

· 研究报告 ·

光照和温度对红花槭限制生长保存的影响

咸洋, 董昕, 解孝满*, 吴丹, 韩彪, 王艳

山东省林木种质资源中心, 济南 250102

摘要 该文主要探讨了光照时间、光照强度、温度及昼夜温差等保存条件对卓越红花槭(*Acer rubrum* cv. 'Somerset')限制生长保存的影响。结果表明, 在为期182天的保存过程中, 离体材料前期以分化生长为主, 后期以营养生长为主, 并呈现一定的低温适应性。温度对离体材料生长的影响达极显著水平($P<0.01$); 光照时间和光照强度影响持久, 二者交互作用达显著水平($P<0.05$); 昼夜温差对平均出芽数和生根率都有显著影响。研究表明, 保存效果最好的条件是T3 (25°C, 12小时光照, $62.50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)和T7 (25°C, 12小时光照, $31.25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)处理组, 但最佳保存条件的选择标准并不唯一, 其核心是保证种质材料的分化能力。

关键词 限制生长保存, 离体保存, 组织培养, 生长规律

咸洋, 董昕, 解孝满, 吴丹, 韩彪, 王艳 (2019). 光照和温度对红花槭限制生长保存的影响. 植物学报 54, 64–71.

卓越红花槭(*Acer rubrum* cv. 'Somerset')隶属槭树科槭属, 是从北美红花槭(*Acer rubrum*)中选育的优良品种之一, 其干形优美, 叶色鲜艳, 红叶期长, 适应性强, 观赏价值高。山东省林木种质资源中心于2007年从美国引进该树种, 并开展了其组培快繁研究, 已建立了完善的组培快繁体系, 繁殖效率达8.0 (咸洋等, 2013)。为防止品种退化, 保护优良品种, 现阶段应积极开展种质资源保存研究。针对已有成熟组培快繁体系的种质资源, 限制生长保存较为简便, 同时也能够保持其优良性状, 节约成本。限制生长保存是一种离体保存方法, 通过改变培养物的外界环境条件, 限制其生长, 但不死亡, 从而达到延长继代培养时间的目的。限制生长保存可采用的方法很多, 从操作方式上大致可分为2类。一是调整培养基成分, 如调整碳含量、改变激素种类和含量以及增加渗透调节物质; 二是改变保存条件, 如光照、温度和含氧量(徐刚标, 2000; 周逊和向长萍, 2008; 兰伟和陈发棣, 2010)。上述方法虽然原理不同, 但都能达到限制生长的目的。本研究以卓越红花槭为试材, 探讨了光照和温度变化对离体材料生长量的影响, 无论对组织培养还是限制生长保存都具有重要的借鉴意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料为山东省林木种质资源中心保存的卓越红花槭(*Acer rubrum* L. cv. 'Somerset')组培苗。其外植体母株来自山东省林木种质资源中心枣园库定植的卓越红花槭植株1–2年生枝条。

1.2 方法

1.2.1 试验设计

根据卓越红花槭组培苗生长特性, 选取4种光照时间(8、12、16和24小时)、2种光照强度(31.25 和 $62.50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)及4种温度(8、15、25和25/18°C), 设置12组离体保存处理(表1)。主要考察光照时间(T1–T8)、温度(T2、T9、T10和T11)、昼夜温差及光照强度(T2、T6、T11和T12)等因素对离体保存材料生长状态的影响。所有处理组均采用统一的培养基G23 (DKW+ $0.025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ+ $0.03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ AC+ $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖)。每组约32个外植体, 接种16或17瓶, 每个外植体上2或3个芽点, 重复3次。每7天调查1次生长情况, 保存至182天。

收稿日期: 2018-01-11; 接受日期: 2018-08-01

基金项目: 山东省林业科技创新项目(No.LYCX01-2018-02)和国家科技基础条件平台项目(No.ZWQX1807)

* 通讯作者。E-mail: xxm529@126.com

表1 卓越红花槭离体保存试验设计
Table 1 Experimental design of *in vitro* conservation of *Acer rubrum* L. cv. 'Somerset'

Treatment	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
Photoperiod (h)	24	16	12	8	24	16	12	8	16	16	16	16
Light intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	62.50	62.50	62.50	62.50	31.25	31.25	31.25	31.25	62.50	62.50	62.50	31.25
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25	25	25	15	8	25/18*	25/18*

* 25/18表示在有光照时温度为25℃, 无光照时温度为18℃。* 25/18 stands for 25℃ in the light and 18℃ in the dark.

