

黄瓜无菌苗的培养技术

黄作喜^{1,2}, 周 钰¹, 周玲玲¹, 张运刚¹, 杨素珍¹

(1. 内江师范学院 化学与生命科学系, 四川 内江 641112;

2. 内江师范学院 花卉研究所, 四川 内江 641112)

摘 要:研究了HgCl₂及与酒精配合处理黄瓜种子、培养基冷凝水保留量及不同的夜温对黄瓜无菌种子苗培养的影响。结果:4minHgCl₂处理剥皮种子效果最好,HgCl₂与酒精复合处理完整种子的结果均较差;保留50%冷凝水对种子萌芽明显有利;夜温22、24℃时种子苗健壮、萌芽率高。

关键词:黄瓜种子;无菌苗;组织培养

中图分类号:S642 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-1785(2006)06-0061-02

黄瓜苗生长快、发育周期短,花多、产量高,是作物生长生理、发育生理研究及倍性育种和遗传学研究中的典型材料^[1]。而无菌苗的快速培养是各研究的第一步,甚至育苗处理还对后继研究起限制因子作用,如消毒剂清洗不完全,则离体材料接种后发育迟缓,或适当的苗期低温处理有利于花芽的形态建成等^[2]。本文就黄瓜种子育苗时HgCl₂处理时间,及与酒精的配合,播种培养基表面冷凝水保留量、夜间不同温度等对萌芽进程的作用进行了探究,进一步完善了黄瓜无菌苗的快速培养体系。

1 材料、方法

选取市售当年生饱满种子“津青春五”为实验材料。设置1~6min(1min为一梯度)的0.1%HgCl₂消毒处理剥皮和完整种子,检验HgCl₂单独处理的消毒效果;进一步设置75%酒精20S结合1~6min的0.1%HgCl₂处理完整种子,观察两种消毒剂配合对完整种子的杀菌效果。

采用经典的MS培养基培养黄瓜无菌苗,消毒冷却后必有一层冷凝水覆于表面。本实验探索了冷凝水全部保留、弃去50%、全部弃去对剥皮黄瓜种子发芽的影响。

保持白天24℃,夜间18、22、24、26℃培养,研究夜间温度高低对剥皮黄瓜种子萌芽速度和质量水平的制约作用。

每处理30粒种子,剥皮方法见文献^[3]。统计胚根初露所需天数(d)、萌芽率(%)、平均株高(cm)、苗健壮度(+、是否污染(+、-),除胚根初露天数之外其余指标均于播种后6d统计。3个平行,取平均值。

2 结果

2.1 不同时间的HgCl₂处理对黄瓜种子萌芽的影响

表1显示,完整黄瓜种子经1~6min HgCl₂处理,由于污染,萌芽率很低,株高平均值也很低;剥皮黄瓜种子经4min HgCl₂处理的萌芽率为85%,平均株高为3.64cm,且无污染,为较优方案。但剥离种皮较耗时,故试图设计两种消毒剂配合处理完整种子获得更好的效果。

2.2 酒精配合HgCl₂处理对完整黄瓜种子萌芽的影响

表1 不同时间的HgCl₂处理对黄瓜种子萌芽的影响

处理时间/min	剥种皮				完整种子			
	胚根初露/d	萌芽率/%	平均株高/cm	是否污染/+/-	胚根初露/d	萌芽率/%	平均株高/cm	是否污染/+/-
1	1	65	2.66	+	2	25	1.68	+
2	1	70	2.17	+	2	28	2.05	+
3	1	90	3.86	+/-	2	40	2.33	+
4	1	85	3.64	-	2	36	2.20	+
5	1	67	2.52	-	2	32	2.00	+
6	1	55	2.07	-	2	20	1.89	+

注: +、- 分别为污染和无污染, +/- 表示间或污染。

表2 酒精配合HgCl₂处理对完整黄瓜种子萌芽的影响

处理时间/min	胚根初露/d	萌芽率/%	平均株高/cm	是否污染/+/-	
1	2	45	2.36	+/-	
2	3	46	2.26	+/-	
酒精20S+ HgCl ₂	3	55	2.50	-	
	4	3	50	2.33	-
	5	4	43	2.15	-
	6	4	39	2.20	-

收稿日期:2006-09-03

基金项目:四川省科技厅应用基础研究重点项目:“园艺植物花芽性别调控及应用”(No. 05JY029-154)。

作者简介:黄作喜(1966-),男,四川安岳人,内江师范学院副教授,主要从事作物开花生理研究。

从表2可知,酒精20S配合HgCl₂处理1~2min,黄瓜完整种子间或污染,不宜采用。其余处理虽克服了污染,但萌芽率和株高过低,基本上不能用作各研究的使用。在实践中仍以HgCl₂处理剥皮黄瓜种子4min为佳。

