

甜菜种子无菌苗的制备与快速繁殖技术

刘巧红,程大友*,徐德昌,罗成飞

(哈尔滨工业大学食品科学与工程学院,黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要:甜菜种子经过适当的冲洗、浸种、消毒灭菌处理,接种 $1/2MS + IAA 0.5 \text{ mg/L}$ 培养基,建立了甜菜种子制备无菌苗的技术,在扩繁和壮苗培养基获得利用无菌苗顶芽快速扩繁组培苗,并掌握了其技术和方法。

关键词:甜菜;无菌苗;组织培养

中图分类号:S566.3

文献标识码:A

文章编号:1002-0551(2008)03-0021-02

甜菜是重要的糖料作物之一,在农业生产中占有重要地位。甜菜还是重要的可再生能源作物及营养价值丰富的饲料作物,在液体燃料生产和畜牧业发展中有光明的前景。随着分子生物学的发展,分子育种为甜菜品种改良提供了新的途径。从外植体再生出植株的组织培养技术是运用分子育种、基因操作对作物和种质资源进行改良的前提,外植体的获得依赖于大量无菌苗的培养,由于甜菜种子属于聚合果,粗糙的种壳表面粘有大量的菌体,制备无菌苗较困难,污染率高。本试验研究了甜菜种子无菌苗的获得方法及快速繁殖技术,为进行甜菜基因克隆及基因工程试验奠定了组织培养基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试的材料为甜菜二倍体品系双8-3,由轻工部甜菜糖业研究所育种课题组提供。

1.2 培养基

(1)种子萌发的无菌苗培养基: $1/2 MS + IAA 0.5 \text{ mg/L}$; (2)无菌苗扩繁培养基: $MS + 6-BA 0.5 \text{ mg/L} + TIBA 0.2 \text{ mg/L}$; (3)壮苗培养基: $MS + 6$

$-BA 0.2 \text{ mg/L} + IAA 0.5 \text{ mg/L}$

1.3 方法

1.3.1 无菌苗的制备

(1)种子预处理:将磨去部分粗糙种壳表面的甜菜种子用自来水反复冲洗40min。用28℃温水浸泡一夜,滤纸吸干表面水分,放在超净工作台内尽量晾干种子,备用。

(2)种子消毒:将种子用70%~75%的乙醇消毒10s,无菌水冲洗1次,用3%NaClO浸泡10min,灭菌水冲洗2次,0.1% $HgCl_2$ 浸泡12min,灭菌水冲洗5次。

(3)接种组织培养:灭菌后的种子用滤纸吸干水后分别置于种子萌发培养基上,25℃暗培养3d,种子发芽后进行光照培养。

1.3.2 无菌苗扩繁

甜菜种子无菌苗长出3片真叶时,将顶芽切下,接种至扩繁培养基,当顶芽四周分化出许多小芽时,将小芽转至壮苗培养基进行壮苗培养,同时将部分芽点继续接入扩繁培养基继续扩繁,如此获得大量的甜菜无菌组培苗。

2 结果与讨论

2.1 甜菜种子无菌苗的获得

本实验中所采用的对种子的预处理及用次氯酸钠等试剂消毒处理方法大大降低了无菌苗的污染率,提高了出苗率,此方法特别适宜于甜菜种子。两周后,萌发培养基上长出大量的无菌苗(见图1)。

收稿日期:2008-04-21

基金项目:国家自然科学基金资助(30771373)。

作者简介:刘巧红(1970-),女,黑龙江省黑河市人,高级农艺师。

Qiaohong941@hit.edu.cn

*通讯作者:程大友(1962-),男,黑龙江省宾县人,哈尔滨工业大学食品科学与工程学院,研究员。



图1 甜菜无菌苗

2.2 水冲洗与浸泡处理方式对甜菜种子无菌苗获得的影响

由于甜菜种子种壳较大且表面不光滑,直接用带壳的种子进行组织培养,按常规方法获得无菌苗时,污染率很高,造成出苗率极低。本实验中将甜菜种子用自来水冲洗后再用温水浸泡直至种壳发白,此种前处理方法能使无菌苗出苗率提高33%。甜菜种子经水冲洗和浸泡,既使种仁透过种壳吸足水分,又冲掉了种壳表面的杂菌及抑制发芽物质,减少了污染率,促进了种子无菌苗的萌发。

2.3 对种子进行不同消毒处理方式对无菌苗获得的影响

对甜菜种子进行不同方式表面灭菌后,无菌苗污染程度不同。实验结果表明,70%乙醇、0.1% HgCl_2 和 3% NaClO 三种试剂共同对种子进行消毒

处理灭菌效果最好,无菌苗的污染率降至3%。因为甜菜种壳大小不同,灭菌时间应做相应调整,种壳大的种子各种灭菌试剂处理时间相对长一些。酒精对种子处理时间不宜过长,否则抑制种子萌发。最后灭菌剂处理后的种子要用无菌水彻底冲净,否则残余的灭菌剂将影响种子的发芽率。

2.4 无菌苗快速扩繁甜菜组培苗

将切去下胚轴及子叶的无菌苗顶芽经分化培养基诱导培养(见图2)。



图2 甜菜组培扩繁苗

两周后在顶芽的周围分化出大量的无菌苗,为各种甜菜组培用外植体的获得提供了足够的材料,减少了重新制备组培苗的工作量。

参考文献:

[1] 白书农. 植物发育生物学[M]. 北京:北京大学出版社,2003.

Preparation and rapid propagation culture technology for sterile seedling of sugarbeet seeds

LIU Qiao-hong, CHENG Da-you*, XU De-chang, LUO Cheng-fei

(School of Food Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: sugarbeet seeds were rinsed and soaked and sterilized, cultured in $1/2 \text{ MS} + \text{IAA } 0.5 \text{ mg/L}$ culture medium, seedlings without pollution were got from seeds; Numerous sterile regeneration plants were got by cultivating tip buds cut from seedlings on propagating culture medium.

Key words: sugarbeet; sterilized seedling; tissue culture