1.2.2 生长量调查

每7天进行1次生长调查。调查指标包括外植体分化率(分化外植体数量/接种外植体数量; 外植体上形成叶、芽、根等器官或愈伤组织时, 视其已发生分化, 本研究中多数为分化形成芽)、平均出芽数(丛生芽总数量/接种外植体数量)、生根率(生根苗数量/接种外植体数量)和平均株高(0.5 cm以上植株平均高度)等。其中平均出芽数是衡量分化能力的主要指标。为了减少调查中的误差, 同时更准确地反映离体材料生长状况, 根据生长的不同阶段, 将丛生芽分为3类: A类芽为萌动(芽形态肉眼可见, 叶片形态未显现); B类芽为萌发(叶片形态显现); C类芽为生长(芽高0.5 cm以上, 需测量高度)。

根据生长量调查结果绘制生长曲线, 并选取部分数据使用SPSS 18.0软件作进一步分析。

1.2.3 活力恢复

将所有瓶苗接种至新鲜的G23培养基上, 恢复培养28天, 调查生长量。培养条件: 光照强度为 $62.50\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光照16小时, 培养温度为25/18℃ (在有光照时温度为25℃, 无光照时温度为18℃)。

2 结果与讨论

2.1 生长曲线分析

根据每次调查结果的平均值绘制离体材料182天的生长曲线(图1)。182天后的生长状态如图2所示。

2.1.1 外植体分化率

由图1A可知, 大部分处理组分化率在第14天达到80%以上, 第56天又出现1个小高峰, 之后一直到调查结束变化都比较平稳。而T9和T10处理组却呈曲线上升, 调查期间间断出现分化率降低, 这与培养温度

过低导致刚分化出的A类芽生长缓慢或死亡有关。根据外植体生长情况, 选取大部分处理出现峰值时期(即第7、14、56和175天)的数值作进一步数据分析。

2.1.2 平均出芽数

平均出芽数指总的平均出芽数, 是分析外植体材料生长分化能力的重要指标(图1B)。整个保存期间, 大部分处理的平均出芽数呈缓慢上升趋势。芽分化最快的阶段是0–14天, 14天后出现回落, 结合图1C表明此时平均高度仍保持较快增长, 因此, 此阶段转向营养生长。直至第28天, 大部分处理芽的增长都不明显, 甚至出现降低现象, 随后直至调查结束又出现几个生长高峰, 如第49–56天、第91天及第147天。高峰的间断出现说明外植体一直保持分化能力, 但是分化出的芽却无法生长。从单个处理组来看, T3处理组最早(第14天)达到峰值(1.4), 说明T3处理组生长较快, 可在短期内迅速扩繁。T7处理组分化开始时间较晚, 但是分化能力较强, 第28天首次达到峰值(1.48)后开始回落, 第98天平均出芽数达到最高(1.69), 第182天仍保持同时期最高值(1.48), 说明T7处理组能一直保持比较好的分化能力, 比较适合长期保存。T9和T10处理组出芽数明显低于其它处理组, 也间断有峰值和回落的情况, 但是从整个保存期来看, 其增长趋势最明显, 后期甚至超过常温的T2处理组。结合生长情况, 取峰值较明显的第7、14、28、49、98、147和175天的调查结果作进一步分析。

2.1.3 平均高度

平均高度主要反映外植体的营养生长情况。为避免由于芽过小引起测量误差, 我们只对C类芽, 即高度在0.5 cm以上的芽进行测量。由图1C可知, 几乎所有处理的平均高度都呈上升趋势, 最高的T12处理组达3.24 cm。7–14天平均高度增长最快, T8处理组达到

