

南瓜离体培养及植株再生的研究

余义和, 李桂荣, 王新娟, 周明, 刘玉博 (河南科技学院园林学院园艺植物组织培养研究室, 河南新乡 453003)

摘要 研究了不同外植体、消毒方法、激素水平等对南瓜离体培养及植株再生的影响。结果表明:以子叶作为外植体可以通过愈伤组织途径之后形成再生植株;而以子叶节作为外植体可以直接诱导不定芽形成再生植株。诱导不定芽的最佳培养基组合为 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA;诱导愈伤组织的最佳培养基组合为 MS+0.5mg/L 6-BA+0.5mg/L 2,4-D;诱导南瓜不定根的最佳培养基组合为 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L IAA。

关键词 南瓜;激素;子叶;组织培养

中图分类号 Q813.12 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)20-5180-02

Study on Pumpkin Culture in Vitro and Regeneration

YU Yi-he et al (Horticulture Plant Tissue Culture Institute of College of Landscape, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract Adventitious shoots were regenerated from cotyledon and cotyledon nodes of pumpkin. The result showed that cotyledon being used as explants, the plant regeneration can obtain from the way of growing callus, and cotyledon nodes being used as explants, plant regeneration can obtain direct from inducing adventitious bud. At the same time, the result showed that the optimum medium for adventitious bud was MS medium supplement with 1 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA. The callus induced in the medium of MS medium supplement with 0.5 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L 2,4-D was best; and the adventitious root was induced on MS medium supplemented with 1 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L IAA.

Key words Hormone; Pumpkin; Cotyledon; Tissue culture

建立稳定的南瓜离体培养体系, 对开展南瓜转基因研究, 创造新的南瓜种质资源特别是抗性种质资源, 提高南瓜育种水平具有重要意义。目前国内已有一些关于南瓜离体培养及植株再生^[1-3]的报道, 但南瓜属于难再生植物, 不同品种及外植体之间植株再生能力差别很大, 因此, 进一步研究不同品种、不同外植体的离体培养和植株再生条件仍是必要。为此, 笔者对南瓜的离体培养及植株再生进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料 黄狼南瓜种子。

1.2 方法

1.2.1 培养基的配制。以 MS 培养基为基本培养基, 附加蔗糖 20 g, 琼脂 7.5 g, 用浓度为 1 mol/L 的 NaOH(或 1mol/L 的 HCl) 调节 pH 值到 5.8。分别添加不同浓度的 6-BA、NAA、2,4-D、IAA, 组成不同的培养基种类(表 1), 每一培养基组合设置 20 个处理, 3 次重复。

1.2.2 无菌材料的获得。采用 3 种不同的方法对南瓜种子进行处理:①选取饱满的种子, 无菌水中浸种 12 h, 用酒精消毒 30 s, 升汞处理 8 min, 剥去外种皮, 接种在培养基 MS+0.1 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA 上;②选取饱满的种子, 用酒精消毒 30 s, 升汞处理 8 min, 在无菌水中浸种 12 h, 剥去外种皮, 接种在相同的培养基上;③选取饱满种子, 剥去外种皮, 用酒精消毒 30 s, 升汞处理 8 min, 在无菌水中浸种 12 h, 接种在相同的培养基上。在 25℃±1℃的条件下暗培养 1 天后, 进行 2 d 的光培养, 第 4 天接种。

1.2.3 外植体愈伤组织的诱导。在无菌苗子叶刚转绿时取其子叶, 子叶节。切取子叶时将其横切为 3 部分(分别带有主脉), 去除子叶边缘, 切成长约为 3~4 mm, 宽约为 2~3 mm 的子叶块;切取子叶节时, 先切取带下胚轴为 2 mm 长的子叶, 从下胚轴处纵切为 2 个部分, 分别刮去顶芽, 再切去上部子叶, 子叶下部留 1~3 mm, 带叶柄, 整个部分即为子叶

