

西葫芦组培苗驯化和移栽影响因素分析

谢冰¹ 王秀峰² 樊治成²

(1. 山东农业大学科技学院 山东泰安 271018; 2. 山东农业大学园艺科学与工程学院 山东泰安 271018)

摘要:以西葫芦离体雌核发育而成的胚囊植株组培苗为试材,分析影响西葫芦组培苗驯化、移栽成活率的若干因素。结果表明,开始驯化时组培苗的苗龄、驯化温度、移栽基质组成、驯化方式等对西葫芦组培苗的驯化、移栽有较大影响;7~8叶1心的组培苗,在昼温22~28℃、夜温12~18℃的变温条件下,先闭瓶适应自然光照再开瓶逐步适应自然湿度,采用蛭石:草炭=1:1的移栽基质配方,成活率在95.0%以上。

关键词:西葫芦;组培苗;驯化;移栽

Analysis of main factors affecting the acclimatizing and transplanting of regenerated plantlets of summer squash (*Cucurbita pepo* L.) *in vitro* culture

XIE Bing¹, WANG Xiu-feng², FAN Zhi-cheng²

(1. College of Science and Technology, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong, 271018, China; 2. College of Horticulture and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong, 271018, China)

Abstract: In this research the regenerated embryonic sac plants was used for studying the main factors which effected the acclimatizing and transplanting of regenerated plantlets of summer squash (*Cucurbita pepo* L.) *in vitro*. The results indicated that the age of the plantlet, the acclimatizing temperature, the compositions of the culture nutrient soil and the acclimatizing procedures were the main factors of the transplanting survival rates. The good conditions of acclimatizing and transplanting for the regenerated plantlet was 7-8 leaves stage, cultured at 22-28℃ day and 12-18℃ night, first adapted to the sunlight and then to the humidity out of the culturing bottles, planted in vermiculite : straw charcoal = 1 : 1, and the tansplanting survival rates of the regenerated plants were above 95.0%.

Key Words: Summer Squash (*Cucurbita pepo* L.); Plantlet *in vitro* culture; Acclimatizing; Transplanting

西葫芦组培苗的驯化和移栽是西葫芦生物技术育种的关键步骤之一。西葫芦植株叶片较大,蒸腾旺盛,加之组培苗自身的特点即叶表皮保护组织不发达、根系吸收能力及抗病性差,使西葫芦组培苗移出培养瓶后,很难适应自然的湿度、光照条件及土壤环境,极易失水萎蔫以致死亡,其驯化、移栽难度远大于其他种类的植物。目前,对于一些花卉、果树以及木本植物组培苗的驯化、移栽技术研究较多^[1-9],这些报道认为,驯化条件、移栽基质、移栽程序、组培苗质量等对组培苗移栽成活率有较大影响。至今尚未见有关西葫芦组培苗驯化、移栽技术的报道。笔者在进行西葫芦未受精胚珠离体培养诱导离体雌核发育的研究中^[7],获得了一定数量的再生胚囊植株组培苗。为了后续工作的顺利进行,非常有必要建立一套简便、实用、移栽成活率较高的西葫芦组培苗驯化、移栽技术。为此,本试验充分利用所获得的西

葫芦组培苗,对影响其驯化、移栽成活率的主要因素进行分析,旨在为西葫芦生物技术育种实践提供技术保证;同时,也为其他瓜类蔬菜组培苗驯化、移栽提供技术参考。

1 材料与方方法

1.1 材料

试验于2004年4-6月、2005年4-6月在山东农业大学园艺学院蔬菜试验站进行。以西葫芦未受精胚珠离体培养所获得的再生胚囊植株组培小苗为试材。

1.2 方法

移栽容器:塑料营养钵(规格9 cm×9 cm或10 cm×9 cm)。驯化设施:日光温室,塑料薄膜小拱棚。将西葫芦组培苗的驯化、移栽过程分成3个阶段:第1阶段,组培苗不移出瓶,置于日光温室进行温度、