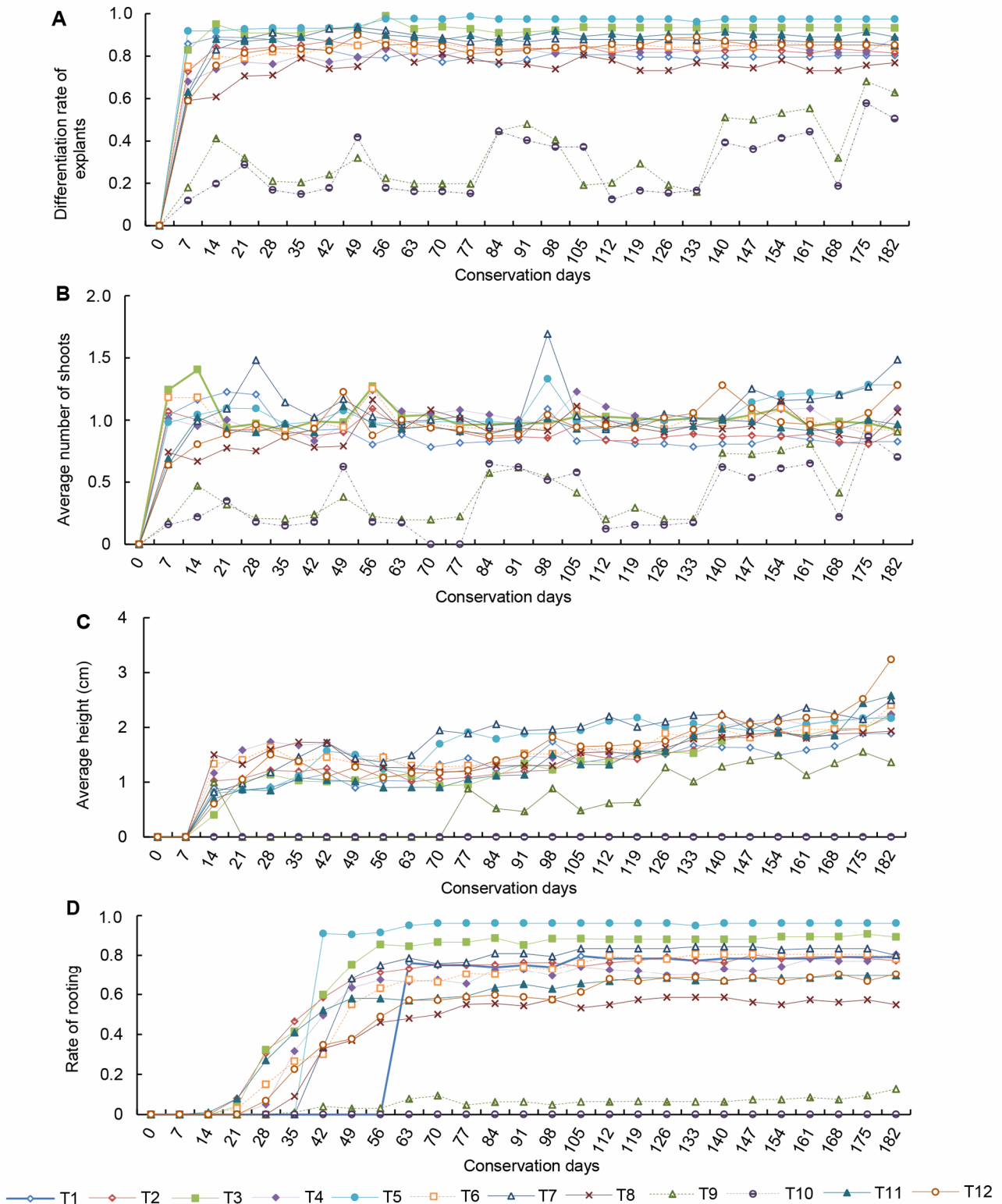


图1 卓越红花槭生长曲线
(A) 外植体分化率; (B) 平均出芽数; (C) 平均高度; (D) 生根率。T1-T12同表1。

Figure 1 Growth curve of *Acer rubrum* cv. 'Somerset'
(A) Differentiation rate of explants; (B) Average number of shoots; (C) Average height; (D) Rate of rooting. T1-T12 see Table 1.

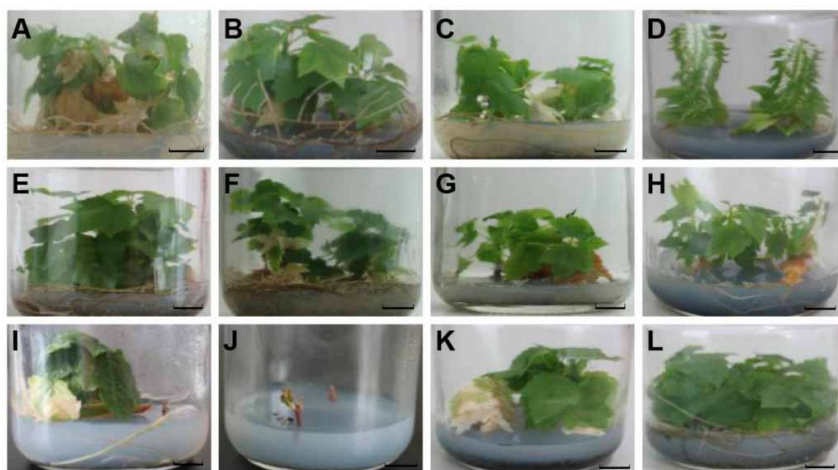


图2 卓越红花槭离体保存182天

(A) T1; (B) T2; (C) T3; (D) T4; (E) T5; (F) T6; (G) T7; (H) T8; (I) T9; (J) T10; (K) T11; (L) T12. T1–T12同表1。Bars=1 cm

