

紫香无核葡萄胚挽救技术研究

刘静, 陈虎, 陈红梅, 刘卫英 (石河子农业科学研究院葡萄研究所, 新疆石河子 832000)

摘要 [目的]探讨紫香无核葡萄适宜接种时期及培养基。[方法]以紫香无核葡萄为母本,红提、克瑞森、弗雷无核为父本杂交,另外选择紫香无核自交,对杂交和自交胚珠进行培养挽救。[结果]在授粉55 d后接种,4个组合的胚珠均达到最大发育率和萌芽率,胚珠发育阶段采用ER+半胱氨酸盐酸盐1.0 g/L+水解酪蛋白0.4 g/L+活性炭3.0 g/L培养基发育率最高。[结论]该研究可为进一步无核葡萄杂交育种奠定基础。

关键词 无核葡萄;胚挽救

中图分类号 S663.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)23-07790-02

Study on Fragrant Zixiang Seedless Grape Embryo Rescue Technique

LIU Jing et al (Shihezi Agricultural Research Institute, Institute of grapes, Shihezi, Xinjiang 832000)

Abstract [Objective] The aim was to discuss the optimized inoculation period and media of Zixiang seedless grapes. [Method] The hybrid was conducted by taking Zixiang seedless grapes as female, and Red, Crimson, Frey seedless as male were chose, as well as the selfing among Zixiang purple seedless was carried out, the ovules of hybrid and selfing were cultured and saved. [Result] That inoculation after pollination 55 d, the ovules of four combinations reached the maximum germination rate and growth rate, and the growth rate was the highest that the ovules were cultured by ER + cysteine hydrochloride 1.0 g/L + hydrolyzed casein 0.4 g/L + activated carbon 3.0 g/L at ovule developmental stage.

Key words Seedless grapes; Embryo rescue

胚挽救技术就是通过选择假单性结实类型的无核品种,在其合子胚败育之前进行人工离体培养,减少幼胚的败育,利用胚乳及培养基中的营养使其发育成充实的胚,最终形成完整的植株。

葡萄胚培养是目前培育无核葡萄新品种的主要手段和最有效途径,利用胚挽救技术在无核葡萄育种方面已有了很多成功的报道^[1-3]。紫香无核葡萄是石河子农业科学院葡萄研究所选育的无核葡萄品种,笔者对紫香无核葡萄适宜接种时期及培养基进行研究。

1 材料与方

1.1 材料 2013年在石河子葡萄研究所葡萄试验园进行。试材母本取自9年生紫香无核葡萄,分别与红提、克瑞森、弗雷无核葡萄进行杂交,获得杂交组合;另选紫香无核葡萄自然杂交种子(胚珠)。

1.2 方法

1.2.1 杂交。在初花期采集杂交父本的花粉,阴干备用。在母本即将开花时去雄,去雄后套袋,去雄后第2天授粉,授粉后立即套袋。

1.2.2 接种时间的选择。分别于紫香无核葡萄盛花后50、55、60 d,对杂交和自然授粉的果穗取样培养。

1.2.3 培养基的选择。发育培养基以ER、MS培养基为基本培养基,加入蔗糖10 g/L,琼脂5 g/L,活性炭3 g/L, pH = 5.8。附加不同浓度的6-BA、IBA、半胱氨酸盐酸盐、水解酪蛋白,构成1号、2号、3号、4号培养基。其中,1号为ER+6-BA 0.5 mg/L+IBA 2 mg/L+活性炭3 g/L,2号为MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 2 mg/L+活性炭3 g/L,3号为ER+半胱氨酸盐酸盐1.0 g/L+水解酪蛋白0.4 g/L+活性炭3 g/L,4

号为MS+半胱氨酸盐酸盐1.0 g/L+水解酪蛋白0.4 g/L+活性炭3 g/L。萌发培养基为WP+6-BA 0.5 mg/L+蔗糖10 g/L+琼脂5 g/L+活性炭3 g/L。成苗培养基为1/2MS+蔗糖10 g/L+琼脂5 g/L。

