

早熟葡萄种子培养和胚培养

张远记

贺普超

(干旱旱地研究中心)

(园艺系)

摘 要

结果表明,果实成熟前一周取样的种子培养后胚长 $1560\text{ }\mu\text{m}$,成熟期及成熟后一周取样的仅为 $953\text{ }\mu\text{m}$ 及 $830\text{ }\mu\text{m}$ 。培养基中蔗糖浓度在2—20%范围内浓度越低,效果越好。胚培养时培养基中加入 GA_3 、 IAA 及 $\text{IAA} + \text{KT}$ 均能促进胚的萌发,但对幼苗的生长有不同影响,在添加 GA_3 的培养基上幼苗生长正常。种子培养过程中胚不能自然萌发,种子培养后再结合胚培养可使胚萌发率达73.2%,不经种子培养而直接进行胚培养的,胚萌发率仅为5.6%。

关键词: 葡萄; 种子培养; 胚培养

早熟葡萄的胚发育时间短,果实成熟时尚幼小,种子萌发率很低甚至不萌发,因此影响了早熟葡萄的育种效率。

仁果类、核果类等其他果树也存在早熟品种胚发育不良的问题,目前普遍采用的解决方法是人工培养胚,使其进一步发育^[1]。但是对幼小的胚胎进行人工培养,技术上往往比较困难,且难以成功。直接用种子或胚珠进行培养,则操作简便,也容易培养成功^[2],并且由于种皮能抑制胚的萌发,所以在培养过程中幼小的胚能继续发育而避免了胚培养中的早熟萌发^[3]。赵道培^[4]报道了萝卜与大白菜进行属间杂交后用胚珠培养方法将球形期及心形期的合子胚培养出苗,而用胚培养未见有胚的萌发。李属早熟品种用胚珠培养可将小至1~3 mm的胚培养长大并长成植株,用胚培养则没有成功^[5]。Cain et al.^[6]将葡萄品种绯红的胚珠进行培养,结果有32%萌发。

由于葡萄种皮所含抑制物质及机械障碍,即使有成熟胚也难以萌发^[6],但若将成熟胚取出在培养基上萌发,则会提高萌发率且可省去低温处理过程^[2]。在本试验中,我们采用种子培养以促进胚发育,再结合胚培养以提高萌发率的方法,获得了较好的结果。

1 材料与方 法

试验于1984~1985年在西北农业大学进行,试材为欧洲葡萄(*Vitis vinifera* L.)极早熟品种莎巴珍珠。

用0.1%升汞水溶液将果实表面消毒10分钟,无菌水冲洗3~5次,于无菌条件下解剖出种子,在培养基上培养。所用基本培养基为 $\text{MS} + 5\%$ 蔗糖 $+ 0.6\%$ 琼脂 $+ \text{LH}$ 100 ppm。种子培养结束后解剖出胚,在显微镜下测量胚长,作为处理优劣的指标。

从基本培养基上培养二个月的种子中取出胚进行培养。胚培养所用基本培养基为 $\text{MS} +$

本文于1987年1月5日收到。

2%蔗糖+0.6%琼脂+LH 100 ppm。胚萌发标准是子叶张开并转绿^[7]。

培养基pH均调至5.8, 培养温度为 25 ± 1 ℃。种子培养在室内自然散射光下进行; 胚培养用日光灯作光源, 光强2000~3000勒克斯, 每日光照15小时。

2 结果与讨论

2.1 影响种子培养的因素

2.1.1 取样时期

于莎巴珍果实成熟前一周、成熟期及成熟后一周各取样(种子)一次, 培养二个月后测量胚长。结果表明, 成熟前一周取样的效果最好, 培养后的胚长极显著地大于成熟期和成熟后一周取样的结果, 而成熟期及成熟后一周取样经培养, 其胚长间无显著差异(见表1)。

表1 取样时期对种子培养的影响

取样时期	胚数	平均胚长 (μm)	多重比较* ($\alpha=0.01$)
成熟前一周	30	1560	A
成熟期	28	953	B
成熟后一周	31	830	B

