

低温等因素对枇杷种质离体保存的影响

刘月学¹, 刘小军², 王家福^{2,①}, 林顺权³

(1. 临沂师范学院生物系, 山东 临沂 276400; 2. 福建农林大学亚热带果树研究所, 福建 福州 350002;
3. 华南农业大学园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要 初步研究了低温条件下枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.)试管苗离体保存的效果。结果表明:在常温(25℃)条件下,枇杷试管苗生长速度快,保存时间短,10个月后全部死亡;而在低温条件下,试管苗生长缓慢,保存时间较长。在11℃和15℃条件下,品种‘解放钟’和‘早钟6号’1a后的死亡率分别为20%、25%和15%、20%,表明低温有利于枇杷种质资源的离体保存。在试管包扎物的选择中,白纸+塑料薄膜和锡箔纸等材料封口对保存有利,而棉花、软木塞、橡皮塞等封口材料不利于试管苗的保存。

关键词: 枇杷;种质;离体保存;低温

中图分类号: Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2004)01-0028-04

Effects of low temperature and another condition on *Eriobotrya japonica* germplasm preservation *in vitro* LIU Yue-xue¹, LIU Xiao-jun², WANG Jia-fu^{2,①}, LIN Shun-quan³ (1. College of Biology, Linyi Teachers University, Linyi 276400, China; 2. Institute of Subtropical Fruits, Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. Horticultural College, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2004, 13(1): 28-31

Abstract: The effect of low temperature on the germplasm preservation with the plantlets of *Eriobotrya japonica* Lindl. was investigated. The results showed that in normal temperature (25℃) the plantlets grew fast, their preservation time was short and all died after 10 month. In low temperature, the plantlets grew slowly, their preservation time was longer than that in normal temperature. At 11℃ and 15℃, death rates of plantlets of two cultivars ‘Jiefangzhong’ and ‘Zaozhong No. 6’ were only 20%, 25% and 15%, 20% respectively after storage for one year. The low temperature was favorable for germplasm preservation of *E. japonica*. It was found that both the packing with the white paper, then covered with polypropylene membrane and the packing with tinfoil paper were suitable for the germplasm preservation of *E. japonica*, cotton, cork and rubber plug were obviously not suitable as packing materials.

Key words: *Eriobotrya japonica* Lindl.; germplasm; preservation *in vitro*; low temperature

枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.)是原产于我国的亚热带果树,在我国的栽培历史至少已2000a。枇杷含多种氨基酸及对人体有益的微量元素,是重要的经济果木之一^[1]。目前,由于人为自然生态环境的破坏,或由于人工选择目标的“片面性”,忽略了某些潜在的有益种质,以及自然灾害等多种原因,造成枇杷的种质资源面临流失的危险。

植物种质离体保存具有占用空间小、可排除病虫害和病毒等的侵染、生产上需要即可快速地大量繁殖、费用低廉等优点,克服了传统的种植保存的缺点。因此,这种技术对枇杷的种质保存、利用和改良具有重要的意义^[2]。枇杷种质的离体保存研究,国内外尚未见报道。本文主要就低温等条件对枇杷种质离体保存的影响进行了初步研究,以期对枇杷种

质资源的离体保存提供数据和资料。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

供试材料取自福建省农业科学院果树研究所国家枇杷种质资源圃,主要品种有:‘解放钟’(‘Jiefangzhong’)、‘早钟6号’(‘Zaozhong No. 6’)、‘长红3号’(‘Changhong No. 3’)、‘山里本’

收稿日期: 2003-04-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39950728)

作者简介: 刘月学(1975-),男,山东临沂人,博士研究生,主要研究方向为果树生物技术。

① 通讯作者

(‘Shanliben’)、‘香甜’(‘Xiangtian’)、‘白梨’(‘Baili’)、‘太城4号’(‘Taicheng No.4’)、‘洛阳青’(‘Luoyangqing’)、‘梅花霞’(‘Meihuaxia’)、‘禾车本’(‘Heceben’)等10个品种。本文选择其中‘解放钟’和‘早钟6号’为实验材料。每处理保存20株试管苗;所有试管苗由同一时间接种的材料快繁而来。

1.2 方法

1.2.1 低温处理 设置的温度为:常温(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 和低温(11 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 和(15 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,培养基为不加任何激素的MS基本培养基。光照条件为 $1\,000 \pm 100$ lx。

