

文章编号: 1001-1498(2009)01-0026-03

云南红豆杉种子贮藏过程中胚的变化

王兵益, 苏建荣*, 张志钧

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224)

摘要:采用显微测量、石蜡切片和离体培养法研究了云南红豆杉种子在贮藏过程中胚的长度、结构和萌发率的变化, 结果显示:新鲜种子胚的长度差异明显,在种子贮藏过程中胚的长度变化不明显;多数情况下,成熟种子的胚分化完全,在种子贮藏过程中胚的结构没有发生明显变化;在离体培养中,新鲜种子胚在2周左右萌发,萌发率为70%,随着贮藏时间的延长,胚的萌发率会逐渐降低。因此推测种子休眠不是由胚的生物学特性引起的;胚在种子中能较长时间的保持活力,这是长期适应的结果,但却是以损失萌发率为代价的。

关键词:云南红豆杉;种子;胚;萌发率

中图分类号: S722.1⁺7

文献标识码: A

The Change of Embryo during the Seeds of *Taxus yunnanensis* Conserved in Sand

WANG Bing-yi, SU Jian-rong, ZHANG Zhi-jun

(Research Institute of Resources Insects, CAF, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: The length variation, structure and germination rate of embryo in *Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu seeds that conserved in sand were studied by paraffin section and being cultured in vitro. The results are as follows: Their length varied greatly, and did not change as seeds were conserved in sand. Most embryos developed completely in mature seeds, and the embryo structure did not change as seeds were stored in sands. In vitro, embryos from the fresh seeds germinated in 2 weeks, and the germination rate was 70%, but the germination rate declined as seeds were stored in sand. It can be concluded that biologic characters of embryos is not a reason for seed dormancy in *Taxus yunnanensis*. Its embryo can keep alive in seeds for long time, which may be resulted from adaptation, but its germination rate will decrease with the store time prolonged.

Key words: *Taxus yunnanensis*; seeds; embryo; germination rate

云南红豆杉 (*Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu)是分布于我国西南部及缅甸和不丹北部的红豆杉属植物^[1]。它是第四纪冰川后遗留下来的物种,与罗汉松科 (Podocarpaceae)植物具有共同的祖先^[2],被称为植物王国的“活化石”,特殊的系统地位使其在科学研究中具有重要的价值。因为富含抗癌药物紫杉

醇^[3],云南红豆杉曾遭到严重破坏,其保护地位不断攀升,分别于1986年、1993年和1999年被列为云南省二级保护植物、林业部二级保护植物和国家一级保护植物。云南红豆杉的保护成为关注的焦点,但由于不清楚其濒危机制,保护措施难以对症下药,使云南红豆杉保护工作进展缓慢,也限制了自然资源的合理利用。

收稿日期: 2008-09-04

基金项目: 中国科技部科研院所社会公益研究专项资助 (2004D B3J104); 中国科技部十五科技支撑项目资助 (2006BAD18B03); 加拿大阿尔伯塔大学益客基金会资助; 中国林业科学研究院资源昆虫研究所所长基金 (riri200703Z, Riricaf200804M)资助

作者简介: 王兵益 (1976—),男,陕西山阳人,博士,主要从事植物生殖生物学研究。

*通讯作者。

红豆杉属植物的种子具有休眠的特性,这被认为是影响其自然更新的主要因素。对影响红豆杉种子萌发的物理、化学及外界因素的研究很多^[4-12]。胚是种子萌发的主体,对云南红豆杉胚萌发的研究少见报道^[13-15]。许多研究表明低温沙藏能加速种子萌发^[11, 16-18],然而,胚在低温沙藏过程中是否发生变化以及如何变化的研究却未见报道。本文通过观察种子贮藏过程中胚的长度、结构及萌发率的变化来说明胚的生物学特性在种子萌发中的作用。

1 材料与方法

2006年12月,采集成熟的种子洗去假种皮后4沙藏,每周翻动1次。于2006年12月24日,2007年2月13日、4月21日和7月11日检测胚的萌发率并测量胚的长度,同时观察胚结构,随后定期测量胚的长度并观测其结构,一直持续到2008年3月12日。胚的长度测量在Leica MZI6A解剖镜上进行,将从人工林种子中剥离的胚放在载玻片上,用IE50软件照相并测量长度,每次测量30至40个胚。沙藏中胚内部结构的观测用石蜡切片法,将剥离种皮的种子固定在事先配制的FAA固定液中,切片、染色及检测方法参照王兵益等^[19]的方法。

种子经表面消毒后,在无菌操作台上将胚剥离出来在人工培养基上培养,培养基及培养条件参照赵沛基等^[13]关于云南红豆杉离体胚培养的方法:MS培养基,pH为5.8(灭菌前),并添加3%蔗糖、0.8%琼脂。培养温度为(25±1),每天光照12h,光照强度为2000lx,每次培养60个胚。胚被剥离后用Leica MZ 16A解剖镜照像,用IE50软件测量长度,每次测量30胚。