Figure 2 *In vitro* conservation for 182 days of *Acer rubrum* cv. 'Somerset'

(A) T1; (B) T2; (C) T3; (D) T4; (E) T5; (F) T6; (G) T7; (H) T8; (I) T9; (J) T10; (K) T11; (L) T12. T1–T12 see Table 1. Bars=1 cm

同时期最高值(1.5 cm), 但T8处理组光照时间短, 光强弱, 叶色嫩绿, 植株细弱, 明显表现出光照不足引起的徒长, 在保存后期植株生长较弱, 内生菌污染严重(图2)。T9处理组平均高度明显低于其它处理组, 呈曲线增长, 不断出现回落, 是因为长出的植株不耐低温死亡, 曲线增长说明离体材料在逐渐适应低温环境。由于温度过低, T10处理组一直没有C类芽长成。根据生长情况取生长变化较明显的第14天、生长稳定后的第35天及最终生长量第182天的数据作进一步分析, 并同时分析随机抽取的第91、126及154天的数据。

2.1.4 生根率

虽然生根与否对离体保存效果影响不大, 但是由于我们发现很多离体材料出现生根现象, 因此简单探讨对生根产生影响的因素。调查显示, 生根情况有比较类似的规律(图1D), 相对芽分化, 生根时间较晚, 最早的第14天生根, 大多数处理组集中在第21–35天开始生根, 在35–70天之间生根率增长最快。其中处理组T1、T5及T7增长最迅速, 开始生根后几乎呈直线型增长, 在70天之后生根率基本呈较稳定的态势。取生根率变化最明显的第21–70天及第182天的数据进行分析。

2.2 离体保存条件

2.2.1 光照时间和光照强度对离体保存的影响

T1–T8处理组为不同光照时间和光照强度的对照实验。通过生长曲线选取外植体分化率、平均出芽数、平均高度及生根率等方面有代表性的数据, 利用SPSS 18.0软件进行双因素方差分析, 结果见表2。光照时间对外植体分化率和平均出芽数的影响均在前期(外植体分化率在第7、14和56天, 平均出芽数在第7、14和28天)达极显著水平($P<0.01$), 对平均高度的影响仅在第91天达显著水平, 对生根率的影响在整个保存期都达极显著水平。光照强度对外植体分化率和平均出芽数的影响均在前期(第7和14天)达显著或极显著水平, 对平均出芽数的影响在后期(第147和182天)仍可达显著或极显著水平, 对平均高度的影响在中期(第91和126天)达极显著水平, 对生根率的影响在第21–56天均达显著或极显著水平。同时, 二者有较强的交互作用。

2.2.2 温度对离体保存的影响

T2、T9、T10及T11处理组为不同温度下的对照实验。表2显示, 温度对外植体分化率、平均出芽数、平均高度和生根率的影响大部分都达到极显著水平。仅有

表2 光照和温度对卓越红花槭离体保存的影响

Table 2 The influence of light and temperature on the *in vitro* conservation of *Acer rubrum* L. cv. 'Somerset'

