

25种农作物及蔬菜种子的超低温贮存研究

张北壮 傅家瑞 徐是雄
(中山大学生物学系) (香港大学植物学系)

摘 要

25种农作物及蔬菜种子在液氮中贮存12个月,除苦瓜种子是一种不耐冷贮存的种子外,其它种子的发芽率均比在室温($30 \pm 2^\circ\text{C}$)下贮存的种子高。

花生、芝麻等油类种子先后经 $0 \sim 5^\circ\text{C}$ 5天和 -15°C 5天逐步预冷后贮入液氮,比不经预冷直接贮入液氮,其萌发效果要好些。而大多数农作物及蔬菜种子则直接贮入液氮中萌发效果更好。

种子含水量太高或太低均不利于在液氮中贮存。花生种子在液氮中贮存的最适合含水量为 $6.8 \sim 7.4\%$ 、绿豆种子为 $12.6 \sim 13.4\%$ 、豌豆种子为 $13 \sim 14\%$ 、大豆种子为 $10.4 \sim 10.6\%$ 。

关键词 超低温贮存,农作物,蔬菜,种子,液氮,萌发,活力,发芽力

超低温技术是一个颇为引人入胜的领域。应用这一技术可以将人体组织细胞、动物精子和胚胎,以及植物种质资源进行长时间的保存,需要时随即取用。对于植物种子的贮存,既能长久保持原有的品种特性和品质,又能减少遗传变异的发生。因此超低温技术的研究在国外发展很快。目前有许多国家应用超低温技术建立“冷冻精子库”,已有50多种精细胞冷冻保存成功。在我国,应用超低温冷冻保存人体组织细胞、动物精液以及牛、羊胚胎的试验已获得成功,并应用于医学和畜牧业。但是,超低温技术在保存植物种质资源方面的研究和应用,落后于在畜牧业和医学上的研究和应用。近年来,国外一些种子贮存实验室在这方面做了探索性的贮存试验^[1~4]。我们以25种作物和蔬菜种子为材料进行液氮超低温(-196°C)贮存试验,试图探讨这些种子超低温贮存的可靠性,以及超低温贮存对不同含水量的种子生活力的影响。

1 材料与方 法

(1)将花生、大豆、水稻、甘蓝等25种作物和蔬菜种子,用铁罐或聚乙烯袋密封包装,置于盛满液氮(-196°C)的YZ-35-70型液氮贮存容器中,分别贮存30天、60天、6个月及12个月,取出样品在 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ 下自然冷却后,测定在 28°C 下吸胀3天的种子发芽率。对照种子则贮于 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ 室温中。

(2)将同批种子分别进行3种不同贮存条件处理:①室内 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ 中开放贮存;②种子用铁罐密封包装,经 $0 \sim 5^\circ\text{C}$ 5天和 -15°C 5天预冷后,置于盛满液氮(-196°C)的贮存容器中;③种子用铁罐密封包装,不经预冷,直接置于盛满液氮(-196°C)的贮

本文1989年3月27日收到

存容器中。贮存一个月后取出种子,在28℃下测定种子吸胀3天后的发芽率和生长势,并且计算出种子活力指数。

(3)将采收后含水量较高的花生、大豆、豌豆、绿豆种子置室内30±2℃下风干1~10天,从零天开始,每天分别取样测定含水量,同时各取100粒种子用聚乙烯袋包装,贮于液氮(-196℃)中,贮存2天后取出种子,在28℃下测定种子吸胀3天后的发芽率和幼苗生长势。

2 结果与讨论

2.1 液氮贮存对种子发芽率的影响

经液氮贮存30天至12个月的种子中,除苦瓜种子外,其发芽力和活力与贮存前比较没有明显变化,比同时贮存于30±2℃中的种子发芽力和活力则有明显提高(表1)。苦瓜种子不仅不能在液氮中贮存,而且在-10℃下贮存3小时亦死亡,它是一种不耐冷贮存的种子。可见,一般的作物及蔬菜种子可以忍受-196℃的低温贮存。

