



胡根海, 董娜, 张志勇. 利用陆地棉营养芽合成人工种子[J]. 华南农业大学学报, 2016, 37(2): 36-41.

利用陆地棉营养芽合成人工种子

胡根海, 董娜, 张志勇

(河南科技学院 现代生物育种河南省协同创新中心, 河南 新乡 453003)

摘要:【目的】研究利用陆地棉 *Gossypium hirsutum* L. 营养芽制作人工种子的方法, 为陆地棉人工种子技术开发应用提供一条新途径。【方法】以陆地棉营养芽为外植体, 利用海藻酸钠 + MSB 包埋外植体, CaCl_2 溶液凝固制作人工胚乳珠, 再利用较高浓度海藻酸钠附加不同浓度的甲基纤维素包埋人工胚乳珠, 用 CaCl_2 溶液固化获得人工种皮, 研究陆地棉营养芽人工种皮内添加抑菌剂后在有菌基质上的萌发效果。【结果】制作人工种子的最佳外植体长度为 5 mm; 最佳胚乳珠包埋方案为 w 为 3% 的海藻酸钠 + MSB + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA, 在 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 中固化 20 min; 人工种皮最佳配方为 w 为 4% 海藻酸钠 + w 为 1% 甲基纤维素 + w 为 1.0% 苯甲酸钠 + $0.02 \sim 0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 青霉素 + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 多效唑, 在 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 固化 20 min。该人工种子的无菌萌发率为 95.0%, 生根率为 35.8%, 可以在有菌人工基质中萌发成苗。【结论】获得一条利用陆地棉营养芽制作人工种子的新途径, 该技术制作的人工种子在有菌环境下有较高的萌发率并能成苗。

关键词: 陆地棉; 人工胚乳; 海藻酸钠; 多效唑; 营养芽

中图分类号: Q942.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2016)02-0036-06

Encapsulation of upland cotton, *Gossypium hirsutum* L., axillary buds as artificial seeds

HU Genhai, DONG Na, ZHANG Zhiyong

(Collaborative Innovation Center of Modern Biological Breeding, Henan Province/Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract:【Objective】To provide a new manufacturing method for the artificial seeds of upland cotton, *Gossypium hirsutum* L., using axillary buds. 【Method】The axillary buds of upland cotton were used as explants. The explants were embedded by embedding solutions which were composed of different concentrations of sodium alginate and MSB after sterilization, and then immersed in different concentrations of CaCl_2 solutions to solidify and obtain artificial endosperm beads. The artificial seed coat was obtained on the outer synthetic endosperm beads which were immersed in the solution composed of high concentration of sodium alginate and methyl cellulose, and then immersed in CaCl_2 liquid. After added the bacteriostatic agent to the artificial seed coat, the seed germination experiment was done in nonsterile substrate. 【Result】The axillary buds could be made into artificial seeds after disinfection treatment, and the optimal length of explant was 5 mm. The optimal embedding program was found to be the combination of 3 % sodium alginate + MSB + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA, and solidified in $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 for 20 min. The optimal combination of artificial seed coat was the solution of 4 % sodium alginate + 1% methyl cellulose + 1.0% sodium benzoate + $0.02 - 0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ penicillin + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

paclobutrazol, and solidified in $200\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 for 20 min. The germination rate of synthetic seed was 95.0 %, the rooting rate was 35.8 %. The artificial seed could germinate and grow into seedling in nonsterile substrate. 【Conclusion】 A new asexual reproduction technology making artificial seed is obtained using upland cotton axillary bud, and the artificial seed can be converted into seedling in non-sterile substrate.

