

枣 幼 胚 直 接 成 苗 技 术 初 探

张存智¹, 任 杰¹, 王玉安², 魏 鹏¹

(1. 宁夏职业技术学院 宁夏 银川 750002; 2. 甘肃农科院果树所 甘肃 兰州 730070)

摘 要: 以陇东马牙枣盛花后 60~65 d 的 幼胚为试材, 筛选适宜的 幼胚直接成苗的培养条件。结果表明: 在 2~4℃低温处理 30 d 有利于 盛花后 60~65 d 的枣胚直接萌发成苗, 较适宜的 培养基为 Nitsch+1.5 mg/L ZT+0.6 mg/L IAA+LH 0.5 g/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 4.0 g/L。

关键词: 枣; 幼胚; 直接成苗

中图分类号: S 665. 104⁺. 3 文献标识码: B 文章编号: 1001—0009(2008)11—0145—03

枣的胚败育问题是阻碍其杂交育种的关键性因素。胚培养是解决胚败育、缩短育种周期的有效途径^[1-3]。枣胚直接成苗技术, 在现有的报道中大多数为成熟胚(子叶胚期), 幼胚成苗大多数是通过再生途径获得的^[3-6], 直接成苗率很低且报道很少。研究以陇东马牙枣盛花后 60~65 d 的幼胚为试材, 进行幼胚萌发试验最终获得了再生植株, 为通过生物技术改良、选育枣品种 提供 科学

依据。
1 材料与方法
陇东马牙枣取自甘肃省农科院果树所枣品种园, 陇东马牙枣 2005 年盛花期为 6 月 18 日, 根据预备试验的结果, 采样时间为 2005 年 8 月中旬枣盛花后 60~65 d 的幼胚。大多数枣胚已发育至鱼雷胚期, 枣核已变硬需用利刀劈开。

根据前人研究和预备试验的结果 幼胚直接成苗培养基设计见表 1。每种培养基上接种 30~40 个外植体。培养基中均加入 LH 0.5 g/L, pH 5.8~6.2, 琼脂 4.0 g/L。将盛花后 60~65 d 枣果劈核取仁, 消毒处理后,

第一作者简介: 张存智(1972-), 女, 硕士, 讲师, 主要从事果树生物技术育种方面的研究工作。E-mail: zhangcunzhi72@126.com。
收稿日期: 2008—05—24

[2] 闫立英. 番茄人工杂交去雄制种技术[J]. 北京农业, 2000(10): 14.

[3] 闫立英. 影响番茄杂交种子产量的因素分析[J]. 蔬菜 1999(10): 18-19.

[4] 林志成. 两个番茄品种花粉萌发力的研究[J]. 中国蔬菜 1983(23): 32-34.

[5] 陈竹君. 番茄远缘杂种 F₁ 及其双亲花粉萌发力的研究[J]. 中国蔬菜 1988(1): 12-13.

[6] 张子学, 孙峰. 辣椒花粉生活力最佳测定方法的筛选[J]. 种子, 2002 (1): 32-33.

[7] 闫立英, 冯志红. 番茄花粉生活力研究[J]. 种子, 2005 24(6): 23-26.

[8] 王少先. 4 种检验方法在辣椒花粉生活力检验上的应用效果[J]. 河南农业科学 1998(2): 25-26.

[9] 王钦丽, 卢龙斗. 花粉保存的方法及其活力测定[J]. 植物学通报 2002, 19(3): 365-373.

[10] Sunderland N. Proc S. Plant tissue Culture[M]. Beijing: Sci. Press 1978: 65-68.

[11] Gudín S, Arene L, Pellegrini C. Influence of temperature and hygrometry on rose pollen germination[J]. Adv Hort Sci (5): 96-98.