表1 液氮贮存对作物和蔬菜种子发芽率的影响

Tab. 1 Cryopreservation of seeds of crops and vegetables

种 类		贮存不同时间后种子的发芽率(%)							
		30天		60天		6个月		12个月	
		对照	-196℃	对照	-196℃	对照	-196℃	对照	-196℃
豌	豆	100	100	100	100	100	100	100	100
绿	豆	—	—	100	100	100	100	98	100
红	豆	—	—	96	100	86	98	70	98
玉	豆	85	86	—	—	—	—	67	83
大	豆	100	100	98	100	—	—	96	100
蚕	豆	100	100	100	100	—	—	100	100
青	瓜	100	100	100	100	100	100	92	100
节	瓜	26	40	23	40	—	—	13	23
苦	瓜	95	0	96	0	95	3	95	0
冬	瓜	45	58	—	—	—	—	37	57
通	菜	40	71	—	—	40	52	—	—
苋	菜	100	100	95	100	94	98	84	98
莴	苣	100	100	98	99	97	100	86	100
白	菜	100	100	98	100	97	100	89	100
椰	菜	100	100	98	99	95	98	90	98
韭	菜	—	—	74	69	72	68	58	65
菜	心	100	100	—	—	—	—	98	100
芥	兰	100	100	100	100	99	100	100	100
早	萝卜	100	100	100	100	98	99	99	100
晚	萝卜	100	100	100	100	99	100	100	100
	葱	100	100	—	—	—	—	92	95
花	生	100	100	100	100	100	100	100	100
玉	米	—	—	100	100	100	100	98	100
小	麦	100	100	100	100	100	100	98	100
燕	麦	100	100	96	98	86	98	68	98

2.2 逐步预冷或直接贮入液氮对种子发芽力和活力的影响

花生、白芝麻、黑芝麻等油类种子先后经 $0 \sim 5^{\circ}\text{C}$ 5天和 -15°C 5天逐步预冷后贮于液氮中, 比不经预冷直接贮于液氮中萌发效果要好些。经逐步预冷后贮于液氮中2个月的花生种子, 其活力指数比室内 ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) 贮存的种子高16.8%, 白芝麻高40%、黑芝麻高23.1%。而直接贮入液氮中的种子, 其活力指数与室内贮存的种子比较差别不大(表2)。

表2 油类种子经预冷或直接贮入液氮中对种子活力的影响

Tab. 2 Effect of sudden freezing(-196°C) on oily seeds preserved for one month in liquid nitrogen

种子	贮存条件	发芽率 (%)	生长势 ^a	活力指数 ^{a*}	活力指数对比 (%)
花生	对照	94.0	2.85	2.68	100
	直接放入 -196°C	96.0	2.98	2.86	106.7
	预冷后放入 -196°C	98.1	3.13	3.07	116.8
白芝麻	对照	90.2	6.69	6.04	100
	直接放入 -196°C	92.0	7.53	6.93	114.7
	预冷后放入 -196°C	92.5	9.15	8.64	140.0
黑芝麻	对照	88.1	6.60	5.81	100
	直接放入 -196°C	89.6	6.86	6.15	105.9
	预冷后放入 -196°C	97.6	7.33	7.15	123.1

• 胚根长度 (cm) + 下胚轴长度 (cm) = 生长势

•• 发芽率 (%) × 生长势 = 活力指数, 种子吸胀3天后之数据

可是, 大多数作物和蔬菜种子则直接贮入液氮中效果更好, 而经逐步预冷后贮入液氮的种子, 其活力普遍比直接贮入液氮的种子稍低一些(表3, 4)。

表3 农作物种子经预冷或直接贮入液氮中对种子活力的影响

Tab. 3 Effect of sudden freezing(-196°C) on crop seeds preserved for one month in liquid nitrogen

种子	贮存条件	发芽率 (%)	生长势	活力指数	活力指数对比 (%)
芸豆	对照	70.0	4.68	3.28	100
	直接放入 -196°C	95.5	5.04	4.81	146.4
大豆	预冷后放入 -196°C	90.0	5.17	4.65	141.8
大豆	对照	89.9	10.06	9.03	100
	直接放入 -196°C	100	13.58	13.58	150.4
大豆	预冷后放入 -196°C	94.1	11.95	11.24	124.5

(接表3)