Key words: *Gossypium hirsutum*; artificial endosperm; sodium alginate; paclobutrazol; axillary bud

自 20 世纪 70 年代 Murashige 提出研制人工种子的设想以来,人工种子的研究迅速发展,1985 年 Kitto 等^[1]报道了胡萝卜人工种子制作并种植成活,随后多种植物的人工种子研制取得成功,如主要农作物小麦^[2]、水稻^[3]、玉米^[4]、大麦^[5]、甘薯^[6]、马铃薯^[7]等,药用植物石斛^[8]、龙牙槐木^[9]、半夏^[10]等,蔬菜作物茼蒿^[11]、蕹菜^[12]、芹菜^[13]等。棉花是我国主要的经济作物之一,目前生产上陆地棉 *Gossypium hirsutum* L. 常规种因其授粉特性极易造成生物学混杂;杂交种虽具有产量优势,但在种子生产过程中需要人工去雄和授粉,成本昂贵,这极大限制了陆地棉种子的生产与利用^[14]。棉花是无性繁殖较难的作物之一,人工种子在快速繁殖无性系、固定杂种优势及与基因工程相结合等方面有着广阔的应用前景,因此如能找到一种可行的棉花无性繁殖方法,将为棉花优异种质保纯和杂交种利用开辟一条经济、有效的途径。1995 年张保红等^[15]报道了棉花人工种子制作,但其制作中使用的是生产上过时不用的老品种珂字 312,包埋材料是体细胞胚胎。目前棉花体细胞胚胎发生不仅受基因型限制,而且体细胞胚胎发生还具有较高的畸变率^[16],因此利用体细胞胚胎制作生产上可推广的陆地棉人工种子面临巨大挑战。陆地棉是原产热带的木本植物,其生长过程中会产生大量营养芽,而且营养芽具有与母株相同的生物学特性。本研究以陆地棉营养芽为材料,对营养芽人工种子的制作、萌发进行了探讨,以期为陆地棉人工种子的推广应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

陆地棉新品种中棉所 47, 2014 年 4 月 25 日种植于河南科技学院乔谢试验基地。待营养芽长至 1~2 cm 时(图 1a),取材备用。

1.2 方法

1.2.1 营养芽处理 选取健壮、生长一致的陆地棉

营养芽,去掉包在外部的幼叶,用 φ 为 75% 的乙醇溶液漂洗 0.5 min, 在 $1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化汞溶液中消毒 3 min, 无菌水冲洗 4 次以上。切去少许营养芽基部露出新组织作为包埋的外植体(图 1b)。



a: 植株上的营养芽; b: 处理后的营养芽。

图 1 处理前后的陆地棉营养芽

Fig. 1 The axillary buds of *Gossypium hirsutum* before and after processing

1.2.2 人工种子的制作 在超净台上进行操作,将营养芽放进包埋剂[MSB + 6-BA + NAA + 麦芽糖 + 海藻酸钠]中,用 CaCl_2 溶液作为凝固剂,滴珠法每次用吸管吸入 1 个营养芽,放入 CaCl_2 溶液中进行离子交换反应 20 min, 将包埋好的人工种子放在 MSB (Murashige and Skoog 基本培养基 + B_5 培养基有机成分) + $7\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂 + 3% (质量分数) 葡萄糖的培养基上培养, 培养条件为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照时间为每天 12 h, 光照度 $20 \sim 30\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 15 d 后观察人工种子的萌发率。

包埋介质与凝固剂浓度: 配制不同质量分数(1%、2%、3%、4% 和 5%)海藻酸钠 + MSB, 分别在不同浓度(25、50、75、100 和 $200\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)的 CaCl_2 溶液中进行凝固包埋,将包埋好的人工种子种植在 MSB + $7\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂 + 3% (质量分数) 葡萄糖的培养基上培养, 15 d 后观察人工种子的萌发率。

人工胚乳中激素成分: 在人工胚乳中添加不同质量浓度植物激素($0 \sim 0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, $0 \sim 0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA), 将包埋好的人工种子种植在 MSB + 7

$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂 + 3% (质量分数) 葡萄糖的培养基上培养, 15 d 后观察人工种子的萌发率, 30 d 后观察生根率。