Screening of the Optimal Liquid Culture Medium for Tomato Pollen Germination

WANG Fu¹, LI Wen-li¹, QIN Gong-wei², YUAN Zhen-xin¹

(1. College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China;

2. Biological Science and Engineering Department, Shanxi University of Technology, Hanzhong, Shanxi 723000, China)

Abstract: Orthogonal experimental design of L₁₆(4⁵) was adopted to screen the optimal liquid culture medium according to the pollen germination rate. The influence of cane sugar, boric acid, gibberellic acid to pollen germination was analyzed. The result showed that the optimal liquid culture medium was cane sugar 120 g/L, boric acid 120 mg/L, gibberellic acid 40 mg/L and torulin 0.5 mg/L. Gibberellic acid, torulin and boric acid had much more obvious influence than cane sugar on pollen germination.

Key words: Tomato; Pollen; Liquid culture medium

剥去种皮接种于培养基上。并进行 2~4℃低温处理,处理时间分别为 0、10、20、30、40 d。低温处理后从冰箱中拿出放入室温中培养,10 d 后观察出愈率、萌发率(幼胚变绿认为萌发),去除污染株。1 个月后统计成苗率。

表 1 培养基设计

组合	基本培养基	IAA/ mg · L ⁻¹	ZT/ mg · L ⁻¹	蔗糖/ g · L ⁻¹
1	MS	0.2	0.5	30
2	MS	0.6	1.0	50
3	MS	1.0	1.5	80
4	Nistch	0.2	1.5	80
5	Nistch	0.6	1.0	30
6	Nistch	1.0	0.5	50

2 结果与分析

2.1 低温处理对幼胚直接成苗的作用

试验对陇东马牙枣 60~65 d 幼胚进行低温处理,对其低温处理的最适天数进行筛选,结果发现,低温处理相应天数后,将幼胚从冰箱取出,幼胚在胚乳中逐渐膨大并变绿,有些培养基上诱导率出少量的愈伤组织(图 2),随着低温处理的天数增加,愈伤组织的诱导率降低至 0%,幼胚的萌发率随着低温处理的天数增加而增加,但只有低温处理 30 d 的组合中幼胚才能直接成苗(图 3),其他处理成苗率皆为 0%。落叶果树的种胚接种后经低温处理,对成苗有促进作用,且随着胚龄的增加,种胚内 ABA 含量增加,低温处理有打破休眠的作用^[7]。

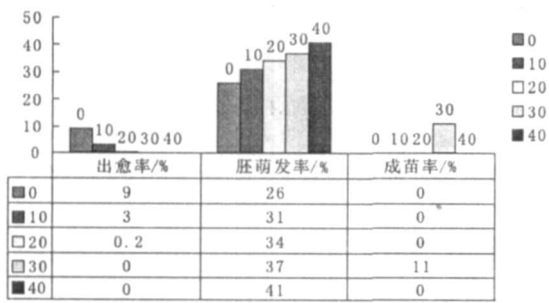


图 1 不同天数的低温处理对幼胚直接成苗的作用

2.2 基本培养基对幼胚在低温处理 30 d 的条件下直接成苗的影响

由表 2 可知,不同的基本培养基,胚萌发率、成苗率是不同的。盛花后 65 d 的幼胚 Nitsch 培养基胚萌发率、成苗率都比 MS 的高。枣树属于慢生树种。适当降低 MS 培养基中大量元素的含量,对枣树的器官分化有利^[8]。李师翁等对临泽小枣的研究也得出了同样的结论^[9]。试验结果表明,MS 培养基属于高盐培养基,Nitsch 培养基属于中等无机盐浓度的培养基^[10],且随着胚龄的增大,胚主动吸收能力增强。可见降低无机盐浓度有利于陇东马牙枣 60~65 d 幼胚直接成苗。