	Conser- vation days	Significance testing of P and LI			Significance testing of Tm	Significance testing of DTV and LI		
		P	LI	P×LI	Tm	DTV	LI	DTV×LI
Differentiation rate of explants	7	0**	0.018*	0.002**	0**	0.05	0.84	0.589
	14	0**	0.004**	0.036*	0.005**	0.914	0.009**	0.115
	56	0.002**	0.075	0.001**	0**	0.771	0.283	0.302
	182	0.297	0.907	0.01*	0**	0.322	0.86	0.564
Average number of shoots	7	0**	0**	0**	0**	0**	0.695	0.248
	14	0**	0.003**	0.002**	0.009**	0.013*	0.772	0.008**
	28	0**	0.236	0**	0**	0.8	0.488	0.479
	49	0.017*	0.248	0.033*	0**	0.003**	0.244	0.563
	98	0.129	0.113	0.237	0.001**	0.036*	0.209	0.574
	147	0.167	0.011*	0.193	0.006**	0.383	0.217	0.992
	182	0.057	0.001**	0.008**	0.131	0.016*	0.03*	0.063
	182	0.057	0.001**	0.008**	0.131	0.016*	0.03*	0.063
Average height	14	0.589	0.516	0.751	0.081	0.071	0.641	0.680
	35	0.113	0.322	0.942	0**	0.845	0.077	0.744
	91	0.021*	0**	0.004**	0.002**	0.464	0**	0.670
	126	0.733	0.002**	0.039*	0.004**	0.636	0.016*	0.422
	154	0.207	0.291	0.093	0.003**	0.646	0.549	0.501
	182	0.187	0.294	0.182	0**	0.009**	0.034*	0.185
Rate of rooting	21	0.004**	0.041*	0.213	0.037*	0.541	0.025*	0.504
	28	0**	0**	0.002**	0.001**	0.225	0.004**	0.658
	35	0**	0**	0.012*	0**	0.409	0.008**	0.885
	42	0.885	0.35	0**	0**	0.896	0.003**	0.336
	49	0**	0.002**	0**	0**	0.018*	0.006**	0.415
	56	0**	0.001**	0**	0**	0.005**	0.036*	0.905
	63	0**	0.329	0.004**	0**	0.01*	0.49	0.432
	70	0**	0.156	0.001**	0**	0.054	0.448	0.423
	182	0.015*	0.284	0.007**	0**	0.09	0.713	0.901
	182	0.015*	0.284	0.007**	0**	0.09	0.713	0.901

* 表示差异显著($P<0.05$); ** 表示差异极显著($P<0.01$)。P: 光照时间; LI: 光照强度; Tm: 温度; DTV: 昼夜温差
* indicate significant difference at 0.05 level; ** indicate significant difference at 0.01 level. P: Photoperiod; LI: Light intensity; Tm: Temperature; DTV: Diurnal temperature variation

的2次不显著,一是第14天的平均株高,此时正是组培苗开始生长的时期,株高区别不明显;二是第182天的平均出芽数。结合图1B发现,随着保存时间的延长,T9和T10两个低温处理组平均出芽数逐步上升,后期甚至达到常温处理组水平。由此推断,随着处理时间的延长,低温对离体材料芽分化能力的抑制作用正在减弱,或离体材料正在逐步适应低温环境,而其作用机理和182天之后的作用效果有待进一步研究与验证。

2.2.3 昼夜温差和光照强度对离体保存的影响
昼夜温差对外植体分化率影响不显著,对平均高度和

生根率的影响仅在中后期达显著或极显著水平(平均高度在第182天,生根率为第49–63天),而在芽分化的各个时期对平均出芽数的影响都达显著或极显著水平。光照强度对外植体分化率的影响在第14天达极显著水平,对平均出芽数和平均高度的影响在中后期(平均出芽数为第182天,平均高度为第91、126和182天)达显著或极显著水平,对生根率的影响在第21–56天均达到显著或极显著水平。从整体来看,二者没有明显的交互作用(表2)。

2.3 活力恢复
对恢复培养28天的离体保存材料进行生长量调查,

结果如图3, 生长状态如图4。在平均出芽数方面(图3A), T3处理组最高(2), T10处理组最低(0.56)。平均高度(图3A)最高为T4处理组(1.5), 其次为T5 (1.3)和T10 (1.3)处理组, 而T3、T7和T9处理组平均高度均为0, 说明在恢复期内没有C类芽形成。大部分处理的外植体分化率在80%以上(图3B), 其中T3和T7处理组达到100%, T9和T10处理组较低(60%以下)。生根率方面(图3B), T3和T7处理组达到100%, T8处理组为85%, T5处理组为63%, 其余均在60%以下。值得注意的是, T3处理组的平均出芽数、外植体分化率及