人工种子种皮制备: 方案 1) 人工种子海藻酸钠胚乳珠分别浸泡在质量分数为 0%、2%、4%、6%、8% 和 10% 的丙烯酸树脂中 30 min 后, 取出室温放置在超净工作台 24 h, 观察失水率; 方案 2) 人工种子海藻酸钠胚乳珠, 分别浸泡在质量分数为 4%、5% 海藻酸钠 (含质量分数为 0.1%、0.5%、1.0%、2.0% 甲基纤维素) 中 20 min, 在 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 溶液中浸泡 20 min 形成人工种子种皮, 室温放置 24 h, 观察失水率。

失水率 = (脱水前质量 - 脱水后质量) / 脱水前质量 $\times 100\%$ 。

1.2.3 自然环境萌发试验 穴盘中放入 4 cm 厚的湿萌发基质 [m (营养土) : m (蛭石) = 1:1], 营养土购自花卉市场, 富含均衡的营养元素、多种矿物质和有机质, 基质用多菌灵灭菌 1 次, 将制备好的人工种子播入基质中, 每穴 1 粒, 深度为 1 cm, 置于无菌温室内, (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 培养。自播种之日起 15 d 后统计萌发率, 30 d 统计成苗率。

1.2.4 数据统计 每组 50 粒人工种子, 重复 3 次, 数据采用 SPSS10.0 软件处理分析。萌发率统计: 以人工种子突破种皮记为萌发, 播种 15 d 天后, 统计人工种子的萌发率; 成苗率统计: 以萌发后形成具有根茎叶完整的幼苗, 并能在培养基上成活记为成苗, 统计棉花人工种子成苗率。

萌发率 = 萌发的人工种子 / 播种总数 $\times 100\%$,
成苗率 = 幼苗成活数 / 萌发的人工种子数 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 海藻酸钠和 CaCl_2 浓度对人工种子萌发的影响

在海藻酸钠质量分数为 1%、2% 或 CaCl_2 浓度为 $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 离子交换包埋后难于形成颗粒状小球, 看似形成, 但捞出时即破裂, 因而表 1 中未列出。质量分数为 3% 的海藻酸钠可以成型, 但在不同浓度 CaCl_2 中固化时表现不同, 3% 海藻酸钠 + $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 获得人工种子质量好, 硬度适中, 有弹性, 具有最少萌发天数和最高的萌发率 (表 1, 图 2a)。当海藻酸钠的质量分数 $\geq 4\%$ 时, 浓度越高种子越硬, 透明度越差, 人工种子萌发天数越多, 萌发率越低。最终选择质量分数为 3% 海藻酸钠 + 100

<http://xuebao.scau.edu.cn>

$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 为适宜的制作人工胚乳珠的组合。

表 1 海藻酸钠和 CaCl_2 浓度对人工种子成型及萌发影响¹⁾

Tab.1 Effects of different concentrations of sodium alginate and CaCl_2 on germination of encapsulated axillary buds

w (海藻酸钠) / %	$c(\text{CaCl}_2)$ / ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	t/d	萌发率 / %
3	50	11b	74b
3	75	12b	78b
3	100	9a	100a
3	200	13b	68c
4	50	14b	66c
4	75	15b	65c
4	100	16b	54d
4	200	15b	45e
5	50	11b	71b
5	75	13b	68c
5	100	16b	52d
5	200	20c	32f

1) 培养时间 30 d, t 为萌发所需时间; 同列数据后凡是一个相同小写字母者, 表示差异不显著 (Duncan's 法, $P > 0.05$, $n = 3$)。



a: 制备好的人工种子; b: 人工种子在 MS 培养基上萌发; c: 人工种子 3 周开始生根; d: 4 周后形成人工种子萌发小苗。

图 2 陆地棉营养芽人工种子发育成苗

Fig. 2 Plantlet regeneration from encapsulated axillary buds of *Gossypium hirsutum*

