

枣的胚败育及幼胚培养研究

祁业凤 刘孟军*

(河北农业大学中国枣研究中心, 保定 071001)

摘要: 对 30 个枣优良品种坐果后 30 d 的胚败育情况进行了调查, 结果表明, 败育率高于 75 % 的高度败育品种占 53.4 %, 败育率介于 25 % 至 75 % 的中度败育品种占 3.3 %, 败育率低于 25 % 的轻度败育品种占 43.3 %。以优良品种‘冬枣’、‘金丝丰’等为试材, 对坐果后 10~70 d 幼胚进行培养的结果表明, 枣离体胚接种后主要有 3 种生长方式, 即形成愈伤组织、子叶间小叶增生和胚直接萌发成苗。本文还提出了提高枣胚培养及胚培养苗移栽成功的技术要点。

关键词: 枣; 胚; 败育; 组织培养

中图分类号: S 665.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 01-0078-03

Embryo Abortion and Young Embryo Culture of Chinese Jujube

Qi Yefeng and Liu Mengjun*

(Research Center of Chinese Jujube, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: The embryo abortion rate of 30 excellent cultivars of Chinese jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) were investigated 30 days after fruit set. The results showed that, the high abortion cultivars with more than 75 % aborted embryo, the middle abortion cultivars with 25 % - 75 % aborted embryo and the light abortion cultivars with less than 25 % aborted embryo made up 53.4 %, 3.3 % and 43.3 % of the cultivars studied respectively. 10 - 70 days old embryos of *Z. jujuba* ‘Dongzao’ and ‘Jinsifeng’ etc were employed to study embryo culture system. There were 3 growth styles of the young embryos after inoculated, i. e., forming callus, multiplying small leaf in the center of cotyledons and forming seedling directly. The measures improving embryo culture and transplant of seedling were also studied.

Key words: Chinese jujube; Embryo; Abortion; Tissue culture

1 目的、材料与方法

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的有效途径^[1~4]。迄今枣的胚培养尚未见报道。作者对一批优良枣品种的胚败育情况进行了调查, 并为了比较枣胚龄对败育的影响, 选用胚轻度败育品种‘冬枣’(败育率 20 %) 和‘金丝丰’(败育率 4 %) 进行了胚培养试验。试验于 2000~2001 年进行, 供试 30 个品种(表 1) 均采自河北沧县小枣良种繁育基地。于坐果后 30 d, 每品种采果 50~70 个, 剖开果实和种核, 观察胚败育情况。胚培养采用二步培养法, 即先培养出苗再转至幼苗生长培养基。于无菌条件下破壳取出种子, 将坐果后 10 d 的完整种胚接种, 将坐果后 20~70 d 的种胚从远离胚根端的种皮切开, 分别培养在 MS+BA 0.1~1.0 mg/L + IBA 0.1~1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 蔗糖 50 g/L + 琼脂 7 g/L + LH 500 mg/L 及无激素的 MS 培养基(蔗糖、琼脂及 LH 浓度不变), 待胚再生植株后, 将其转到幼苗生长培养基(MS+蔗糖 30 g/L + 琼脂 5 g/L) 中。

收稿日期: 2003 - 01 - 28; 修回日期: 2003 - 04 - 30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30170652); 河北省自然科学基金资助项目 (302300)

* 通讯作者 Corresponding author

2 结果与分析

2.1 枣树部分优良品种的胚败育情况

枣品种依胚败育程度可分为 3 种类型 (表 1): (1) 胚高度败育品种 (1~16 号), 败育率 75 % 且败育者几乎全是空核, 该类约占供试品种的 53.4 %; (2) 中度败育品种 (17 号), 败育率 25 % ~ 75 %, 且败育者几乎全是空核, 仅占 3.4 %; (3) 轻度败育品种 (18~30 号), 败育率 25 %, 约占 43.3 %, 其中约 30 % 有种胚残留物。另对果实大小差异很大的 8 个品种分别调查其大、小果的胚败育率发现, 大果胚败育率在 0~39 % 之间, 小果胚败育率在 55 % ~ 100 % 之间。

