

黄皮胚轴的脱水敏感性及其成苗^{*}

黄雪梅, 傅家瑞, 宋松泉

(中山大学生命科学院, 广东 广州510275)

摘要: 黄皮 (*Clausena lansium* [Lour.] Skeels) 离体胚轴 (不带子叶的胚) 在无激素的木本植物培养基上可长成小植株。几种因素包括胚轴剥取和培养技术均可影响胚轴成苗。成苗是衡量黄皮胚轴活力的一项重要指标。

关键词: 黄皮 (*Clausena lansium* [Lour.] Skeels) 胚轴, 脱水敏感性, 成苗

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A

成熟黄皮种子的含水量约为 50%, 对脱水敏感^[1], 在贮藏过程中缓慢失水, 同时发生自由基积累^[2], 脂质过氧化^[3]等劣变反应, 导致种子活力下降、霉菌侵染以至死亡。黄皮离体胚轴的脱水敏感性低于种子^[3], 是脱水耐性诱导及超低温保存种质的适宜材料。本文以成苗为主要活力指标, 探讨了黄皮胚轴的脱水敏感性及其影响成苗的因素。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为“鸡心”黄皮 (*Clausena lansium* [Lour.] Skeels cv. Jixin), 1998年7月采于广州市果树所, 发育期为花后 87 d, 果实黄熟。种子采后处理同金剑平^[1]的方法。

1.2 胚轴的剥取及培养

小心剥开种子取出胚轴, 用 φ 为 70% 酒精消毒 10 s 或 ρ 为 0.1% HgCl_2 消毒 1~5 min, 用无菌水冲洗 5 遍, 接种于木本植物培养基(WPM)(其中 $\text{Ca}_3(\text{PO}_3)_2$ 改用 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), pH 调至 5.8~5.9, 培养温度为 25 °C, 光照周期为 12 h 光/12 h 暗, 光照强度为 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

1.3 胚轴成苗观察

以培养 3 周后胚芽和胚根长出、下胚轴明显伸长为成苗, 计算成苗率, 测定胚轴的存活率、下胚轴和根长度, 每处理 6~10 枚胚轴, 4 次重复。

1.4 干燥脱水

用干燥塔^[4]或常压硅胶在 15 °C 下脱水, 以鲜质量为基础计算含水量。

1.5 梯度蔗糖预培养

依照陆旺金等^[4]的方法, 在干燥脱水前将胚轴依次接种于含 3%、11%、19%、27% 和 35% 蔗糖的 WPM 中, 2 d 转移 1 次。

* 基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (980360)

收稿日期: 1999-09-13; 作者简介: 黄雪梅 (1969~), 女, 博士生。

2 结 果

2.1 黄皮胚轴的形态及离体培养

黄皮胚轴的两片子叶分别着生于胚轴顶部胚芽的两侧，离体胚轴包括胚芽、下胚轴和根原基三部分，胚芽细小，肉眼可辨。在不加任何激素的 WPM 上培养 3 周后多数胚轴可长成小植株。

2.2 胚轴剥取方法对成苗的影响

3 种剥取胚轴的方法见表 1。用方法 1 剥取胚轴的速度最快，但剥出的胚轴的胚芽多数被损伤或丢掉，导致胚轴无法正常成苗，仅长成无芽畸形苗。方法 2 成苗情况最好，但由于带部分子叶，体积较大，不利于快速脱水，并且剥取速度太慢，不适宜大批取样。用方法 3 剥取速度快，成苗率也高，所以为实验室大量取样时所采用。

表 1 3 种剥取黄皮胚轴的方法对成苗的影响

Tah 1 Effect of three methods of getting excised axes from wampee seeds on seedling fomation