2.2 人工胚乳中激素对比对人工种子萌发和生根的影响

选用营养芽作为外植体, 其人工种子萌发的主要表现是营养芽的生长与生根, 这也是决定人工种

子能否成活的关键。在人工胚乳中添加 IBA 和 NAA, 2 种激素对人工种子的萌发及生根的影响见表 2 和图 2b、2c。由表 2 可知,添加激素对人工种子萌发及生根有很大影响,说明在陆地棉营养芽萌发及生根过程中激素起着重要作用。在单独添加 NAA 或 IBA 时,人工种子生根率均增加,但不同浓度间差异不显著,两者组合使用可使生根率明显增加。说明影响人工种子萌发的主要因素是激素的种类和浓度。人工胚乳最佳激素组合为 MSB + 0.5 mg · L⁻¹ NAA + 0.5 mg · L⁻¹ IBA,其萌发率为 95.0%、生根率达到 35.8%,且成苗长势良好(图 2d)。

表 2 人工胚乳中激素对种子萌发生根的影响¹⁾

Tab.2 Effects of different growth regulators on synthetic seed germination and root formation

$\rho(\text{激素})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		萌发率/%	生根率/%	根长/cm
NAA	IBA			
0	0	8.0f	0d	0.1 ± 0.3c
0.1	0	23.0e	12.3c	1.4 ± 0.3b
0.3	0	24.2e	10.1c	1.3 ± 0.3b
0.5	0	62.3c	28.6b	1.7 ± 0.5b
0.7	0	55.1d	25.3b	1.6 ± 0.4b
0	0.1	26.1e	18.1c	1.4 ± 0.3b
0	0.3	29.4e	22.1b	1.4 ± 0.3b
0	0.5	68.1c	27.0b	1.8 ± 0.5b
0	0.7	57.6d	26.1b	1.6 ± 0.4b
0.5	0.1	86.2b	28.1b	1.7 ± 0.3b
0.5	0.3	91.5a	30.4a	2.1 ± 0.4a
0.5	0.5	95.0a	35.8a	2.2 ± 0.5a
0.5	0.7	92.0a	33.2a	2.0 ± 0.3a
0.1	0.5	85.3b	27.4b	1.6 ± 0.3b
0.3	0.5	91.3a	31.6a	2.0 ± 0.4a
0.7	0.5	91.1a	30.1a	1.8 ± 0.4b

1) 培养时间 30 d,每次试验最少 50 个人工种子;同列数据后凡是有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's 法, $P>0.05,n=3$)。

2.3 外植体大小对陆地棉人工种子萌发和生根的影响

为了获得适宜大小的外植体,对不同大小外植体进行包埋后萌发比较,结果见表 3。由表 3 可知,处理 2 外植体比处理 1 长 2 mm,人工种子萌发率高 8.1%,且 4 mm 营养芽的生根率比 2 mm 的高 5.7%。营养芽人工种子的萌发率、生根率均与外植体的大小呈正相关,随着外植体长度增加,人工种子萌发率、生根率均增加,但超过 5mm 以后没有显著

性差异;故较长的外植体有利于人工种子萌发,但考虑包埋的便利,本试验较佳的外植体长度为 5 mm。

表 3 营养芽长度对人工种子萌发成活的影响¹⁾

Tab.3 Effect of nutrition bud length on the survival of artificial seed germination

处理	$l_{\text{外植体}}/\text{mm}$	种子数/个	萌发率/%	生根率/%
1	2	50	17.2c	14.4c
2	4	50	25.3b	20.1b
3	5	50	95.1a	35.6a
4	6	50	96.2a	35.4a
5	8	50	96.1a	35.6a

1) 同列数据后凡是有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's 法, $P>0.05,n=3$)。

