

# 温度对 GF<sub>43</sub>李离体保存中老化作用的影响

马瑞娟<sup>1</sup> 俞明亮<sup>1</sup> 许建兰<sup>1</sup> 宋卫平<sup>2</sup> 洪法水<sup>2</sup> 万志刚<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 江苏省农业科学院园艺研究所, 南京 210014; <sup>2</sup> 苏州大学生命科学学院, 苏州 215006)

**摘要:** 研究了不同温度对 GF<sub>43</sub>李 (*Prunus domestica* L.) 试管苗生长及老化过程的影响。结果表明在 16℃ 保存条件下 GF<sub>43</sub>试管苗的营养生长缓慢, 8℃ 保存 GF<sub>43</sub>试管苗的营养生长极缓慢, SOD、CAT 和 POD 等保护酶系统的活性维持较高水平, 体内 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 自由基、丙二醛 (MDA) 含量较低, 细胞膜结构相对稳定, 从而延缓了试管苗的衰老, 延长了两次继代之间的时间, 对试管苗的保存十分有利。

**关键词:** 李; 温度; 离体保存; 衰老

**中图分类号:** S 662 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 05-0660-03

## Effects of Temperature on Senescence of GF<sub>43</sub> (*Prunus domestica* L.) Plantlet in Vitro

Ma Ruijuan<sup>1</sup>, Yu Mingliang<sup>1</sup>, Xu Jianlan<sup>1</sup>, Song Weiping<sup>2</sup>, Hong Fashui<sup>2</sup>, and Wan Zhigang<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; <sup>2</sup> College of Life Sciences, Suzhou University, Suzhou 215006, China)

**Abstract:** The growth and senescence of GF<sub>43</sub> (*Prunus domestica* L.) cultured at different temperatures in vitro were studied. The results showed that the growth rate of GF<sub>43</sub> plantlet in vitro was slow at 16℃, the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) were increased, the activated oxygen scavenging system was improved. Consequently this alleviated the harmful effect of O<sub>2</sub><sup>-</sup> and reduced the membrane lipid peroxidation in shoot, prolonged the life-span of GF<sub>43</sub> plantlet in vitro.

**Key words:** *Prunus domestica* L.; Temperature; Plantlet in vitro; Senescence

## 1 目的、材料与方法

种质离体保存在许多果树上已有研究, 然而有关保存过程中的衰老作用机制还缺乏系统的研究。试管苗的衰老机制可能涉及到体内自由基含量的变化、细胞膜脂过氧化水平以及起清除自由基作用的保护酶系统活性的变化, 而温度又是影响这些变化的控制因素之一。本试验对常温 (25℃) 和常低温 (16℃, 8℃) 培养下的 GF<sub>43</sub>李试管苗的生长动态及老化过程进行了深入研究, 为今后建立李属种质资源离体保存提供理论依据及技术保障。

试验选用 GF<sub>43</sub> [欧洲李 (*Prunus domestica* L.) 实生后代] 作试材, MS 培养基, 光照培养箱培养温度为 25℃、16℃ 和 8℃, 每处理 40 瓶 (100 mL 培养瓶, 30 mL 培养液), 每瓶接入 4 株长 1 cm 具顶芽的试管苗, 光照 12 h d<sup>-1</sup>, 光强 1500 lx, 1 个月开始调查植株生长情况。培养 3~7 个月取叶片测定超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 活性, O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率, 丙二醛 (MDA) 含量和细胞膜相对透性<sup>[1~6]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 温度对 GF<sub>43</sub>试管苗生长的影响

GF<sub>43</sub>试管苗在 25℃、16℃ 和 8℃ 保存中, 以 25℃ 下生长速度最快, 两个月已经长到 4.5 cm, 第 4

收稿日期: 2003-10-17; 修回日期: 2004-02-02

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK2002501)

个月开始出现黄叶, 6~7 个月时大部分中下部叶均黄化并有脱落, 根系褐化严重。8 下植株生长极为缓慢, 极度矮化, 叶面积只有 25 下生长叶片的 1/4, 根系生长正常, 无褐变发生。16 下生长较缓慢, 培养 7 个月高度只相当于 25 下第 1 个月的水平, 叶面积比 25 下生长叶片稍小, 在 7 个月培养期内基本无黄叶产生, 到第 8 个月开始有少量黄叶出现, 根系生长正常, 无褐变发生。

