

山杏胚培养影响因素研究

刘晓光¹, 李贺丹²

(1. 河北民族师范学院 化学系, 河北 承德 067000; 2. 河北农业大学 生命学院, 河北 保定 071001)

摘 要:以当年生野生山杏成熟种子为试材, 采用组织培养法, 研究了种皮、不同浓度赤霉素(GA_3)以及光照条件对山杏种子萌发的影响。结果表明:光照 16 h、黑暗 8 h 条件下, MS 培养基中添加 0.16 mg/L GA_3 能有效促进去种皮山杏种子的萌发, 未去除种皮的山杏种子均未萌发; 在遮光条件下, 去种皮种子在添加了 0.16 mg/L 与 0.50 mg/L GA_3 的 MS 培养基中发芽率均为 100%, 幼苗比光照 16 h、黑暗 8 h 培养条件下的高且生长速度快, 但黄化现象严重; 将幼苗移至土壤中, 能够正常生长, 成活率达 100%。

关键词:山杏; 胚培养; GA_3

中图分类号:S 662.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)03-0106-03

山杏(*Prunus sibirica* L.)即西伯利亚杏, 是重要的野生资源。为生产苦杏仁的主要树种, 具有很高的药用价值和营养价值^[1]。山杏适应性强, 喜光, 根系发达深入地下, 具有耐寒、耐旱、耐瘠薄的特点, 是一种优良的水土保持植物。国家提出了“南有油茶, 北有山杏”的中国生态经济林格局, 把发展山杏产业纳入国家木本粮油安全战略的重要组成部分, 山杏在承德地区也作为重要发展的林业经济树种。但农民对山杏的栽培管理观念淡薄, 育种采用传统方式, 将成熟种子存储一冬后第 2 年再进行播种育苗, 一般需要 3~4 年, 导致山杏产业进展非常缓慢。因此, 缩短山杏的育苗周期是促进山杏产业发展的一项重要任务。对于山杏种子处理的研究报道很少, 并且年代较为久远。现以成熟山杏种子为试材, 研究了其在组培条件下最佳萌发条件, 缩短了山杏种子的发芽及育种时间, 以期在山杏的种苗繁育奠定了一定的基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

山杏的成熟胚取自承德市围场县, 树体自然野生状态生长。MS 培养基中添加 5.5 g/L 琼脂、30 g/L 蔗糖, pH 5.8, 在 121℃ 下灭菌 17 min 备用。

1.2 试验方法

1.2.1 种皮处理 取去除外果皮硬壳完整无损的果核, 自来水中洗干净, 在无菌条件下, 用 75% 酒精浸泡 2~3 min, 0.1% 升汞灭菌 8 min, 用无菌水浸泡并冲洗 4~

5 次。将灭菌的山杏种子分为去种皮与带种皮 2 种处理分别接种到 MS 培养基上, 置于 25℃、光照 16 h、黑暗 8 h 的条件下培养。

1.2.2 不同浓度 GA_3 处理 将灭菌的山杏种子去种皮后接种到添加了 0.02 (T1)、0.10 (T2)、0.16 (T3)、0.50 mg/L (T4) GA_3 的 MS 培养基上(表 1)。置于 25℃、光照 16 h、黑暗 8 h 的条件下培养。

表 1 不同浓度 GA_3 处理

Table 1 Different concentration of GA_3 treatment

处理 Treatment	种皮 Testa	不同培养基 Different media
T1	去种皮	添加 0.02 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T2	去种皮	添加 0.10 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T3	去种皮	添加 0.16 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T4	去种皮	添加 0.50 mg/L GA_3 的 MS 培养基
对照组	去种皮	未添加 GA_3 的 MS 培养基

1.2.3 遮光处理 将灭菌的山杏种子做去种皮处理, 分别接种到添加了 0.02、0.10、0.16、0.50 mg/L GA_3 的 MS 培养基上, 分别置于遮光环境(T5~T8)与光周期 16 h/8 h (T9~T12)中, 观察并记录发芽率及幼苗生长情况。