1.2.2 试管封口材料比较 封口材料为白纸+塑料薄膜、棉花+塑料薄膜、软木塞+防潮纸、橡皮塞+防潮纸、玻璃纸+塑料薄膜、锡箔纸等6个处理(以下简称白纸、棉花塞、软木塞、橡皮塞、玻璃纸和锡箔纸)。培养基为不加任何激素的MS基本培养基。光照条件为 $1\,000 \pm 100$ lx,培养温度为(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,所用品种为‘解放钟’。

1.2.3 观察指标 每个月观测试管苗的生长状况,观测的指标为试管苗的高度和叶片数目及死亡率,以此作为衡量植株生长状态的指标。

2 结果与分析

2.1 温度对枇杷试管苗保存的影响

2.1.1 温度对枇杷试管苗叶片生长的影响 不同温度下,枇杷试管苗在不同的培养时间内的叶片数见表1。表1结果表明,与常温[(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$]条件相比,低温条件[(11 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、(15 ± 1) $^{\circ}\text{C}$]下培养的枇杷试管苗生长明显减缓。从叶片数目变化来看,常温条件下,前3个月‘解放钟’试管苗叶片的生长速度非常快,从7.6片生长到12.5片,共抽生了4.9片叶子;第3~5月仍在缓慢生长,第6个月后停止生

长并开始落叶。而在 11°C 条件下,前3个月‘解放钟’的叶片从8.0片生长到9.3片,仅抽生了1.3片叶,且叶片较小,抽出新叶片的时间延长,叶片的颜色较为黄嫩,生长缓慢;从第6个月起,生长停止,叶片开始脱落,1 a后叶片还剩下8片。在 15°C 条件下,前3个月叶片从7.8片生长到10.4片,抽生了2.6片,生长速度中等,而后叶片停止生长,开始脱落。同样,‘早钟6号’试管苗的叶片数目也有类似的变化。

2.1.2 温度对枇杷试管苗株高的影响 不同温度下枇杷试管苗在不同培养时间的株高见表2。结果表明,低温条件下试管苗的增高明显比常温慢,且茎也较常温处理组的细嫩。特别是品种‘解放钟’差异非常明显,在 11°C 条件下,试管苗8个月才生长0.95 cm(从2.34 cm长至3.29 cm);在 15°C 条件下,8个月生长了1.59 cm;而常温下,5个月就生长了近3 cm。生长速度的延缓有利于种质的保存,可使保存时间明显延长。

2.1.3 温度对枇杷试管苗死亡率的影响 低温条件下,保存1 a后,试管苗成活率均在75%以上(见表3),并且植株生长势良好,没有出现茎部及叶片枯萎黄化的现象。在 11°C 条件下,品种‘解放钟’试管苗的成活率达到80%,‘早钟6号’达85%;在 15°C 条件下,‘解放钟’的成活率为75%,‘早钟6号’达到80%。而常温条件下,‘早钟6号’试管苗在第8个月死亡率达100%,‘解放钟’试管苗在第10个月死亡率达100%。同时也发现,供试枇杷个别品种对低温的忍受力较差,如在 11°C 的低温下,‘香甜’品种6个月后死亡率较高,与常温组无明显差别。死亡植株表现为叶片萎缩、凋零,但黄化现象较少,症状与冻害相似。这说明对于个别不耐寒的品种来说, 11°C 的低温处理可能不适合其保存。

表1 低温处理对枇杷试管苗叶片数的影响

Table 1 Effect of low temperature on the leaf number of *Eriobotrya japonica* Lindl. plantlets

品种 Cultivar	处理温度/ $^{\circ}\text{C}$ Temperature	不同培养时间的叶片数 Leaf number of plantlet in different culture time (t/month)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
解放钟 Jiefangzhong	25 ± 1 (CK)	7.6	9.8	12.5	12.6	12.7	10.8	10.5	10.2	10.0	9.5		
	11 ± 1	8.0	9.2	9.3	9.4	9.6	9.6	9.4	8.9	8.7	8.5	8.2	8.0
	15 ± 1	7.8	9.2	9.7	9.8	10.4	10.0	9.8	9.5	9.0	8.8	8.7	8.7
早钟6号 Zaozhong No. 6	25 ± 1 (CK)	7.5	10.1	12.2	10.9	10.8	10.6	10.3	10.0				
	11 ± 1	8.2	9.2	9.6	10.0	10.7	10.6	9.9	9.8	9.6	9.2	9.0	8.8
	15 ± 1	7.6	8.8	10.0	10.8	10.0	10.0	9.8	9.7	9.7	9.5	9.3	9.0

