

· 药材 ·

翅果油树休眠芽和种子的试管萌发

尹大泽,王小国,陈惠*

(山西师范大学 生物系,山西 临汾 041004)

摘要:目的 为了扩大珍稀濒危植物翅果油树组织培养的取材范围和研究其种子休眠的原因。方法 以翅果油树一年生枝条的休眠芽(分别于 10, 11, 12, 1, 2, 3, 月份取材)和当年生种子为材料,采用 MS为基本培养基,附加 6-BA NAA GA₃等外源激素进行试管苗萌发研究。结果 1. 休眠芽的萌发率表现为从秋季到冬季逐渐下降和从冬季到春季逐渐提高的规律性变化,其中以 3月份取材最佳,休眠芽可萌发为小苗。2. 对种子进行试管内和试管外萌发研究,表明翅果油树种子休眠的原因有:中果皮坚硬,种皮角质化,透水透气性差;中果皮和种皮内有抑制物质存在;种仁营养丰富,易引起土壤、空气中微生物的繁殖而烂种;此外,裸露的种仁在试管中的萌发率高达 70%,可发育为无菌苗。结论 3月份取材的休眠芽和种仁无菌萌发的实生苗可为组织培养提供新的材料来源。

关键词:翅果油树;试管萌发;休眠芽;种子

中图分类号: R282.21

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)12-1113-03

Studies on germination of dormant bud and seed of *Elaeagnus mollis* under tissue culturing

YIN Da-ze, WANG Xiao-guo, CHEN Hui

(Department of Biology, Shanxi Normal University, Linfen Shanxi 041004, China)

Abstract Object To study the factors causing the dormancy of seed and to broaden the scope in the choice of explant for the tissue culture of the rare and near extinct plant *Elaeagnus mollis* Diels. **Methods** Dormant buds from one-year old branch collected each month from Autumn to next Spring, and seed of the very year were selected and cultured on basic media with the addition of 6-BA, NAA and GA₃. **Results** The germination rate of dormant bud follows the regular order of the months when it was taken. Those taken in Autumn declined every month until next Spring, and the revived monthly with those taken in March showing the most prosperous germination. The dormant bud can germinate into shoots. When seed was cultured, there are several factors leading to its dormancy: hardness of the mesocarp, keratinization of periderm, refractory to water permeation and the presence of certain inhibitory substances. Seed kernel is rich in nutrition, but susceptible to bacterial infection leading to its decay. But the germination rate was well over 70% which can be cultured to give bacteria free shoots. **Conclusion** Both dormant buds obtained in March and bacteria free shoots germinated from naked kernel can be used as new sources for the tissue culture of *E. mollis*.

Key words *Elaeagnus mollis* Diels; germination in culturing tube; dormant bud; seed

翅果油树 *Elaeagnus mollis* Diels 属胡颓子科,多年生落叶乔木或灌木,主要分布于山西吕梁山和陕西渭河流域的部分县区,为国家二级保护植物^[1],已被国务院正式批准列入国家重点保护野生植物名录^[2]。翅果油树不但是—种新型的油料树种,而且种仁中的亚油酸、Vit E 具有降血压、血脂、抗衰老等功用^[3]。

关于翅果油树的组织培养,陈惠老师等自 1993

年以来,以 MS 为基本培养基,对翅果油树成年植株的多种植体进行过离体培养,筛选出最佳外植体为茎节、茎段和诱导愈伤组织的最佳培养基,愈伤组织经过多次继代培养,能分化出不定芽,且不定芽能发育为无根小苗^[3]。总之,成年植株的各种外植体均能诱导出不定芽和愈伤组织,但无根苗生根很难。根据桉树、杉木、针叶树等的结果,从实生苗取材培养易获得再生植株^[4,5]。为了扩大翅果油树组织培养的取

* 收稿日期: 2001-02-16

基金项目:山西师大自然科学基金资助项目

作者简介:尹大泽,男,2001届山西师大生物系本科毕业生。本文获 2000年山西师大首届青年“创新杯”科技作品大赛二等奖。

* 通讯联系人

材范围,我们做了其休眠芽的试管萌发和种子的试管外萌发。尤其是种子的试管无菌苗可为翅果油树完整植株的再生提供有效的材料来源

1 材料与方法

试验材料:于 1999年 10月~ 2000年 3月采自山西翼城甘泉林场,为 1年生枝条 (5~ 6 cm)和当年生种子。基本培养基为 MS 每升附加蔗糖 30 g,琼脂 7 g, pH 值 5.8,附加激素种类和浓度见实验结果。培养温度 (25± 2)°C,光照时间 10~ 12 h/d,光照强度为 1 000~ 1 500 lx