表 2 遮光处理

Table 2 Shading treatment

处理 Treatment	不同培养基 Different media
T5	添加 0.02 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T6	添加 0.10 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T7	添加 0.16 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T8	添加 0.50 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T9	添加 0.02 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T10	添加 0.10 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T11	添加 0.16 mg/L GA_3 的 MS 培养基
T12	添加 0.50 mg/L GA_3 的 MS 培养基

1.3 数据分析

试验数据用 SPSS 软件采用 LSD 进行方差分析, 方差置信区间为 0.01。

第一作者简介:刘晓光(1980-), 女, 河北石家庄人, 博士, 讲师, 现主要从事野生植物资源开发与利用等研究工作。E-mail: zaosyl26@126.com

基金项目:承德市财政局资助项目(CZ2014004)。

收稿日期:2015-09-24

2 结果与分析

2.1 种皮对山杏发芽率的影响

未去除种皮的山杏胚均未萌发,去除种皮的山杏成熟胚在未添加植物生长调节剂的 MS 培养基中也能萌发,但发芽率仅为 40%。

2.2 不同浓度 GA₃处理对山杏发芽率的影响

由表 3 可知,不同浓度 GA₃对山杏的萌发作用不同。添加 0.02 mg/L GA₃的处理山杏的发芽率为 55%,添加 0.10 mg/L GA₃的处理山杏的发芽率为 65%,而添加 0.16 mg/L GA₃与 0.50 mg/L GA₃对山杏种子萌发的影响没有显著性差异,发芽率分别为 80%与 85%,去除种皮的山杏成熟胚在未添加植物生长调节剂的培养基中也能萌发,但发芽率仅为 40%,远远低于添加 GA₃的处理。在添加植物生长调节剂的处理中,山杏种子的发

表 3 不同浓度 GA₃对山杏胚培养的影响

Table 3 Effect of different concentrations of GA₃ on embryo culture of wild apricot

处理 Treatment	转绿率 Turn green rate/%	发芽率 Germination rate/%
T1	100	55C
T2	100	65B
T3	100	80A
T4	100	85A
对照组	100	40D

注:不同英文字母表示差异达到显著水平(P<0.01)。下同。

Note: Different letters show significant difference at 0.01 level. The same below.

芽率高于空白 MS 培养基中的种子,说明山杏种胚中也存在抑制萌发的物质^[2]。

植物生长调节剂能有效打破山杏种子的休眠。试验结果表明,添加适宜浓度的 GA₃能有效打破山杏种子的休眠达到较好的发芽效果,且随着 GA₃浓度的增加山杏种子的发芽率增高。但过高的植物生长剂浓度也会抑制植物的萌发。在去种皮处理中,添加 0.16 mg/L 与 0.50 mg/L GA₃对山杏种子的发芽率没有显著的影响,可见 MS+0.16 mg/L GA₃培养基就能满足山杏萌发的需要。