绿 豆	对 照	100	10.40	10.40	100
	直接放入-196℃	100	12.80	12.80	123.1
豆	预冷后放入-196℃	100	11.30	11.30	108.7
水 稻	对 照	91.0	1.22*	1.11	100
	直接放入-196℃	93.3	1.69*	1.58	142.3
稻	预冷后放入-196℃	92.8	1.23*	1.14	102.7
小 麦	对 照	66.0	3.83*	2.53	100
	直接放入-196℃	84.6	3.36*	2.84	112.3
麦	预冷后放入-196℃	82.3	3.09*	2.54	100.4
玉 米	对 照	88.6	4.06*	3.60	100
	直接放入-196℃	92.0	4.14*	3.81	105.8
米	预冷后放入-196℃	90.2	4.13*	3.73	103.6
西 瓜	对 照	51.7	4.89	2.53	100
	直接放入-196℃	71.4	4.06	2.90	114.6
瓜	预冷后放入-196℃	62.1	4.29	2.66	105.1
红 麻	对 照	87.8	10.20	8.95	100
	直接放入-196℃	90.7	11.05	10.02	112
麻	预冷后放入-196℃	88.0	10.58	9.31	104

* 禾谷类种子的生长势为地上部高度(cm)

表4 蔬菜种子经预冷或直接贮入液氮中对种子活力的影响

Tab.4 Effect of sudden freezing (-196℃) on vegetable seeds preserved for one month in liquid nitrogen

种 子	贮存条件	发芽率 (%)	生长势	活力指数	活力指数对比 (%)
豆 角	对 照	57.5	8.82	5.07	100
	直接放入-196℃	75.0	9.90	7.43	146.5
角	预冷后放入-196℃	68.4	9.45	6.46	127.4
冬 瓜	对 照	31.1	2.01	0.63	100
	直接放入-196℃	40.0	2.81	1.12	177.8
瓜	预冷后放入-196℃	31.9	2.63	0.84	133.3
菜 心	对 照	45.1	3.84	1.73	100
	直接放入-196℃	64.5	2.84	1.83	105.8
心	预冷后放入-196℃	50.0	3.50	1.75	105.1
白 菜	对 照	59.7	4.96	2.96	100
	直接放入-196℃	63.0	4.98	3.14	106.1
菜	预冷后放入-196℃	62.2	4.93	3.07	103.7

(接表4)

苋	对 照	53.0	2.25	1.19	100
	直接放入-196℃	68.1	2.96	2.02	169.7
菜	预冷后放入-196℃	61.1	3.01	1.84	154.6
甘	对 照	68.2	3.65	2.49	100
	直接放入-196℃	79.1	4.28	3.39	136.1
兰	预冷后放入-196℃	76.0	3.96	3.01	120.9

2.3 不同含水量的种子对液氮贮存的忍受能力

含水量高于28.9%的花生种子，在液氮中贮存2天后丧失发芽力。随着种子含水量的降低，种子对液氮贮存的忍受力增强。当含水量下降至6.8~7.4%时，种子对液氮的贮存的忍受力最高，但是，含水量低于6%时，种子对液氮贮存的忍受力反而降低，尤其是幼苗的生长势受影响较大(图1)。

含水量高于41%的绿豆种子，在液氮中贮存2天后丧失发芽力。含水量下降至23%时，种子对液氮贮存的忍受力明显增加。当种子含水量下降至12.6~13.4%时，液氮贮存2天对种子发芽力无影响。但是，种子含水量低于8.3%时，其幼苗生长势比种子含水量为12.6%时幼苗生长势降低57%(图2)。

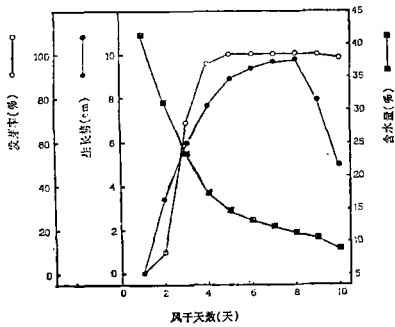


图1 液氮贮存2天对不同含水量花生种子生活力的影响
Fig. 1 Effect of moisture content on viability of peanut seeds subjected to -196℃ for 2 days

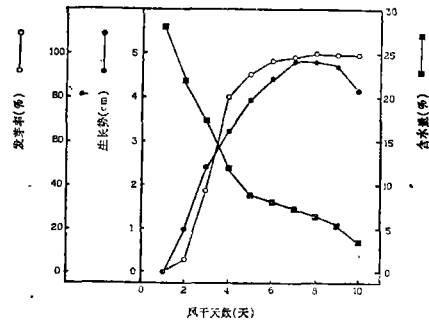


图2 液氮贮存2天对不同含水量绿豆种子生活力的影响
Fig. 2 Effect of moisture content on viability of mung bean seeds subjected to -196℃ for 2 days