2.4 人工种皮的失水率比较

人工胚乳珠分别浸泡在质量分数为 0、2%、4%、6%、8%、10%、12% 和 14% 的丙烯酸树脂中,浸泡 30 min 后取出,存放 24 h 的失水率分别为 90.1%、90.2%、90.4%、85.4%、84.5%、83.2%、83.1% 和 80.2%。可见,丙烯酸树脂虽然具有成膜性,能在人工种子外面形成一层白色膜,但保水性很低;随着丙烯酸树脂浓度增加,人工种皮保水性增加,但在 w 为 14% 丙烯酸树脂处理下,人工种子失水率仍高达 80.2%,因此,丙烯酸树脂不是制作人工种皮的理想材料。

利用高浓度海藻酸钠附加甲基纤维素试制的人工种皮失水率的结果(表 4)显示, w 为 4% 和 5% 海藻酸钠附加甲基纤维素制作的种皮均具有一定弹性和硬度,不同浓度甲基纤维素保水率没有显著性差异,但 w 为 2% 甲基纤维素和 w 为 5% 海藻酸钠配制时,溶液特别黏稠使制作种子增大变形, w 为 1% 以下甲基纤维素和 w 为 4% 海藻酸钠组合即可获得理想人工种皮,24 h 保水性能良好。

表 4 海藻酸钠与甲基纤维素混合种皮对种子失水率的影响¹⁾

Tab.4 Effects of different concentrations of sodium alginate and methyl cellulose on water loss rates

$w/\%$		失水率/%	$w/\%$		失水率/%
海藻酸钠	甲基纤维素		海藻酸钠	甲基纤维素	
4	0.1	5.1a	5	0.1	3.5c
4	0.5	4.2b	5	0.5	3.2c
4	1.0	4.4b	5	1.0	3.2c
4	2.0	4.4b	5	2.0	3.2c

1) 数据后凡是有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's 法, $P>0.05,n=3$)。

2.5 人工种皮中添加抑菌剂的种子萌发成苗率

为了增加人工种子在自然条件下的成苗率,在 <http://xuebao.scau.edu.cn>

人工种皮中添加了 3 种抑菌剂,结果(表 5)显示,人工种子不加抑菌剂在自然条件下全部污染,并迅速死亡;在 3 种抑菌剂浓度较低时虽有少数成活,但污染率较高。在处理 2~4 中苯甲酸钠和多效唑浓度相同时,随着青霉素浓度升高,污染率下降,污染率在 9.8%~12.1%;当苯甲酸钠质量分数 $\geq 1.0\%$ 、 $\rho(\text{多效唑})\geq 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\rho(\text{青霉素})\geq 0.02\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,人工种子萌发呈现较低污染,污染率均 $\leq 2.0\%$ 。由处理 5~10 可知,过高浓度抑菌剂对生根有抑制作用,抑菌剂最佳组合为 w 为 1.0% 苯甲酸钠 + 0.02~0.04 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青霉素 + 0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 多效唑。处理 5~10 的污染率较低,说明多效唑、苯甲酸钠与青霉素三者适宜浓度同时使用抗菌效果好,尤其是青霉素和多效唑在抑制杂菌污染方面起了关键性的作用。

表 5 人工种子种皮添加抑菌剂对种子污染和生根的影响¹⁾
Tab.5 Effects of bacteriostatic agents added into artificial seed coat on pollution and root of seed

处理	$w(\text{苯甲酸钠})/\%$	$\rho/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$		污染率 /%	生根率 /%
		青霉素	多效唑		
1	0	0	0	100a	0e
2	0.5	0.01	0.1	12.1b	12.1c
3	0.5	0.02	0.1	11.1b	11.1c
4	0.5	0.04	0.1	9.8c	9.8d
5	1.0	0.01	0.5	2.0d	21.1b
6	1.0	0.02	0.5	1.1e	35.5a
7	1.0	0.04	0.5	1.2e	35.4a
8	1.5	0.01	1.0	1.0e	32.4a
9	1.5	0.02	1.0	1.0e	31.2a
10	1.5	0.04	1.0	0.9f	31.2a

1) 同列数据后凡是有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's 法, $P>0.05, n=3$)。

