

种子败育型无核葡萄胚挽救研究

牛茹萱, 张剑侠, 王跃进, 赵 凯

(西北农林科技大学 园艺学院, 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 农业部西北园艺植物种质资源利用重点开放实验室, 陕西省农业分子生物学实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:为提高种子败育型无核葡萄胚挽救中胚的发育率和成苗率,以无核品种“红无籽露”、“波尔莱特”、“皇家秋天”为试材,研究了其在自然授粉条件下胚挽救的最佳取样时期,并对适宜胚培养的培养基进行了筛选。结果表明:“红无籽露”、“波尔莱特”、“皇家秋天”的最佳取样时期分别为花后 51~53.55 和 66 d;筛选获得的适宜培养基为 MM4+0.5 mg/L GA₃+1.5 mg/L IAA+500 mg/L 水解酪蛋白+60.0 g/L 蔗糖+1.5 g/L 活性炭+10.0 μmol/L ZnSO₄+1.0 mmol/L 甘氨酸+1.0 mmol/L 半胱氨酸+100.0 mmol/L 甘露醇。“红无籽露”、“波尔莱特”、“皇家秋天”的胚发育率和成苗率分别为:15.00%和 6.67%、24.00%和 10.00%、10.00%和 5.00%,平均达到 16.33%和 7.22%。

关键词:种子败育型;无核葡萄;胚挽救;取样时期;培养基;筛选

中图分类号:S 663.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)07-0001-05

无核葡萄因其无核、食用方便,深受消费者的欢迎。因此,选育优质无核葡萄品种已成为世界葡萄育种研究的重要课题。1982 年美国葡萄育种家 Ramming 改变了只能以有核葡萄品种作母本杂交的传统育种模式,采用无核品种作母本,创立了无核葡萄胚挽救(Embryo rescue)技术^[1],极大地提高了无核葡萄的育种效率。迄今,国内外许多学者已应用胚挽救技术,以不同的无核葡萄品种作母本进行无核葡萄育种研究,取得了一定成效,如美国选育出的无核葡萄品种(品系)“莫丽莎”^[2]、我国选育出的“沪培 1 号”^[3]、“沪培 2 号”^[4]和‘00-3-1’^[5]等。但是,在无核葡萄胚挽救技术中,离体胚发育率和成苗率较低仍是制约育种效率的一个瓶颈。许多研究表明,影响无核葡萄胚挽救发育率和成苗率的主要因素是母本的基因型^[6-8],因此确定母本的最佳取样时期及胚发育的最适培养基是提高胚发育率及成苗率的关键。课题组前期的研究表明,新型 MM4 培养基(专利申请号

200610043024.0)较适宜以中国野生葡萄资源作父本杂交的胚挽救,且更有利于胚的发育和成苗^[9-10]。该研究以种子败育型无核葡萄品种“红无籽露”、“波尔莱特”和“皇家秋天”为试材,选用 MM4 为基本培养基,通过增加不同的氨基酸和其它营养物质设计了 7 种培养基,并设置不同的胚珠取样时期进行培养,旨在确定 3 个无核品种的最佳取样时期和适宜的胚发育培养基,为进一步提高无核葡萄胚的发育率和成苗率提供理论依据,进而提高无核葡萄胚挽救的育种效率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以种子败育型无核葡萄品种“红无籽露”、“波尔莱特”和“皇家秋天”的自然授粉幼果为试材,进行胚挽救研究。试验于 2011 年 7~12 月在新疆维吾尔自治区葡萄瓜果开发研究中心和农业部西北园艺植物种质资源利用重点开放实验室进行。

1.2 试验方法

1.2.1 胚挽救的方法 以花穗中 50%小花开放日作为取材时期的第 0 天,在设定的取样时期随机摘取果粒带回实验室。将带有 1~2 cm 果柄的果粒用剪刀剪下,放入纱网,于流水下冲洗 30~45 min,将冲洗过的果粒置超净工作台上用 75%乙醇浸泡 30~60 s,然后用无菌水冲洗 3 次,再将浆果放入 0.1%升汞溶液中浸泡 8~10 min,用无菌水冲洗 3~5 次,最后用手术刀将果粒切开,从剖开的果粒中选取长度大于 2 mm 的胚珠,将其培