1.2.4 胚珠培养方法。采用3步培养法。于紫香无核葡萄盛花后一定时间采回果穗,立即接种在胚发育培养基上。消毒及接种步骤为:将采回的果穗用无菌水冲洗3次,然后用75%乙醇浸泡30 s,无菌水冲洗3次,将果穗放入0.1%升汞中浸泡8~10 min,用无菌水冲洗3次,将果粒切开,取出胚珠,接种在50 ml三角瓶中,每瓶接种8~10枚胚珠,每个处理8~10瓶。放入培养室培养。培养条件为:温度25~28℃,暗培养。胚珠培养60 d后将胚珠进行横切处理,转移至萌发培养基光照培养,萌发7~10 d转入成苗培养基培养。

表1 不同接种时期对紫香无核胚珠发育的影响

杂交组合	取样时间 (花后天数)//d	总胚 珠数	发育胚珠		萌发胚珠	
			数量	比率/%	数量	比率/%
紫香无核× 克瑞森无核	50	61	-	-	-	-
	55	74	21	28.3	2	9.5
	60	66	11	6.0	-	-
紫香无核× 红提	50	60	14	23.3	-	-
	55	69	47	68.1	17	36.2
	60	71	23	32.9	-	-
紫香无核× 弗雷无核	50	69	17	24.6	-	-
	55	77	29	37.7	1	3.4
	60	66	21	31.8	-	-
紫香无核自交	50	97	37	38.4	3	8.1
	55	81	34	41.9	15	44.1
	60	73	29	39.7	-	-

2 结果与分析

2.1 不同接种时期对紫香无核胚珠发育的影响 从表1可以看出,紫香无核×克瑞森无核、紫香无核×红提、紫香无核

作者简介 刘静(1979-),女,河南滑县人,助理研究员,硕士,从事葡萄育种、栽培生理、组织培养等研究工作。

收稿日期 2014-07-04

×弗雷无核以及紫香无核自交在授粉后 55 d 接种时,胚珠发育率均最高,分别是 28.3%、68.1%、37.7% 和 41.9%。其中,紫香无核×红提胚珠发育率最高为 68.1%。这说明,紫香无核葡萄胚珠适宜在花后 55 d 左右接种,且胚珠发育率最高。

表 2 不同胚发育培养基对胚挽救的影响

培养基	杂交组合	总胚珠数	发育胚珠		萌发胚珠	
			数量	比率 %	数量	比率 %
1 号	紫香无核×克瑞森无核	50	9	18.0	-	-
	紫香无核×红提	53	12	22.6	1	20.0
	紫香无核×弗雷无核	51	5	9.8	-	-
	紫香无核自交	64	23	35.9	-	-
2 号	紫香无核×克瑞森无核	52	7	13.5	1	14.2
	紫香无核×红提	47	5	10.6	-	-
	紫香无核×弗雷无核	45	9	20.0	-	-
	紫香无核自交	66	13	19.7	2	15.4
3 号	紫香无核×克瑞森无核	55	11	20.0	2	18.2
	紫香无核×红提	55	43	78.2	11	25.6
	紫香无核×弗雷无核	59	29	49.2	-	-
	紫香无核自交	69	36	52.2	14	38.9
4 号	紫香无核×克瑞森无核	44	5	11.4	-	-
	紫香无核×红提	45	24	53.3	5	20.8
	紫香无核×弗雷无核	57	24	42.1	1	4.2
	紫香无核自交	52	28	53.9	2	7.2

2.2 不同胚发育培养基对胚挽救的影响 从表 2 可以看出,在胚珠暗培养 60 d 后,紫香无核×克瑞森无核、紫香无核×红提、紫香无核×弗雷无核的杂交胚珠在 3 号培养基上达到最大发育率,而紫香无核自交胚珠在 4 号培养基上的发育率比在 3 号培养基上的发育率略高 1.7 个百分点,横切胚珠在 WP+6-BA 0.5 mg/L+蔗糖 10 g/L+琼脂 5 g/L+活性炭

(上接第 7789 页)

好,抗逆性强,品质 5 等。属高产组合,适宜铜陵地区种植。

(3)Y 两优 342。产量居第 3 位,比对照增产 9.6%。分蘖力强,结实率较高,每穗实粒数较多,千粒重一般;抽穗整齐,后期熟相好,抗逆性强,品质 5 等。属高产组合,适宜铜陵地区种植。