*采用LSR法。

在种子培养过程中, 随着胚长的增加, 胚的形态发育也渐趋成熟。取样时期对胚的形态发育也有明显影响(表2), 如成熟前一周取样, 培养后胚的形态分布集中, 以子叶胚为主, 占70%, 而另两次培养的其胚形态发育不整齐, 心形胚、鱼雷形胚和子叶形胚比例相近。

表2 种子培养的不同处理对胚发育的影响

处 理		胚 的 形 态 分 布 (%)			
		球 形 胚	心 形 胚	鱼 雷 形 胚	子 叶 胚
对	照 ¹⁾	7.1	32.1	28.6	32.2
取 样 时 期	成熟前一周	3.3	6.7	20.0	70.0
	成熟后一周	9.7	19.4	35.5	35.5
培 养 天 数		9.7	29.0	29.0	32.3
(天)		9.7	29.0	32.3	29.0
蔗 糖 浓 度	2	4.8	19.0	23.8	52.4
	10	6.9	31.0	34.5	27.6
	20	10.3	44.8	27.6	17.3
(%)					
附 加 激 素	2,4-D	11.1	18.5	18.5	51.9
	NAA	10.3	17.2	37.9	34.6
	BA	3.6	21.4	28.6	46.4

注: 1) 对照为成熟期取样, 在附加5%蔗糖的基本培养基上培养60天。

有的试验表明, 种子培养、胚珠培养及胚培养从植株上取样的时期很重要^[1,5,8,9]。早熟桃的胚培养以硬熟期取样为佳^[8]。在无核葡萄的胚珠培养中, 取样时期若不合适则胚不能

进一步生长^[1,5,9]。本试验结果也表明,取样时期是影响种子培养的重要因素。

2.1.2 种子培养持续天数

莎巴珍珠果实成熟时胚长为592 μm ,此时取样的种子培养30,60和90天后,胚长分别达844,953及929 μm ,均极显著地大于培养前的胚长,但它们之间则没有显著差异。这说明培养30天已足够,若再延长培养时间,则胚长增加不明显。

2.1.3 培养基中蔗糖浓度的影响

于莎巴珍珠果实成熟时取样的种子分别培养在基本培养基附加2,5,10和20%蔗糖的培养基上,二个月后测量胚长,结果见表3。

在这四种蔗糖浓度的培养基上,胚的生长随着蔗糖浓度的增加而受到抑制。在2%蔗糖培养基上培养后胚长最大,而在20%蔗糖培养基上胚的生长完全受到了抑制。胚的形态发育亦随着蔗糖浓度的降低而得到促进,如在2%蔗糖浓度培养基上胚的形态以子叶胚为主,而在20%蔗糖浓度培养基上则以心形胚为主(表2)。

表3 蔗糖浓度对种子培养的影响

蔗糖浓度 (%)	胚数	平均胚长 (μm)	多重比较 ¹⁾
2	21	1278	a
5	28	953	ab
10	29	755	b
20	29	582	c
对照(培养前)	31	592	c

注:1) LSR法, $\alpha=0.05$ 。

Ramming^[3]在培养李属胚珠时发现,在10%和6%的蔗糖浓度培养基上胚能萌发且比在4%蔗糖培养基上生长得好,而在2%蔗糖培养基上胚既不生长亦无萌发。一般认为胚越幼小则要求培养基中的渗透压越高^[4]。本试验中,莎巴珍珠的胚在果实成熟时长度为592 μm ,形态发育亦很不充分,但在种子培养中胚在低浓度蔗糖培养基上生长较快,高浓度蔗糖反而抑制胚的生长,说明葡萄种子培养要求较低的蔗糖浓度,这与其他人的试验结果是不一致的。

2.1.4 培养基中附加激素和水解乳蛋白(LH)的影响

种子培养在基本培养基分别附加2,4-D, NAA及BA各1 ppm的培养基上,二个月后胚长分别为975, 1181及1105 μm ,稍大于对照(953 μm),但经检验,其差异未达到显著水平。另外,这几种激素对胚的形态发育有一定的促进作用(表2)。