第一作者简介:牛茹萱(1987-),女,甘肃兰州人,在读硕士,研究方向为葡萄种质资源与生物技术育种。E-mail:niuruxuan2006@163.com。

责任作者:张剑侠(1964-),男,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事葡萄种质资源与生物技术育种研究工作。E-mail:zhangjx666@126.com。

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项基金资助项目(CARS-30-yz-7);公益性行业(农业)科研专项资助项目(200903044);陕西省科技攻关计划资助项目(2011K02-10)。

收稿日期:2012-01-29

养在胚珠发育培养基中,每个三角瓶(150 mL)内接种 20 个胚珠。暗培养 60 d 后在解剖镜下剖开胚珠,统计发育胚的胚珠数量,之后将发育胚接种到成苗培养基上,光培养 60 d 后在解剖镜下剖开胚珠,在胚珠内的喙端发现的白色胚即为发育胚,统计成苗胚的胚珠数量。取出发育胚接种到成苗培养基上,光照培养 60 d 后统计发育为正常苗的数量(离体条件下具有正常的根、茎、叶以及明显的节和节间的小苗)。培养室温度为 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$,光照强度 2 000 lx,光照时间 12~14 h/d。胚珠发育率(%)=发育胚数/培养胚珠数 $\times 100\%$;成苗率(%)=成苗数/培养胚珠数 $\times 100\%$ 。

1.2.2 接种时期对胚挽救的影响 参考前人对胚珠接种时期的研究^[11-12],该试验设定中熟品种“红无籽露”、“波尔莱特”的采样时期为盛花期后 47、49、51、53、55、57 d,晚熟品种“皇家秋天”的采样时期为花后 60、62、64、66、68、

70、72、74 d。早上 8:00~10:00 采样,将胚珠接种到胚珠发育培养基 MM4+0.5 mg/L GA_3 +1.5 mg/L IAA+60.0 g/L 蔗糖+1.5 g/L 活性炭(固液双相)中。暗培养 60 d 后,从胚珠中剥出裸胚,接种在成苗培养基 WPM+0.2 mg/L BA+60.0 g/L 蔗糖+1.5 g/L 活性炭上成苗,光照培养 60 d 后比较不同时期接种胚的发育率和成苗率。

1.2.3 培养基种类对胚挽救的影响 以盛花期后 51 d 的“波尔莱特”和“红无籽露”及 70 d 的“皇家秋天”为试材,分别接种于 7 种附加不同添加物,激素 GA_3 0.5 mg/L 和 IAA 1.5 mg/L、蔗糖 60.0 g/L、活性炭 1.5 g/L、pH 5.8 的胚珠发育固液双相培养基(表 1)中。暗培养 60 d 后,从胚珠中剥出裸胚接种在上述同一种成苗培养基上,光照培养 60 d 后比较不同培养基上胚的发育率和成苗率。

表 1 胚珠发育培养基

Table 1 The ovule development medium

| 培养基号 No. of medium | 基本培养基 Basic medium | 氨基酸 Amino acid | 微量元素 Microelement | 其它添加物 Other additives |
|-----------------------|-----------------------|--------------------------------|--|---------------------------------|
| ① | MM4 | | | |
| ② | MM4 | | 10.0 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 | 500 mg/L 水解酪蛋白 |
| ③ | MM4 | 1.0 mmol/L 半胱氨酸 | 10.0 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 | 500 mg/L 水解酪蛋白 |
| ④ | MM4 | 1.0 mmol/L 甘氨酸 | 10.0 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 | 500 mg/L 水解酪蛋白 |
| ⑤ | MM4 | 1.0 mmol/L 半胱氨酸 | 10.0 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 | 500 mg/L 水解酪蛋白+100.0 mmol/L 甘露醇 |
| ⑥ | MM4 | 1.0 mmol/L 甘氨酸 | 10.0 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 | 500 mg/L 水解酪蛋白+100.0 mmol/L 甘露醇 |
| ⑦ | MM4 | 1.0 mmol/L 甘氨酸+1.0 mmol/L 半胱氨酸 | 10.0 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 | 500 mg/L 水解酪蛋白+100.0 mmol/L 甘露醇 |

