

用胚珠培育无核葡萄品种研究

李 剑 波

(四川省忠县农业局)

葡萄无核品种的培育,一般是以具有单性结果遗传基因的品种为父本进行杂交。采用这种方法,无核个体的发生率一般在10%以下。如果两个无核品种进行杂交,在受精卵未退化、坏死之前,进行胚珠培养,有可能获得较多的无核个体。日本山梨县果树试验场的平林利郎研究员对此进行了研究,取得了较为理想的结果。

一、试验研究方法

(一) 胚珠采取时期的试验: 1. 供试品种: 无核白, 无核安芸。2. 胚珠采取时期: 开花后约20~70天, 每隔10天采取胚珠进行培养。3. 培养基: N·N 培养基 (Nitsch & Nitsch 1969) 无机盐类:

NNO_3 950mg/l $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 166mg/l
 NH_4NO_3 720mg/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 185mg/l
 KH_2PO_4 68mg/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27.8mg/l
 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 37.3mg/l
 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10mg/l
 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 25mg/l
 $\text{Na}_2\text{M}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.25mg/l
 H_2B_3 10mg/l
 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.25mg/l 有机物组成:
 V_H 0.05mg/l V_{B1} 0.5mg/l
 甘氨酸 2mg/l 叶酸 5mg/l
 肌醇 100mg/l 蔗糖 20g/l
 尼古丁 5mg/l 琼脂 8mg/l
 V_B 0.5mg/l

激素: $\text{IAA } 10^{-5}\text{M}$, $\text{GA}_3 \cdot 10^{-6}\text{M}$

pH: 5.5。4. 培养条件: 温度, 25°C 光照: 前期黑暗, 确认胚开始增大后, 每天照明16小时。

(二) 不同激素的处理 1. 供试材料: 无核安芸, 开花后 61~68 天的胚珠。2. 培养基: 从 N·N 培养基为基本培养基, 添加不同激素。3. 处理:

不同激素处理表

处理号	基本培养基	添加激素
1	N·N	无
2	N·N	酪蛋白水解物 500mg/l
3	N·N	$\text{IAA } 10^{-5}\text{M} + \text{GA}_3 \cdot 10^{-6}\text{M}$
4	N·N	$\text{IAA } 10^{-5}\text{M}$
5	N·N	$\text{GA}_3 \cdot 10^{-6}\text{M}$
6	N·N	$\text{BA } 10^{-6}\text{M}$
7	N·N	$\text{ABA } 10^{-6}\text{M}$

4. 培养条件: 同前。

二、试验结果

(一) 胚珠的采取时期

从表1、图1可知, 愈伤组织形成率: 无核白开花后42天以前的胚珠, 愈伤组织形成率较低, 开花后50天左右的急剧增长, 52天的达到64.1%, 最高, 52天以后的徐徐下降, 72天的为33.1%, 仍高于42天以前的; 无核安芸随开花后时间的推移, 徐徐增加, 62天时为55.6%, 达到最高, 62天以后急剧下降, 到72天时, 降至11.9%。

从生存胚(胚增大或形成幼植物体的)来看: 无核白开花后50天以后的才能观察到, 并且生存胚率极低, 最高仅3.2%(开花后52天的); 无核安芸开花后40天以后的才能观察到, 开花后62天的生存胚率最高, 达14.0%。

(二) 各种激素的效果

表 1 胚珠采取时期对胚珠培养的影响

品种	开花后数	接胚数	愈伤组织形成率(%)	生存胚率(%)
无核白	32	101	10.9	0
	31	150	12.7	0
	42	138	18.1	0
	52	220	64.1	3.2
	62	127	51.2	2.4
无核安芸	72	130	33.1	3.1
	20	264	10.6	0
	31	173	21.4	0
	41	154	23.3	3.2
	51	237	41.4	4.6
	61	136	55.6	14.0
	72	218	11.9	4.6