基本培养基不加LH,结果胚长为854 μm ,与附加LH的(953 μm)无显著差异。

胚培养往往需要在培养基中附加激素及其他成分^[2],但本试验的几种附加成分对种子培养影响不大。我们在另一试验中发现,2,4-D及NAA田间处理莎巴珍珠果实,胚的生长明显加速,但对离体种子培养则没有这种作用^[10],其原因需进一步研究。

2.2 胚培养

于莎巴珍珠果实成熟时直接取出胚进行培养,萌发率为5.6%。若经种子培养后再解剖出胚进行胚培养,胚萌发率显著提高,结果见表4。

表4 激素及接种群体对胚培养的影响

附加激素	每容器接种多个胚			每容器接种一个胚		
	胚数	萌发率(%)	平均根条数	胚数	萌发率(%)	平均根条数
对 照	25	53.1	1.58	15	33.4	0.83
GA 1ppm	17	63.9	1.85	14	71.7	2.33
IAA 1ppm	23	61.8	2.24	16	57.5	2.00
IAA 1ppm+KT 1ppm	22	41.8	0.18	22	73.2	产生愈伤组织

2.2.1 培养基中添加激素的作用

当培养基中添加某些激素时对胚的萌发有促进作用,如在培养基中添加GA或IAA+KT,胚的萌发率分别达71.7及73.2%,而对照仅为33.4%。GA不仅能诱导生根,还能促进幼苗根和茎的生长,幼苗生长正常;IAA虽能促进根的生长,但对茎的伸长有抑制作用;IAA 1ppm+KT 1ppm能诱导幼苗从根部产生愈伤组织,茎的伸长也受到抑制,幼苗生长不正常。

2.2.2 群体效应

在培养容器中接种多个胚与接种一个胚的萌发率相比,在无激素培养基上萌发率提高;在添加GA或IAA+KT的培养基上,萌发率有所下降;在添加IAA的培养基上萌发率变化不大(表4)。在无激素培养基上接种多个胚时,幼苗平均根条数为1.58,接种一个胚时平均根条数为0.83。在添加IAA+KT的培养基上,当接种多个胚时平均根条数为0.18,无愈伤组织产生,而接种一个胚时基部均诱导出愈伤组织。

参 考 文 献

- 1 Spiegel-Koy P, Sahar N, Baron J, et al. *J Amer Soc Hort Sci* 1985; 110 (1): 109—112
- 2 李曙轩, 曹寿椿. 蔬菜组织培养. 上海科学技术出版社, 1983
- 3 Ramming D W. *Hortscience* 1985; 20 (3): 419—420
- 4 赵道培. 实验生物学报 1983; 16 (1): 21—29
- 5 Cain D W, Emershad R L, Tarailo R E. *Vitis* 1983; 22: 9—14
- 6 欧阳寿如. 葡萄品种及其研究. 山西人民出版社, 1980
- 7 Brue M P, Harvey O O. *Plant Physiol* 1980; 34: 131—142
- 8 梅增祥, 胡克云, 塔广明. 西北农学院学报 1983 (1): 15—25
- 9 Emershad R L, Ramming D W. *Amer J Bot* 1984; 71 (6): 873—877
- 10 贺普超, 张远记. 园艺学报 1988; 15 (2): 83—87

STUDIES ON SEED CULTURE AND EMBRYO CULTURE OF EARLY RIPENING GRAPES (*Vitis vinifera* L.)

Zhang Yuanji

He Puchao

(Arid and Semiarid Research Center)

(Department of Horticulture)

Abstract

The results indicated that sampling time and sucrose concentration in the medium were the two main factors affecting the embryo development during seed culture. The embryo growth in seed culture was increasingly inhibited when the sucrose concentration in the medium was increased from 2% to 20%. During embryo culture, when GA, IAA or IAA+KT were added to the medium, the embryo germination was improved but seedlings could grow normally only in the medium added with GA. Embryos did not germinate during seed culture. After seed culture, embryos were dissected and cultured on media and the germination rate reached up to 73%, compared to 5.6% for the embryos which had never undergone the seed culture.

Key words: grape, seed culture, embryo culture