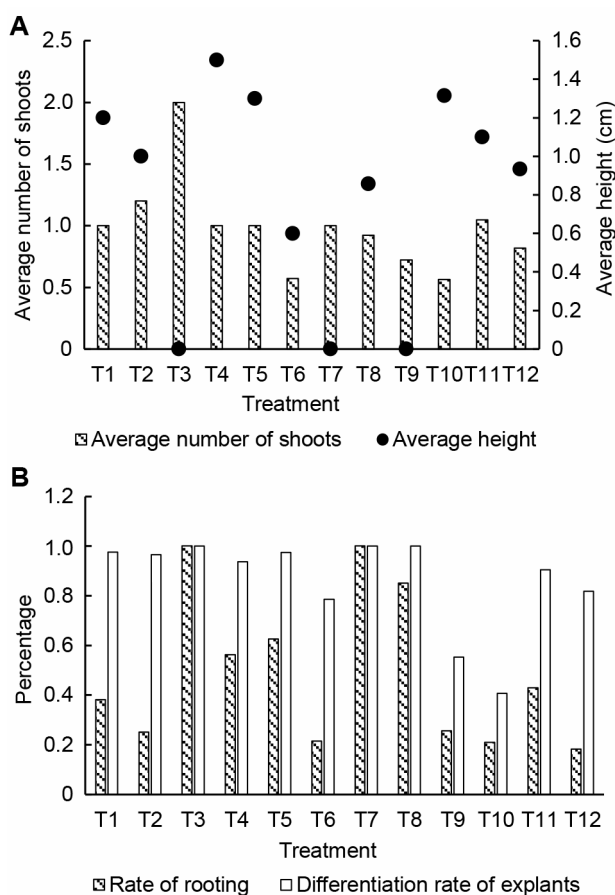


图3 卓越红花槭活力恢复培养28天

(A) 平均出芽数和平均高度; (B) 外植体分化率和生根率。T1–T12同表1。

Figure 3 Recovering culture for 28 days of *Acer rubrum* cv. 'Somerset'

(A) Average number of shoots and average height; (B) Differentiation rate of explants and rate of rooting. T1–T12 see Table 1.

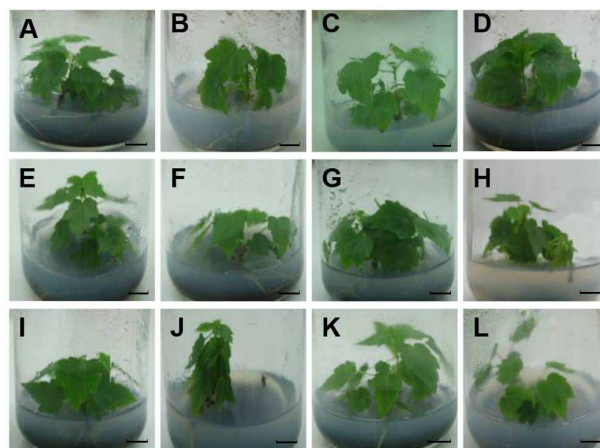


图4 卓越红花槭活力恢复28天

(A) T1; (B) T2; (C) T3; (D) T4; (E) T5; (F) T6; (G) T7; (H) T8; (I) T9; (J) T10; (K) T11; (L) T12. T1–T12同表1。Bars=1 cm

Figure 4 Recovering culture for 28 days of *Acer rubrum* cv. 'Somerset'

(A) T1; (B) T2; (C) T3; (D) T4; (E) T5; (F) T6; (G) T7; (H) T8; (I) T9; (J) T10; (K) T11; (L) T12. T1–T12 see Table 1. Bars=1 cm

生根率都达到最大值, 但是平均高度却是0, 说明该处理组植株有较强的分化能力, 但营养生长并不旺盛。T9和T10两个低温处理组相比, T9处理组在平均出芽数、外植体分化率和生根率上略高于T10处理组, 但远远低于25°C下的处理组; 而在平均高度方面, T10处理组远远高于T9处理组, 甚至超过了部分25°C下的处理组。

2.4 讨论

卓越红花槭离体材料在25°C下生长规律可概括为: 前期以分化为主; 后期以营养生长为主, 分化能力有所减弱, 而且分化出的芽不能全部长大。原因可能有2种, 一是培养基内的养分和激素已耗尽, 无力供给更多的芽生长; 二是前期长成的植株挤占了有限的生长空间, 致使幼芽无法生长。而在8°C和15°C条件下, 生长规律有所不同, 外植体分化率和平均出芽数增长缓慢, 但是在最后2次调查中上述二指标接近25°C下的处理组, 说明低温限制了离体材料的生长, 但是离体材料也在逐渐适应低温环境。限制生长保存中, 低温保存是较常用的方法, 不同种质资源对低温的耐受性不同。例如, 赤松(*Pinus densiflora*)的丛生芽适合

在17°C保存,在14°C长期保存会影响其恢复(张红岩等, 2010); 欧洲山杨(*Populus tremula*)可以在10°C下保存1年,而不影响活力恢复,但是在低温下能检测到脱落酸、脯氨酸及超氧化物歧化酶等合成活跃,低温处理3天即能检测到2种新合成蛋白(Jouve et al., 2000)。大量研究证明低温胁迫能引发植物的一系列生理变化,甚至影响基因表达,但还不明确低温胁迫是否会引起遗传变异(徐呈祥, 2012)。