2 结果与分析

2.1 最佳取样时期的确定

由表 2 可知,3 种无核品种的最佳接种时期存在差异。“红无籽露”在盛花期后 47 d 时开始取样接种,胚珠的成苗率逐渐升高;花后 51 d 达到最高 3.33%;53 和 51 d 胚发育率和成苗率差异不明显,之后随着天数的增加虽然胚发育率逐渐提高,在 57 d 可达 17.65%,但成苗率逐渐下降,因此“红无籽露”的最佳取样时期为花后 51~53 d。“波尔莱特”在花后 49~55 d 中随着时间的推迟,发育率逐渐升高。盛花后 47 和 49 d 接种没有成苗胚珠;55 d 接种胚珠的发育率及成苗率均达到最高,之后开始下降,因此“波尔莱特”的最佳取样时期应在花后 55 d。“皇家秋天”花后 60 d 无发育胚;花后 62 d 发育率和成苗率开始提高,66 d 时成苗率达到最高为 6.67%,68 d 时的发育率和成苗率分别为 16.67%和 3.33%,即胚的发育率还在提高,但成苗率却下降,说明 68 d 时胚开始发生败育;自花后 70 d 起,发育率和成苗率均开始下降。因此,“皇家秋天”的最佳取样时期为盛花期后 66 d。

表 2 不同接种时期对胚挽救的影响

Table 2 The influence of different medium to the embryo rescue

| 品种 Cultivar | 盛花期 后天数 Days after full bloom /d | 培养胚珠数 No. of ovules cultured /个 | 胚珠 Ovule | | 成苗 Seedling survival | |
|-------------------------------|--|---|---|---|---|--|
| | | | 发育胚数量 No. of embryo germinated /个 | 胚珠发育率 Percentage of germination of ovule /% | 成苗胚数量 No. of seedling survival /个 | 胚珠成苗率 Percentage of seedling survival of ovule/% |
| “红无籽露” ‘Sultanina Rose’ | 47 | 70 | 2 | 2.86 | 0 | 0.00 |
| | 49 | 90 | 4 | 4.44 | 0 | 0.00 |
| | 51 | 60 | 5 | 8.33 | 2 | 3.33 |
| | 53 | 70 | 10 | 14.28 | 2 | 2.86 |
| | 55 | 80 | 12 | 15.00 | 1 | 1.82 |
| “波尔莱特” ‘Perlette’ | 57 | 85 | 15 | 17.65 | 1 | 1.18 |
| | 47 | 80 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 |
| | 49 | 78 | 6 | 7.69 | 0 | 0.00 |
| | 51 | 50 | 5 | 10.00 | 1 | 2.00 |
| | 53 | 60 | 12 | 20.00 | 4 | 6.67 |
| “皇家秋天” ‘Autumn Royal’ | 55 | 60 | 20 | 33.33 | 10 | 16.67 |
| | 57 | 50 | 14 | 28.00 | 4 | 8.00 |
| | 60 | 80 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 |
| | 62 | 80 | 3 | 3.75 | 1 | 1.25 |
| | 64 | 80 | 8 | 10.00 | 4 | 5.00 |
| | 66 | 60 | 8 | 13.33 | 4 | 6.67 |
| | 68 | 60 | 10 | 16.67 | 2 | 3.33 |
| | 70 | 60 | 5 | 8.33 | 1 | 1.67 |
| | 72 | 60 | 5 | 8.33 | 1 | 1.67 |
| | 74 | 60 | 3 | 5.00 | 0 | 0.00 |

2.2 适宜培养基的筛选

取无核品种“红无籽露”和“波尔莱特”花后 51 d 的胚珠,“皇家秋天”花后 70 d 的胚珠,接种到①~⑦号固液双相发育培养基中,比较不同类型培养基胚珠发育率和成苗率。②~⑦号培养基由①号培养基添加不同的营养物质改进而成。②号培养基在①号的基础上添加 500 mg/L 水解酪蛋白和 10.0 μmol/L ZnSO₄,②号培养基上“波尔莱特”的成苗率较①号有所提高,“红无籽露”和“皇家秋天”的发育率和成苗率差异不明显。③和④号培养基在②号培养基的基础上分别添加 1.0 mmol/L 半胱氨酸和 1.0 mmol/L 甘氨酸,“红无籽露”和“波尔莱