材料消毒:先将 1年生枝条置于洗衣粉水中刷洗数遍,再用吸水纸吸干表面水分,截成 2~ 3段,置于三角瓶中,用 70%的酒精浸泡 5 min,升汞浸泡 8~ 10 min,无菌水冲洗数遍,接种时将枝条切成带 1个休眠芽的小段,长度大约 0.8 cm(种子的有关处理见实验结果)

2 实验结果

2.1 不同月份取材对休眠芽的影响:我们分别于 1999年 10, 11, 12月份和 2000年 1, 2, 3月份 6次取休眠芽并及时接种在相同培养基上,休眠芽的萌发表现为由秋季到冬季逐渐降低和由冬季到春季逐渐提高的规律性变化,以 3月份取材最好,休眠芽能萌发为小苗 (图 1)

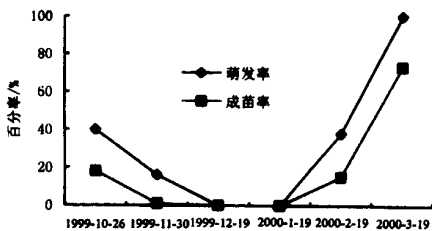


图 1 不同月份取材对休眠芽萌发的影响

1999年 10月 26日第一次取材培养的休眠芽 3 d左右即有明显膨大,10 d左右嫩叶展开,1个月后无根苗最长达 1.5 cm,且有 2~ 5片叶子;11月 30日取材培养的休眠芽 1周后明显膨大,但未见叶片展开;12月份、1月份接种的休眠芽几乎无变化。3月份取材培养的休眠芽 1个月后可长出 2~ 3 cm 的小苗。

2.2 不同培养基对 3月份取材的休眠芽萌发的影响:实验中发现,用休眠芽作为外植体进行翅果油树的组织培养,3月份取材最佳,为了进一步提高休眠芽的萌发率和成苗率,我们采用了 4种培养基。结果见表 1

结果表明:2号培养基上休眠芽长成小苗,叶片

表 1 不同培养基对 3月份取材的休眠芽萌发的影响

编号	培养基 (gm/L)	接种数	萌发率 (%)	成苗率 (%)
1	MS	16	68	37
2	MS+ GA ₃ 1	19	84	52
3	MS+ BA 0.5+ NAA 0.1	19	100	37
4	MS+ BA 0.5+ NAA 0.5	13	92	53

细小,呈深绿色,培养基中附加 6-BA NAA 两种激素对休眠芽的萌发率和成苗率有一定的促进作用,小苗较粗壮 (图 2)。

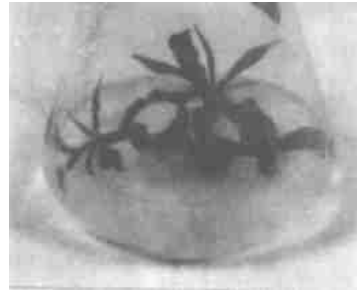


图 2 休眠芽在 MS+ GA₃ 1 mg/L 培养基上萌发成小苗

2.3 不同 GA₃浓度对休眠芽萌发的影响:为了促进秋冬季休眠芽的萌发,我们在培养基中附加了不同浓度的赤霉素,对 10月份取材的休眠芽进行培养 (图 3)

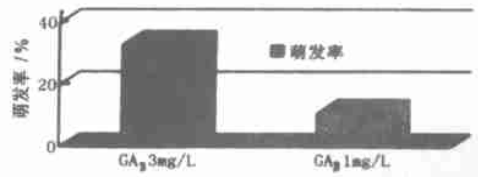


图 3 不同 GA₃浓度对休眠芽的影响

由图 3可知,此时休眠芽用附加了高浓度的赤霉素的培养基培养,可显著提高休眠芽的萌发率。

2.4 种子的试管外和试管内萌发

2.4.1 种子的试管外萌发:1999年秋季收获的翅果油树的果实作 3种处理:(1)去掉外果皮成为带中果皮的坚果;(2)去掉坚硬的中果皮成为带革质种皮的种子;(3)去掉革质种皮成为裸露的种仁。3种处理材料各取 40粒,埋入盛有湿沙的塑料钵中进行沙基培养,室温 (25± 2)°C,人工光照,结果见图 4



图 4 各类处理种子的试管外萌发比较

由图 4可知,坚果与带种皮种子萌发率为零,之后剥掉种皮、果皮,发现胚根有明显突出;而种仁沙基培养 7 d后,胚根突出膜质内种皮 5~6 cm,胚根露出率达 50%,继续培养 3~4 d,种子表面光滑有臭味,可能是由于种仁营养丰富,沙基中水份充足,导致微生物大量繁殖的缘故。