收稿日期:2006-03-12;修回日期:2006-04-24。

基金项目:山东省良种产业化资助项目(鲁科农字[2001]500号)。

作者简介:谢冰,女,博士,研究方向蔬菜生物技术育种。电话:0538-6568624;E-mail:nianlon@163.com。

光照、湿度等条件的适应性锻炼,先闭瓶再逐步开瓶炼苗,时间 7~10 d;第 2 阶段,将组培苗移出培养瓶,小心洗净根系上的培养基,栽至装有移栽基质的营养钵中,摆放在日光温室内塑料小拱棚中,密闭保湿,继续进行适应性锻炼,时间 10 d 左右;第 3 阶段,待营养钵中的组培苗成活后逐步撤除保湿覆盖物,定植于日光温室中,时间 15~20 d。若定植大田,可将塑料小拱棚置于露地,使组培苗逐步适应露地环境。必须保证整个驯化过程中组培苗不出现萎蔫。

考察影响移栽成活率的可能因素,主要包括:

(1)驯化苗龄,设 4 个水平,4 叶以下、5~6 叶 1 心、7~8 叶 1 心、9 叶以上;(2)驯化温度,设 3 个水平,昼温低于 22℃、夜温低于 12℃,昼温 22~28℃、夜温 12~18℃,昼温高于 28℃、夜温高于 18℃;(3)移栽基质配比,设 4 个水平,以 1、2、3、4 表示,依次代表细河砂:蛭石:草炭 = 1:1:1、细河砂:草炭 = 1:1、细河砂:蛭石 = 1:1;(4)驯化方式,设 3 个水平,先适应湿度再适应光照(先开瓶盖一段时间再移至自然光照下),先适应光照再适应湿度(先移至自然光照下一段时间再开瓶盖),同时适应光照与湿度(移至自然光照下立即开瓶盖炼苗)。每个处理调查 20 株组培苗,重复 3 次,统计成活率,进行比较,确定各因素最佳水平。采用 TTC 法^[9]分别测定各个苗龄、各种驯化温度处理下组培苗的根系活力。组培苗移栽入基质后至保湿覆盖物撤除前可不浇水,保湿覆盖物撤除后可视移栽基质的湿度状况交替浇灌清水与 1/2 N₆ 的大量元素溶液。

2 结果与分析

2.1 组培苗苗龄对移栽成活率的影响

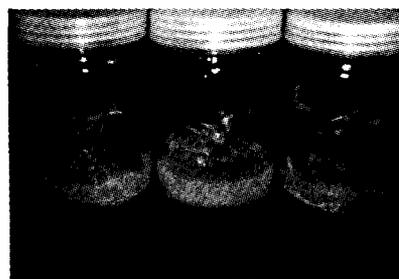
西葫芦胚状体转接后 4 周内陆续生根,叶片伸展,生长量加大,培养瓶内的空间难以满足其生长的需要,因此,必须及时将小苗移出培养瓶。表 1 为苗龄对组培苗驯化、移栽的影响,从中可看出,不同苗龄组培苗的根系活力差异达显著水平,而移栽成活率差异则达极显著水平。7~8 叶 1 心的组培苗移栽成活率最高,可达 98.7%;其次为 5~6 叶 1 心的组培苗,成活率也达到 86.7%。说明成龄组培苗因根系活力较高,根量适中,根系的吸收能力强,叶片生长健壮,所以植株整体的抗逆性与适应能力均较强,有较好的可塑性,对驯化有利。4 叶以下与 5~6 叶 1 心的组培苗根系活力虽无显著差异,但由于根量少、叶片数量也不多,植株整体的抗逆性尚未完全形成,适应能力较差,移栽成活率低,只有 60.0%。图

1-A 为驯化移栽的适龄组培苗与不适宜驯化移栽的幼龄组培苗。9 叶以上的组培苗生育期已较长,此时培养瓶内的营养已逐渐消耗殆尽,组培苗基部叶片与部分根尖也开始发黄,如图 1-B,植株趋于衰弱、老化,根系活力下降明显;但由于根量较大,叶片数量较多,所以仍能保持 73.3% 的移栽成活率。图 1-C 为驯化前形成的叶片与驯化过程中形成的叶片比较。

