

南瓜组织培养体系建立研究

李贞霞¹, 李新峥¹, 董卫华²

(1. 河南科技学院园艺系, 新乡 453003; 2. 河南省新乡医学院, 新乡 453003)

摘要:以黄狼南瓜种子为试材, 用 MS 与不同激素配比的培养基, 初步建立了南瓜离体培养再生体系。

实验结果表明: 种子进行无菌萌发用 0.1% 的 HgCl₂ 溶液消毒时, 消毒时间以 9 min(分钟)为宜; 以 0.8% 琼脂培养基上长出无菌苗的速度最快; 培养基(MS+1.0 mg/L(毫克/升)BA+1.0 mg/L(毫克/升)NAA)是南瓜愈伤组织诱导的最适培养基; 刚转绿的南瓜子叶是诱导愈伤的最适外植体; 培养基(MS+1.0 mg/L(毫克/升)BA+0.05 mg/L(毫克/升)NAA)是南瓜芽分化的最适培养基。

关键词: 南瓜; 组织培养; 再生体系

中图分类号: S642.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2005)03-0075-02

南瓜(*Cucurbita moschata*)是葫芦科南瓜属的一年生蔓性草本植物。营养价值高, 适应性广, 用途多, 耐贮藏。目前我国南瓜的育种工作大多采用传统的育种手段。在本实验中我们对南瓜的组织培养体系的建立进行了探讨, 其重要意义有二个方面, 一是为南瓜进行分子育种奠定组培基础; 二是为一些名优南瓜品种的快速繁育奠定基础。

1 实验材料与方法

1.1 供试材料与培养条件

黄狼南瓜种子。基本培养基为 MS 中加入琼脂 0.6%、蔗糖 3%、pH5.8。培养室温度 25±1℃(度), 8 h(小时)黑暗, 12 h(小时)光照。

1.2 培养基

MS; 1/2MS(在 MS 培养基的基础上, 大量元素减半, 其它成分不变); 0.8% 琼脂(每升培养基除加入 8 g(克)琼脂外, 不添加其它任何成分)。

1.3 实验方法

1.3.1 无菌苗的获得 选取饱满、大小一致的黄狼南瓜种子, 去皮, 在 25℃(度)的恒温水中浸种 5 h~6 h(小时)。后用 70% 的酒精表面消毒 30 s(秒), 置 0.1% 的 HgCl₂ 溶液中分别消毒 5 min、7 min、9 min、11 min(分钟)^[1], 观察不同消毒时间对无菌苗萌发的影响。消毒期间要不停摇动, 然后用无菌水冲洗 4~5 次。种子消毒之后在无菌条件下将其胚根部分分别插入无菌苗萌发培养基上培养。

1.3.2 愈伤组织的诱导 在无菌苗子叶刚转绿时取其子叶、下胚轴、胚根做外植体诱导愈伤组织。在取用子叶时, 去掉子叶边缘; 将剩下的横切为二, 取其近叶柄端^[2], 再纵切为二, 每片子叶得两块约 3 mm×5 mm(毫米)的外植体; 下胚轴取子叶下约 0.3 cm(厘米)部位, 切成 0.5 cm~1.0 cm(厘米)的切段; 胚根取靠近胚轴的区段, 切成 0.5 cm~1.0 cm(厘米)的切段。将由子叶得到的外植体表面朝上接种在愈伤诱导培养基上; 由下胚轴和胚根得到的外植体分水平放置和下端插入培养基中两种接种方式。接种之后, 放在培养室中培养, 观察愈伤组织的发生情况, 比较在不同培养基、不同部位的外植体

及不同放置方式情况下愈伤组织的生长有何不同。

1.3.3 芽的分化 选择生长较好的愈伤组织作为进一步分化培养的材料, 将其切成体积约为 0.5 cm³(立方厘米)左右的切块并转入芽分化培养基中进行培养, 每两周更换一次培养基, 按时观察愈伤分化情况。

2 结果与分析

2.1 消毒时间对种子无菌萌发的影响

无菌萌发是植物组织培养中最基础的环节, 因此材料的灭菌效果和出苗情况直接影响实验的进程。本实验采用 70% 的酒精和 0.1% 的 HgCl₂ 溶液作为种子无菌萌发的消毒液, 其对种子萌发的影响如下。

