

早熟杏成熟胚组织培养影响因素的研究

郭俊云,徐卫红

(西南大学 资源环境学院,重庆 400716)

提 要:以早熟杏成熟胚为外植体,研究了培养基种类、光照、温度及外植体预处理(去种皮与否)对胚萌发以及生长的影响。结果表明:早熟杏胚去掉种皮,接种于 MS 培养基,在正常光照,25℃培养条件下萌发生长效果最好。

关键词:早熟杏;成熟胚;组织培养

园艺植物离体胚的培养通常分为两类,即幼胚和成熟胚的培养。未成熟幼胚,特别是发育早期的幼胚,在离体培养时一般不易成功。多数植物的胚均必须在胚珠中一直长到子叶原基开始形成,器官已经分化,此时离体培养才能成功。在未成熟的胚的培养中,常见有三种明显不同的生长方式,一种是继续进行正常的胚发育,维持“胚性生长”;另一种是在培养后迅速萌发成为幼苗,而不继续进行胚性生长,通常称之为“早熟萌发”;第三种是在很多情况下,胚在培养基中发生细胞增殖形成愈伤组织,并由此再分化形成多个胚状体或芽原基。特别是加有生长调节剂时,就更是如此。成熟胚在比较简单的培养基上(只要含有大量元素,无机盐以及糖),一般即能正常萌发生长。所以成熟胚培养实验,其目的主要在于用此技术来研究成熟胚萌发时胚乳(或子叶)与胚长成幼苗的关系,或子叶在吸收养料及幼苗初期营养中的作用,或研究成熟胚生长发育过程中的形态建成以及各种生长环境对其影响等。在离体胚培养中,一般而言,胚越小,就越难培养。并且经常发生“早熟萌发”现象,结果形成畸形,瘦弱的幼苗,有的甚至死亡^[1]。

早熟杏为蔷薇科李亚科桃李属杏亚属,果实大,香味浓烈,果汁多而甜,富含多种营养成分,老少皆宜,可加工成各种果脯。杏花极为艳丽。在调节鲜果淡季,均衡周年供应和满足人民生活的需要方面,有着特殊的作用。早熟杏果实含有较丰富的营养物质。对人的身体有一定的营养价值。中医学认为,杏具有调中补气,祛风湿的功能。早熟杏管理用工少,生产成本低,经济效益高,适宜在全国各地栽培。因此,积极发展早熟杏生产,有

着广阔的前景^[8]。

笔者以早熟杏成熟胚为外植体,研究培养基种类、光照、温度及外植体预处理(去种与否)对胚萌发以及生长的影响,以期获得早熟杏胚培养的最佳技术体系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用早熟杏的杂交种子或自然传粉种子的胚为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 试材准备 将早熟杏于采收后 1~3d 内去除果肉,用小锤砸开种核,再用小镊子将种胚取出。按以下流程进行预处理:流水冲洗 10min→洗衣粉浸泡 5min→蒸馏水漂洗 3 次→75%酒精漂洗 20~35s→5%次氯酸钠浸泡 2~6min→无菌水清洗 4~5 次。

1.2.2 培养条件和方法 本试验采用 MS 培养基和 Turkey 培养基,含琼脂 0.6%,蔗糖 3%,pH 为 5.6~5.8,进行如下试验:

(1)种皮对胚萌发影响试验。将去种皮和不去种皮胚接种于 MS 培养基(不附加任何激素)进行对比试验。

(2)光照对胚萌发影响试验。将去种皮胚接种于 MS 培养基(不附加任何激素),在光照和黑暗条件下进行对比试验。

(3)不同培养基对胚萌发影响试验。将去种皮胚接分别种于 MS 培养基(不附加任何激素)和 Turkey 培养基,对胚萌发进行对比试验。

(4)温度对胚萌发影响试验。将去种皮胚分别接种于 MS 培养基(不附加任何激素),在常温和

不同低温处理时间下,对胚萌发进行对比试验。

2.1 种皮对早熟杏成熟胚培养的影响

2 结果与分析

表1 种皮对早熟杏成熟胚培养的影响

材料品种	胚发育阶段	种皮情况	接种数 (个)	胚转绿 数目(个)	胚转绿率 (%)	胚萌发 数目(个)	胚萌发率 (%)
早熟杏	软熟期(完熟)	去种皮	50	50	100±1.44	40	80±0.31
		保留种皮	50	0	0	0	0