## 2.2 温度对 GF<sub>43</sub> 试管苗抗氧化酶活性的影响

由图 1 可见, GF<sub>43</sub> 试管苗在 16 下 SOD、CAT 和 POD 活性始终维持较高水平。在 3~7 个月期间, SOD 酶活性分别是 8 保存的 3.7、2.7、2.1、1.5 和 1.3 倍, 25 保存的 5.2、3.9、2.9、2.5 和 2.4 倍; 8 下 SOD 酶活性是 25 的 1.5 倍左右, 表明适度低温可以大幅度提高 SOD 活性, 这可能是保护性反应引发酶活性的增加, 与杨盛昌等<sup>[7]</sup>的研究结果一致。CAT 和 POD 具有上述同样的变化趋势。

## 2.3 温度对 GF<sub>43</sub> 试管苗 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率、MDA 含量以及细胞质膜透性的影响

随着保存期的延长和试管苗的衰老, O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率显著加快, 但 16 和 8 保存的 GF<sub>43</sub> 试管苗 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率明显比 25 保存的慢, MDA 含量和细胞质膜相对透性明显比 25 保存的低 (图 2)。由于 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率和 MDA 含量在 16 和 8 保存时较低, 减轻了抗氧化酶的负担, 有助于细胞内活性氧的

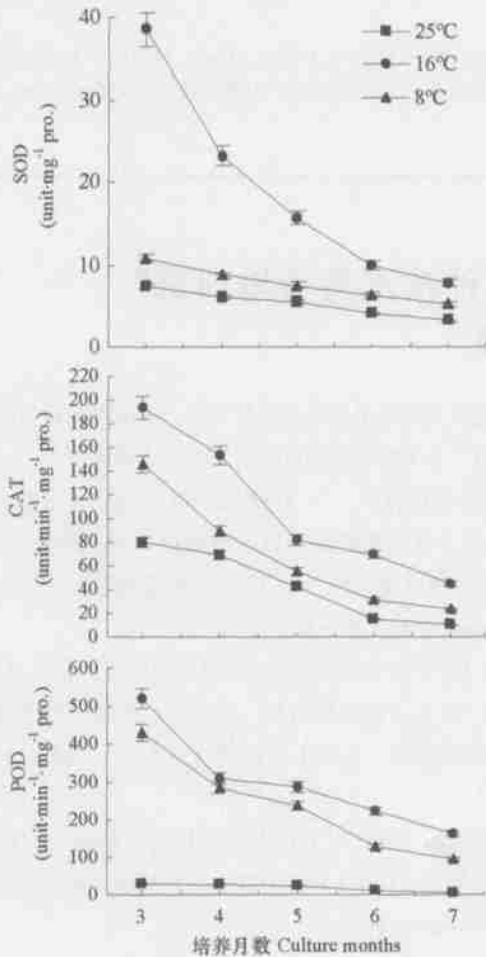


图 1 不同温度对 GF<sub>43</sub> 试管苗 SOD、CAT 和 POD 活性的影响

Fig. 1 Effect of different temperature on SOD, CAT and POD activities of GF<sub>43</sub> in vitro

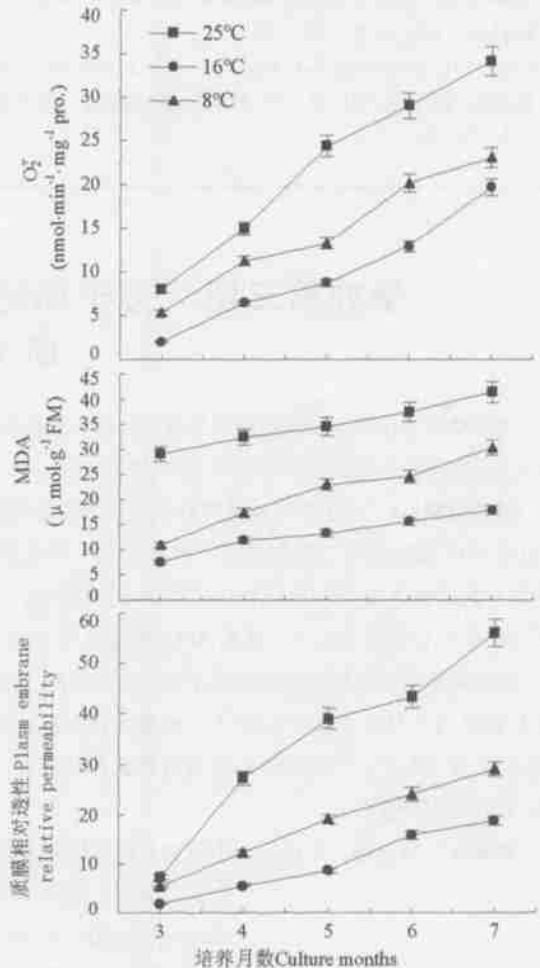


图 2 不同温度对 GF<sub>43</sub> 试管苗 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率、MDA 含量和细胞质膜相对透性的影响

