–4810 (in Chinese with English abstract) [陈巧玲, 杨国才, 程群等(2017). 白及组织培养的建立与快速繁殖研究. 湖北农业科学, 56 (24): 4807–4810]
- Gong Y, Jing PF, Wei YK, et al (2014). Potential distribution of *Bletilla striata* (Orchidaceae) in China and its climate characteristics. Plant Divers Resour, 36 (2): 237–244 (in Chinese with English abstract) [龚晔, 景鹏飞, 魏宇昆等(2014). 中国珍稀药用植物白及的潜在分布与其气候特征. 植物分类与资源学报, 36 (2): 237–244]
- Gorai M, Neffati M (2011). Osmotic adjustment, water relations and growth attributes of the xero-halophyte *Reaumuria vermiculata* L. (Tamaricaceae) in response to salt stress. Acta Physiol Plant, 33 (4): 1425–1433
- Ji XM, Xu L, Xie YF, et al (2015). Effect of flooding stress on physiological adaption metabolism of two species of native herbage. Southwest China J Agr Sci, 28 (1): 110–114 (in Chinese with English abstract) [戡小梅, 许林, 谢焰锋等(2015). 水涝胁迫下2种乡土草本植物生理特性的响应. 西南农业学报, 28 (1): 110–114]
- Li L, Yu S, Jiang YC, et al (2016). Identification and screening of different kidney bean cultivars for saline-alkaline tolerance during seedling stage. Plant Physiol J, 52 (1): 62–72 (in Chinese with English abstract) [李琳, 于崧, 蒋永超等(2016). 芸豆苗期耐盐碱性鉴定及品种筛选研究. 植物生理学报, 52 (1): 62–72]
- Li X (2013). Study on the comparison of the waterlogging stress resistance of four Oleaceae (dissertation). Changchun: Jilin Agricultural University (in Chinese with English abstract) [李雪(2013). 木犀科四个树种耐水淹能力的比较研究(学位论文). 长春: 吉林农业大学]
- Liao D, Chen J, Liu Q, et al (2017). Response of water-log-

- ging stress on chlorophyll content and anti-oxidant enzyme of *Cyclobalanopsis glauca* seedling provenances clone. *J Cent South Univ For Technol*, 37 (9): 1–6 (in Chinese with English abstract) [廖德志, 陈家法, 刘球等. 水涝胁迫对不同种源青冈栎幼苗叶绿素含量和抗氧化酶活性的影响. *中南林业科技大学学报*, 37 (9): 1–6]
- Liu C, Li ZT, Yang KJ, et al (2015). Effects of water stress and subsequent rehydration on physiological characteristics of maize (*Zea mays*) with different drought tolerance. *Plant Physiol J*, 51 (5): 702–708 (in Chinese with English abstract) [刘承, 李佐同, 杨克军等(2015). 水分胁迫及复水对不同耐旱性玉米生理特性的影响. *植物生理学报*, 51 (5): 702–708]
- Luo Q, Zhang JL, Hao RM, et al (2007). Change of some physiological indexes of ten tree species under waterlogging stress and comparison of their waterlogging tolerance. *J Plant Resour Environ*, 16 (1): 69–73 (in Chinese with English abstract) [罗祺, 张纪林, 郝日明等(2007). 水淹胁迫下10个树种某些生理指标的变化及其耐水淹能力的比较. *植物资源与环境学报*, 16 (1): 69–73]
- Rao WL, Zhang H, Zhang XW, et al (2015). Research progress of pharmacological actions of rhizoma *Bletillae*. *Shanghai J Tradit Chin Med*, 49 (8): 91–93 (in Chinese with English abstract) [饶文龙, 张浩, 张熹玮等(2015). 白及药理作用研究进展. *上海中医药杂志*, 49 (8): 91–93]
- Ren FM, Liu Y, Li Y, et al (2016). Resource distribution and breeding of medicinal plants in genus *Bletilla* Reichb. F. *Chin Tradit Herb Drugs*, 47 (24): 4478–4487 (in Chinese with English abstract) [任凤鸣, 刘艳, 李滢等(2016). 白及属药用植物的资源分布及繁育. *中草药*, 47 (24): 4478–4487]
- Shen HF, Zhao B (2018). Study on evaluation of heat tolerance and its physiological mechanisms in *Rhododendron* cultivars. *Plant Physiol J*, 54 (2): 335–345 (in Chinese with English abstract) [申惠翡, 赵冰(2018). 杜鹃花品种耐热性评价及其生理机制研究. *植物生理学报*, 54 (2): 335–345]
- Shi J (2010). Resources and Medicinal utilization of *Bletilla* (Orchidaceae) (dissertation). Haikou: Hainan University (in Chinese with English abstract) [石晶(2010). 白及属植物资源与利用(学位论文). 海口: 海南大学]
- Shi Z, Xu Z, Fu Y, et al (2015). Study of rhizoma *Bletillae* fibrous root alcohol extract on anti gastric ulcer. *J Shaanxi Coll Tradit Chin Med*, 38 (1): 63–65, 89 (in Chinese with English abstract) [史珍珍, 徐正虹, 付宇航等(2015). 白及须根醇提物抗胃溃疡作用研究. *陕西中医学院学报*, 38 (1): 63–65, 89]
- Tong WP, Mu CL, Li YQ, et al (2013). A summary of waterlogging tolerance of plants. *J Sichuan For Sci Technol*, 34 (1): 23–28 (in Chinese with English abstract) [童伟平, 慕长龙, 黎燕琼等(2013). 植物耐水湿性研究综述. *四川林业科技*, 34 (1): 23–28]
- Wang D, Zhao R, Liu H, et al (2017). The constituents, pharmacological action and clinical application of *Bletilla striata*. *China Pharm*, 26 (2): 93–96 (in Chinese with English abstract) [王大群, 赵仁全, 刘海等(2017). 白及的成分、药理作用和临床应用研究进展. *中国药业*, 26 (2): 93–96]
- Wang XJ, Meng ML, Cao CM, et al (2018). Effects of water stress on physiological characteristics and endogenous hormone IAA and ABA contents in seedling root of potato. *J Northeast Norm Univ-Nat Sci*, 50 (2): 103–109 (in Chinese with English abstract) [王晓娇, 蒙美莲, 曹春梅等(2018). 水分胁迫对马铃薯出苗期根系生理特性及内源激素IAA、ABA含量的影响. *东北师大学报(自然科学版)*, 50 (2): 103–109]
- Wu J (2014). Genetic diversity AFLP analysis and identification of *Bletilla* (dissertation). Nanjing: Nanjing Normal University (in Chinese with English abstract) [吴劲松(2014). 白及属植物AFLP遗传多样性分析及鉴定研究(学位论文). 南京: 南京师范大学]
- Xu YH, Hou ZH, Zhang WY, et al (2015). Effects of 5-azacytidine and sodium butyrate on waterlogging tolerance during stage in barley. *Guangdong Agr Sci*, (24): 26–30 (in Chinese with English abstract) [徐延浩, 侯泽豪, 张文英等(2015). 5-氮杂胞苷和丁酸钠对大麦苗期耐湿性的影响. *广东农业科学*, (24): 26–30]
- Yan Z, Liu G, Liu YC, et al (2018). Research progress on chemical constituents, pharmacological activities and quality evaluation of *Bletilla striata*. *Guangzhou Chem Ind*, 46 (16): 42–44, 48 (in Chinese with English abstract) [颜智, 刘刚, 刘育辰等(2018). 白及化学成分、药理活性及质量评价研究进展. *广州化工*, 46 (16): 42–44, 48]
- Yang G (2017). Research on seedling establishment technique of *Bletilla striata* with seed liquid culture and the occurrence of protocorm-like bodies (dissertation). Xi'an: Shaanxi University of Technology (in Chinese with English abstract) [杨国鹏(2017). 白及种子液体培养成苗技术及类原球茎发生研究(学位论文). 西安: 陕西理工大学]
- Zhang SC, Yuan F, Guo JR, et al (2015). Comprehensive evaluation on salt-tolerance of *Sorghum bicolor* seedlings by subordinate function values analysis. *Plant Physiol J*, 51 (6): 893–902 (in Chinese with English abstract) [张士超, 袁芳, 郭建荣等(2015). 利用隶属函数法对甜高粱苗期耐盐性的综合评价. *植物生理学报*, 51 (6): 893–902]
- Zhang Y, Huang X, Chen Y (2009). *Experimental Course of Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 129–139 (in Chinese) [张以顺, 黄霞, 陈云凤(2009). 植物生