表 1 HgCl₂ 消毒时间对种子无菌萌发的影响

消毒时间 (min)	供试种子数 (粒)	萌芽数 (粒)	污染数 (粒)	萌芽率 (%)	污染率 (%)
5	45	43	16	95.6	35.6
7	45	42	5	93.3	11.1
9	45	40	0	88.9	0.0
11	45	34	0	75.6	0.0

从表 1 可以看出: 消毒效果与消毒时间的长短有很大关系。当消毒时间为 5 min(分钟)时污染率高达 35.6%, 随着消毒时间的延长, 消毒效果越来越好。但时间过长, 容易对种子造成毒害, 降低种子的萌芽率。从表中可以看出当消毒时间为 11 min(分钟)时, 污染率为 0, 可萌芽率与 9 min(分钟)时相比降低了 13.3%。因此, 在对南瓜种子消毒时, 消毒时间以 9 min(分钟)较为适宜。

在观察过程中发现, 消毒时间过长, 对种子的毒害有以下几个方面的表现: 抑制胚根的发生, 影响无菌苗生长; 下胚轴不伸长或伸长很短; 子叶生长出现扭曲, 伴随有失绿现象。

2.2 培养基种类对无菌苗萌发的影响

在无菌苗的培养过程中, 采用了 MS、1/2MS、0.8% 琼脂三种培养基, 结果见表 2。从表 2 可知: 营养元素的浓度对无菌苗的萌发有一定的抑制作用, 随着营养元素浓度的增大, 无菌苗的萌发率趋于降低, 并且苗的发芽时间整体推迟, 长势受到一定的抑制, 其中以 0.8% 琼脂培养基培养出的无菌苗在生理生长上表现较为一致, 无菌苗的萌发率最高。

表2 培养基种类对无菌苗萌发的影响

培养基种类	供试种子数(粒)	萌芽数(粒)	萌芽率(%)
MS	30	23	80.0
1/2MS	30	26	86.7
0.8%琼脂	30	30	100

2.3 不同激素浓度对愈伤组织诱导的影响

由表3可见,用BA和NAA对子叶块进行愈伤组织诱导时,随着NAA浓度的增大,诱导率也增大,当NAA浓度为1.0 mg/L(毫克/升)时诱导率最高。当NAA浓度过高时诱导率反而下降。

表3 不同激素浓度组成对子叶愈伤组织诱导的影响

培养基组成	接种数(个)	出愈数(个)	诱导率(%)
MS+1.0mg/LBA+0.5mg/LNAA	60	4	6.7
MS+1.0mg/LBA+0.7mg/LNAA	60	23	38.3
MS+1.0mg/LBA+0.9mg/LNAA	60	49	81.6
MS+1.0mg/LBA+1.0mg/LNAA	60	56	93.3
MS+1.0mg/LBA+1.2mg/LNAA	60	43	71.7
MS+1.0mg/LBA+1.5mg/LNAA	60	19	31.7
MS(ck)	60	0	0

2.4 不同部位外植体对愈伤组织发生的影响

用MS+1.0 mg/L(毫克/升)BA+1.0 mg/L(毫克/升)NAA培养基对胚根、胚轴和子叶分别进行愈伤组织的诱导,结果见表4。可以直接看出不同外植体对愈伤发生情况的影响不同。子叶是南瓜诱导愈伤的最适外植体,胚根次之,胚轴的诱导效果最差,与甜瓜愈伤诱导不同^[3]。

表4 外植体部位对愈伤发生的影响

取材部位	接种数(个)	出愈数(个)	出愈率(%)
胚根	62	26	41.9
胚轴	67	9	13.4
子叶	89	81	91.0

2.5 不同激素浓度对愈伤芽分化的影响

在芽分化培养基上培养一月左右,愈伤组织逐步分化成芽,结果见表5。MS+1.0 mg/L(毫克/升)BA+0.05 mg/L(毫克/升)NAA的分化率最高,达到86.7%,是南瓜芽分化的最适培养基。从表中可以看出随NAA浓度的增加,芽分化率递减。

