

金童观赏南瓜离体繁殖技术研究

耿新丽^{1,2}, 赵一鹏^{2*}, 秦勇¹ (1. 新疆农业大学园艺学院, 新疆乌鲁木齐 830052; 2. 河南科技学院园艺系, 河南新乡 453003)

摘要 通过消毒时间、外植体来源、激素组合等因素对观赏南瓜(金童)组织培养技术离体繁殖影响的研究, 建立了其离体繁殖技术。试验结果表明: 在利用子苗获得外植体过程中, 南瓜种子用 70% 酒精表面消毒 30 s, 再用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 10 min, 可以获得最佳的消毒效果; 在再生过程中, 顶芽外植体的芽诱导率比子叶外植体高; 最佳诱导培养基组合为 2/3 MS + 6-BA 0.5 mg/L + 3% 蔗糖 + 0.7% 琼脂。

关键词 金童南瓜; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号 Q 813.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)07-1338-02

Multiplication of Ornamental Pumpkin with the Method of Tissue Culture

GENG Xin-li et al (College of Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Wulumuqi, Xinjiang 830052)

Abstract The effects of sterilization time, explants and hormone on pumpkin tissue culture were studied and the technique of multiplication in vitro was set up. The results showed that the best sterilization time was 30 seconds with 70% alcohol firstly, then 10 min with mercuric chloride as antiseptics. The induction rate of stem was higher than that of cotyledon, the best medium suited for plantlet growth was 2/3MS + 6-BA 0.5 mg/L.

Key words *Cucurbita moschata* Duch. ex Poir (Jintong); Tissue culture; Multiplication

观赏南瓜(*ornamental Cucurbita*)又名玩具南瓜, 属于葫芦科(*Cucurbitaceae*)南瓜属, 美洲南瓜(*Cucurbita pepo* L.)的观赏南瓜种群。它果形奇特、果色丰富, 观赏价值高, 近几年来已成为现代农业观光园区中吸引游客的亮点之一。但是, 该瓜在高温、干燥或多湿的条件下授粉不良, 结籽不佳, 影响了新品种推广。目前, 植物组织培养技术已经应用于甜瓜、西瓜等瓜类作物, 但对观赏瓜类的离体培养研究国内报道不多。笔者对金童南瓜的组培快繁技术进行了研究, 以探讨观赏南瓜离体快速繁殖的方法和技术, 为快速培养繁殖材料和加速新品种推广提供技术参数。

1 材料与与方法

1.1 试验材料 金童观赏南瓜(河南科技学院园艺系南瓜资源与育种课题组)。

1.2 试验方法

1.2.1 初代无菌苗的获得。将带壳种子和去壳种子经 70% 酒精表面消毒 30 s, 置 0.1% 的 HgCl₂ 溶液中分别消毒 5、10、15、20 min, 然后用无菌水冲洗 4~5 次, 接种于培养基①: 1/2MS + 3% 蔗糖 + 0.7% 琼脂; 另将经 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 10 min 后的去壳种子置无菌水中浸泡 6 h, 消毒滤纸吸干水分, 再接种于培养基①中, 比较消毒方法和消毒时间对种子萌发和无菌苗获得的影响。

1.2.2 不同的外植体材料、激素及营养元素对芽和愈伤组织诱导的影响。外植体从培养 7~10 d、高 5~8 cm 的无菌幼苗上获得, 子叶外植体横切成 0.5 cm × 0.5 cm 的方块, 芽尖外植体为 1 cm 长的顶芽。将外植体分别接种于不同组合的培养基上进行初代培养, 培养基组合为: ②MS + KT 0.5 (单位 mg/L, 培养基中还包括 3% 蔗糖、0.7% 琼脂, pH 值 5.8, 下同); ③MS + KT 2.0; ④MS + 6-BA 2.0; ⑤MS + 6-BA 0.5; ⑥2/3MS + 6-BA 0.5。培养条件为光照时间 14 h/d, 光照强度 1 000~1 500 lx, 温度(25 ± 1)℃。培养 20 d 后统计不同外植体材料、激素水平及营养元素浓度对愈伤组织诱导、芽分化

的影响。

1.2.3 生根培养基及移栽。将无菌苗置培养基①和⑦(即 1/2MS + NAA 0.1 mg/L)中诱导生根, 培养条件为光照 14 h/d, 光照强度 1 000~1 500 lx, 温度(25 ± 1)℃。将 5~6 cm 高的生根苗炼苗 30 d 后观察其生根情况。

2 结果与分析

2.1 金童观赏南瓜种子萌发和无菌苗的获取 从表 1 可以看出, 在消毒过程中, 带壳种子比去壳种子污染机率要大, 且种子发芽率低。以 0.1% HgCl₂ 为消毒剂, 消毒时间 10 min 效果为佳。将去种皮种子消毒后用无菌水浸泡 6 h, 可明显提高萌发率。