豌豆种子含水量高于50%时，在液氮中贮存2天便完全丧失发芽力。它在液氮中贮存的最适含水量为13~14%。种子含水量低于8~11%时，对种子活力稍有影响(图3)。

大豆种子含水量高于47.2%时，在液氮中贮存2天便完全丧失发芽力。其在液氮中贮存的最适含水量为10.4~10.6%。种子含水量低于7.9%时，在液氮中贮存2天对种子活力有明显的影。当种子含水量继续下降至3.3%时，其幼苗生长势比种子含水量为10.4%时的幼苗生长势降低73.7%(图4)。

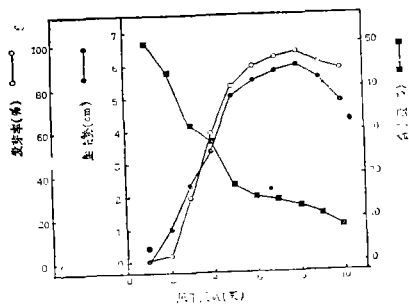


图3 液氮贮存2天对不同含水量豌豆种子生活力的影响

Fig. 3 Effect of moisture content on viability of pea seeds subjected to -196°C for 2 days

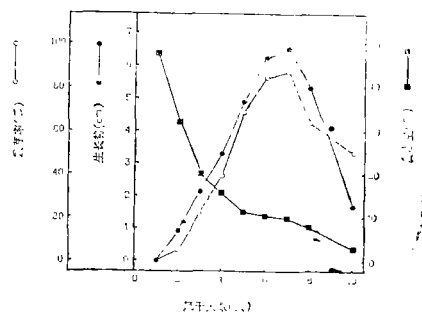


图4 液氮贮存2天对不同含水量大豆种子生活力的影响

Fig. 4 Effect of moisture content on viability of soybean seeds subjected to -196°C for 2 days

试验结果表明,种子含水量太高或太低均不利于在液氮中贮存。种子在液氮中贮存的最适合水量,则因种子的不同而异。花生为油类种子,其在液氮中贮存的最适合水量较低(6.8~7.4%),而淀粉类种子,如豌豆和绿豆,它们在液氮中贮存的最适合水量则较高,而蛋白类种子次之,例如,豌豆种子为13~14%、绿豆种子为12.6~13.4%、大豆种子为10.4~10.6%。

参 考 文 献

- [1] Bajaj Y P S, *Euphytica*, 28(1979),267~286
- [2] Roos E E et al.,*J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 106(1981), 30~34
- [3] Stanwood P C et al.,*Seed Sci. Technol.*,9(1981),423~438
- [4] Withers L A et al.,*Plant Physiol.*,64(1979),675~678

Studies on Cryopreservation of Seeds of Crops and Vegetables

Zhang Beizhuang* Fu Jiarui Xu Shiziong (S.Y.Zee)**

Abstract

Seeds of 25 spp. were stored in liquid nitrogen(LN₂) for 12 months. Except the seed of *Momordica charantia* (balsampear), seeds of all species investigated have higher germination percentage when they were stored in LN₂ than that stored at room temperature. However, when the seeds of balsampear were stored in LN₂ for 30 days, the germination percentage became zero, whereas their viability was maintained around 95% at room temperature for 12 months.

Seeds of 17 species were used to detect the effect of sudden freezing on vi-

ability and vigour. All seeds, except *Arachis hypogaea* and *Sesamum indicum* seeds can tolerate sudden freezing by putting them directly in LN₂. As to seeds of *Sesamum* and *Arachis*, the gradual reduction in temperature (0~5℃ for 5 days, and -15℃ for 5 days) was necessary.

If the seed moisture was high, such as 31-41% for mung bean, 22-28% for peanut, 31-50% for pea, and 20-47% for soybean, the germination percentage of seed stored in LN₂ for 2 days will be very low. As the seed moisture decreased, the viability of seeds increased. The optimum seed moisture for storage in LN₂ was as follows: 6.8-7.4% for peanut, 12.6-13.4% for mung bean, 13-14% for pea and 10.4-10.6% for soybean. When the seed moisture decreased continuously, both of germination percentage and potential growth decreased.

Keywords cryopreservation, crop, vegetable, seed, liquid nitrogen, germination, vigour, viability

* Department of Biology, Zhongshan University

** Department of Botany, University of Hong Kong