特”的胚发育率和成苗率较②号上有显著提高,④号培养基效果不如③号培养基。⑤和⑥号培养基在③和④号培养基的基础上添加 100.0 mmol/L 甘露醇,胚发育率和成苗率变化不明显。“皇家秋天”在①~⑥号培养基上的胚发育率和成苗率差异不大,但在⑦号培养基上胚发育率和成苗率明显提高,⑦号培养基在①号的基础上添加上述全部营养物质。表明⑦号培养基效果最佳,胚珠发育率与成苗率最高,“红无籽露”、“波尔莱特”和“皇家秋天”的胚发育率和成苗率分别为 15.00% 和 6.67%、24.00% 和 10.00%、10.00% 和 5.00%,平均达到 16.33% 和 7.22%(表 3)。

表 3 不同培养基对胚发育成苗的影响

Table 3 Effect of different medium on embryo development and seedling survival

| 品种 Cultivar | 培养基 Medium | 培养胚珠数 No. of ovules cultured/个 | 胚珠 Ovule | | 成苗 Seedling survival | |
|-------------------------|---------------|--------------------------------------|--|--|--|--|
| | | | 发育胚数量 No. of embryo germinated/个 | 胚珠发育率 Percentage of germination of ovule/% | 成苗胚数量 No. of seedling survival/个 | 胚珠成苗率 Percentage of seedling survival of ovule/% |
| “红无籽露” ‘Sultanina Rose’ | ① | 60 | 5 | 8.33 | 2 | 3.33 |
| “波尔莱特” ‘Perlette’ | ① | 50 | 5 | 10.00 | 1 | 2.00 |
| “皇家秋天” ‘Autumn Royal’ | ① | 60 | 5 | 8.33 | 1 | 1.67 |
| 平均 Average | ① | | | 8.88 | | 2.33 |
| “红无籽露” ‘Sultanina Rose’ | ② | 75 | 6 | 8.00 | 2 | 2.67 |
| “波尔莱特” ‘Perlette’ | ② | 50 | 5 | 10.00 | 2 | 4.00 |
| “皇家秋天” ‘Autumn Royal’ | ② | 60 | 4 | 6.67 | 1 | 1.67 |
| 平均 Average | ② | | | 8.22 | | 2.78 |
| “红无籽露” ‘Sultanina Rose’ | ③ | 50 | 10 | 20.00 | 3 | 6.00 |
| “波尔莱特” ‘Perlette’ | ③ | 60 | 9 | 15.00 | 4 | 6.67 |
| “皇家秋天” ‘Autumn Royal’ | ③ | 90 | 6 | 6.67 | 2 | 2.22 |
| 平均 Average | ③ | | | 13.89 | | 4.96 |
| “红无籽露” ‘Sultanina Rose’ | ④ | 60 | 6 | 10.00 | 2 | 3.33 |
| “波尔莱特” ‘Perlette’ | ④ | 80 | 12 | 15.00 | 4 | 5.00 |
| “皇家秋天” ‘Autumn Royal’ | ④ | 80 | 4 | 5.00 | 2 | 2.50 |
| 平均 Average | ④ | | | 10.00 | | 3.61 |
| “红无籽露” ‘Sultanina Rose’ | ⑤ | 80 | 10 | 12.50 | 5 | 6.25 |
| “波尔莱特” ‘Perlette’ | ⑤ | 60 | 10 | 16.67 | 5 | 8.33 |
| “皇家秋天” ‘Autumn Royal’ | ⑤ | 90 | 6 | 6.67 | 2 | 2.22 |
| 平均 Average | ⑤ | | | 11.95 | | 5.63 |
| “红无籽露” ‘Sultanina Rose’ | ⑥ | 85 | 10 | 11.76 | 4 | 4.71 |
| “波尔莱特” ‘Perlette’ | ⑥ | 60 | 11 | 18.33 | 3 | 5.00 |
| “皇家秋天” ‘Autumn Royal’ | ⑥ | 60 | 2 | 3.33 | 2 | 3.33 |
| 平均 Average | ⑥ | | | 11.14 | | 4.35 |
| “红无籽露” ‘Sultanina Rose’ | ⑦ | 60 | 9 | 15.00 | 4 | 6.67 |
| “波尔莱特” ‘Perlette’ | ⑦ | 50 | 12 | 24.00 | 5 | 10.00 |
| “皇家秋天” ‘Autumn Royal’ | ⑦ | 80 | 8 | 10.00 | 4 | 5.00 |
| 平均 Average | ⑦ | | | 16.33 | | 7.22 |