3 讨论与结论

用营养芽制作人工种子有许多优点:可以避免体细胞胚胎发生中产生的高频变异;营养芽数量多,取材容易,成本低;海藻酸钠凝胶包埋系统无毒且价格低、工艺简单。本试验利用海藻酸钠作为包埋介质,对陆地棉营养芽进行了包埋处理并利用较高浓度海藻酸钠与甲基纤维素制作了复合人工种皮。试验得出人工胚乳的最佳制作条件为 3% 海藻酸钠在 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 中反应 20 min,这与曾颖苹等^[19]的结果一致,但与已报道的安祖花、白术的人工种子制作中海藻酸钠的浓度有差别^[17-18]。研究发现外植体越长人工种子萌发率越高,但考虑到制作人工种子工艺(目前一般使用吸管),因此,外植体长度 <http://xuebao.scau.edu.cn>

控制在 5 mm 为宜。

前人制作的人工种子一般只是对外植体进行 1 次包埋,本试验为了增加人工种子的保水性,做了 2 次包埋,包括人工胚乳和人工种皮包埋。1 次包埋为人工胚乳,主要含有营养成分麦芽糖和促进生根的激素 IBA 和 NAA,试验发现如果人工胚乳中不添加激素,萌发只有 8%,且未观察到生根现象;补加 IBA 或 NAA 均对人工种子萌发和生根有作用,但组合使用效果更好。张宝红等^[15]在利用棉花体细胞胚胎制作人工种子时,仅使用 w 为 2% 海藻酸钠且没有添加任何激素,可获得 40% 的成苗率。本试验结果显示,海藻酸钠的最佳质量分数为 3%,而且胚乳中需要补加植物激素,营养芽制作人工胚乳时添加激素才能萌发和生根,产生这种差异的原因可能是外植体不同造成的。

人工胚乳制作完成后,存放过程中失水问题是制约人工种子利用的难点。黄绍兴等^[20]研究认为人工种子若失水率低于 80%,人工种子吸水恢复后萌发率还可以保持 70% 以上,若失水率高于 80%,其人工种子萌发率将成倍下降。本试验对人工种皮进行 2 次包埋主要是为了创制一个保水、通气的种皮,美国植物研究所发现 Elvax4260 是最好的外种皮,它具有防水、无黏性、抑制干缩和使海藻酸钙硬化等优点,但其详细成分及其配制并无数据可查,我国水稻人工种子研究中发现丙烯酸树脂可以作为人工种子的种皮使用^[21-22],但在本试验中发现丙烯酸树脂成膜时间长,且保水性能也不佳。采用海藻酸钠,同时添加甲基纤维素、包埋液 CaCl_2 ,结果发现, w 为 4% 海藻酸钠 + w 为 1% 甲基纤维素包埋后,在 200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 凝固 20 min,可以获得不粘连、有一定硬度且对萌发无影响的种皮。

在人工种皮中添加抑菌物质苯甲酸钠、青霉素和多效唑,自然条件下的萌发结果表明,最佳抑菌组合为 w 为 1.0% 苯甲酸钠 + 0.02~0.04 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青霉素 + 0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 多效唑,这与李修庆等^[2]和陈德富等^[23]的结论相近,说明在人工种皮中添加抑菌、抗菌药物可以使人工种子在有菌环境下萌发,添加抑菌剂后可获得较低污染率(1.1%)和较高的生根率(35.5%),本试验在无菌条件下获得的人工种子生根率为 35% 左右,说明人工种皮添加抑菌剂并未对人工种子的萌发与成苗产生影响,棉花人工种子生根率低的原因有待进一步研究。

本研究获得一种利用陆地棉营养芽制作人工种子的新途径,即外植体最佳长度 5 mm,胚乳珠包埋

为3%海藻酸钠+MSB+0.5 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ IBA和100 mmol·L⁻¹ CaCl₂ 固化20 min;人工种皮配方为w为4%海藻酸钠+w为1%甲基纤维素+w为1.0%苯甲酸钠+0.02~0.04 mg·L⁻¹青霉素+0.5 mg·L⁻¹多效唑,该人工种子无菌萌发率95.0%,生根率35.8%,可以在有菌人工基质中萌发成苗。

参考文献:

[1] KITTO S L, JANIEK J. Production of synthetic seeds by encapsulating a sexual embryos of carrot[J]. J Am Soc Hort Sci, 1985, 110 (2):277-282.

