

# 抗病南瓜种质 482-2 离体快繁技术研究

蔡祖国<sup>1</sup>, 周会萍<sup>2</sup>, 赵一鹏<sup>1</sup>, 杨鹏鸣<sup>1</sup>, 周俊国<sup>1</sup>

(1. 河南科技学院 园林学院, 河南 新乡 453003; 2. 新乡学院 生命科学与技术系, 河南 新乡 453003)

**摘要:**以抗病南瓜种质 482-2 的种子为起始材料, 通过对组培条件下的培养基筛选试验, 建立离体快繁技术体系。结果表明: MS+6-BA 1.0 mg/L 是南瓜子叶诱导不定芽的适宜培养基, 不定芽在 MS+6-BA 1.0 mg/L 培养基中增殖系数能够达到 4.0, 在 MS+IBA 0.2 mg/L 培养基上不定芽生根率达到 83.3%。再生小植株经驯化、移栽, 成活率可达 95%。

**关键词:** 南瓜; 组织培养; 离体再生; 离体快繁  
**中图分类号:** S 642.104<sup>+</sup>.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)01-0044-03

南瓜 (*Cucurbita moschata*) 是葫芦科、南瓜属, 1 a 生蔓性草本植物, 也是人类最早栽培的蔬菜之一。南瓜分布广泛、资源丰富, 是蔬菜作物中的“多样性之最”<sup>[1]</sup>, 这些多样性丰富的种质材料是南瓜育种工作中宝贵的遗传资源。河南科技学院南瓜课题组收集了国内外南瓜种质材料 1 000 多份, 经多年提纯、组配、初步筛选出部分特异南瓜种质材料, 为了尽快将这些南瓜种质材料应用于生产实践, 现对其离体快繁技术开展研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料由河南科技学院园林学院南瓜课题组提供, 以高抗白粉病的南瓜种质材料 482-2 (资源编号) 的种子为最初外植体。

### 1.2 方法

**1.2.1 试材处理** 南瓜种子去皮后用 70% 的酒精表面消毒 30 s, 用无菌水冲洗 1 次, 经 0.1% 的 HgCl<sub>2</sub> 溶液消毒 10 min, 用无菌水冲洗 3~5 次, 再用无菌水浸种 6 h 后接入琼脂冻 (每升蒸馏水中仅添加 5.3 g 琼脂粉制作

而成) 培养基中萌发。待南瓜种子无菌萌发后, 取其近轴端一半子叶为外植体, 接种在不同的诱导培养基上进行离体培养, 子叶诱导出不定芽后, 将这些不定芽转入不同的增殖和生根培养基中培养获得完整植株, 经驯化移栽, 最终可移栽到大田中生长。

**1.2.2 培养基及培养条件** 以 MS、1/2MS 培养基为基本培养基, 根据需要添加不同浓度的 6-BA, NAA 或 IBA, 同时添加蔗糖 30 g/L、琼脂粉 5.3 g/L, 培养基 pH 值均为 5.8。培养温度为 (25±1)℃, 空气相对湿度 70%~80%, 光照强度为 3 000 lx, 光照时间为 12 h/d。

## 2 结果与分析

### 2.1 不定芽的诱导培养

南瓜种子在琼脂冻培养基中无菌萌发 (图 1-1), 4~5 d 后取其子叶为外植体进行诱导培养。子叶外植体接种在添加生长调节剂的诱导培养基上, 部分子叶外植体靠近子叶柄中脉处不断隆起, 继而形成不定芽 (图 1-2), 28 d 后, 随机选取 30 个子叶外植体, 统计不定芽诱导率, 详见表 1。

表 1 子叶外植体在不同培养基中诱导效果

Table 1 Induction effect of cotyledon explants in different media				
培养基 Media	外植体数 No. of explants/个	诱导出不定芽的外植体数 No. of explants induced adventitious bud/个	不定芽诱导率 Frequency of bud induction/%	不定芽生长状况 Growth of adventitious bud
MS	30	0	0 e **	—
MS+6-BA 0.5 mg/L	30	8	26.7 c	疏生、数目少、生长旺盛
MS+6-BA 1.0 mg/L	30	20	66.7 a	丛生、数目多、生长旺盛
MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L	30	17	56.7 b	疏生、数目少、基部有愈伤
MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	30	4	13.3 d	丛生、数目多、基部有愈伤

注: 该数值为 3 次重复的平均值, 下同; \*\*小写字母代表 0.05 水平, 显著差异, 下同。

**第一作者简介:** 蔡祖国 (1977-), 男, 讲师, 现主要从事园艺植物种质资源研究工作。E-mail: zuguocai@163.com。

**基金项目:** 河南科技学院重点科技攻关资助项目 (20055047)。

**收稿日期:** 2008-09-21

由表 1 可知, 子叶外植体在不同诱导培养基上不定芽诱导率存在显著差异, MS+6-BA 1.0 mg/L 培养基上子叶外植体诱导出的不定芽丛生, 长势较好, 是南瓜不定芽诱导的适宜培养基。