2.4.2 种子的试管内萌发:人工去除翅果油树的外果皮、中果皮以及种皮,获得带革质种皮的种子和裸露的种仁两种材料,经常规表面消毒灭菌,接种在一系列培养基上,如 1/3MS 1/2MS MS MS+ 2, 4-D 1 mg/L等。结果表明:带革质种皮的种子萌发率为零,且革质种皮向培养基中分泌褐色物质,推测为酚类化合物;而种仁的萌发率高达 70%,在最佳培养基上,20 d后可长至 7 cm,结果见图 5、6

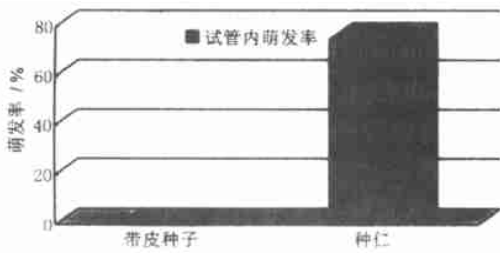


图 5 带革质种皮种子种仁试管内萌发率比较

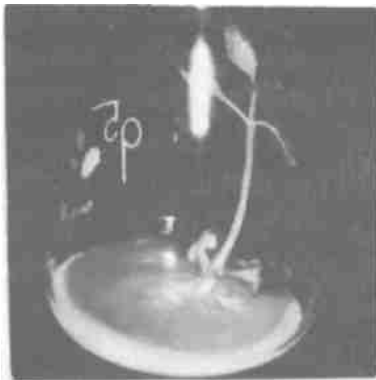


图 6 种仁培养 20 d后萌发成的小苗

由图 5可以看出,种皮限制了胚的萌发,可能是由于种皮的限制(不透气、不透水),以及其内抑制物质存在两种原因造成的。

2.4.3 中果皮、种皮内化学成分对种子萌发的影响:分别用蒸馏水、翅果油树种皮浸出液、中果皮浸出液处理 5月慢油菜籽(北京市农科院科技开发中心提供)做萌发率对照试验,结果见图 7(4 d后测定)

由图 7可以看出,中果皮和种皮内富含抑制种子萌发的化学物质(具体成分有待进一步测定),其中,中果皮内物质对种子萌发的影响最为显著,此结果与杜大至、李荣儿等在翅果油树种子的休眠和萌发生理^[6]一文中的结果相似

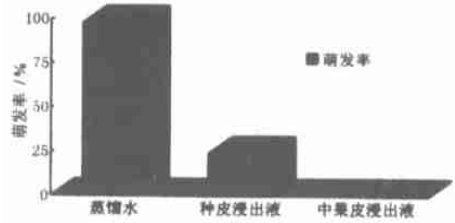


图 7 中果皮、种皮内化学成分对种子萌发的影响

3 讨论与结论

通过本文的工作,我们可以得出以下结论:

3.1 翅果油树休眠芽的萌发率表现为从秋季到冬季逐渐减低和从冬季到春季逐渐升高的规律性变化(其中以 3月份取材最佳),这主要与其内源性抑制物质的季节性变化有直接关系^[7],赤霉素可打破休眠芽的休眠,因此,以休眠芽作外植体进行离体培养,在培养基中加赤霉素来提高萌发率。

3.2 通过翅果油树带中果皮的坚果、带革质种皮的种子和种仁的试管内外萌发结果,以及杜大至等人的工作,我们总结出引起翅果油树种子的休眠的原因有 4①坚硬的中果皮的机械性限制;②种皮的限制,透水透气性差;③中果皮和种皮内存在抑制物质;④种仁营养丰富,富含亚油酸,易引起烂种。打破休眠的方法有:人工去掉中果皮(用硫酸浸泡)或低温层积处理^[6],以及试管内无菌萌发种仁。

参考文献:

- [1] 中条山树木志编委会主编. 中条山树木志 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1995.
- [2] 于永福. 国家重点保护野生植物名录(第一批) [J]. 植物杂志, 1999, (5): 3-11.
- [3] 陈惠, 白新生. 翅果油树的组织培养 [A]. 山西省植物学会等编. 北方植物学研究(第一集) [C]. 天津: 南开大学出版社, 1993.
- [4] 欧阳权, 鼓海忠. 桉树的组织培养 [A]. 罗士韦, 许智宏. 经济植物的组织培养 [C]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [5] 王怀智. 植物组织培养与植物造林 [A]. 罗士韦, 许智宏. 经济植物的组织培养 [C]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [6] 杜大至, 李荣儿, 原福虎等. 翅果油树种子的休眠和萌发生理 [J]. 植物生理学通讯, 1989, (6): 36-38.
- [7] 潘瑞炽, 董愚德. 植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1995.