2 结果与分析

2.1 长度

从总体上看,云南红豆杉胚的长度变异明显,最短的只有1.25mm,最长的达2.54mm,最短胚和最长相差一倍多(表1)。在沙藏的过程,胚的长度没有发生变化。新鲜种子和沙藏15个月后种子的胚的长度差异不明显(表2)。

表 1 新鲜种子胚与沙藏 15 个月后种子胚的长度比较

测量时间 (年月)	数目 / 个	平均值 mm	标准差 mm	最小值 / mm	最大值 / mm
2006-12	33	1.72 ± 0.15		1.25	2.54
2008-03	33	1.74 ± 0.08		1.38	2.11

表 2 新鲜种子胚与沙藏 15 个月后的种子胚长度的方差分析

变异来源	平方和	自由度	F 值	F _{0.05} 临界值
组间	0.004	1	0.06	4
组内	4.454	64		
总计	4.457	65		

2.2 结构

云南红豆杉种子成熟时,假种皮变红(图1a),剥离假种皮,种皮呈黄褐色(图1b)。在大多数成熟种子中,云南红豆杉胚发育完全,部分种子中胚的发育是不完全的,有些甚至停留在幼胚阶段。发育完全的胚由子叶、苗端、原形成层、胚皮层、根冠和次生胚柄系统组成(图1c,d)。种胚有2枚子叶,长约50~100μm,呈楔形,前端较窄,下端较宽(图1c),2个子叶中间夹着苗端分生组织,呈锥形小丘,细胞小,但核大,染色较深(图1e)。子叶中原形成层细胞较窄,约8~14个细胞宽,胚轴中原形成层细胞较宽,约18~24个细胞宽,原形成层外侧为胚皮层细胞。贮藏15个月以后种子胚的结构与新鲜种子胚的结构相似(图1f)。

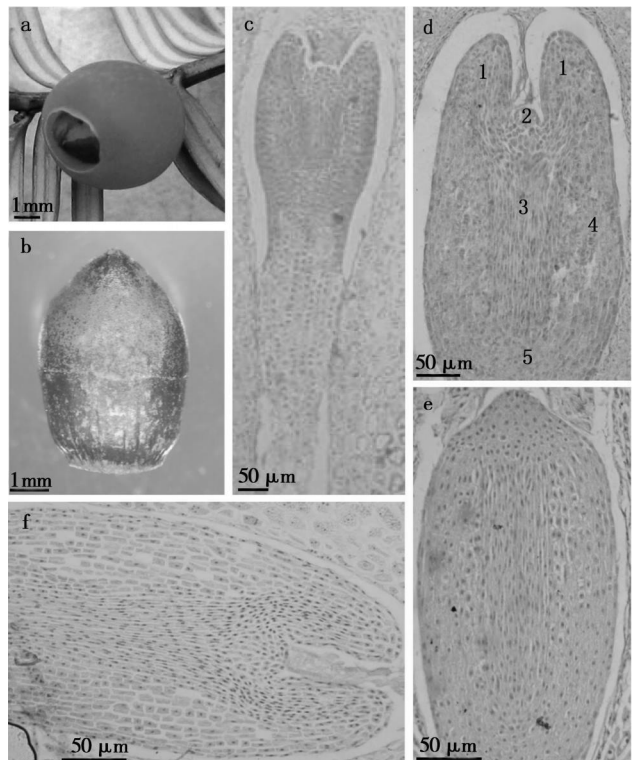


图 1 成熟种子和胚的结构

说明: a 带有假种皮的种子; b 剥离假种皮的种子; c 分化完全的胚; d 胚的结构(1,子叶;2,苗端;3,原形成层;4,胚皮层;5,根冠); e 苗端; f 种子贮藏15个月后胚的结构。

2.3 萌发率

通过离体培养得知,成熟的胚在离体培养 2 周后萌发,50 d 左右长成小苗。新鲜种子胚的萌发率为 70%,但随贮藏时间的延伸而降低,且降低的速度逐渐减慢。

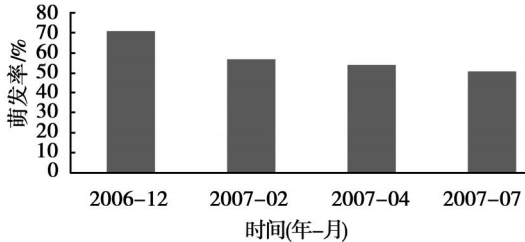


图 2 胚萌发率随沙藏时间的变化

3 结论与讨论

影响种子萌发速度的因素很多,但归纳起来就三类:生物学原因,即胚没有成熟或者成熟胚的萌发速度缓慢;物理原因,即种皮太厚或者太致密以至于水分和气体都不能进入;化学原因,即种子中含有影响胚萌发的化学抑制物或者胚乳的化学转换受抑制。就本文的研究结果看,在大多数成熟的云南红豆杉种子中,胚已经分化完全;在离体培养中,新鲜种子的胚在较短的时间内就能萌发。这些都说明在大多数成熟的云南红豆杉种子中,胚已经具备在短时间内萌发的潜力。很多研究表明,低温沙藏能加速种子萌发过程,但低温沙藏过程中胚的大小和结构并未发生变化。所以,云南红豆杉种子的休眠并非生物学原因所致。胚没有后熟作用且能够在短时间内萌发,为缩短云南红豆杉种子的育苗周期提供了可能,同时也为缩短云南红豆杉种子育苗周期提供了研究思路 and 方向,只要消除种子中由于物理和化学原因带来的影响,就可能促使胚萌发,因为胚已经具备萌发能力。