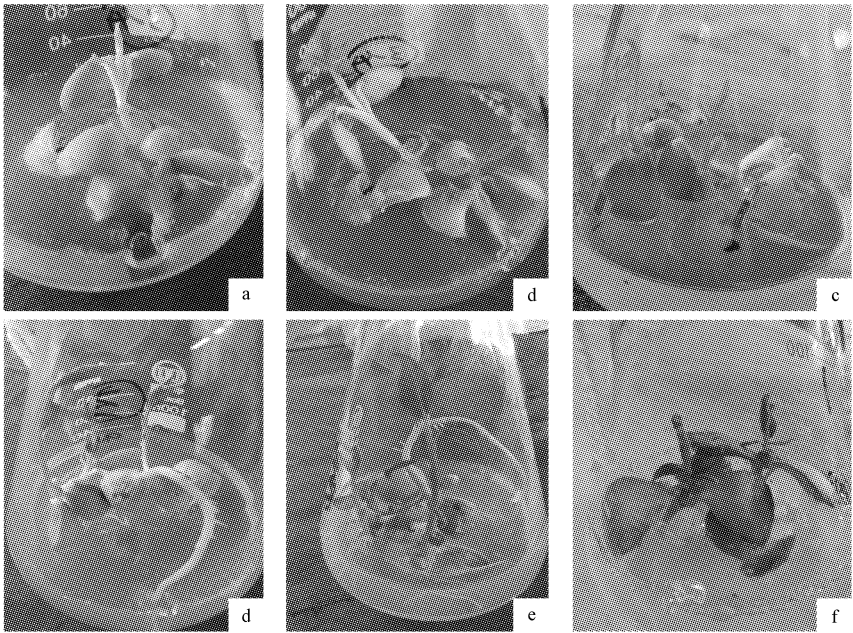
2.3 遮光处理对山杏发芽率的影响

由表 4 可知,连续观察 12 d 后,T7、T8 处理下的山杏种子发芽率能达到 100%,极显著高于 T12 的 65%,遮光条件下生长的山杏幼苗株高、根长也都优于光照 16 h 黑暗 8 h 培养下的幼苗。但如果山杏种子发芽后继续在遮光条件下培养,幼苗植株细弱并出现黄化现象(图 1a、c),

表 4 光照对山杏萌发及生长的影响

Table 4 Effect of light on germination and growth of wild apricot

处理 Treatment	发芽率 Germination rate/%	平均根长 Average length of root/cm	平均芽长 Average length of bud/cm
T5	50D	2.330	1.025
T6	85B	2.565	1.325
T7	100A	2.955	1.655
T8	100A	2.950	1.745
T9	40E	0.040	0.050
T10	50D	0.050	0.050
T11	60C	0.200	0.075
T12	65C	0.380	0.150



注:a. 试验第 10 天遮光条件下的 T7 处理,b. T7 处理的幼苗取出转至光培养 2 d 后转绿,c. 试验第 12 天遮光条件下的 T7 处理,d. 试验第 12 天转到光下培养 2 d 的 T8 处理,根长达到 9 cm,e. 试验第 14 天转到光下培养 4 d 的 T8 处理,株高达到 5.5 cm,f. T11 处理,试验第 19 天。

Note:a. The T7 treatment on the 10th day,b. The seedlings of T7 turned to green after 2 days since cultured under light,c. The T7 treatment on the 12th day in dark,d. The seedlings of T8 after 2 days since cultured under light,the root was 9 cm,e. The seedlings of T8 after 4 days since cultured under light,the height was 5.5 cm,f. The T11 treatment on the 19th day.

图 1 光照对山杏萌发及生长的影响

Fig. 1 Effect of light on germination and growth of wild apricot

将其取出置于光照 16 h、黑暗 8 h 条件下培养,叶片会在 1~2 d 内转绿且植株能够正常生长(图 1b),植株最高能到达 5.5 cm,根最长能到达 9 cm(图 1d、e)。而光照 16 h、黑暗 8 h 条件下萌发的山杏幼苗节间短、子叶全数转绿(图 1f),但其平均株高与根长都低于遮光条件下的幼苗。

植物对光的喜好程度不同,光照条件对其生长影响差异较大,适度遮光处理对某些植物的生长非常有利^[3]。遮光处理对山杏种子的萌发也有影响,试验证实遮光条件下的山杏种子发芽率比光照 16 h、黑暗 8 h 条件下的要高。但是因遮光条件下叶片无法进行光合作用使得幼苗细弱、黄化现象严重。将发芽的山杏幼苗移到光下培养,幼苗在 1~2 d 转绿,后期生长良好根茎都有加粗现象。故可将 2 种方法结合起来,先将山杏种子置于遮光条件下培养,当到达发芽高峰期后将山杏幼苗取出置于光照 16 h、黑暗 8 h 的条件下培养,可快速获得生长情况良好的幼苗。

3 结论与讨论

去除种皮的山杏种子在未添加植物生长调节剂的 MS 培养基中能萌发,而未去除种皮的山杏种子均未萌发,这表明山杏种皮中确实含有抑制胚生长的物质,与前人研究结果一致^[4]。去种皮处理能有效打破种子的休眠促进当年生山杏种子的萌发。