	方法 1	方法 2	方法 3
具体操作	用手术刀片撕开种子，挑出胚轴.	切去种子较细一端自然开裂的子叶，露出大部分胚轴，在离切口约 1 mm 处截去大块子叶，得到图钉形带子叶胚轴，小心修去周缘的子叶.	用手术刀片插在种子较细一端的子叶缝间，轻轻分开两片子叶，将轴小心切出.
胚轴特征	部分胚芽被撕裂或完全丢失.	胚芽由部分子叶包围，胚芽无损伤.	胚芽有轻微或无损伤.
剥取速率 (枚·h ⁻¹)	500~600	50~100	400~500
成苗率/%	< 39.1	100	52.8~100

2.3 消毒方法对胚轴成苗的影响

消毒剂使用不当也会严重影响胚轴的成苗率。黄皮胚轴用 ϕ 为 70%酒精浸泡 10 s 引起胚芽伤害，接种 3 周后仅有下胚轴伸长和根生长，最后形成无芽的畸形苗。ρ 为 0.1% HgCl₂ 浸泡 1~2 min 即可完全灭菌并获得很高的成苗率，是理想的消毒剂；但浸泡 3 min 成苗率降低 50%，若超过 4 min，胚轴长成无芽畸形苗。

2.4 脱水对胚轴成苗的影响

黄皮胚轴对脱水高度敏感，在干燥塔中仅经过 1 h 的脱水，含水量下降至 31.3，胚芽已严重伤害；培养 1 个月后无一胚轴长成完整植株（表 2）。随着进一步脱水，下胚轴的生长能力也明显减弱，且伤害部位从顶芽逐步向根原基扩展（表 2）。因此，黄皮胚轴各组织的脱水敏感性为：胚芽> 下胚轴> 根原基。此外，脱水至 21.4%的胚轴长出的根明显长于其它较高含水量的胚轴，说明适度的脱水可促进根的生长。采用常压硅胶法将胚轴脱水至高于 31.3%的不同含水量，成苗观察表明，当含水量下降至 38.8%时，成苗率已减少至脱水前的 24.4%，进一步脱水至 36.5%时，成苗率就只有脱水前的 17.5%了。

表 2 干燥塔脱水对黄皮胚轴成苗的影响

Tah 2 Effect of dehydration by desiccation tower on seedling formation of wampee axes

干燥时间/h	0	1	2	3	5
含水量/ %	49.3	31.3	26.7	21.4	15.4
存活率/ %	100	100	81.3	78.6	27.3
成苗率/ %	88.9	0	0	0	0
下胚轴长/mm	未测定	10.3±1.5	9.4±2.5	7.7±2.8	5.7±1.1
胚根长/mm	未测定	8.3±5.0	6.0±2.7	19.1±5.7	3.0±1.7

2.5 梯度蔗糖预培养对黄皮胚轴脱水敏感性的影响

梯度蔗糖预培养被认为能提高黄皮胚轴的脱水耐性^[4]。但本实验表明，黄皮胚轴经过梯度蔗糖预培养后即失去形成完整植株的能力，只形成无芽的畸形苗（表 3），说明胚芽受到高浓度蔗糖的严重伤害。随着蔗糖浓度由 3%提高至 35%，胚芽逐步受到损害，无芽的畸形苗增多，而正常苗减少（表 4）。从表 2 和表 3 可见，梯度蔗糖预培养虽然损坏了胚芽，但可提高下胚轴和根原基的脱水耐性。此外也可以看到，适度脱水（如脱水至 33.8%和 31.9%）可促进胚根的生长。

表 3 干燥塔脱水对经过梯度蔗糖预培养的黄皮胚轴成苗的影响

Tah 3 Effect of desiccation by desiccation tower on seedling formation of wampee axes pre-cultured by gradient-sucrose

干燥时间/h	0	1	2	3	4	5
含水量/ %	47.7	42.0	37.3	36.5	33.8	31.9
存活率/ %	100	100	100	100	100	100
成苗率/ %	0	0	0	0	0	0
下胚轴长/mm	12.3±2.0	11.3±2.9	10.9±2.2	10.2±1.4	12.9±1.6	11.4±6.0
根长/mm	7.0±4.7	11.2±4.8	13.0±5.3	7.0±3.8	42.2±10.1	20.8±5.9