光照和昼夜温差是植物生长过程中的重要影响因素,在组织培养研究中经常用光照和昼夜温差来调控生长状态及分化方向等。多数研究证明,长时间、高强度的光照有助于苗的成长和干物质积累,而短时间、低强度的光照有利于愈伤及胚性愈伤的形成以及某些次生代谢物的积累(Kozai et al., 1995; Ahmad et al., 2014; 燕丽萍等, 2016)。此外,不同光质也会影响组培苗的生长和分化(任桂萍等, 2016)。在卓越红花槭离体保存中,我们发现光照时间和光照强度都对离体材料的生长及分化有影响,而且影响效果持久,交互作用显著,不能以单一因素而论。例如,光照24小时条件下,图1中所有指标都是弱光高于强光(图1中T1和T5的对比),随着光照时间减少,这种差异越来越小(图1中T2和T6的对比),并逐渐转为强光高于弱光(图1中T3和T7以及T4和T8的对比)。在对文心兰(*Oncidium hybridum*) (郑卫杰等, 2011)和非洲菊(*Gerbera jamesonii*) (杨博等, 2012)的研究中,较小的昼夜温差有利于试管苗形态建成,较大的昼夜温差有助于干物质积累。本研究表明,昼夜温差对卓越红花槭离体材料的平均出芽数和生根率影响较大,尤其是有利于芽的形成,影响持久且显著,这与前人的研究结果不同。

在最佳保存条件筛选上,25°C下的处理组活力恢复情况最好,但在较低温度下可以有效控制污染。最佳保存条件的选择可根据保存环境和保存期限综合考虑。但无论采用哪种方式,其核心应是保证种质材料的分化能力,从而使种质材料能够迅速恢复生长。如T3 (图2)和T7 (图2) 处理组都有比较旺盛的分化能力,较适于保存,而T2 (图2)和T12 (图2)处理组虽然平均出芽数也较高,但植株生长过于旺盛,影响后期芽的生长和分化,在活力恢复时可用的有效芽偏少,因此保存效果稍差。

北美红花槭是引进的槭树科种质资源,我国槭树

科种质资源非常丰富(刘静波等, 2012),但很多种已处于濒危或极危状态,如血皮槭(*A. griseum*)、剑叶槭(*A. lanceolatum*)、梧桐槭(*A. firmianoides*)及羊角槭(*A. yanjuechi*)。有关槭树科组培繁育技术方面的研究较多,但是其种质资源保存仍以原地和异地保存为主,离体保存尚未见报道。了解卓越红花槭离体材料在限制生长保存期间的生长规律和主要影响因素,对于发展槭树科组培繁育技术和离体保存技术都具有重要意义。

限制生长保存是以组培技术为基础发展起来的保存方式,是离体保存的重要组成部分,在种质资源保存中得到广泛应用。英国邱园千年种子库通过微体快繁技术繁育和保存了超过3 000份植物种质资源的离体材料(Sarasan et al., 2006)。在限制生长保存技术研究中,快繁和保存一体化的研究趋势也越发明显(Silveira et al., 2009; Salcedo-Morales et al., 2009)。因此,组培技术的完善是生长保存技术发展的基础。目前,很多植物已开发出成熟的组培快繁体系,但由于种和品种间的差异,对组培条件要求各有其特殊性,仍有多种植物的组培快繁体系尚未建立,尤其是木本植物,如血皮槭和蒙古栎(*Xylosma racemosum*),这大大阻碍了种质资源保存技术的发展。因此,作为一种经典的繁育技术,组培技术在种质资源保存工作中仍然具有广阔的研究和应用前景。

参考文献

- 兰伟, 陈发棣 (2010). 植物种质资源缓慢生长法保存研究进展. 阜阳师范学院学报(自然科学版) 27(2), 68–72.
- 刘静波, 林士杰, 张忠辉, 谢朋, 蔡群, 张大伟, 勾天兵, 赵珊珊, 赵洪伟, 王志强 (2012). 槭属植物种质资源研究进展. 中国农学通报 28(25), 1–5.
- 任桂萍, 王小菁, 朱根发 (2016). 不同光质的LED对蝴蝶兰组织培养增殖及生根的影响. 植物学报 51, 81–88.
- 咸洋, 吴丹, 解孝满, 刘德深, 韩彪, 田莎莎, 刘丹 (2014). 一种红花槭的组培快繁方法. 中国专利, 201310493738.1. 2014-02-05.
- 徐呈祥 (2012). 提高植物抗寒性的机理研究进展. 生态学报 32, 7966–7980.
- 徐刚标 (2000). 植物种质资源离体保存研究进展. 中南林业学院学报 20(4), 81–87.
- 燕丽萍, 李丽, 刘翠兰, 吴德军, 王因花, 任飞, 赵梁军