2.3 ZT、IAA 的不同浓度对幼胚在低温处理 30 d 的条

件下直接成苗的影响

表 2 基本培养基对幼胚成苗的影响

基本培养基	接种个数	成苗率/ %
MS	31	9.3Bb
Nitsch	32	12.4Aa

注:邓肯氏新复极差检验,大写字母表示 1%差异显著性水平,小写字母表示 5%差异显著性水平,下同。

由表 3 可知,在 IAA 的浓度为 0.2、0.6、1.0 mg/L 成苗率分别为 3.1%、12.4%、6.2%,三者差异在 1%的水平上极显著,其中浓度为 0.6 mg/L 得到的成苗率最高 12.4%。当 ZT 浓度为 1.5 mg/L 和 0.5 mg/L 时得到较高的成苗率 9.3%;差异不显著,但调查结果显示在含有 Nitsch+ZT 1.5 mg/L+IAA 0.6 mg/L 组合的培养基中,得到的成苗率最高为 9.3%,可见 ZT 1.5 mg/L+IAA 0.6 mg/L 为最佳激素配比。

2.4 蔗糖浓度对幼胚在低温处理 30 d 的条件下直接成苗的影响

表 3 不同激素浓度对 65 d 幼胚成苗的影响

激素	浓度/ mg · L ⁻¹	接种个数	成苗率/ %
ZT	0.5	20	9.3Aa
	1.0	22	3.1Bb
	1.5	21	9.3Aa
IAA	0.2	21	3.1Cc
	0.6	21	12.4Aa
	1.0	21	6.2Bb

表 4 蔗糖浓度对幼胚成苗的影响

蔗糖浓度/ g · L ⁻¹	接种个数	成苗率/ %
30	21	15.5Aa
50	22	6.2Bb
80	20	0.0Cc

由表 4 可知,30、50、80 g/L 蔗糖浓度的成苗率分别为 15.5%、6.2%、0%,三者差异在 1%的水平上极显著。蔗糖浓度为 30 g/L 时成苗率最高。且试验得出 Nitsch+ZT 1.5 mg/L+IAA 0.6 mg/L+LH 0.5 g/L+蔗糖 30 g/L 培养基上的成苗率 9.3%最高,可见降低的蔗糖浓度有利于盛花后 60~65 d 幼胚成苗,不同发育时期的胚要求不同浓度的蔗糖,这与刘延琳^[11]、杜学梅^[6]的结论一致。

3 讨论

当胚发育到一定阶段以后,温度条件是胚培养的关键因素之一。落叶果树的种胚,接种后经低温处理对成苗有促进作用。低温处理过程中,ABA 含量降低并消失促进种子萌发,蒋爱丽^[12]在无核白胚珠培养中发现,低温处理处胚的萌发率是对照的 2.7~3.3 倍,试管成苗率也有所提高。祁业凤^[13-14]在枣幼胚培养时发现,坐果后 50 d 的枣果,在 2~4℃低温处理 44 d 后,结果表明,成苗率有显著的提高,且胚龄越大,愈伤组织诱导率越低,胚

龄较小的胚易诱导出愈伤组织, 不易直接成苗。试验对陇东马牙花后 60 ~ 65 d 幼胚进行低温处理的最适时间进行筛选, 结果发现 0 ~ 4 ℃低温处理 30 d 较适合陇东马