表 4 黄皮胚轴在梯度蔗糖预培养过程中的成苗能力测定

Tah 4 Ability of wampee axes to forming seedling during pre-culturing of gradient sucrose

蔗糖预培养	胚轴含水量/ %	存活率/ %	成苗率/ %
3%	85.2	100	52.8±21.4
3%—11%—19%	57.5	100	28.7±8.8
3%—11%—19%—27%	56.9	100	17.4±6.5
3%—11%—19%—27%—35%	47.8	100	0

3 讨 论

黄皮胚轴比其种子小得多，能快速脱水，脱水敏感性较低^[3]，且胚轴也可独立长成小植株，所以是研究脱水耐性诱导和种质保存的良好材料。由于黄皮胚轴的胚芽非常弱小，通常不经意地剥取胚轴的方法会损伤胚芽；用 70%酒精消毒 10 s 和 0.1% HgCl₂ 消毒

5 min 及轻度脱水也会损伤胚芽; 胚芽对脱水非常敏感, 因此极易受到脱水伤害; 此外, 梯度蔗糖预培养虽然能提高下胚轴和根的脱水耐性, 却对胚芽产生严重伤害. 胚芽受损的胚轴虽然下胚轴和根原基仍具有活力, 但最终无法出芽或成苗. 大量的试验表明不能从下胚轴或根的愈伤组织中诱导植株再生 (数据未列出). 因此, 成苗应作为黄皮胚轴的一项重要活力指标. 金剑平^[1], 陆旺金和傅家瑞^[4]曾用发芽率 (以胚轴伸长 50% 视为发芽) 和生长量来衡量黄皮胚轴的脱水敏感性, 未提及过胚轴的出芽或成苗问题.

应用成苗作为胚轴的活力指标有利于研究胚轴脱水耐性的诱导及超低温贮藏. 只有在每一环节保证胚轴能成苗, 才能最后获得完整的植株. 由于新剥取的胚轴其胚芽不耐受蔗糖预培养, 改用耐受蔗糖预培养的发芽胚轴作为脱水耐性诱导的材料, 已成功地诱导其脱水耐性, 使含水量降至 20% 以下仍可再生出完整小植株 (黄雪梅等, 待发表).

参考文献:

- [1] 金剑平. 黄皮种子顽拗性的研究 [D]. 广州: 中山大学生命科学学院, 1994.
- [2] 向旭. 黄皮种子脱水敏感性及其自由基伤害机理研究 [D]. 广州: 中山大学生命科学学院, 1998.
- [3] 宋松泉, 傅家瑞. 黄皮种子脱水敏感性与脂质过氧化作用 [J]. 植物生理学学报, 1997, 23 (2): 163~168.
- [4] 陆旺金, 傅家瑞. 黄皮胚轴脱水耐性的诱导 [J]. 中山大学学报 (自然科学版), 1997, 36 (4): 118~120.
- [5] BERJAK P, FARRANT J M, MYCOCK D J, et al. Recalcitrant (homoichydrous) seeds: the desiccation-sensitivity [J]. Seed Science & Technology, 1990, 18: 297~310.

The Desiccation-sensitivity of Wampee (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels) Axes in Relation to Seedling Formation

HUANG Xue-mei^{*}, FU Jia-rui, SONG Song-quan

Abstract: Axes from Wampee (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels) seeds could form seedlings in the hormone-free woody plant medium (WPM). Seedling formation could be influenced by several factors including the excision and incubation of axes. Seedling formation might be considered to be an important vigor index of wampee axes.

Keywords: wampee (*Clausena lansium*) axes; desiccation-sensitivity; seedling formation

^{*} School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China