表 1 驯化时西葫芦组培苗大小对驯化、移栽的影响

组培苗苗龄	根系形态	根系活力 (TTC mg/g·h)	移栽成活率 (%)
4 叶以下	主根长 1~2 cm, 侧根未形成	3.91 b	60.0 D
5~6 叶 1 心	主根长 3~4 cm, 侧根量较少	4.57 b	86.7 B
7~8 叶 1 心	主根长 10 cm 以上, 侧根量多	7.32 a	98.7 A
9 叶以上	根系布满培养基	2.15 c	73.3 C

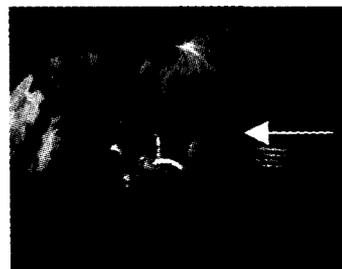
[注] 表中数据为 3 次重复的平均值。大、小写英文字母分别表示 1%、5% 水平的差异显著性。表 2 同。



A. 苗龄尚小、不适宜驯化的组培苗(中);
驯化移栽的适龄组培苗(左、右)



B. 9 叶以上的老化组培苗,基部叶片开始发黄



C. 驯化前形成的叶片(箭头所指,边缘已萎蔫)
与驯化过程中形成的新生叶片比较

图 1 西葫芦不同苗龄的组培苗及移栽成活的组培苗

2.2 驯化温度对组培苗移栽成活率的影响

西葫芦组培苗出瓶前长期生长在 25~26℃ 的昼夜恒温条件下,为了使其逐渐适应自然的温度条件,本试验采取昼夜变温的驯化炼苗方式。表 2 反映了不同驯化温度对适龄组培苗移栽成活率的影响。结果表明,不同驯化温度组合处理下,组培苗根系活力差异显著,移栽成活率差异极显著。昼温 22~28℃、夜温 12~18℃ 的温度条件最适宜于西葫芦组培苗的驯化,移栽成活率可达 95.6%,且小苗生长健壮,根洁白较粗、根量大。而低于 22℃ 的昼温、12℃ 的夜温配合严重抑制了组培苗的生长,发根速度明显降低,叶面积扩大受阻,易使小苗老化,抗逆性下降,移栽成活率只有 33.3%。高于 28℃ 的昼温、18℃ 夜温配合则加剧了组培苗干物质的消耗,植株表现早衰,抗逆性、适应能力降低,移栽成活率下降明显,仅为 25.8%。

表 2 驯化温度对西葫芦组培苗移栽成活率的影响

驯化温度	植株表现	根系活力 (TTC mg/g·h)	移栽 成活率 (%)
昼温低于 22℃, 夜温低于 12℃	新叶生长, 根系伸长缓慢	4.73 Bb	33.3 B
昼温 22~28℃, 夜温 12~18℃	新叶生长旺盛、 伸展,根系洁白、健壮	8.45 Aa	95.6 A
昼温高于 28℃, 夜温高于 18℃	叶片渐黄,根细弱, 新叶、新根量少	2.96 Bc	25.8 B

2.3 移栽基质对组培苗成活率的影响

西葫芦根的再生能力不强,组培苗的根系又比一般幼苗的根系脆弱,因此更难适应土壤环境,这就使得移栽炼苗用培养基质的特性显得尤为重要。从图 2 可以看出,移栽基质以配方 2 即蛭石:草炭 = 1:1 的效果最佳,移栽成活率可达 97.3%;其次为配方 1 即河砂:蛭石:草炭 = 1:1:1,组培苗移栽成活率也能达 76.7%;配方 3 河砂:草炭 = 1:1 的处理成活率明显降低,为 56.7%;而配方 4 河砂:蛭石 = 1:1 的处理,组培苗成活率只有 30.0%。可见,移栽基质的持水能力、透气性、酸碱性等是影响组培苗逐渐

