

中国红豆杉和短叶红豆杉的胚胎培养

李志良

(梅雁生物工程研究所, 广东 梅州 514787)

Embryo culture of *Taxus chinensis* (Pilger) Rehd. and *T. brevifolia* Nutt. in vitro Li Zhi-liang (Meiyan Institute of Biotechnology, Meixian 514787, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2001, 10(1): 62-63

Abstract: The embryo culture of *Taxus chinensis* (Pilger) Rehd. and *T. brevifolia* Nutt. in vitro can shorten the dormancy period with early germinating, germination percentage is above 98% after cultured thirty days. The survival rate of the seedlings increased when the seeds were stored in low temperature, it could be increased from 49% to 70% after treated four months. The seedling's growth can be improved if reduce the main inorganic element content of the medium. Germination character of two *Taxus* L. species are similar.

关键词: 短叶红豆杉; 中国红豆杉; 胚胎培养

Key words: *Taxus chinensis* (Pilger) Rehd.; *Taxus brevifolia* Nutt.; embryo culture

中图分类号: Q943.1; S791.49 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2001)01-0062-02

红豆杉属(*Taxus* L.)植物的种子休眠期较长,在自然条件下要1~2年才能萌发。本实验对中国红豆杉[*Taxus chinensis* (Pilger) Rehd.]和短叶红豆杉(*T. brevifolia* Nutt.)的离体胚培养特性进行了研究,发现适宜的条件下两种胚的萌发与成苗情况没有明显差异,利用胚的体外培养技术可以使其在几个月内发芽、成苗,为大规模种植提供一条快捷途径。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

中国红豆杉和短叶红豆杉种子分别采自中国湖北利川和加拿大。所用培养基为McCown,每升添加1g水解酪蛋白、1g酵母膏、3%蔗糖、0.7%琼脂、5g活性炭和0.08g维生素B₁。用B₂基本培养基添加同样成分做比较试验。

1.2 试验方法

供试种子去假种皮,用蒸馏水浸泡3h,依次用70%酒精消毒2min、5%次氯酸钠消毒30min,无菌水冲洗干净,在无菌滤纸上将胚剥离,接种于培养皿内,25℃左右暗培养。萌发后移至光照条件下,每天光照12h,待芽长至2cm以上时转移至试管内培养。以冰箱中4℃左右贮藏2~6个月的种子作胚培养的比较试验。另外,将种子去假种皮后置湿润的无菌培养皿内做萌芽试验,每皿20粒,25℃暗培养。

2 结果和讨论

2.1 萌发试验

去假种皮的种子培养2d后,可见种子吸水膨大、胚乳颜色变白、表面光滑。在没有污染的情况下,培养180d后仍未见萌芽。说明供试植物种子的休眠期较长,为典型的生理休眠种子^[1]。有研究认为休眠的原因与种子内含抑制物质有

关^[2],也有的研究认为其种皮坚硬透性差以及胚需要生理后熟,是综合型休眠^[3]。

2.2 离体培养胚的生长情况

中国红豆杉种子比短叶红豆杉的稍大、胚稍长;前者的胚长约1.5~2mm,后者约1mm。两种胚的萌发、生长情况基本一致(表1)。接种1d后胚的颜色变白,表面光滑有光泽;2~3d后胚有所增大;5~7d时,少数胚轴开始伸长,子叶颜色变绿并伸长、张开;10d后,大部分胚均萌发变绿,伸长,此时可移至光照条件下培养。培养2周后,芽已长至2mm左右(见图1),将芽较长者移至试管内继续培养。20~30d后,根长已达5mm左右,大部分长出侧根,同时从两片子叶间长出嫩芽,形成完整幼苗。萌发后的芽有一部分会出现卷曲、玻璃化或愈伤组织化等现象。

2.3 低温贮藏对中国红豆杉离体胚生长的影响

从表2可看出,低温处理可促进中国红豆杉种子的后熟,成苗率有所提高。

2.4 培养基对红豆杉离体胚萌发及生长的影响

用McCown培养基与B₂培养基作比较试验,发现McCown更有利于红豆杉胚的萌芽和生长,结果见表3。中国红豆杉和短叶红豆杉的胚对B₂培养基的反应不同,短叶红豆杉在B₂培养基上的萌芽率显著降低,且萌发的胚中有20%表面有红色分泌物,这些红胚萌发后不能进一步生长,或有少数长成畸形苗,最后死亡。

另外,用McCown和1/4 McCown(大量元素用量为1/4)分别培养幼苗,发现后者更有利于幼苗的生根、长芽,培养30d

收稿日期: 2000-07-12

基金项目: 梅雁经济发展总公司资助

作者简介: 李志良(1973-),男,广东梅县人,大学,助工,主要从事植物组织与细胞培养工作。

表1 中国红豆杉和短叶红豆杉离体胚生长情况¹⁾
Table 1 Growing of the embryos of two *Taxus* species cultured *in vitro*¹⁾