2.2 枣离体胚的生长方式

枣幼胚接种后, 主要有 3 种生长方式 (见图版): 一种是形成愈伤组织。坐果后 20~40 d 的幼胚接种后 10 d 左右, 子叶、胚轴均能出现愈伤组织, 一些黄白色愈伤组织经诱导可以形成小苗, 但成苗率很低; 形成愈伤组织超过 80 d 后, 上胚轴仍能伸长形成小苗; 另一些愈伤组织死亡。第二种是子叶间出现增生物。坐果后 30~55 d 的胚接种后, 60 % ~ 70 % 的胚子叶间会出现小叶不断增生现象, 形成莲座状, 80 d 左右胚轴伸长, 形成一株正常苗; 增生物继续增生, 加入一些液体培养基维持其营养供给, 大约 2 个月后续形成一些有白色小根、肉质茎、无叶脉的非正常苗, 若能将其诱导成正常苗, 很有意义。第三种是直接由胚萌发成苗。相对成熟的胚 (坐果 55 d 以后) 通常是直接萌发成苗。

表 1 枣树部分优良品种胚败育情况

Table 1 Embryo abortion rate of some excellent cultivars of Chinese jujube

(%)

品种 Cultivar	双仁率 Double-seed	单仁率 Single-seed	败育率 Seedless	品种 Cultivar	双仁率 Double-seed	单仁率 Single-seed	败育率 Seedless
1 苹果枣 Pingguozao	0	0	100 *	16 壶瓶枣 Hupingzao	0	23	77 *
2 辣椒枣 Lajiaozao	0	0	100 *	17 连县木枣 Lianxian Muzao	2	48.5	49.5 *
3 赞皇大枣 Zanhuan Dazao	0	0	100 *	18 冬枣 Dongzao	0	80	20
4 狗头枣 Goutouzao	0	0	100 *	19 广洋大枣 Guangyang Dazao	2	78	20(8 *)
5 蛤蟆枣 Hamazao	0	3	97 *	20 九月青 Jiuyueqing	0	82	18
6 郎家圆枣 Langjia Yuanzao	1.2	1.8	97 *	21 长鸡心枣 Chang Jixinzao	16	69	15(6 *)
7 骏枣 Junzao	0	5	95 *	22 蚂蚁枣 Mayizao	4	74	14(13 *)
8 早熟躺枣 Zaoshu Tangzao	0	6.4	93.6 *	23 孔府酥脆枣 Kongfu Sucuizao	6	85	9
9 茶壶枣 Chahuzao	0	15	85 *	24 马连小枣 Malian Xiaozao	21	67	12(8 *)
10 紫枣 Zizao	1.6	15	83.4 *	25 葫芦长枣 Hulu Changzao	4	90	6(2 *)
11 圆铃枣 Yuanlingzao	0	17.8	82.2 *	26 团枣 Tuanzao	12	84	4 *
12 大荔龙枣 Dali Longzao	0	18	82 *	27 金丝丰 Jinsifeng	34	62	4
13 河北串杆 Hebei Chuangan	0	17.1	82.9 *	28 大酸枣 Dasuanzao	11	89	0
14 圆铃小枣 Yuanling Xiaozao	3	15.1	81.9 *	29 蜂蜜罐 Fengmiguang	10	90	0
15 义乌大枣 Yiwu Dazao	0	20	80 *	30 灰枣 Huizao	9	91	0

* 代表空核。* Stand for empty kernel.