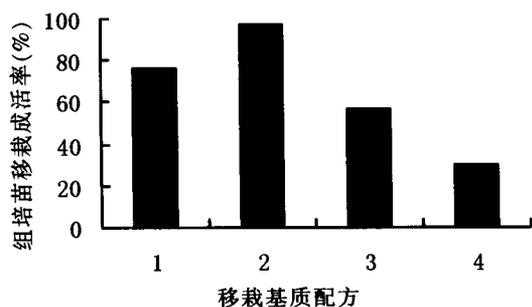


图 2 移栽基质对西葫芦组培苗移栽成活率的影响

适应培养瓶外非培养基环境的重要因素。蛭石与草炭等比例配合,持水能力强、透气性好、酸碱度适中,是组培苗由培养基环境到土壤环境最适宜的过渡基质。但如果增加了一定比例的河砂,持水能力下降,过于透气,对保持湿润的根际环境不利,组培苗新根的生长缓慢,进而影响植株对营养与水分的吸收,叶片容易萎蔫、黄化,导致组培苗夭折。

2.4 驯化方式对组培苗成活率的影响

本试验根据西葫芦组培苗的特点设计了 3 种驯化方式,试验结果表明,以先适应光照再适应湿度的方式效果最好,即先将培养瓶移至自然光照下一段时间再开瓶盖,小苗生长健壮,移栽成活率在 95.0% 以上。先适应湿度再适应光照与同时适应光照与湿度的驯化方式效果均不理想,移栽成活率在 60.0% 以下。可见,生长环境湿度的变化是关系组培苗能否成活的首要因素,也是组培苗出瓶的最大障碍。组培苗必须首先适应光强、光周期的变化,在自然光照条件下有了一定的生长量,抗逆性增强后,才能逐步适应自然的湿度条件,分化健全的叶片和根系。

3 讨论

针对西葫芦组培苗出瓶难的问题,笔者进行了大量的比较试验,认真分析了影响组培苗出瓶的主要因素,结果表明:组培苗苗龄、驯化温度、驯化方式及移栽基质组成等均不同程度地影响组培苗的移栽成活率,这与前人对大樱桃^[1]、冬枣^[2]、草莓^[3]及一些花卉^[3-4]和木本植物^[5]组培苗驯化、移栽技术的研究结果是一致的。可见,不同类型植物组培苗的出瓶均需经历相似的驯化步骤,以逐渐适应环境的变化,关键是要根据不同植物的生物学特性适当调整各个驯化阶段的管理重点及时间长短,而且在这个驯化过程中,组培苗的根系与叶片必须维持正常的生长。

本试验综合分析了西葫芦组培苗驯化、移栽过程中植株在形态与生理上的主要变化与表现,提出一个“循序渐进”的基本原则,即每个驯化环节均不可操之过急,要保证新叶能够形成健全的表皮结构,根系逐步适应自然的土壤条件,其中最重要的环节是保证整个驯化过程中植株不得出现萎蔫,否则将前功尽弃。试验中发现,组培苗出瓶后,原来在培养瓶中发生的叶片会很快黄化、衰老,多数老叶的边缘会出现萎蔫(图 1-C),有的叶片表面还会出现比较严重的组织坏死斑,可能是叶表皮与叶肉组织受伤后造成的,而驯化开始后新发生的叶片则生长正常,没有出现萎蔫或坏死斑等现象。可见,开始驯化前

甜瓜茎蔓无刚毛与光滑无毛性状的遗传关系分析

尚建立¹ 王惠林¹ 周志成²

(1. 新疆农业大学园艺学院 乌鲁木齐 830052; 2. 国家瓜类工程技术研究中心 新疆昌吉 831100)

