

番茄花粉萌发液体培养基的筛选和组分优化

王 富¹, 李文丽¹, 秦公伟², 袁振新¹

(1. 青岛农业大学 园艺学院 山东 青岛 266109; 2 陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000)

摘 要:以番茄自交系的新鲜混合花粉为材料,采用 L₁₆(4⁵)正交试验设计,对番茄花粉的萌发液体培养基进行了筛选和优化。结果表明:浓度配比 120 g/L 蔗糖,120 mg/L 硼酸,4 mg/L 赤霉素和 0.5 mg/L 硫胺素的液体培养基为最佳培养基;硼酸、赤霉素和硫胺素对花粉萌发有显著影响,而蔗糖对花粉萌发没有明显作用。

关键词:番茄;花粉;液体培养基
中图分类号:S 641.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2008)11—0143—03

番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill)是一种重要的蔬菜和水果,由于它具有适应范围广,产量高,营养丰富,用途广泛,栽培方式多样,以及栽培季节较长等多方面的优点,因而其种植面积逐年扩大。目前,杂种一代利用是培育番茄新品种的主要途径,在杂交制种过程中,父本的花粉活力直接影响着授粉受精能否顺利完成,并与坐果率直接相关,因此杂交时需生活力很强的花粉来授粉,获得较多的种子。在杂交制种工作中,为解决亲本花期不一致和远距离运送花粉的问题,也需

要对保存的花粉进行生活力的测定。因此,研究花粉生活力的测定方法具有重要的意义。

有关番茄花粉萌发和测定生活力的一些报道,主要是从影响番茄花粉萌发的因素如培养基成分、温度、培养时间等方面做的研究,其中也包含了采用液体培养基来研究离体花粉生活力的方法,但多为研究单因素对花粉生活力的影响。试验研究蔗糖、硼酸、赤霉素和硫胺素等因素对花粉萌发的影响,并筛选出最佳的液体培养基。

表 1 L₁₆(4⁵)正交试验表

培养基	蔗糖浓度/ g ° L ⁻¹	硼酸浓度/ mg ° L ⁻¹	赤霉素浓度/ mg ° L ⁻¹	硫胺素浓度/ mg ° L ⁻¹
1	80.0	80.0	4.0	0.4
2	80.0	100.0	5.0	0.5
3	80.0	120.0	6.0	0.6
4	80.0	140.0	7.0	0.7
5	100.0	80.0	5.0	0.6
6	100.0	100.0	4.0	0.7
7	100.0	120.0	7.0	0.4
8	100.0	140.0	6.0	0.5
9	120.0	80.0	6.0	0.7
10	120.0	100.0	7.0	0.6
11	120.0	120.0	4.0	0.5
12	120.0	140.0	5.0	0.4
13	140.0	80.0	7.0	0.5
14	140.0	100.0	6.0	0.4
15	140.0	120.0	5.0	0.7
16	140.0	140.0	4.0	0.6

第一作者简介:王富(1966-),男,教授,现从事番茄遗传育种研究工作,曾选育多个番茄品种,承担国家和省市科研课题多项。
E-mail: wangfuabcd@163.com。
通讯作者:秦公伟。
基金项目:山东省良种产业化资助项目;青岛市科技攻关资助项目(05-2-NS-20)。
收稿日期:2008—07—21

1 材料与方法

1.1 材料

供试番茄材料为 10 个亲本自交系。于 2007 年 2 月底在日光温室中育苗,4 月初幼苗二叶一心时在日光温室中分苗,5 月 1 日顶花带蕾定植于试验田。

1.2 试验方法

1.2.1 制备花粉 上午 8~9 时,采集 10 个自交系(每

个品种采 5 朵)的新鲜开放花朵(花瓣开展角度为 180°),放入纸袋,第 2 天用镊子取花粉,放入青霉素小瓶中。

1.2.2 试验设计 采用 $L_{16}(4^5)$ 正交实验设计,4 个因素为 A(蔗糖)、B(硼酸)、C(赤霉素)、D(硫胺素),第 5 列为空列考虑 4 个因素的互作。设置各因素浓度梯度,各为 4 个水平。蔗糖浓度为 80.0、100.0、120.0、140.0 g/L,硼酸浓度为 80.0、100.0、120.0、140.0 mg/L,赤霉素浓度为 4.0、5.0、6.0、7.0 mg/L,硫胺素浓度为 0.4、0.5、0.6、0.7 mg/L。