表2 低温对枇杷试管苗株高的影响

Table 2 Effect of low temperature on height of *Eriobotrya japonica* Lindl. plantlet

品种 Cultivar	处理温度/°C Temperature	不同培养时间的株高/cm Height of plantlet in different culture time (t/month)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
解放钟 Jiefangzhong	25±1(CK)	2.60	3.60	4.56	5.10	5.30	5.40	5.40	5.30	5.30	5.20		
	11±1	2.34	2.74	2.93	3.10	3.16	3.23	3.29	3.29	3.28	3.28	3.28	3.28
	15±1	2.41	2.85	3.15	3.50	3.80	4.00	4.05	4.05	4.00	3.98	3.98	3.98
早钟6号 Zaozhong No. 6	25±1(CK)	1.94	2.74	3.23	3.33	3.40	3.40	3.50	3.60				
	11±1	1.78	2.29	2.65	2.92	3.18	3.20	3.23	3.25	3.25	3.22	3.22	3.22
	15±1	1.80	2.40	2.70	2.98	3.22	3.25	3.24	3.24	3.23	3.23	3.23	3.23

表3 不同温度下枇杷试管苗的死亡率

Table 3 Death rate of plantlet of *Eriobotrya japonica* Lindl. at different temperature

品种 Cultivar	处理温度/°C Temperature	不同培养时间的死亡率/% Death rate of plantlet in different culture time (t/month)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
解放钟 Jiefangzhong	25±1(CK)	0	0	0	12.5	37.5	50.0	60.0	80.0	90.0	100.0		
	11±1	0	0	0	10.0	10.0	10.0	15.0	15.0	15.0	20.0	20.0	20.0
	15±1	0	0	0	10.0	15.0	15.0	17.5	20.0	20.0	25.0	25.0	25.0
早钟6号 Zaozhong No. 6	25±1(CK)	0	0	0	10.0	30.0	60.0	80.0	100.0				
	11±1	0	0	0	0	0	0	5.0	5.0	5.0	10.0	10.0	15.0
	15±1	0	0	0	0	0	5.0	5.0	10.0	10.0	15.0	15.0	20.0

总之,合适的低温处理可以明显降低枇杷试管苗的生长,延缓继代时间,从而达到种质离体保存的目的。

2.2 不同封口材料对枇杷试管苗保存的影响

已有的研究表明,不同的封口材料对植物种质保存的影响较大^[3]。本文研究结果(见图1)表明,棉花、橡皮塞和软木塞等封口材料组合不适合应用于枇杷种质离体保存。

由图1可看出,以棉花+塑料薄膜作为封口材料的试管苗在7个月内全部死亡,其原因有二,一为棉花的透气性强,造成培养基水分蒸发较快,随着时间的延长,培养基逐渐风干;另一方面,棉花容易吸附细菌,造成试管苗的污染,从而使试管苗的死亡数量随着时间的延长而显著增加。

而以橡皮塞作为封口材料的试管苗由于橡皮塞紧塞试管口,造成试管内透气性差,试管苗呼吸困难,至培养第4个月,试管苗也全部死亡。

用软木塞作为封口材料,由于在高压灭菌时极易因试管内压力的升高而进出,造成污染率的升高,在培养第6个月,试管苗全部死亡,因此也不适合作为枇杷种质保存的封口材料。

而白纸、玻璃纸与塑料薄膜组合和锡箔纸作为封口材料均比较适合用于枇杷种质离体保存。从叶

片的数目和植株高度的变化来看,植株生长比较平缓,保存时间相对较长。从1 a后的存活率来看,白纸组合比锡箔纸和玻璃纸组合略高,但没有明显差异。因此,从方便实用和经济的角度出发,白纸+塑料薄膜这一组合是枇杷种质离体保存的最佳封口材料。

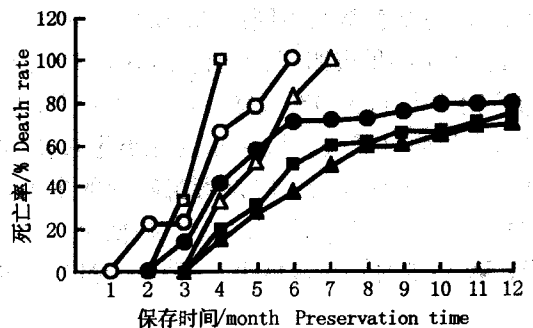


图1 不同封口材料对枇杷品种‘解放钟’试管苗死亡率的影响
Fig. 1 Effects of different packing materials on death rate of *Eriobotrya japonica* Lindl. cv. Jiefangzhong plantlets