表 1 不同激素组成的培养基种类

编号	激素 // mg/L
1	0.5 6-BA+0.1 NAA
2	0.5 6-BA+0.5 NAA
3	0.5 6-BA+1.0 NAA
4	1.0 6-BA+0.1 NAA
5	1.0 6-BA+0.5 NAA
6	1.0 6-BA+1.0 NAA
7	3.0 6-BA+0.1 NAA
8	3.0 6-BA+0.5 NAA
9	3.0 6-BA+1.0 NAA
10	0.5 6-BA+0.1 2,4-D
11	0.5 6-BA+0.5 2,4-D
12	0.5 6-BA+1.0 2,4-D
13	1.0 6-BA+0.1 2,4-D
14	1.0 6-BA+0.5 2,4-D
15	1.0 6-BA+1.0 2,4-D
16	3.0 6-BA+0.1 2,4-D
17	3.0 6-BA+0.5 2,4-D
18	3.0 6-BA+1.0 2,4-D
19	0.5 6-BA+0.1 IAA
20	0.5 6-BA+0.5 IAA
21	0.5 6-BA+1.0 IAA
22	1.0 6-BA+0.1 IAA
23	1.0 6-BA+0.5 IAA
24	1.0 6-BA+1.0 IAA
25	3.0 6-BA+0.1 IAA
26	3.0 6-BA+0.5 IAA
27	3.0 6-BA+1.0 IAA

节。外植体切好后接种在 10~18 号培养基上, 在温度为 25℃±1℃, 相对湿度为 75% 的条件下进行培养。

1.2.4 芽的诱导和生根培养。愈伤组织诱导 7 天后, 接种到 1~9 号培养基上, 在相同的条件下培养 20 天后进行观察, 并统计产生芽数。之后转接到 19~27 号培养基上, 在上述培养条件下进行生根培养, 培养 17 天后进行观察, 同时统计生根的数量。

2 结果与分析

2.1 不同的消毒方法对外植体的影响(表 2) 从表 2 可以看出, 3 种消毒方法的消毒效果有明显的不同。方法①污染率相对较高, 但由于种皮对种子的保护作用, 种子并没有受到伤害;方法②、③采用先消毒后浸种的方法, 污染率大幅度降低;方法③是先进行剥皮后消毒, 对种子造成了一定的

伤害,但由于在无菌条件下剥皮较为麻烦,所以最好采用第3种方法对外植体进行处理。

表2 不同消毒方法对外植体的消毒效果

消毒方法	接种数	污染数	污染率//%	受伤数1	受伤率//%
①	60	8	13.3	0	0
②	60	2	3.3	0	0
③	60	1	1.6	5	8.3

注:受伤是指种子不能正常萌发或种子萌发后子叶呈畸形。

2.2 外植体不同对不定芽诱导的影响 2种不同外植体的不定芽诱导率有较大的差别。子叶作为外植体的诱导率很低或几乎不能诱导出芽,最高仅为9.4%;子叶诱导愈伤组织的能力较强,能够达到100%,接种后3~4天在子叶的切口处就能够产生愈伤组织,继而子叶的表面也形成凸凹不平的愈伤组织(图1)。子叶节作为外植体都能够诱导出不定芽且诱导率相对较高,达到36.2%;子叶节也能够诱导出愈伤组织,但诱导率较低,只是在胚轴的基部切口处形成少量的愈伤组织。

2.3 不同激素种类、水平对不定芽及愈伤组织诱导的影响 不同激素种类、水平对南瓜不定芽的诱导有明显的区别。6-BA对南瓜不定芽的诱导具有重要的作用,在只添加

6-BA的培养基上,能够诱导出不定芽的诱导率较低;在添加6-BA和NAA的培养基上,不定芽的诱导率有明显的提高,其中,培养基组合MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA诱导不定芽的效果最好,过高或较低浓度的6-BA与NAA都不利于不定芽的诱导。高于1 mg/L的6-BA易导致愈伤组织变得紧实,且使愈伤组织质地松脆,呈水渍状,难以诱导南瓜不定芽的形成。2,4-D能够促进愈伤组织的诱导,在添加2,4-D的培养基上愈伤组织的诱导率达到100%。过高浓度的2,4-D(1.0 mg/L)使得愈伤组织黄化,呈颗粒状,较为疏松,呈衰老现象(图2)。