同红豆杉属的其它种一样,云南红豆杉种子在低温沙藏过程中仍能保持活力,说明云南红豆杉种子具备一定的耐低温能力,在低温贮藏过程中,胚的萌发率逐渐降低说明了这种耐低温能力是要付出代价的。红豆杉属植物多数分布在高纬度或高海拔地区,种子成熟都在 10 月至 12 月,正值低温季节,不利于种子萌发,所以,抗低温能力显然是对这种不良环境长期适应的结果。

通过离体培养得知,即使是刚成熟的种子,萌发率只有 70%,而且在贮藏过程中,种子的萌发率还会降低。其实在离体培养时,有些种子的胚没有发育完全,在剥离的过程中更容易被损坏,有些胚太小,也很

难被发现,所以,实际的萌发率比统计结果还要低。造成种子萌发率低的原因可能是:用假种皮变红作为种子成熟的标准,认为已经成熟的种子可能还没有成熟,甚至还处在幼胚的初期;即使是发育成熟的胚,由于多胚现象普遍存在,使得成熟胚的营养状况差异很大,因而影响到胚的发育,通过胚的长度可以看出,最长的胚比最短的胚长 1 倍。

参考文献:

- [1] 郑万钧,傅立国. 中国植物志(第七卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 438 - 448
- [2] 苏建荣, 张志钧, 邓 疆, 等. 云南红豆杉的地理分布与气候关系 [J]. 林业科学研究, 2005, 18(5): 510 - 515
- [3] 苏建荣, 张志钧, 邓 疆. 不同树龄、不同地理种源云南红豆杉紫杉醇含量变化的研究 [J]. 林业科学研究, 2005, 18(4): 369 - 374
- [4] 吉前华, 郭雁君, 李少琼, 等. 不同处理对南方红豆杉种子萌发的影响 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(31): 9858 - 9860
- [5] 张艳杰, 高捍东, 等. 南方红豆杉种子中发芽抑制物的研究 [J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2007, 31(4): 51 - 56
- [6] 程广有, 唐晓杰, 高红兵, 等. 东北红豆杉种子休眠机理与解除技术探讨 [J]. 北京林业大学学报, 2004, 26(1): 5 - 9
- [7] 独 军, 冯晓琴, 李平英. 红豆杉种子休眠原因与育苗试验的研究 [J]. 林业科技, 2003, 28(5): 9 - 11
- [8] 黄儒珠, 方兴添, 郭祥泉, 等. 南方红豆杉种子的化学成分分析 [J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(4): 392 - 394
- [9] 张志权, 廖文波, 钟 翎, 等. 南方红豆杉种子萌发生物学研究 [J]. 林业科学研究, 2000, 13(3): 280 - 285
- [10] 张宗勤, 罗新谈, 杨金祥, 等. 红豆杉种子发育及幼苗生长动态 [J]. 植物资源与环境学报, 1998, 7(2): 12 - 15
- [11] 周洪英, 金 平, 邹天才. 温度对南方红豆杉种子萌发的影响 [J]. 贵州科学, 1998, 16(2): 116 - 119
- [12] 陈登雄, 方兴添, 郭祥泉, 等. 南方红豆杉种子催芽研究初探 [J]. 福建林学院学报, 1998, 12(3): 267 - 269
- [13] 赵沛基, 沈月毛, 彭丽萍, 等. 云南红豆杉离体胚的培养 [J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(4): 327 - 329
- [14] 陈永勤, 戴均贵, 朱蔚华. 红豆杉成熟胚的离体培养(简报) [J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(3): 191 - 193
- [15] 邱德有, 李如玉, 李 铃. 红豆杉及南方红豆杉体细胞胚胎发生的研究 [J]. 林业科学, 1998, 34(6): 50 - 55
- [16] 张志强, 陈贤浩, 吴晓明. 南方红豆杉种子贮藏和催芽对提高发芽率的作用 [J]. 科技资讯, 2007(25): 103
- [17] 景跃波, 王卫斌, 马赛宇, 等. 云南红豆杉种子变温层积的萌发效应研究 [J]. 西部林业科学, 2007, 36(1): 52 - 56
- [18] 黄儒珠, 郭祥泉, 方兴添, 等. 变温层积处理对南方红豆杉种子生理生化特性的影响 [J]. 福建师范大学学报:自然科学版, 2006, 22(2): 95 - 98
- [19] 王兵益, 苏建荣, 张志钧. 云南红豆杉小孢子发生和雄配子发育的研究方法比较 [J]. 云南大学学报:自然科学版, 2008, 135(3): 302 - 307