种类 Species	接种量 Inoculated embryos No.	萌发数 Germination No.	萌发率 Germination rate (%)	幼苗数 Seedling No.	成苗率 Seedling rate (%)
中国红豆杉 <i>Taxus chinensis</i>	457	454	99	227	49.7
短叶红豆杉 <i>Taxus brevifolia</i>	100	98	98	49	49.0

¹⁾ 培养30 d后测定,萌发率=(萌发数/接种数)×100%;成苗率=(幼苗数/接种数)×100%。The results were recorded after cultured thirty days, percentage of the germination=(germination No./inoculated embryos No.)×100%; percentage of the seedling=(seedling No./inoculated embryos No.)×100%。

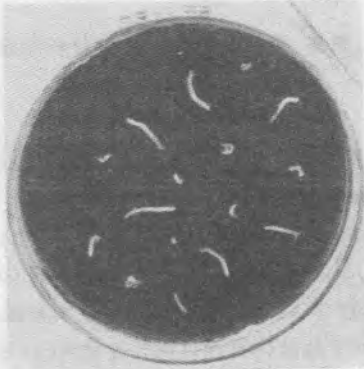


图1 红豆杉离体培养2周后的生长情况
Fig. 1 Growth of the embryos of *Taxus* species after cultured two weeks *in vitro*

表2 低温处理对中国红豆杉离体胚生长的影响¹⁾
Table 2 The influence of low temperature treatment on growth of *Taxus chinensis* embryo culture *in vitro*¹⁾

处理时间 Time (month)	接种量 Inoculated embryos No.	萌发数 Germination No.	萌发率 Germination rate (%)	幼苗数 Seedling No.	成苗率 Seedling rate (%)
0	100	99	99	49	49
2	57	56	98	34	59
4	51	51	100	35	69
6	85	85	100	58	68

¹⁾ 培养30 d后测定,萌发率=(萌发数/接种数)×100%;成苗率=(幼苗数/接种数)×100%。The results were recorded after cultured thirty days, percentage of the germination=(germination No./inoculated embryos No.)×100%; percentage of the seedling=(seedling No./inoculated embryos No.)×100%。

表3 培养基对红豆杉离体胚萌芽及生长的影响
Table 3 The influence of medium on germination and growth of the embryos of two *Taxus* species cultured *in vitro*

种类 Species	培养基 Medium	接种量 Inoculated embryos No.	萌发数 ¹⁾ Germination No. ¹⁾	萌发率(%) Germination rate	幼苗数 Seedling No.	成苗率(%) Seedling rate
短叶红豆杉 <i>Taxus brevifolia</i>	McCown	100	98(0)	98	49	49
	B ₅	44	27(9)	61	16	36.4
中国红豆杉 <i>Taxus chinensis</i>	McCown	50	50(0)	100	25	50
	B ₅	50	49(2)	98	24	48

¹⁾ 括号中的数字为红胚数 The numbers in bracket indicated the number of red embryos.

后,McCown中的幼苗30%有2~3条侧根,主根长3~5 cm,50%幼苗能长出1~3片嫩叶;而1/4 McCown中的幼苗70%有3~5条侧根,主根长5~6 cm,80%能长出2~6片嫩叶,形成完整植株。因此,认为适当降低培养基中大量元素的用量有利于幼苗的生长。

红豆杉种子在自然条件下萌发需时较长,且萌发率低,萌发时间不整齐。利用胚的体外培养技术能够显著缩短休眠期从而提前萌发。本实验中两种红豆杉离体胚的萌发率均比较高,成苗率也有50%左右,这与有关报道不一致^[3],这可能与种类的不同有关;采收季节的不同也是原因之一,因为在不同的季节,种子的成熟度不同,胚的发育程度不一样;还可能与水分散失、内源激素变化、抑制物的转化及培养条件等有关。实验中有部分胚出现卷曲、玻璃化或愈伤组织化

等现象,可能与胚的成熟程度以及种子的内源激素水平有关。提供适宜的培养基和培养条件是促进萌发、降低畸形苗数、提高成苗率的有效方法。

参考文献

- [1] 谭一凡. 南方红豆杉种子后熟生理的研究[J]. 中南林学院学报, 1991, 11(2): 200-206.
- [2] 吴啸峰. 红豆杉种子抑制物质的初步研究[J]. 植物生理学通讯, 1985, 5(4): 23-26.
- [3] 史忠礼, 周菊华, 王子卿. 南方红豆杉种子休眠的研究[J]. 浙江林业科技, 1991, 11(5): 1-6.

(责任编辑: 惠红)