[2] 李修庆,邓菜莲,王增裕,等. 胡萝卜、根芹,小麦的人工种子在无菌及有菌条件下的发芽成苗[J]. 华北农学报, 1990, 5(4):1-4.

[3] 邢小黑,沈毓渭,高明尉,等. 水稻籼粳杂种人工种子制备的研究[J]. 作物学报, 1995, 1(21): 48-50.

[4] THOBUNLUEPOP P, PAWELZIK E, VEARASILP S. Possibility of sweet corn synthetic seed production[J]. Pakistan J Biol Sci, 2009, 12 (15): 1085-1089.

[5] DATTA S K, POTRYKUS I. Artificial seeds in barley: Encapsulation of microspore-derived embryos [J]. Theor Appl Genet, 1989, 77:820-824.

[6] 汤绍虎,孙敏,李坤培,等. 甘薯人工种子研究[J]. 作物学报, 1994, 6(20): 746-748.

[7] 孟树兰,董慧明,邓继武,等. 马铃薯人工种子生产技术探索[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(3): 169-170.

[8] 秦自清,赵婷,邱婧,等. 霍山石斛人工种子包埋繁殖体和萌发[J]. 生物工程学报, 2008, 24(5): 803-809.

[9] 李建民,李福安,刘泽华,等. 龙牙槐木人工种子发芽成苗试验[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(1):103-110.

[10] 程力辉. 半夏人工种子的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.

[11] 陈柔如,张江涛,李宝平,等. 芫荽人工种子制作的研究[J]. 生物工程学报, 1991, 7(2): 137-141.

[12] 汤绍虎,孙敏,李坤培. 蕹菜人工种子研究[J]. 园艺学报, 1994, 21(1): 71-75.

[13] 倪德祥,蒋如敏,张蓓,等. 旱芹人工种子的研制[J]. 复旦学报(自然科学版), 1991, 30(4): 368-374.

[14] 张进忠,周关印,郭香墨,等. 杂交棉规模化制种保障措施、问题与对策[J]. 中国棉花, 2014, 41(10):7-9.

[15] 张宝红,李秀兰. 棉花人工种子的研制[J]. 作物学报, 1995, 21(6):756-758.

[16] 徐珍珍. 陆地棉离体培养分化性状的遗传研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.

[17] 杨光孝,李元鑫,岑益群,等. 安祖花不定芽人工种子直播成株[J]. 复旦学报(自然科学版), 1995, 34(4): 438-443.

[18] 汪福源,唐宁,贲爱玲. 白术人工种子制作技术研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(2):731-732, 73.

[19] 曾颖苹,朱乾坤,王万军. 铁皮石斛人工种子包埋技术研究[J]. 北方园艺, 2012(17):156-158.

[20] 黄绍兴,黄美娟,朱激. 木薯淀粉对人工胚乳性能及对人工种子发芽率的影响[J]. 生物工程学报, 1995, 11(1):39-44.

[21] 杜兰芳,沈大稜,李瑶,等. 丙烯酸树脂作为水稻人工种子外膜试验[J]. 上海农业科技, 1994(5):41-42.

[22] 杜兰芳,沈大稜,李瑶,等. 水稻人工种子聚合外膜研制[J]. 上海农学院学报, 1994,12(4): 271-276.

[23] 陈德富,陈喜文,李宗道. 苎麻人工种子在不同条件下的发芽特性与贮藏特性[J]. 中国麻作, 1996, 18(2):1-5.

【责任编辑 周志红】