2.2 不定芽在不同培养基中增殖效果

将子叶诱导出的不定芽转入增殖培养基上进行培

养, 21 d 后, 随机选取 30 个不定芽外植体, 统计不定芽在

不同增殖培养基上的增殖系数, 详见表 2。

表 2

不定芽在不同培养基中的增殖效果

Table. 2 Multiplication effect of adventitious bus in different media				
培养基 Media	不定芽外植体数 No. of adventitious bud explants/ 个	增殖后不定芽数 No. of adventitious bus after multiplication/ 个	增殖系数不定芽 Multiplication rate	生长状况 Growth of adventitious bud
MS+6-BA 0.5 mg/L	30	103	3.4b	长势旺
MS+6-BA 1.0 mg/L	30	121	4.0a	长势旺
MS+6-BA1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	30	65	2.2e	长势旺, 基部有愈伤
1/2MS+6-BA 0.5 mg/L	30	92	3.1d	长势弱
1/2MS+6-BA 1.0 mg/L	30	96	3.2c	长势弱
1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	30	64	2.1f	长势弱, 基部愈伤

结果表明: 不同培养基对不定芽的增殖系数从 2.1~4.0 不等, 存在显著差异; 以 MS 为基本培养基的增殖培养基中, 增殖后的不定芽相对较高, 长势相对较旺, 而以 1/2MS 为基本培养基的增殖培养基中, 增殖后的不定芽相对较低, 长势相对较弱; 在基本培养基相同条件下: 6-BA 浓度为 0.5 mg/L 时, 增殖系数较小, 不定芽呈疏生状; 6-BA 浓度为 1.0 mg/L 时, 增殖系数较大, 不定芽呈丛生状(图 1-3); 附加 0.1 mg/L NAA 的培养

基上, 不定芽基部愈伤相对增多, 不定芽长势相对旺盛但是增殖系数有所降低。综合以上, MS+6-BA 1.0 mg/L 为南瓜不定芽适宜的增殖培养基。

2.3 不定芽在不同培养基中生根效果

增殖后的不定芽接入生根培养基中 3 d 左右不定芽基部切口周围开始出现小突起, 7 d 左右, 不定根清晰可见, 21 d 后根系发育完好(图 1-4), 随机选取 30 个不定芽外植体, 统计不定芽生根率及平均生根条数, 详见表 3。

表 3

不定芽在不同培养基中生根效果

Table 3 Rooting effect of adventitious buds in different media					
培养基 Media	不定芽数 Adventitious buds/ 个	生根时间 Date of rooting/d	生根不定芽数 No. of rooted adventitious buds/ 个	生根率 Frequency of rooting/ %	平均生根条数 Roots per adventitious buds/ 条
MS	30	4	8	33.3g	1.5
MS+IBA 0.1 mg/L	30	5	9	30.0h	1.0
MS+IBA 0.2 mg/L	30	5	25	83.3a	1.7
MS+IBA 0.5 mg/L	30	6	12	40.0f	1.5
MS+IBA 1.0 mg/L	30	6	19	63.3b	3.0
1/2MS	30	3	7	23.3i	2.7
1/2MS+IBA 0.1 mg/L	30	4	15	50.0e	1.7
1/2MS+IBA 0.2 mg/L	30	4	18	60.0c	1.2
1/2MS+IBA 0.5 mg/L	30	5	15	50.0e	2.7
1/2MS+IBA 1.0 mg/L	30	5	16	53.3d	2.3

由表 3 可知, 不定芽接种于以 MS 或 1/2MS 为基本培养基的生根培养基中均能获得生根植株, 但不定芽生根率存在一定差异。不定芽接种于以 MS 为基本培养基的生根培养基上, 植株较高、长势旺、幼苗绿; 不定芽接种于以 1/2MS 为基本培养基的生根培养基上, 植株矮小、长势弱、幼苗黄化; 在分别以 1/2MS、MS 为基本培养基的生根培养基上, 当 IBA 浓度(M)不同, 根系生长状况存在一定差异: 当 0<M<0.2 mg/L, 随着 IBA 浓度增加, 不定芽基部愈伤组织逐渐增多, 生根时间相对较晚; 当 M>0.2 mg/L 时, 再生不定根加粗膨化明显, 侧根较少; M=0.2 mg/L 时, 不定芽生根快, 植株长势好(图 1-5), 生根率最高, 达 83.3%, 每株平均生根 1.7 条。综合以上, MS+6-BA 0.2 mg/L 为南瓜不定芽适宜的生根培养基。

2.4 练苗与移栽

间, 并逐渐打开容器封口膜, 使植株接受自然环境条件下的光照、温度、水分的锻炼, 3 d 左右完成练苗过程。浸泡、洗除根系表面的培养基, 将南瓜小植株移栽到装有基质的花盆中进行生长(图 1-6), 28 d 后, 可将这些植株移栽到大田, 最终移栽成活率可达 95%左右。