3 讨论与结论

在种子败育型无核葡萄胚挽救研究中,确定母本合适的接种时期是取得成功的前提条件^[13-14]。理论上,胚发育程度最高而尚未败育时的接种效果最佳^[14]。在实际应用中,可采用母本品种成熟期来确定取样时期^[12],或者以盛花后天数作为接种时期的具体指标,间接反映胚珠内胚的发育程度^[8,11,15-16]。通过确定无核葡萄胚败育的时期,为采取幼果和剥取胚珠进行胚挽救提供科学

依据。

有研究认为种子败育型无核葡萄合子胚的败育首先从胚乳的败育开始,因而不能为胚提供所需要的营养导致胚败育^[17-18]。由于胚乳中含有不同氨基酸成分,许多学者研究表明添加不同氨基酸对胚的发育率和成苗率影响不同(促进或抑制)^[5,9-10,19-20]。Emershad R L 等^[19]报道在胚培养基中添加半胱氨酸、天冬酰胺、丝氨酸和谷氨酰胺对胚发育和成苗表现为促进作用。潘学

军^[5]研究认为,添加甘氨酸、天冬酰胺、苯丙氨酸和脯氨酸有利于胚的发育和成苗。Tian L L 等^[20]报道在添加天冬氨酸、甘氨酸、精氨酸和谷氨酸的发育培养基上提高了胚的发育率。Bridgen M P^[21]指出,氨基酸复合物能促进胚的发育,其作用效果优于任何单一氨基酸。该研究与以上研究结果相似,添加半胱氨酸和甘氨酸均对胚的发育率和成苗率有促进作用,且添加半胱氨酸的效果优于甘氨酸,发育率和成苗率平均达到 11.95%和 5.63%;同时添加 2 种氨基酸时胚发育率和成苗率大于只单用任一种氨基酸,发育率和成苗率均为最高,平均达到 16.33%和 7.22%。“皇家秋天”必须在 2 种氨基酸均添加的情况下胚发育成苗率才有较高提高,达到 10.00%和 5.00%,说明 2 种氨基酸均为胚发育所需,且作用优于单用任一种氨基酸。综上,在胚挽救胚发育培养基中添加氨基酸有利于胚的发育和成苗,但各种氨基酸的确切比例尚未确定,还有待于进一步研究。

在胚发育培养基中添加其它物质也可提高胚的发育率和成苗率。水解酪蛋白是一类由氨基酸、蛋白质和多肽组成的混合物,目前在胚挽救育种中应用十分广泛^[22-23]。田莉莉^[9]研究认为,微量元素锌有利于胚的发育和成苗,并且能减少畸形苗形成。该试验表明,在添加水解酪蛋白和硫酸锌的培养基上,“波尔莱特”的发育率没有明显的差异,但成苗率比未添加的要高,说明水解酪蛋白和硫酸锌可能对胚发育没有明显作用,但对提高胚的萌发质量有帮助,因此有助于提高胚的成苗率。添加甘露醇对胚发育率和成苗率的提高效果不明显,并且“皇家秋天”的成苗率在添加甘露醇的培养基上有所下降,这与田莉莉^[9]的研究结果不一致,可能是由于供试品种和取样时期不同所致。因此,对于不同无核葡萄品种胚发育培养基的选择,应在深入了解无核葡萄胚败育机理的基础上,对培养基成分做进一步的改良与完善。

参考文献

- [1] Ramming D W, Emershad R L. In-ovule embryo culture of seeded and seedless *V. vinifera* L. [J]. Hortsci, 1982, 17(3): 487.
- [2] 王跃进, 张剑侠, 李桂荣, 等. 采用胚挽救技术获得抗病无核葡萄新材料的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2001, 36(专辑): 105-111.
- [3] 蒋爱丽, 李世诚, 金佩芳, 等. 胚培无核葡萄新品种-沪培 1 号的选育[J]. 果树学报, 2007, 24(3): 402-403.
- [4] 蒋爱丽, 李世诚, 杨天仪, 等. 无核葡萄新品种-沪培 2 号的选育[J].

果树学报, 2008, 25(4): 618-619.