表5 不同激素浓度对愈伤芽分化的影响

培养基组成	接种愈伤数(个)	分化出丛生芽的愈伤数(个)	分化率(%)
MS+1.0mg/LBA+0.05mg/LNAA	45	39	86.7
MS+1.0mg/LBA+0.1mg/LNAA	45	36	80.0
MS+1.0mg/LBA+0.2mg/LNAA	45	27	60.0
MS+1.0mg/LBA+0.3mg/LNAA	45	21	46.7
MS+1.0mg/LBA+0.4mg/LNAA	45	14	31.1
MS+1.0mg/LBA+0.5mg/LNAA	45	9	20.0
MS(ck)	45	0	0

3 小结与讨论

对外植体进行消毒获取无菌材料是组织培养的第一步,本试验的结果表明,获得南瓜无菌苗最适宜的方法是:将种子先除去种皮,用25℃水浸泡5h~6h(小时),然后用70%的酒精表面消毒30s(秒),置于0.1%的HgCl₂溶液中消毒9min(分钟),无菌水冲洗4~5次,经过这样处理的外植体诱导无菌苗的污染率低,在0.8%琼脂培养基上培养的效果最好。

愈伤组织的诱导是进行芽分化的基础。将外植体接种于诱导愈伤培养基上之后,2d~3d(天)内子叶块迅速膨大,随后子叶块开始发生变化,呈凹凸不平状,并在切口边缘处长出部分愈伤组织,以后愈伤组织发育越来越大,有的甚至有白色毛状根发生。胚根产生愈伤组织的时间与子叶相比推迟2d(天)左右,也有发生白色毛状根的现象。

南瓜愈伤的发生情况及芽分化效果与外植体的类型和培养基的种类有密切关系。试验表明:诱导南瓜愈伤的最适外植体是无菌苗刚转绿的子叶;诱导愈伤的最适培养基是MS+1.0 mg/L(毫克/升)BA+1.0 mg/L(毫克/升)NAA;诱导芽分化的最适培养基是MS+1.0 mg/L(毫克/升)BA+0.05 mg/L(毫克/升)NAA。在诱导愈伤过程中发现,以下胚轴带顶芽的一段作外植体很容易出芽,进而形成完整的小植株,分析其原因可能在于植物器官如根、茎、叶的分化成熟程度高,进行再生培养时要经历脱分化、再分化才能形成新的植株,而带顶芽的下胚轴其顶端细胞处于芽的分生状态,故不必经历脱分化,可直接形成完整的植株,所以带顶芽的下胚轴在诱导过程中比子叶、胚根及下胚轴的其它部位容易分化成苗,在南瓜组织培养中也有类似的结果^[4]。在相同培养条件下,不同的外植体产生愈伤组织的能力不同,这可能与构成不同外植体的细胞的生长发育规律及调节其生长的内源激素不同有关^[5]。

参考文献:

- [1] 王首锋,梁海曼.升汞和次氯酸钠对黄瓜种子萌发及幼苗生长的影响[J].植物生理学通讯,1996,32(2):117~120.
- [2] 赵建萍.‘艾西丝’南瓜子叶的离体培养[J].园艺学报,1999,26(3):196~197.
- [3] 钟俐,钟伶.新疆优质甜瓜高效离体再生体系的建立[J].新疆农业大学学报,2002,25(1):31~34.
- [4] 盛玉萍,王爱勤等.利用组织培养快速繁殖无蔓一号南瓜[J].广西农业生物科学,2002,21(3):185~187.
- [5] 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.

哪些田地不适宜覆盖地膜

近年来,为了提高作物产量,农民普遍使用地膜,但以下5种田不适宜盖地膜:

- 1) 纯旱田。除雨季外,长期干旱无法灌溉的耕地盖地膜不仅起不到应有的作用,而且还会加重旱情。
- 2) 沙土田。沙土地盖地膜,中午地面温度过高,尤其是在干旱的情况下,对作物反而有害。
- 3) 黏土田。黏土地坷垃多,地膜与地面贴接不紧易被风刮起,损伤膜料,使地膜失去功效。
- 4) 贫瘠田。由于贫瘠田肥料不足,满足不了作物需求,盖地膜也起不到增产增收的效果。
- 5) 多草田。杂草过多的耕地,虽然播前喷施除草剂,但有些用地下根茎繁殖的杂草仍可将膜穿破或顶起,从而失去作用。