- (2016). 绒毛白蜡体胚诱导和植株再生. 植物学报 **51**, 807–816.
- 杨博, 曹秀婷, 王政, 何松林 (2012). 昼夜温差对非洲菊试管苗生长的影响. 西北林学院学报 **27**(2), 88–92.
- 张红岩, 吴小芹, 朱丽华, 谈家金 (2010). 抗病赤松组培丛生芽低温保存条件研究. 南京林业大学学报(自然科学版) **34**(5), 7–11.
- 郑卫杰, 郭子霞, 王政, 何松林 (2011). 昼夜温差对文心兰试管苗生长的影响. 西北林学院学报 **26**(4), 137–141.
- 周逊, 向长萍 (2008). 植物种质资源缓慢生长离体保存研究进展. 中国蔬菜 (11), 39–42.
- Ahmad N, Abbasi BH, Fazal H, Khan MA, Afridi MS (2014). Effect of reverse photoperiod on *in vitro* regeneration and piperine production in *Piper nigrum* L. *C R Biologies* **337**, 19–28.
- Jouve L, Franck T, Gaspars T, Cattivelli L, Hausman JF (2000). Poplar acclimation to cold during *in vitro* conservation at low non-freezing temperature: metabolic and proteic changes. *J Plant Physiol* **157**, 117–123.
- Kozai T, Watanabe K, Jeong BR (1995). Stem elongation and growth of *Solanum tuberosum* L. *in vitro* in response to photosynthetic photon flux, photoperiod and difference in photoperiod and dark period temperatures. *Sci Hortic* **64**, 1–9.
- Salcedo-Morales G, Rosas-Romero G, Nabor-Correa N, Bermúdez-Torres K, López-Laredo AR, Trejo-Tapia G (2009). Propagation and conservation of *Castilleja tenuiflora* Benth. *Polibotánica* (28), 119–137.
- Sarasan V, Cripps R, Ramsay MM, Atherton C, Mcmichen M, Prendergast G, Rowntree JK (2006). Conservation *in vitro* of threatened plants—progress in the past decade. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* **42**, 206–214.
- Silveira DG, Souza FVD, Pelacani CR, da Silva Souza A, da Silva Ledo CA, de Santana JRF (2009). Micro-propagation and *in vitro* conservation of *Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez, a fiber producing bromeliad from Brazil. *Braz Arch Biol Technol* **52**, 923–932.

Effect of Conservation Conditions on Restricting Conservation of *Acer rubrum* cv. 'Somerset'

Yang Xian, Xin Dong, Xiaoman Xie*, Dan Wu, Biao Han, Yan Wang

Shandong Forest Germplasm Resources Center, Jinan 250102, China

Abstract We examined the effect of conservation conditions on restricting the conservation of *Acer rubrum* L. cv. 'Somerset', including photoperiod, light intensity, temperature and diurnal temperature variation. In the 182-day conservation period, the *in vitro* materials were mainly for differentiation in the early period and vegetative growth in the later period, also gradually adapted to the low-temperature environment. The effect of temperature on the growth of *in vitro* materials reached extremely significant level ($P < 0.01$); the effect of photoperiod and light intensity lasted for a long time, and their interaction reached significant level ($P < 0.05$). Diurnal temperature variation had a significant effect on average number of shoots and rate of rooting. In all of the tests, 25°C, illumination 12 h, 62.50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ and 25°C, illumination 12 h, 31.25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ conditions were both able to restrict conservation. The selection criteria for the best conservation conditions was not unique, and the core was keeping the differentiation ability of the *in vitro* materials.

Key words restricting conservation, *in vitro* conservation, tissue culture, growth rhythm

Xian Y, Dong X, Xie XM, Wu D, Han B, Wang Y (2019). Effect of conservation conditions on restricting conservation of *Acer rubrum* cv. 'Somerset'. *Chin Bull Bot* **54**, 64–71.

* Author for correspondence. E-mail: xxm529@126.com