(4)G 两优 1 号。产量居第 4 位,比对照增产 8.94%。成穗率较高,结实率较高,千粒重中等;分蘖力较强,株高适中,抽穗整齐,后期熟相好,抗逆性强。品质 3 等,属高产优质组合,适宜在铜陵地区重点推广种植。

(5)Y 两优 90。产量居第 5 位,比对照增产 8.61%。成穗率高,分蘖力较强,结实率较高;千粒重较低,株高适中,抽穗整齐,抗逆性强,品质 3 等,属高产优质组合,适宜在铜陵地区重点推广种植。

(6)徽两优 928。产量居第 6 位,比对照增产 6.62%。

3 g/L 继续培养 40 d 后,紫香无核×克瑞森无核、紫香无核×红提、紫香无核×弗雷无核、紫香无核自交胚珠萌发率分别是 18.18%、25.58%、0、38.9%。这说明 3 号培养基(ER+半胱氨酸盐酸盐 1.0 g/L+水解酪蛋白 0.4 g/L)较适宜紫香无核杂交胚珠发育培养。

3 讨论与小结

无核葡萄胚挽救技术的效果受很多因素的影响。胚挽救技术成功的关键是接种时期的确定,无核葡萄胚发育和败育的现象比较复杂,掌握不同品种胚败育时期,在败育前接种是胚挽救成功的前提^[4]。综合以上各杂交和自交组合胚珠采集时间、胚珠发育及胚珠萌发情况,说明 3 号培养基即 ER+半胱氨酸盐酸盐 1.0 g/L+水解酪蛋白 0.4 g/L,较适宜紫香无核杂交及自交胚珠发育培养。

应用胚挽救技术,在胚败育之前将其接种在合适的培养基上进行离体培养,使无核葡萄间的杂交成为可能,不仅较常规杂交节省时间,而且大大提高了无核葡萄育种的效率。该试验以紫香无核葡萄为母本,分别与红提、克瑞森、弗雷无核葡萄进行杂交,以及紫香无核葡萄自然杂交胚珠进行培养挽救,设计了 4 种培养基,在 3 个时期进行接种,筛选适宜的培养基和接种时期,并成功获得胚挽救后代植株,为进一步无核葡萄杂交育种奠定了基础。

参考文献

- [1] 张莉,孟新法,张璐生,等.无核葡萄胚珠发育及早期离体培养研究Ⅱ.无核葡萄胚发育特点[J].北京农业大学学报,1991,17(4):55-58.
- [2] 徐海英,闫爱玲,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):45-48.
- [3] 蒋爱丽,李世诚,金佩芳,等.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:农业科学版,2002,20(1):45-48.
- [4] 郝燕,王发林,杨瑞,等.无核葡萄胚败育时期的确定及接种时间对胚萌发的影响[J].甘肃农业大学学报,2006,8(4):45-48.

分蘖力较高,抽穗整齐,抗逆性强。

(7)玉优 12。产量居第 7 位,比对照增产 6.29%。成穗率、结实率均较高,千粒重较高;株高适中,分蘖力强。品质 4 等,可在铜陵地区示范种植。

(8)其他 Y 两优 8025、Y 两优 6611 产量比对照增产 5%,Y 两优 8025 品质 5 等,Y 两优 6611 品质较好,为 2 等品质,可示范种植。宝两优 6 号产量一般,扬两优 818、中优 9 号减产,不宜在铜陵地区推广种植。

参考文献

- [1] 姚根喜.优质高产杂交中粳新组合辐优 155 的选育与应用研究[J].安徽农业科学,2012,40(36):17510-17511.
- [2] 蒋山,胡燕.杂交中粳水稻品种适应性试验结果初报[J].安徽农学通报(下半月刊),2010(4):75-76.
- [3] 黎勤.杂交水稻新品种筛选试验[J].广西农学报,2010(2):5-7.
- [4] 孙圳.里下河地区水稻品种合理利用的研究[D].扬州:扬州大学,2013.
- [5] 任宗平,王春.杂交水稻新品种对比试验[J].种子,2005(10):92-93.