1987年11月19日调查

表 2 激素对无核安芸胚珠培养的影响

处 理	接种胚数	愈伤组织形成率%	生存胚率%	
			10/20	11/19
未添加激素	137	46.0	8.0	16.1
酪蛋白水解物 500 mg/l	144	25.7	7.6	13.9
IAA 10^{-5} M + GA $_{3}10^{-6}$ M	136	49.3	5.1	14.0
IAA 10^{-5} M	146	46.6	10.2	15.1
GA $_{3}10^{-6}$ M	142	14.1	18.3	23.2
BA 10^{-6} M	147	49.7	2.0	8.8
ABA 10^{-6} M	64	18.8	7.8	17.2

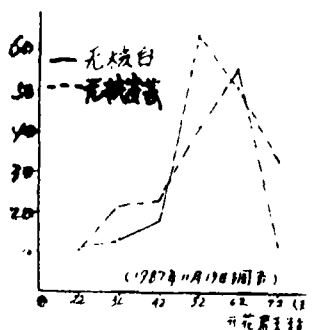


图 1 不同时期的胚珠培养愈伤组织形成率

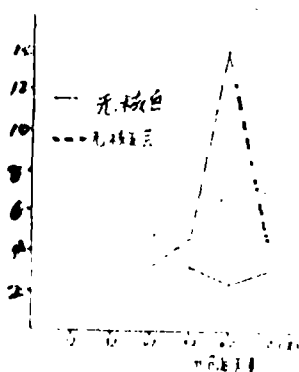
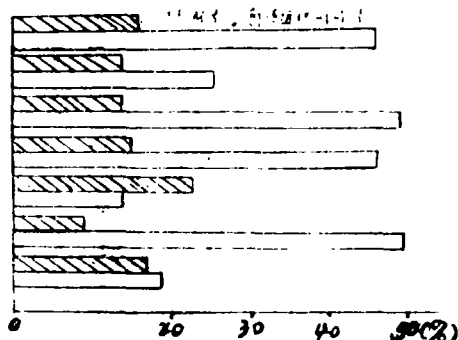


图 2 不同时期的胚珠培养生存胚率

基本培养基: 酪蛋白水解物500mg/e

IAA 10^{-5} M + GA $_{3}10^{-6}$ M IAA 10^{-5} M

GA $_{3}10^{-6}$ M BA 10^{-6} M ABA 10^{-6} M



生存胚率愈伤组织形成率

图 3 激素对于无核安芸胚珠培养的影响

从表2、图 3 可知, IAA 10^{-5} M + GA $_{3}10^{-6}$ M、IAA 10^{-5} M 及 BA 10^{-6} M 处理愈伤组织形成率较高, 但胚的发育及幼植物体的形成迟缓, 最终生存胚率低于未添加激素的对照处理; 酪蛋白水解物 500mg/l 处理, 愈伤组织形成率及生存胚率均低于对照; ABA 10^{-6} M 处理效果亦不显著, GA $_{3}10^{-6}$ M 处理, 胚发育及幼植物体的形成早, 最终生存胚率 23.3%, 居各处理之首, 而且愈伤组织形成率低。

GA $_{3}10^{-6}$ M 处理, 愈伤组织形成率低, 而幼植物体形成率高, 说明在培养基中添加 GA $_{3}10^{-6}$ M, 葡萄胚珠培养可不经愈伤组织形成阶段, 而直接发育成为幼植物体。

三、结论

试验表明: 1. 不同葡萄品种, 开花后不同时期采取的胚珠, 培养效果存在着一定的差异, 为了迅速得到幼植物体, 无核白在开花后约50天左右, 采取胚珠, 进行培养为宜。无核安芸在开花后60天左右, 采取胚珠进行培养效果较好。2. 为了使其少形成愈伤组织, 直接、快速得到幼植物体, 在 N·N 培养基中添加 GA $_{3}10^{-6}$ M 效果最佳。

谢辞:

本人在日本山梨县研修生物技术期间, 曾蒙山梨县综合农业试验场高山觉博士精心指导。本文中的有关数据系山梨县果树试验场平林利郎先生所提供, 在此一并鸣谢。