- [5] 潘学军. 无核抗病葡萄胚挽救技术体系的优化及新品种培育[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
- [6] Gray D J, Mortensen J A, Benton C M. Ovule culture to obtain progeny from hybrid seedless bunch grapes [J]. Journal of the American Society for Horticultural Sciences, 1990, 115(6): 1019-1024.
- [7] Burger P, Goussard P G. *In vitro* culture of ovules and embryos from seedless grape (*Vitis vinifera* L.) [J]. South African Journal for Enology and Viticulture, 1996(17): 3137.
- [8] Garcia E, Martinez A, Garcia de la Calera, et al. *In vitro* culture of ovules and embryos of grape for the obtain of new seedless table grape cultivars [J]. Acta Horticulturae, 2000, 528: 663-666.
- [9] 田莉莉. 抗病无核葡萄胚挽救育种及种质创新[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- [10] 王爱玲, 王跃进, 唐冬梅, 等. 提高无核葡萄胚挽救中幼胚成苗率的研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(20): 4238-4245.
- [11] 唐冬梅, 王跃进, 赵荣华, 等. 无核葡萄胚挽救中影响胚发育的因子[J]. 中国农业科学, 2009(7): 2449-2457.
- [12] 徐海英, 王爱玲, 张国军. 葡萄二倍体与四倍体品种间杂交胚挽救取样时期的确定[J]. 中国农业科学, 2005, 38(3): 629-633.
- [13] 郭修武, 郭印山, 张海娥, 等. 接种时期和培养基对无核葡萄胚挽救的影响[J]. 园艺学报, 2007, 34(2): 329-332.
- [14] Amaral A L, Oliveira P R, Czerainski A B, et al. Embryo growth stages on plant obtention from crosses between seedless grape parents [J]. Rev. Bras. Frutic, 2001, 23: 647-651.
- [15] Liu S M, Sykes S R, Clingleffer P R. Improved in ovulo embryo culture for stenopercarpic grapes (*Vitis vinifera* L.) [J]. Aus J Agr Res, 2003 (54): 869-876.
- [16] Ponce M T, Guinazu M E, Tizio R. Improved *in vitro* embryo development of stenopercarpic grape by putrescine [J]. Biocell, 2002, 26(2): 263-266.
- [17] 张利, 孟新法, 张璐生, 等. 无核葡萄胚珠发育及早期离体培养的研究 II. 无核葡萄胚发育的特点[J]. 北京农业大学学报, 1991, 17(4): 55-59.
- [18] 刘小宁, 王跃进, 张剑侠, 等. Flame Seedless 葡萄胚珠、胚乳及胚发育与败育的研究[J]. 西北植物学报, 2005, 25(10): 1947-1953.
- [19] Emershad R L, Ramming D W. In-ovule embryo culture of *Vitis vinifera* L. cv. 'Thompson Seedless' [J]. Amer J Bot, 1984, 71: 873-876.
- [20] Tian L L, Wang Y J. Seedless grape breeding for disease resistance by using embryo rescue [J]. Vitis, 2008, 47(1): 15-19.
- [21] Bridgen M P. A review of plant embryo culture [J]. HortScience, 1994, 29(11): 1243-1245.
- [22] 王壮伟, 赵密珍, 吴伟民, 等. 无核葡萄胚珠培养技术研究[J]. 江西农业学报, 2007(19): 27-29.
- [23] Liu S M, Sykes S R, Clingleffer P R. Improved in ovulo embryo culture for stenopercarpic grapes (*Vitis vinifera* L.) [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2008, 59: 175-182.

Research on the Embryo Rescue of Stenopercarpic Seedless Grape

NIU Ru-xuan, ZHANG Jian-xia, WANG Yue-jin, ZHAO Kai

(College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, State Key Laboratory of Crop Stress Biology in Arid Area, Key Laboratory of Horticultural Plant Biology and Germplasm Innovation in Northwest China, Shaanxi Province Agriculture Molecular Biology Laboratory, Ministry of Agriculture of China, Yangling, Shaanxi 712100)