在果树育种育苗中通常采用低温处理的方法促进萌发,一般低温处理的温度为 0~5℃,最佳时长为 80~100 d,但是低温处理所需时间长且效果不甚理想^[5-7]。休眠的种子中脱落酸的含量高,而萌发中的种子赤霉素含量高,因此用适宜浓度的外源 GA₃ 处理能有效打破种子的休眠^[7-10]。该研究表明,添加 0.16 mg/L GA₃ 的 MS 培养基能有效打破山杏种子的休眠。

此外,光照对植物的生长也有重要作用,不同植物

的萌发对光的需求差异较大。有些外植体在培养前期需进行遮光培养,尤其是在叶片培养、生根培养和愈伤诱导等试验^[11-13]。不同植物萌发对光的需求不同,遮光处理有利于山杏幼苗的生长。因此,先将山杏种子置于遮光条件下培养,当到达发芽高峰期后将山杏幼苗取出置于光照 16 h、黑暗 8 h 的条件下培养,可快速获得生长情况良好的幼苗,将幼苗转移至土壤中,成活率达到 100%,并且生长状况良好。该研究为山杏的种苗繁育和快速繁殖奠定了基础。

参考文献

- [1] 刘桂森,张立彬,陈玉林,等. 山杏种胚培养和快速繁殖[J]. 植物生理学报,1989(3):43.
- [2] 刁永强,廖康,许正,等. 影响野生山杏种子萌发的相关因素研究初报[J]. 北方园艺,2008(4):27-30.
- [3] 王鸿,马锋旺,郝燕,等. 山杏下胚轴再生植株的研究[J]. 西北农林科技大学学报,2005,33(5):127-129.
- [4] 于希志,陈秋萍. 杏当年种子育苗实验[J]. 山东果树,1984(1):35-37.
- [5] 柴菊华,赵习平. 我国极早熟杏研究进展[J]. 园艺学报,2002,29(增刊):635-638.
- [6] 韩明玉,张满让,田玉命,等. 植物激素对几种核果类种子休眠破除和幼苗生长的效应研究[J]. 西北植物学报,2002,22(6):1348-1354.
- [7] 马锋旺,韩清芳,张桂绝,等. 山杏种子休眠与萌发的研究[J]. 园艺学报,1995,22(1):91-92.
- [8] 何森,常进,刘娇. 香蓼种子休眠与萌发特性[J]. 东北林业大学学报,2015,43(1):17-23.
- [9] 苑克俊,王长君,王培军,等. 赤霉素处理日光温室杏种子对加速育苗进程的效果研究[J]. 山东农业科学,2013,45(10):76-78.
- [10] 王蕾,海利力,库力班,等. 野生杏种子对外源赤霉素的生理响应[J]. 干旱研究,2009,26(5):708-712.
- [11] 李梦玲,李嘉瑞,陶正平,等. 杏叶片离体培养[J]. 中国农学通报,2001,17(2):8-10.
- [12] 孙青荣,李勃,张力思,等. 甜樱桃品种吉列玛叶片再生不定梢的研究[J]. 落叶果树,2001(1):10-11.
- [13] 袁小环,彭向勇,李青,等. 甜樱桃组培苗生根的研究[J]. 西北农林科技大学学报,2004,32(4):71-78.

Study on Influence Factors of Embryo Culture of *Prunus armeniaca*

LIU Xiaoguang¹, LI Hedan²

(1. Department of Chemistry, Hebei Normal University for Nationalities, Chengde, Hebei 067000; 2. College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001)

Abstract: The mature seeds of *prunus armeniaca* was used as material to study the influence factors of embryo culture, including the seed testa, shading conditions and different concentration GA₃. The results showed that the MS medium added 0.16 mg/L of GA₃ could increase the germination of embryo removed testa under light period 16 h/8 h. Under the shading condition, the germination rate of embryo removed testa was 100% in MS medium added of 0.16 mg/L and 0.50 mg/L of GA₃. The seedlings growth was faster than that of under light period 16 h/8 h, but the etiolation was obvious. The seedlings which were transplanted to soil were normal with rival rate 100%.

Keywords: *Prunus armeniaca*; embryo culture; GA₃