3 讨论

在试管苗保存中,低温对试管苗生长有明显的抑制作用,低温下的存活率明显高于常温条件,因

此,低温处理是试管苗保存的常用的方法之一,在许多植物种类的保存实验中均取得了很好的效果^[4~8]。本实验的结果证明,低温有利于枇杷种质资源离体保存,在低温条件下,试管苗植株矮小,叶片数少,代谢活动减缓,生长慢,保存时间长。但不同品种间略有差异,除了品种‘香甜’试管苗外,多数枇杷品种在低温条件下生长正常,经过1 a保存实验,成活率均达75%以上。在不同的低温条件下,试管苗的生长情况也有不同,相对而言,11℃低温的保存效果比15℃更好,植株生长更慢,死亡率更低,存活率可提高5%~10%以上。从实验结果看,15℃和11℃低温适合于大多数枇杷品种的离体保存。

不同封口材料对枇杷种质离体保存效果的影响也有差别,主要表现在不同的封口材料对试管中气体成分及其含量等的变化和培养基的风干、污染等有不同的影响。从本实验中可以看出,棉花、橡皮塞和软木塞作为封口材料明显不利于枇杷种质的离体保存,白纸、玻璃纸和锡箔纸作为封口材料效果比较好。由于是单因子实验,培养基中没有加入抑制剂,因此试管苗的存活率并不高,但可以看出不同封口

材料之间的差异。如果将影响枇杷种质离体保存的因素如温度、包扎物、培养基、渗透压及生长抑制剂等化学和物理因素结合起来综合考虑,有助于延长枇杷种质离体保存的时间,其保存效果将更佳。

参考文献:

- [1] 邱武陵,章恢志. 中国果树志-龙眼枇杷卷[M]. 北京:中国林业出版社,1996.
- [2] 马缘生. 种质资源保存概况[A]. 马缘生. 作物种质资源保存研究论文集[C]. 北京:学术出版社,1989. 1-68.
- [3] 权银,陈竹生,郭天池,等. 柑橘种质的离体保存[J]. 中国南方果树,1996,25(4):3-5.
- [4] 史永忠,潘瑞炽,王小青,等. 铁皮石斛种质资源的低温离体培养[J]. 应用与环境生物学报,2000,6(4):326-330.
- [5] 张玉进,张兴国,刘佩英. 魔芋不定芽的低温保存研究[J]. 西南农业大学学报,1999,21(4):303-306.
- [6] 彭民彰,邓九生,甘霖. 油梨种质的离体低温保存[J]. 果树科学,1996,13(2):96-98.
- [7] Katha K K, Mroginski L A, Pahl K, et al. Germplasm preservation of coffee (*coffea arabica*) by *in vitro* culture of shoot apical meristems [J]. Plant Sci Lett, 1981,22(4):301-308.
- [8] Bessembinder J J E, Staritsky G, Zandvoort E A. Longterm *in vitro* storage of *Colocasia esculenta* under minimal growth[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993,33(2):121-127.

《植物资源与环境学报》2003年审稿专家名单

《植物资源与环境学报》2003年审稿专家名单如下(按姓氏的汉语拼音排序):

安树青	曹福亮	陈建群	陈树元	陈晓明	陈晓阳	陈重明	崔大方
邓懋彬	丁家宜	丁小余	丁雨龙	方升佐	方炎明	傅承新	高山林
高绪评	顾 姻	郭巧生	郭维明	韩玉林	杭悦宇	郝日明	何开跃
贺善安	黄敏仁	黄苏珍	瞿明普	李法曾	李维林	李先琨	廖剑华
廖文波	刘建秀	刘启新	刘友良	罗万春	潘泽慧	彭方仁	强 胜
秦慧贞	秦民坚	任冰如	沈晋良	施国新	施苏华	唐世蓉	万建明
王广东	王献溥	吴承祯	吴国荣	邢福武	阎 平	杨 继	殷云龙
余伯阳	余 萍	余树全	曾虹燕	张春兰	赵国平	钟惠民	

本刊对各位审稿专家的支持表示诚挚的感谢。