油菜素内酯对低温弱光胁迫下西瓜幼苗耐冷性的影响

范小玉, 张 显

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以‘辽引一号’西瓜品种为试材, 于三叶一心期用 0(CK)、0.01、0.05、0.10、0.50、1.00 mg/L 的油菜素内酯(BR)喷雾处理, 在温度(10±1)℃, 光照 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 条件下胁迫, 分析西瓜幼苗耐冷性的生理生化特性变化, 以期筛选出提高西瓜幼苗耐冷性的最佳 BR 浓度。结果表明:通过油菜素内酯(BR)处理, 可以显著降低西瓜幼苗冷害指数, 提高 SOD、POD 和 CAT 活性, 降低丙二醛、超氧阴离子自由基含量, 其中 0.10 mg/L 的 BR 喷施效果最佳。

关键词:油菜素内酯(BR); 西瓜; 幼苗; 耐冷性; 低温弱光

中图分类号:S 651 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)07-0005-04

西瓜(*Citrullus lanatus* Thunb.)起源于非洲, 属于典型的喜温性水果。随着日光温室及早春大棚西瓜栽培的面积越来越大, 西瓜在反季节栽培中往往会遇到较长时间的低温弱光等灾害性天气, 严重影响了幼苗的生长发育, 进而影响到产量和品质。因此, 研究西瓜幼苗在低温弱光下的生理生化特性变化, 对于培育壮苗, 提高西瓜的产量和品质具有重要指导意义。

油菜素内酯(Brassinolide, BR)是一种新型植物激素, 在植物体内含量很低, 但生理活性却极高, 植物经低浓度处理后便能表现出明显的生理效应^[1-2]。近年来,

许多研究证明, BR 具有改善植物生理代谢, 提高品质和产量的作用, 并能调节植物生长发育的许多过程, 在提高作物性耐冷性方面表现出良好的效果^[3-5]。BR 在西瓜上的应用前人虽有报道^[6-8], 但对西瓜幼苗耐冷性的影响却未见报道。现对西瓜幼苗在低温弱光胁迫下引起的生理生化特性变化分析, 探讨 BR 诱导提高西瓜幼苗耐冷性机制, 为 BR 在西瓜生产中的有效应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西瓜品种为‘辽引 1 号’。

1.2 试验方法

试验于 2010 年 6 月在西北农林科技大学园艺学院日光温室和栽培生理实验室进行。首先在日光温室进行常规育苗, 生长平均昼夜温度为 28/18℃, 光强 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。待西瓜长至三叶一心时进行不同浓度的 BR 喷雾, 共设 6 个处理, 分别为: T1: 1.00 mg/L, T2: 0.50 mg/L, T3: 0.10 mg/L, T4: 0.05 mg/L, T5: 0.01 mg/L, CK: 0(对照, 清水喷雾), 每处理 15 株, 3 次重复。常温培养 1 d 后, 置于 RZX 型人工气候箱(宁波江南仪

第一作者简介:范小玉(1984-), 女, 河南商丘人, 在读硕士, 现主要从事西瓜育种方面的研究工作。E-mail: fxy084627@126.com。

责任作者:张显(1961-), 男, 陕西扶风人, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事蔬菜种质资源和育种方面的研究工作。E-mail: zhangxian098@126.com。

基金项目:国家西甜瓜产业技术体系水分管理和旱作栽培岗位专家资助项目(CARS-26-18); 陕西省科技厅 13115 科技创新工程资助项目(2010ZDKG-02)。

收稿日期:2012-02-01

Abstract: To improve the embryo development and germination in embryo rescue, taking stenospemocarpic seedless grapes of ‘Sultanina Rose’, ‘Perlette’, ‘Autumn Royal’ as test materials, the best timing for embryo rescue of the three species under natural pollination conditions were investigated, and the suitable media were selected for the cultivation of embryo culture. The results showed that the best sampling time for ‘Sultanina Rose’, ‘Perlette’, ‘Autumn Royal’ were 51~53 d, 55 d and 66 d after full bloom respectively. The optimum media that selected was MM4+0.5 mg/L GA_3 +1.5 mg/L IAA+500 mg/L hydrolyzed casein+60.0 g/L sucrose+1.5 g/L activated carbon+10.0 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 +1.0 mmol/L glycine+1.0 mmol/L cysteine+100.0 mmol/L mannitol. The development rate and germination rate of ‘Sultanina Rose’, ‘Perlette’ and ‘Autumn Royal’s’ ovules was 15.00% and 6.67%, 24.00% and 10.00%, 10.00% and 5.00% respectively, and an average of 16.33% and 7.22%.

Key words: stenospemocarpic; seedless grapes; embryo rescue; sampling time; medium; screening