牙盛花后 60 ~ 65 d 幼胚直接萌发成苗, 并且愈伤组织诱导率低。

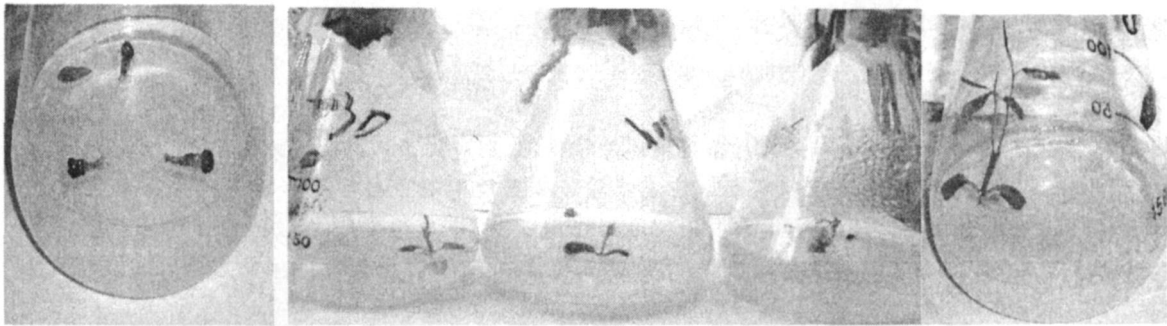


图2 幼胚萌发

图3 幼胚直接成苗

4 结论

在 2 ~ 4 ℃低温处理 30 d 有利于盛花后 60 ~ 65 d 的枣胚直接萌发成苗, 较适宜的培养基为 Nitsch + 1.5 mg/L ZT + 0.6 mg/L IAA + LH 0.5 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 4.0 g/L。

参考文献

[1] Ding H F, Qi G M. Ovules culture and plant formation of hybrid progeny of seedless grape[J]. J. of the Tropics and Subtropics 2001, 102(2): 147-152.
[2] Kouklartchik N V, Semenas S, Geibel M. Embryo culture in Prunus L. breeding[J]. Acta Horticulturae, 2000, 538: 663-665.
[3] 祁业凤, 刘孟军. 枣的胚发育及幼胚培养研究[J]. 园艺学报, 2004, 31(1): 71-78.
[4] 段乃彬. 枣树茎段与胚培养技术体系的研究[D]. 四川农业大学硕士学位论文, 2002.
[5] 李登科. 六月鲜枣愈伤组织诱导及胚状体发生[J]. 园艺学报, 2004,

21(5): 414-418.
[6] 杜学梅. 枣胚培技术体系的建立[J]. 园艺学报, 2005, 32(3): 496-499.
[7] 余旦华, 张磊, 赵改荣. 等. 早熟四倍体葡萄胚培养的研究[J]. 果树科学, 1992, 9(1): 1-7.
[8] 邢世岩. 枣树育苗技术[M]. 济南: 济南出版社, 1992.
[9] 李师翁, 范小峰, 咚子林. 三种枣栽培品种的离体培养再生植株及快繁技术研究[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2001, 37(1): 126-128.
[10] 曹改义. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996.
[11] 刘延琳. 葡萄早熟杂交胚珠的组织培养[J]. 中外葡萄与酿酒, 2000(1): 11-12.
[12] 蒋爱丽, 李世诚. 大败育型无核葡萄胚珠培养成苗技术研究[J]. 上海交通大学学报, 2002, 20(1): 45-48.
[13] 祁业凤. 枣胚败育机理及胚培养研究[D]. 河北农业大学硕士学位论文, 2002.
[14] 祁业凤, 刘孟军. 枣胚培养影响因素研究[J]. 果树学报, 2004, 21(4): 205-208.

Technical of Young Embryo Direct Form Plantlet *Zizyphus Jujube*

ZHANG Cun-zhi¹, REN Jie¹, WANG Yu-an², WEI Peng¹

(1. Ningxia Technology College, Yinchuan, Ningxia 750002, China; 2. Pomology Research Institute, Gansu Agricultural Science Academy, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: Young embryo of the cultivar of Chinese jujube, ‘Longdongmayazao’ of 65 days after florescence was employed to germinate. Young embryo were selected to establish the optimized system of direct form plant in this paper. The results showed that medium, Young embryo (60 ~ 65 d after florescence) was easier to form plantlet by low temperature treatment (2 ~ 4 ℃, 30 d). The better medium should been chosen Nitsch+ZT 1.5 mg/L+IAA 0.6 mg/L+LH 0.5 g/L+sucrose 30 g/L+agar 4.0 g/L.

Key words: *Zizyphus jujuba*; Yong embryo; Direct form plantlet