Fig. 2 Effect of different temperature on O<sub>2</sub><sup>-</sup> production, MDA content and plasma membrane relative permeability of GF<sub>43</sub> in vitro

代谢保持平衡。另外 16 保存 3~5 个月 MDA 含量没有显著变化, 证明 16 保存对 GF<sub>43</sub> 试管苗细胞膜结构具有较好的保护作用。

在保存 1~2 个月期间, 培养基情况和试管苗生长情况均良好, 逆境胁迫不明显; 随着保存时间的延长, 对于 25 和 16 来说, 后期的逆境主要是培养基耗尽和水分缺失造成的。25 培养保存到第 8 个月由于培养基干枯而死亡, 16 保存至 11 个月根系开始褐化, 第 13 个月培养基逐渐干枯。8 保存, 前期主要是低温造成的逆境, 后期既有低温又有培养基耗尽和水分缺失造成的逆境; 8 试管苗生长代谢速度比前两种温度下都慢, 水分蒸发很少, 保存到 14 个月试管苗根系才逐渐开始褐化。本研究认为 25 保存继代时间以 5 个月为宜, 16 以 10 个月为宜, 8 以 14 个月为宜。

### 参考文献:

- 1 Gannopolitis C N, Rice K. Superoxide dismutase purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedling. *Plant Physiol.*, 1977, 59: 315~318
- 2 Tottempudi K P. Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings. *Plant Physiol.*, 1997, 114: 1369~1376
- 3 Wakamatsu K, Tahama U. Change in peroxidase activity and in peroxidase isozymes in carrot. *Plant Physiol.*, 1993, 88: 167~177
- 4 王爱国, 罗广华. 植物的超氧自由基与羟胺的定量反应关系. *植物生理学通讯*, 1990, 26 (6): 55~59
- 5 Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1968, 125: 189~198
- 6 Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193: 265~275
- 7 杨盛昌, 谢潮添, 张 平, 等. 冷锻炼对低温胁迫下夏威夷椰子膜脂过氧化及保护酶活性的影响. *植物资源与环境学报*, 2002, 11 (4): 25~28

## 举办第三期“分子标记辅助育种技术高级培训班” 预 备 通 知

为推动园艺作物分子标记辅助育种广泛深入的研究与开展, 促进农业科研单位的交流与合作; 中国农业科学院蔬菜花卉研究所和中国园艺学会定于 2004 年 12 月 5~11 日举办第三期“分子标记辅助育种技术高级培训班”。

培训内容: 1. 分子标记辅助育种原理与方法及分子标记辅助育种常用技术。2. AFLP 及 SSR 实验技术。实验内容包括 DNA 快速提取、酶切连接、PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳检测、聚丙烯酰胺凝胶电泳检测、DNA 银染技术、AFLP 片段回收以及 AFLP 标记向 SCAR 标记的转化。3. Tilling 技术原理以及应用。4. DNA 高通量提取方法 (QIA-GEN RETCH 仪器使用)。5. 荧光 AFLP 标记技术 (Li-cor DNA Analyzer IR2 4200-02G 使用)。

报名和地点: 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 12 月 5 日报到 (住中国农科院研究生院)。学员报名截止日期: 2004 年 12 月 5 日前, 名额为 30 人, 额满为止; 需交纳培训费 2500 元/人 (包括资料费、讲课费、药品耗材费等), 可提前汇款 (帐户: 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 0200007609000200368, 北京工商行紫竹院支行) 或报名时交款。颁发培训班证书。

联系人: 张延国, 王晓武: 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京市海淀区中关村南大街 12 号, 邮编: 100081;  
电话: 010 - 62146163, 68919541; 传真: 010 - 62174123, 62146160。电子邮箱:  
zhangyg@mail.caas.net.cn, wangxw@bragene.com

张 彦: 中国园艺学会办公室, 电话: 010 - 68919528。

中国农业科学院蔬菜花卉研究所  
中国园艺学会

2004 年 9 月 27 日