摘 要: 利用甜瓜茎蔓无刚毛突变体与茎蔓光滑无毛突变体进行杂交,对 F₁, BC₁, BC₂, F₂ 代植株茎蔓性状观察统计发现: F₁ 代表现茎蔓正常有刚毛; BC₁ 代植株性状表现为茎蔓正常有刚毛、茎蔓无刚毛; BC₂ 代植株性状表现为茎蔓正常有刚毛、茎蔓光滑无毛,其分离比值均接近 1:1; F₂ 代植株性状表现为茎蔓正常有刚毛、茎蔓无刚毛、茎蔓光滑无毛 3 种类型,经 X² 检验符合 9:3:4 的分离规律,说明茎蔓无刚毛基因和茎蔓光滑无毛基因表现为非等位基因,甜瓜茎蔓光滑无毛基因对无刚毛基因存在隐性上位作用。

关键词: 甜瓜; 无刚毛; 光滑无毛

Genetic analysis between hairless and glabrous stem and foliage in melon

SHANG Jian-li, WANG Hui-lin, ZHOU Zhi-cheng

(1. Horticultural College, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang, 830052, China; 2. Nationality Melon and Watermelon Engineering Research Center, Changji, Xinjiang, 831100, China)

Abstract: Cross were made between two mutation line of melon hairless and glabrous on stem and foliage, and the stem and foliage character were observed in its F₁, F₂, BC₁ and BC₂ generations, the results indicated that F₁ plants are normal, the ratio of BC₁ and BC₂ progenies segregated normal: hairless and normal: glabrous are almost 1:1, the plant performance of F₂ have three types: normal, hairless and glabrous. The ratio are 9:3:4 according to the Chi square (X²) test. It indicated that the genes resulting in glabrous and hairless on stem and foliage are non-allelic, and interaction existed in the two genes, and the gene of glabrous epistatic to the gene of hairless.

Key Words: Melon; Hairless; Glabrous

收稿日期: 2006-04-16; 修回日期: 2006-06-09。

作者简介: 尚建立, 男, 在读硕士研究生, 主要从事西瓜甜瓜遗传育种研究。

通讯作者: 王惠林, 男, 副教授, 主要从事西瓜甜瓜栽培及育种等教学和科研工作。电话: 0991-8762361; E-mail: wanghuilin@126.com。

发生的叶片是很难人为改变其组织结构的, 其生理特性不可能逆转。所以笔者认为, 只有在不至于对已发生的叶片造成太大影响的前提下, 促使组培苗在逐渐变化的环境中发生健全的新叶与新根, 才能保证组培苗出瓶后顺利成活。

4 结论

(1) 本研究表明, 开始驯化时的组培苗苗龄、驯化温度、移栽基质及驯化方式等是影响西葫芦组培苗驯化、移栽的主要因素。(2) 西葫芦组培苗驯化和移栽的关键技术为: 选取 7~8 叶 1 心的健壮组培小苗开始驯化, 采用昼温 22~28℃、夜温 12~18℃ 的昼夜变温条件, 于日光温室中先闭瓶使组培苗适应光照的变化, 再逐步开瓶适应湿度的变化, 然后出瓶移栽至蛭石: 草炭 = 1:1 的基质中, 置小拱棚内继续炼苗, 使之适应根系环境的变化, 直至在自然光照、

湿度及土壤环境中完全成活, 新叶生长正常。

参考文献

- [1] 伍克俊, 苟永平, 贾福明. 大樱桃脱毒试管苗移栽条件研究[J]. 北方园艺, 1997, (3): 53.
- [2] 曹春英, 任术琦, 丁世民. 冬枣试管苗驯化移栽条件研究[J]. 落叶果树, 2001, (2): 10-11.
- [3] 刘青林, 郑玉梅编著. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [4] 程广有. 名优花卉组织培养技术[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2003.
- [5] 周耀红, 朱祝军, 钱琼秋. 草莓组培生根微环境对幼苗移栽后生理特性的影响[J]. 园艺学报, 2003, 30(4): 460-462.
- [6] 陈彩霞, 李玉琴, 逯向东. 木本植物组培苗的温室炼苗技术[EB/OL]. [2006-01-15]. <http://www.zupe.com/search.asp>.
- [7] 谢冰, 王秀峰, 樊治成. 西葫芦未受精胚珠离体培养条件的优化及胚囊植株的产生[J]. 中国农业科学, 2006, 39(1): 132-138.
- [8] 李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.