2.3 培养基冷凝水保留量对剥皮黄瓜种子萌芽的影响

表3 培养基冷凝水保留量对剥皮黄瓜种子萌芽的影响

冷凝水	胚根初露/d	萌芽率/%	平均株高/cm
全部保留	2	70	2.76
弃去50%	1	92	4.15
弃去100%	1	60	2.12

若全部保留培养基的冷凝水,胚根初露的时间延后,萌芽率仅70%。全部弃去冷凝水,萌芽率仅60%,平均株高仅2.12cm。显然,弃去50%的冷凝水是合适的(表3)。

2.4 夜间温度对黄瓜种子萌芽的影响

18℃为空调机控温的下限值,在这种夜间温度条件下,胚根初露较迟,萌芽率和株高均不理想,苗健壮度差。夜温22℃时,苗的株高适中、子叶开张正常、颜色浓绿,健壮度超过夜温24℃处理,且萌芽率达到76%。当夜温26℃时,种子萌芽速度很快,萌芽率和株高均为最高值,但苗较细弱(表4)。

3 讨论

一般情况下,利用黄瓜无菌苗作试材的研究均要求苗整齐、健壮、发芽迅速无污染,消毒灭菌是技术关键。若选取完整种子直接消毒,则HgCl₂单一处理在短时间内无效,HgCl₂与酒精复合处理能达到灭菌的效果,但萌芽效果不理想。若先剥离种皮后消毒,则仅选择单一的消毒剂,且以较温和的即可,消毒时间也短,对种子萌芽的影响力不大(表1、2)。剥离种皮可以消除种子表面的复杂微生物,加之目前多数黄瓜种子外覆包衣、难消毒,更应剥去外种皮。

冷凝水过多,种子埋没于其中,可能进行无氧呼吸,延迟发芽,此时可见一部分种子软化、酒化,甚至因此导致感染,整杯苗报废。冷凝水过少,种子在固体培养基表面的吸胀作用缓慢,胞内物质转化和运输受阻,弱苗很多。故冷凝水保留量的控制主要调节适当的有氧呼吸和保证种子足够的吸胀过程的矛盾。在实践中发现夏季应保留多一些,因空调机降温会迅速带走部分水蒸汽,冬季应弃去多一些。

在保持白天温度不变的情况下,夜温构成了种子萌芽质量的限制因子。我们在研究中发现,较低的夜温(22℃及以下)有利于根系发育,而较高的夜温有利于地上部分的伸长,26℃时明显表现出徒长现象(表4),这与生产实践中的现象相一致^[4]。若研究本身对苗健壮度要求较高,则夜温可控制于22℃,若要求苗的高度较苛刻,则可选择夜温24℃,即昼夜无温差。

参考文献:

- [1] 陈永宁. 未来开花植物之管见 [J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(5): 375-384.
- [2] 刘清华, 黄作喜, 等. 亚精胺、低N及昼夜温差诱导离体黄瓜子叶花芽分化研究 [J]. 内江师范学院学报, 2006, 21(4): 51-52.
- [3] 李云, 黄作喜, 等. 离体培养黄瓜子叶花芽分化研究 [J]. 内江师范学院学报, 2004, 19(6): 86-88.
- [4] 周兴源. 植物生长调节剂在蔬菜生产上的应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002. 1-10.

The Culture Technology for Steriled Seedlings of *Cucumis sativus* L.

HUANG Zuo-xi^{1,2}, ZHOU Yu¹, ZHOU Ling-ling¹, ZHANG Yun-gang¹, YANG Su-zhen¹

(1. Department of Chemistry and Life Science, Neijiang Teachers College, Neijiang, Sichuan 641112, China

2. Flower Research Institute, Neijiang Teachers College, Neijiang, Sichuan 641112, China)

Abstract: The effects of HgCl₂ treatment, C₂H₅OH followed HgCl₂ treatment, reserved cooling water of culture medium, and the temperature in night on seeds' germination of *Cucumis sativus* L. in Vitro are presented. It is showed that 4min HgCl₂ is the most effective method for seeds peeled the exocarps, and it is poor that C₂H₅OH followed HgCl₂ treatment used to entire seeds' sterilize. 50 percent of cooling water is of benefit to germination of seedling. The strong seedlings can be obtained, when the temperature in light was kept at 22℃ or 24℃.

Key words: seeds of *Cucumis sativus* L.; steriled seedlings; culture

(责任编辑:胡 蓉)