2.3 枣胚培养的影响因素及技术要点

坐果后 40~55 d 是枣胚培养成苗的最佳时期, 胚龄低于或超过此期的胚成苗率均下降。坐果后 10 d 的幼胚接种后很快萎缩死亡, 一直没有得到成活材料。对坐果后 20 d 的胚进行培养, 有两个冬枣幼胚成活并得到一株幼苗。坐果后 30 d 幼胚的成活率显著提高, 但成苗率仍很低 (<10 %)。70 d 的胚子叶已经呈黄色, 接种后萌发晚且苗质量差。因此, 延缓胚败育的时期至坐果后 40~55 d 再进行胚抢救, 是提高胚抢救成功率的一条重要途径。

坐果 40 d 以内的幼胚接种时, 于无菌条件下破壳取出种子, 将远离胚根端的种皮切开后进行胚培养, 有利于胚在离体条件下继续发育, 从而提高培养成功率。坐果后 55 d 以内的胚以添加 MS + BA 0.1 mg/L + IBA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 蔗糖 50 g/L + LH 500 mg/L 的培养基为最好; 坐果后 55~70 d 的胚以无激素培养基为最好。坐果后 20~40 d 的幼胚, 有些是在子叶发生愈伤组织或子叶间小叶增

生后, 其上胚轴伸长并长出真叶而成苗, 而下胚轴不伸长, 或仍在发生愈伤组织。可将小苗转到 $1/2$ MS + BA 0.1 mg/L + IBA 0.5 mg/L + IAA 0.5 mg/L 中生根, 并刮除愈伤组织, 待生根后转入无激素培养基中, 可获一株正常的完整植株。

据对 136 个冬枣幼胚和 127 个金丝丰幼胚 (坐果后 30~70 d) 培养结果的调查, 冬枣再生植株率 (27.94%) 高于金丝丰 (22.83%), 且再生植株较壮, 叶浓绿, 根系发达; 而金丝丰有一部分叶发黄, 生长缓慢, 易死亡。幼胚接种后先暗培养 8 d 再转至光照条件下, 可显著提高幼胚生根率、平均生根数和平均根长, 且发出的幼苗健壮、根系发达。低温处理能缩短成苗时间并提高成苗率 14%~18%, 但所获幼苗根系细弱, 侧根少, 需进行剪根尖等处理进行复壮。

选取坐果期较早胚发育较好的果进行培养成功率高。幼胚接种时, 采用 50 g/L 甚至更高的蔗糖浓度提高培养基渗透压, 并将种皮切开, 将整个种子接种在培养基上, 以利于胚和培养基之间进行物质交换, 提高胚萌发率。有些胚培养苗无侧根或侧根少, 可剪去一段根尖, 促进侧根生长。

移栽阶段最关键的是进行 5~8 d 的强光锻炼。移栽基质湿度以 60%~70% 为好, 初期经常喷水保持湿度在 90%~100%, 5 d 后逐渐减少喷水次数, 并逐渐降低湿度到与空气湿度基本一致。以蛭石和粗砂 ($d=1.5$ mm) 为基质均可获得良好效果, 用蛭石与土 1:1 混合效果较差。

为便于摸索条件和系统比较胚龄等对胚培养的影响, 本试验主要选取了胚败育率较低的两个品种进行研究, 今后应重点对胚高度败育品种的胚培养特别是胚龄 30 d 以内幼胚的高效培养开展研究, 并进一步研究不同品种的胚败育规律和延缓胚败育的技术。

参考文献:

- 1 Roen D. Prospects for shortening the breeding cycle of apple (*Malus × domestica* Borkh) using embryo culture, I. Reducing the period of cold treatment by hormone application. *Gartenbauwissenschaft*, 1994, 59 (2): 49~53
- 2 Obukosa S D, Kimani Waithaka. Nucellar embryo culture of *Citrus sinensis* L. and *Citrus limon* L. *African Crop Science Journal*, 2000, 8 (2): 109~116
- 3 Ding H F, Qi G M. Ovules culture and plant formation of hybrid progeny of seedless grape. *J. of the Tropics and Subtropics*, 2001, 102 (2): 147~152
- 4 Koukhartchik N V, Semenas S, Geibel M. Embryo culture in *Prunus* L. breeding. *Acta Horticulturae*, 2000, 538: 663~665



图版说明: 枣幼胚接种后的 3 种生长途径: 1. 愈伤组织途径; 2. 小叶增生途径; 3. 直接成苗途径。

Explanation of plates: 3 growth paths of young embryo of Chinese jujube during culture: 1. Forming callus; 2. Multi-plicating small leaf; 3. Forming seedling directly.