2.4 不同部位的子叶切块对诱导不定芽的影响 不同部位的子叶切块在MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA培养基上对不定芽的诱导有明显的区别。靠近叶柄基部的子叶切块的不定芽的诱导率相对较高(图3);中间部位的子叶只有少数可以诱导出不定芽;顶端的子叶完全不能产生不定芽。

2.5 不同激素种类、水平对不定根诱导的影响 南瓜不定根比不定芽容易诱导,在添加IAA的培养基上即能够诱导出不定根。IAA的浓度对根系的质量有很大的影响,适宜诱导南瓜不定根的培养基组合为:MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L IAA。

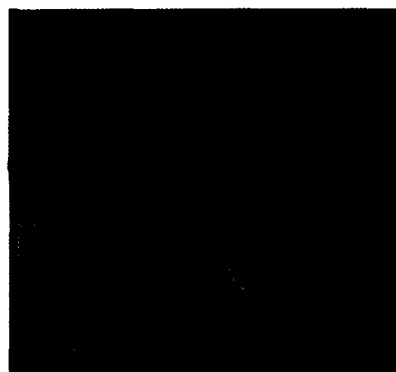


图1 子叶面表面形成凸凹不平的愈伤组织 图2 愈伤组织黄化、颗粒状,较为疏松,呈衰老现象 图3 叶柄基部的子叶切块形成的再生植株

3 结论与讨论

(1)在进行南瓜的再生体系建立时,子叶的愈伤组织诱导率达到100%,部分子叶切块可以形成再生植株;子叶节的不定芽诱导率达到36.2%。因此,子叶作为外植体可以通过愈伤组织途径,诱导愈伤组织后再进一步分化形成再生植株;而子叶节作为外植体可以直接诱导不定芽形成再生植株。这不仅可以缩短培养周期,而且对于由愈伤组织难以分化成苗的物种或品种来说,是一种有效的植株再生途径。适合诱导愈伤组织的培养基组合为MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L 2,4-D,这与侯爱菊等^[4]人的结论一致。

(2)通过愈伤组织途径建立南瓜再生体系时,子叶不同部位切块的芽诱导率有很大的差别。靠近叶柄部位切块的诱导率较高;中间部位的子叶很少可以诱导出不定芽;顶端完全不能产生不定芽,这与Dong^[9]等及王春霞^[10]等的结论一致。施江等对籽瓜的子叶外植体切块进行了组培成株研究,指出子叶外植体的取材部位是十分重要的,顶端1/3诱导

不出芽来,最好采用子叶中部和基部切块作为外植体,且子叶外植体切块以不小于5 mm×5 mm为宜^[11]。子叶外植体不同切割方式对不定芽分化的影响也是极性现象和敏感部位的差异所致。

参考文献

- [1] 邹建,宋明,汤青林,等.观赏南瓜子叶离体培养的初步研究[J].西南农业大学学报:自然科学版,2003,25(4):297-299.
- [2] 赵建萍,柏新付,蒋小满,等.利用组培技术快繁艾西丝南瓜良种[J].北方园艺,1999(5):196-197.
- [3] 李贞霞,李新峰,董卫华,等.南瓜组织培养体系建立研究[J].北方园艺,2005(3):75-76.
- [4] 侯爱菊,朱延明,杨爱馥,等.诱导黄瓜直接器官发生主要影响因素的研究[J].园艺学报,2003,30(1):101-103.
- [5] DONG J, JIA S. High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon[J]. Plant Cell Reports, 1991(9):559-562.
- [6] 王春霞,间志英,刘愚,等.‘京欣1号’西瓜子叶组织培养的研究[J].园艺学报,1996,23(4):401-403.
- [7] 施江,乐锦华.籽瓜的子叶外植体切块组培成株研究[J].果树学报,2003,20(4):295-299.

科技论文写作规范——结果

利用图、表及文字进行合乎逻辑的分析。务求精练通顺。不需在文字上重复图或表中所具有的数据,只需强调或阐述其重要发现及趋势。