注:早熟杏胚都处于生长的完熟期(胚发育程度大体相当)。

从表1可以看出:早熟杏去种皮后胚转绿为100%,胚萌发率为80%,而保留种皮胚转绿为0,胚萌发为0;经观察去种皮的胚生长健壮,芽体饱满,胚根平均长度1~2cm,而不去种皮的胚未萌

发变绿,且生长极其缓慢。分析认为,种皮作为植物胚的保护介质,使胚隔绝了空气,降低了胚的呼吸速率,从而延迟胚萌发或增加胚休眠深度。

2.2 光照对早熟杏成熟胚生长的影响

表2 不同光照条件对早熟杏成熟胚生长发育的影响

材料品种	胚发育阶段	光照条件	接种数 (个)	胚转绿 数目(个)	胚转绿率 (%)	胚萌发 数目(个)	胚萌发率 (%)
早熟杏	软熟期 (完熟)	光照	50	50	100±6.98	40	80±4.55
		置暗	50	0	0	50	100±2.17

注:早熟杏胚都处于生长的完熟期(胚发育程度大体相当)。

从表2可以看出:早熟杏胚在光照下胚转绿为100%,胚萌发为80%;而在置暗条件下胚转绿为0,但完全萌发。在黑暗条件培养,胚培苗生长迅速,黄化现象严重,生长细长较弱,但其生长的速度明显加快,是光照条件生长速度的1~1.5倍,而且胚根的生长更为迅速,10~12d即可深入

培养基中;光照培养条件下,胚培苗生长较慢,但是胚体转绿,生长健壮,分析认为光照有利于促进胚体所含营养物质的转化和运输,从而有利于胚芽和胚根的健壮生长。

2.3 基本培养基对早熟杏成熟胚培养的影响

表3 基本培养基对早熟杏成熟胚培养的影响

材料品种	胚发育阶段	培养基	接种数 (个)	胚转绿 数目(个)	胚转绿率 (%)	胚萌发 数目(个)	胚萌发率 (%)
早熟杏	软熟期 (完熟)	Turkey	50	50	100±5.36	50	100±4.48
		MS	50	40	80±2.11	30	60±7.01

注:早熟杏胚都处于生长的完熟期(胚发育程度大体相当)。

由表3可看出:早熟杏在Turkey培养基中胚转绿与胚萌发率都为100%,而在MS培养基中胚转绿为80%,胚萌发率为60%。据实验观察早熟杏在Turkey培养基中生长非常快,且胚体

健壮,转绿率极高;在MS培养基中生长也很健壮,胚根插入培养基迅速,芽体饱满,不过不如Turkey培养基好。

2.4 温度条件对早熟杏胚发育的影响

表4 低温处理时间对早熟杏胚发育的影响

材料品种	胚发育阶段	低温处理天数	接种数 (个)	胚转绿 数目(个)	胚转绿率 (%)	胚萌发 数目(个)	胚萌发率 (%)
早熟杏	软熟期(完熟)	常温	50	50	100±2.79	40	80±2.02
		低温1周	50	30	60±1.72	20	66.7±0.95
		低温2周	50	30	60±1.93	20	66.7±1.32
		低温3周	50	40	80±1.20	30	75±1.29
		低温4周	50	40	80±0.75	40	100±1.62

注:早熟杏胚都处于生长的完熟期(胚发育程度大体相当)。

由表4可以看出:常温下胚培养转绿率为100%,萌发率为80%;而在低温下胚转绿率较

差,但是萌发率随低温时间延长而增高,其中低温培养4周,胚萌发率达100%,而且迅速、健壮,可

能与低温处理能打破胚休眠,有效促进胚萌发有关。另外,更低温度处理或延长低温处理时间是否能更有效地促进胚转绿和萌发,有待进一步试验研究。

2.5 早熟杏胚培养新生组织的移栽

2.5.1 锻炼 当种胚在培养室内培养 2~3 周后,试管苗高 2cm 以上,具有 2~4 片叶子时,在 3 000Lx 的较强光照下培养 1 周,再在室内自然光下锻炼 3~5d,然后打开管口 2~3d,每天用滴管滴入几滴蒸馏水。