1.2.3 花粉萌发测定 将配制好的培养基,用移液枪取 50 μ L 于凹面玻片的中央,播种花粉,在显微镜下观察播种密度是否合适,然后玻片放入培养皿中,重复 3 次。将玻片置于 28℃恒温培养箱中培养。5 h 后在低倍镜下(10×10)观察各培养基的花粉萌发情况,每次重复随机取 3 个视野,使 3 个视野统计的花粉总和为 100,同时统计 3 个视野的花粉萌发的个数。按花粉管的长度大于花粉的直径即为萌发计。

1.3 数据统计分析方法

对试验数据进行方差齐性检验,经检验数据符合方差齐性,再用 DPS 软件进行方差分析,采用新复极差法

进行多重差异比较。

2 结果与分析

2.1 培养基各组分对花粉萌发影响的方差分析

由表 2 可知,蔗糖浓度对花粉萌发的影响没有达到显著水平,赤霉素浓度对花粉萌发影响显著($F>F_{0.05}$),硼酸和硫胺素对花粉萌发极显著($F>F_{0.01}$),因此需对赤霉素浓度、硼酸浓度和硫胺素浓度 3 因素进行多重比较;而蔗糖浓度和各因素互作对花粉的萌发影响不显著($F>F_{0.05}$)。

表 2 正交试验各组分对花粉萌发影响的方差分析						
变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
区组	63.17	2	31.587			
蔗糖	39.17	3	13.06	0.87	3.29	5.31
硼酸	225.17	3	75.06	5.02 **	2.89	4.44
赤霉素	158.17	3	52.72	3.52 *	2.89	4.44
硫胺素	267.17	3	89.06	5.95 **	2.89	4.44
空列	96.33	3	32.11			
模型误差	96.33	3	32.11	2.42	2.92	4.51
重复误差	397.50	30	13.25			
合并误差	493.83	33	14.96			
合计	1 246.67					

表 3 培养基组分对番茄花粉萌发效果的显著性											
硼酸浓度/mg·L ⁻¹			赤霉素浓度/mg·L ⁻¹			硫胺素浓度/g·L ⁻¹					
均值	0.05	0.01	均值	0.05	0.01	均值	0.05	0.01	均值	0.05	0.01
120	27.7	a	A	4	27.1	a	A	0.5	29.0	a	A
80	26.9	a	AB	7	26.2	a	A	0.4	25.2	b	AB
100	23.5	b	AB	5	25.2	ab	A	0.	23.6	b	B
140	22.6	b	B	6	22.3	b	A	0.6	22.9	b	B

2.2 多重比较分析

由多重比较分析可知赤霉素浓度对花粉的萌发影响达到显著水平,没有达到极显著水平,硼酸和硫胺素浓度对花粉萌发影响达到极显著水平,说明培养基中的硼酸和硫胺素浓度对番茄花粉的萌发具有显著影响。

表 4 花粉萌发各培养基间的显著性			
培养基	均值	0.05	0.01
11	34.3	a	A
13	31.7	ab	AB
7	28.7	abc	ABC
5	28.0	abcd	ABC
1	28.0	abcd	ABC
2	26.7	bcd	ABC
15	25.3	bcd	ABC
4	24.7	bcd	ABC
6	24.3	bcd	BC
8	23.3	cde	BC
14	23.3	cde	BC
3	22.3	cde	BC
16	21.7	cde	BC
12	20.7	de	C
9	20.0	e	C
10	19.7	e	C

2.3 最佳培养基的筛选

由表 4 分析可知,11 号培养基为最佳培养基,但与

13 号、7 号、5 号和 1 号培养基之间并无显著性差异。在 5 h 的恒温培养下,蔗糖 120 g/L,硼酸 120 mg/L,赤霉素 4 mg/L 和硫胺素 0.5 mg/L 配制的 11 号培养基表现最优,可以作为番茄花粉萌发的最佳液体培养基。

3 结论与讨论

硼酸浓度、赤霉素浓度和硫胺素浓度 3 个因素对花粉萌发的影响较大,硼酸浓度和硫胺素浓度对花粉的萌发影响极显著,赤霉素对花粉的萌发影响显著。蔗糖和各因素互作无显著性效果。蔗糖 120 g/L,硼酸 120 mg/L,赤霉素 4 mg/L 和硫胺素 0.5 mg/L 的液体培养基为番茄萌发的最佳培养基。由于正交试验所限各组分没有设置更多的水平,出现了最高和最低水平表现较好现象,应该进一步试验。

培养的时间长短和花粉萌发有很大关系,可能不同培养时间的最佳液体培养基有所不同。试验采用离体萌发法测定花粉萌发能力,简单易行,准确度高。试验中镜检花粉的萌发情况时,发现位于玻片凹液面边缘的花粉萌发良好,可能与氧气浓度有一定的关系。

参考文献

[1] 王海廷 王鸣,李长年.番茄育种[M].上海:上海科学技术出版社 1988:14-27.

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, Pellegrino 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