表 1 不同消毒方法对金童南瓜种子萌发的影响

处理	时间 min	接种数 粒	污染种子 数//粒	污染率 %	发芽种子 数//粒	5 d 发芽 率//%
去种皮的种子	5	36	31	86.1	3	8.3
	10	36	0	0	30	80.6
	15	36	0	0	24	66.7
	20	36	0	0	19	52.8
带种皮的种子	5	36	36	100	2	5.6
	10	36	19	52.8	5	13.8
	15	36	15	41.7	7	19.4
	20	36	0	0	7	19.4
去种皮后无菌水 浸泡 6 h 的种子	10	36	0	0	36	100.0

2.2 不同激素及外植体来源对诱导不定芽分化的影响

培养 1 周左右, 愈伤组织从子叶切口处长出, 少数可逐步分化成芽; 而顶芽外植体先进行伸长生长, 抽新叶, 然后芽萌发, 同时在切口处产生少量愈伤组织, 培养 20 d 左右分化成不定芽。从表 2 可以看出, 植物生长调节剂 6-BA 诱导金童观赏南瓜再生芽的能力比 KT 强; 另外, 在 MS + 6-BA 的培养基上(培养基④和⑤), 低浓度 6-BA(0.5 mg/L)可使顶芽和子叶产生较高的芽诱导率, 说明低浓度的 6-BA 有利于诱导芽的形成。但是, 在 6-BA 浓度相同的情况下, 既培养基⑤和⑥, 培养基中大量元素的减少却有利于子叶和顶芽愈伤组织的诱导和芽的分化, 培养基⑥中子叶和顶芽的芽诱导率(分别为 52.8% 和 100%)明显高于培养基⑤上同类外植体的芽

基金项目 河南科技学院研究基金项目(050103)。

作者简介 耿新丽(1975-), 女, 新疆石河子人, 硕士研究生, 研究方向: 种质资源。* 通讯作者, E-mail: yipengzhao@hist.edu.cn。

收稿日期 2005-11-21

诱导率。同时,实验结果还发现,高浓度的 6-BA 容易诱导愈伤组织,子叶愈伤组织的比率高于顶芽,但愈伤组织多呈水浸状

或海绵状(玻璃化),难以分化成苗,常褐化而死。

表 2 不同激素及外植体来源对不定芽诱导的影响

培养基 mg/L	接种数		产生愈伤组织数		愈伤组织诱导率/%		出芽数		芽诱导率/%	
	子叶	顶芽	子叶	顶芽	子叶	顶芽	子叶	顶芽	子叶	顶芽
②MS + KT 0.5	36	24	33	14	91.6	62.5	4	9	11.1	37.5
③MS + KT 2.0	36	25	30	16	83.3	64.0	6	9	16.7	35.0
④MS + 6-BA 2.0	36	23	24	13	66.7	56.5	13	10	36.1	43.5
⑤MS + 6-BA 0.5	36	25	22	11	61.1	44.0	14	14	38.9	56.0
⑥2/3MS + 6-BA 0.5	36	24	17	3	47.2	12.5	19	24	52.8	100.0

2.3 生根与移栽 无菌苗在不含激素的培养基①中培养 25 d 后,生根率高达 100%,每株生根 5~10 条,移栽成活率可高达 100%;培养基⑦和培养基①相比,添加激素 NAA 0.1 mg/L 并不有利于再生苗生根,其生根率仅为 80.0%,且每株出根较少,为 3~6 条,移栽成活率为 84.0%。这些现象说明,金童观赏南瓜离体再生苗在 1/2MS 的培养基中可全部生根,其生根率和单株生根数量均高于 1/2MS + NAA 0.1 mg/L 培养基,无激素的 1/2MS 更有利于金童观赏南瓜根诱导,根体粗壮,再生苗移栽成活率高。

3 结论与讨论

(1)许多研究表明,建立高效快捷的瓜类离体再生体系是工厂化育苗的基础。在离体再生苗的培养过程中,无菌外植体的获得是建立离体再生体系的关键,它对外植体分化、离体增殖与扩繁等有直接影响。试验结果表明,去种皮的金童观赏南瓜种子在 70%酒精表面消毒 30 s,再用 0.1%的 HgCl₂ 消毒 10 min,可获得最佳消毒效果,但在无菌水中浸泡 6 h 后种子发芽率最高。这一现象是种胚浸泡吸水膨胀后,种胚贮藏的营养物质能快速由凝胶状态转为溶胶状态,有利于胚的生长和萌芽。