2.5.2 土壤处理及幼苗移栽 洗净幼苗根上的培养基,移入 3 份土,1 份沙的塑料培养钵里,培养土最好在 120 烘箱中处理 4h。

2.5.3 管理 幼苗移栽后灌透底水,培养室保持 18~20℃ 的较低温度 70% 以上的空气相对湿度和 1 500Lx 的光照强度,16:8 小时的光周期。2~3d 后表层撒上细干土,根据需要,在盛营养钵的盘内浇水。两周后逐渐升高温度和光强度到 20~25℃ 和 3 000Lx。幼苗开始旺盛生长时,补充浇灌 1/2 Turkey 培养液。

3 讨论与小结

3.1 光照条件对早熟杏胚转绿及萌发的影响

叶绿体是植物体内进行呼吸作用提供能量的场所,生长初期的胚或幼嫩组织,叶绿体的及时合成和功能的完善是进一步生长的关键所在,而在叶绿体合成和发挥作用的过程中,不同的光质、光周期是决定性的因素^[6]。从试验看出,提供光照条件,胚可以正常转绿,转绿率达到 100%(未污染),而且,胚芽、胚根生长也较健壮。而在黑暗条件下,由于叶绿素的合成受阻,胚体呈明显的乳白色,但可以把营养供给胚及其他组织生长需要,使胚根的生长明显快于光照条件下。

3.2 培养基种类对胚萌发及生长的影响

不同的培养基含有不同的营养元素,而不同的物种和品种对营养的需求差别又很大,所以,选择适合本品种的培养基显得尤为重要。本试验中,虽然早熟杏种胚子叶中含有大量的营养物质,可以供胚萌发,但大多数处于束缚状态(水合或螯状态),而且所含的微量元素甚微,在这方面,Turkey 培养基中微量元素在组成成分和浓度方面正好能满足胚萌发的需求,从而达到很好的效果。

3.3 低温处理对早熟杏胚转绿及萌发的影响

当年收获的种胚不能迅速的萌发,和品种差异、种胚发育成熟度、休眠期以及种皮中所含的生长抑制物^[7]等有关。在打破种胚休眠促进萌发的过程中,对种胚进行低温处理是最理想的措施^[12]。本试验中经过不同时间低温处理后,一般转绿率均在 60% 以上,而且随低温处理天数的增加,转绿率也增加。初步认为,是低温可以促进植物体内的多数酶,特别是水解酶的活性,从而刺激细胞活跃,加快代谢。

3.4 胚培养移栽成活率的探讨

试管苗移入土壤后,常导致幼苗的大量死亡。主要表现:

- (1) 幼苗根颈部位变褐皱缩。
- (2) 实验苗根系虽然好,而根毛发育不良。
- (3) 试管苗叶片角质层很薄,极其嫩弱等^[8]。

分析认为,胚从试管移入土壤中,环境条件发生了根本的变化,特别是营养物质的吸收,由于土壤间隙和毛细作用不如试管中快速,导致了幼苗根颈部位由于营养缺乏而皱缩^[4],本试验中,通过连续的滴加蒸馏水以及间歇的补加 1/2 Turkey 培养液克服以上现象的发生,达到了很好的效果。

参 考 文 献:

- [1] 熊济华. 中国名花丛书[M], 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 11.
- [2] 谭文澄. 观赏植物组织培养技术[M], 北京: 中国林业出版社, 1991.
- [3] 伊华林. 果树体细胞无性系变异与品种改良[J], 植物生理学通讯, 2002, (4): 412.
- [4] 许智宏. 植物生物技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 12.
- [5] 任宪威. 树木学(北方本)[M], 北京: 中国林业出版社, 1997. 6.
- [6] 杨增海. 园艺植物组织培养[M], 北京: 农业出版社, 1987. 2.
- [7] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M], 北京: 中国农业出版社, 1995. 3.
- [8] 李 云. 林果花菜组织培养快速育苗技术[M], 北京: 中国林业出版社, 2001. 6.
- [9] 熊济华. 核桃形态特征[m], 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 11.
- [10] 袁巧平. 董茂山. 核桃的组织培养[J], 植物生理学通讯, 1990 (2): 43~44.
- [11] 许智宏. 植物生物技术[M], 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 12.
- [12] 曹致义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M], 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1999.