理学实验教程. 北京: 高等教育出版社, 129–139]
Zhou GS, Mei FZ, Zhou ZQ, et al (2003). Comprehensive evaluation and forecast on physiological indices of waterlogging resistance of different wheat varieties, Sci

Agr Sin, 36 (11): 1378–1382 (in Chinese with English abstract) [周广生, 梅方竹, 周竹青等(2003). 小麦不同品种耐湿性生理指标综合评价及其预测. 中国农业科学, 36 (11): 1378–1382]

Study on moisture tolerance evaluation and physiological mechanisms in *Bletilla* spp. in Shanghai

ZHU Jiao^{1,2}, HUANG Wei-Chang^{2,*}, CAO Jian-Guo¹, ZHOU Xiang-Yu²

¹College of Life Science, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China

²Shanghai Chenshan Plant Science Research Center, Chinese Academy of Sciences; Chenshan Botanical Garden, Shanghai, Shanghai 201602, China

Abstract: In this study, twelve *Bletilla* germplasms were examined to determine their tolerance to excessive moisture. Within an artificial system with excessive moisture, *Bletilla* morphology and 5 physiological parameters including malondialdehyde (MDA) content, proline (Pro) content, cell membrane permeability, chlorophyll content, and root dehydrogenase activity were monitored at 12, 36 and 60 hours of treatments. Excessive moisture induced accumulation of chlorosis in leaves and softening of roots with noticeable blackness in the root tips. Regarding to the 5 physiological parameters, most of the examined *Bletilla* germplasms showed an initial decrease followed by an increase in the levels of MDA content and cell membrane permeability; meanwhile, an initial increase followed by a decrease was observed for Pro and chlorophyll contents as well as for root dehydrogenase activity. The time course study indicates that the *Bletilla* plants reached their maximum of regulatory capacity at 36 h of treatment. Based on the comprehensive evaluation by using subordinate function values, *Bletilla* plants tolerance to excessive moisture show the following order from the strongest to the weakest: *B. striata* No. 11 from Jiangxi, *B. striata* No. 7 from Chongqing, *B. striata* No. 10 from Hubei, *B. ochracea* No. 3 from Hubei, *B. striata* No. 12 from Shanxi, *B. striata* No. 9 from Sichuan, *B. ochracea* No. 5 from Shanxi, *B. formosana* No. 2 from Taiwan, *B. formosana* No. 1 from Yunnan, *B. ochracea* No. 6 from Guangxi, *B. striata* No. 8 from Anhui, *B. formosana* No. 4 from Sichuan.

Key words: *Bletilla*; moisture resistance; physiological character; subordinate function method

Received 2018-10-30 Accepted 2019-02-14

This work was supported by Shanghai Science and Technology Commission Project (16391900202).

*Corresponding author (hwc_zx@163.com).