(2)金童观赏南瓜外植体的分化效果与外植体类型及培养基成分有关,芽茎段外植体比子叶外植体分化率高,再生效果好。这是因为植物器官分化成熟程度愈高,其经历脱分

化、再分化并形成再生体的时间和过程愈长,植物再生能力相对减弱。植物茎尖细胞处于活跃分生状态,容易脱分化和再分化,再生成新的小植株,所以,芽茎段的再生能力比子叶要强。这一结果与黄瓜组织培养的相关结论相符^[1]。

(3)许多研究结果表明,植物激素与南瓜芽的分化密切相关^[2]。试验发现 6-BA 在诱导金童观赏南瓜离体再生的效果比 KT 要好,但其原因尚需进一步探讨。另外,对 6-BA 而言,低浓度要比高浓度诱导效果好,这或许与 6-BA 的生理活性较强有关^[3]。培养基中盐度大小对芽增殖培养的影响不同,当浓度为 2/3MS 时,能使子叶和顶芽分化率明显提高,这与艾西丝南瓜、无蔓 1 号南瓜、金王子甜瓜、厚皮甜瓜等得到结果相同^[2-6]。

参考文献

- [1] 王首峰,梁海曼. 升汞和次氯酸钠对黄瓜萌发及幼苗生长的影响[J]. 植物生理学通讯,1996,32(2):117-120.
- [2] 庞基良,林波,梁海曼. 几种生长调节剂对离体培养黄瓜子叶直接开花的作用[J]. 植物生理学通讯,1994,30(3):185-188.
- [3] 盛玉萍,王爱勤,何龙飞,等. 利用组织培养繁殖无蔓一号南瓜[J]. 广西农业生物科学,2002,21:185-187.
- [4] 赵建萍,毕可华,柏新付,等. 艾西丝南瓜的离体繁殖[J]. 植物生理学通讯,1995,31(4):285.
- [5] 赵建萍,柏新付,蒋小满,等. 培养因子对艾西丝南瓜增殖及不定根形成的影响[J]. 植物生理学通讯,2000,17(1):84-86.
- [6] 周素平,王广东,王湘军,等. “春丰 1 号”厚皮甜瓜的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,1999,35(4):301.

(上接第 1337 页)

2.4 光照对丽佳秋海棠试管苗玻璃化的影响 试验以 MS + BA 0.3 mg/L + NAA 0.01 mg/L + 糖 30 g/L + 琼脂 7 g/L 作为基本培养基,设计光照强度:黑暗、1 000、2 000、3 000、4 000 lx 5 个处理,3 次重复,培养 20 d。

经回归分析表明(表 1):丽佳秋海棠试管苗玻璃化苗率与一定范围内的光照强度呈现极显著的负相关性($y = 54.67 - 0.024 7x, r = 0.91^{**}$),即光照强度越高,玻璃化苗越少,一般光照强度控制在 2 000 lx 较好。完全黑暗条件下,玻璃化苗最多,而且颜色黄白、细长瘦弱,这是由于黑暗条件,光合作用停止,影响了体内代谢所致。

3 小结与讨论

(1)控制大量元素的用量,可有效地降低玻璃化苗的数量,这可能与培养基中 NH₄⁺ 浓度过高有关。当大量元素浓度为 MS 时,丽佳秋海棠玻璃化苗率最低,有利于促进其快速繁殖。

(2)琼脂浓度直接影响丽佳秋海棠玻璃化苗程度,以琼

脂浓度 7 g/L 为最好,此时,培养物的玻璃化程度最低。

(3)适当增加光照,能有效地降低玻璃化苗,以光照强度为 2 000 lx 较适宜;光照太弱、过强都影响培养基体系的水分状况,从而导致玻璃化苗的增多。

参考文献

- [1] 杜启兰. 植物激素对丽佳秋海棠组培快繁的影响[J]. 安徽农业科学,2005,33(11):2 036-2 066.
- [2] 王爱勤,何龙飞,裴润梅,等. 组培条件对不同品种芦荟试管苗玻璃化的影响[J]. 中国农学通报,2002,18(5):46-52.
- [3] 卜学贤,陈继任. 试管苗玻璃化现象[J]. 植物生理学通讯,1987(5):13-18.
- [4] 郭达初,刘非庆,刘克斌. 控制重瓣丝石竹试管苗玻璃化的研究[J]. 杭州植物园通讯,1991(2):513-518.
- [5] 王家旺. 几种因素对油菜茎尖培养中玻璃化作用的影响[J]. 植物生理学通讯,1992,27(4):288.
- [6] 肖玉兰,仇明华,周永和. 克服香石竹试管苗玻璃化现象的研究[J]. 云南农业大学学报,1997,12(3):188-193.
- [7] 吴若菁,尤华明,彭东辉. 香石竹组培苗玻璃化控制的研究[J]. 福建农林学院报,1995,15(4):360-363.
- [8] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,2001.