3 小结与讨论

南瓜不定芽经生根培养后, 将培养容器移出培养

该研究在前人经验的基础上<sup>[27]</sup>, 将南瓜子叶外植体诱导产生的不定芽经增殖、生根培养在短期内获得大量完整再生植株, 并经合理驯化, 保持相当高的大田移植成活率, 实现对特异南瓜种质材料离体快繁的目的。

在南瓜离体快繁过程中, 种子是理想的原始材料, 具有取材方便、容易消毒等优点; 而琼脂冻是南瓜种子无菌萌发的一种理想培养基质, 具有使用经济、制做方便、种子萌发率高、幼苗生长好等特点。南瓜子叶外植体直接诱导不定芽所需时间短, 诱导出的不定芽呈丛生状, 数量多、大小均匀, 是开展南瓜离体快繁的有效途

径。在南瓜离体再生培养过程中,植物生长调节剂不仅决定了外植体的分化方向,还在一定程度上决定着再生体的生理状态,发挥着重要的调节作用。6-BA 对于南瓜子叶外植体的诱导、分化以及不定芽增殖非常必要和高效,而在植物生长调节剂添加过程中进行浓度筛选是很必要的;IBA 添加浓度对南瓜不定芽生根率、根系质量、植株长势影响也很大。

### 参考文献

- [1] 王鸣. 南瓜属——多样性(diversity)之最[J]. 中国西瓜甜瓜, 2002(3): 42-45.
- [2] 李贞霞, 李新峰, 董卫华. 南瓜组织培养体系建立研究[J]. 北方园艺, 2005(3): 75-76.

- [3] 赵建萍. “艾西丝”南瓜子叶的离体培养[J]. 园艺学报, 1999, 23(6): 196-197.
- [4] 刘栓桃, 赵智中, 苗前. 黑籽南瓜的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 459.
- [5] 张卫华, 孙小镭, 王志峰, 等. 南瓜组织培养再生体系的研究[J]. 山东农业科学, 2006(6): 4-6.
- [6] 邹建, 宋明, 汤清林, 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.
- [7] 蔡祖国, 周会萍, 赵一鹏, 等. 抗病南瓜种质 482-2 离体再生体系研究[J]. 广东农业科学, 2007(12): 29-32.

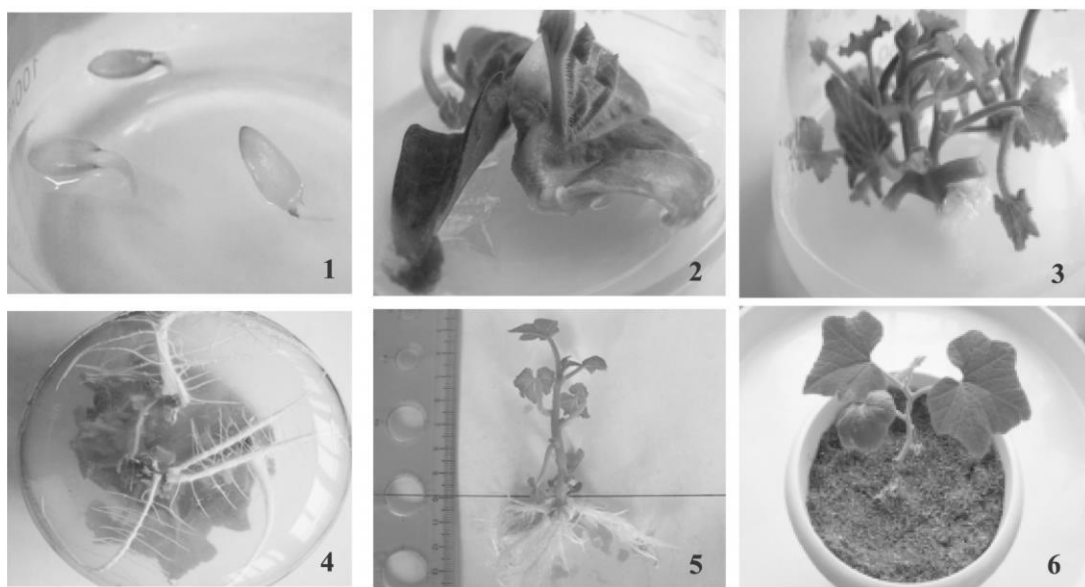


图1 抗病南瓜种质 482-2 离体快繁过程

Fig.1 Process of the disease resistant pumpkin germplasm 482-2 rapid propagation in vitro

注: 1. 种子无菌萌发; 2. 子叶诱导不定芽; 3. 不定芽增殖培养; 4. 不定芽生根培养; 5. 再生的完整植株; 6. 植株移栽。

Note: 1. Seeds germinated in vitro; 2. Adventitious buds regenerated from cotyledons; 3. Buds in multiplication;

4. Buds in rooting culture; 5. A completed plantlet; 6. A transplanted plant.

## Studies on the Rapid Propagation in Vitro of Disease Resistant Pumpkin Germplasm 482-2

CAI Zu-guo<sup>1</sup>, ZHOU Hui-ping<sup>2</sup>, ZHAO Yi-peng<sup>1</sup>, YANG Peng-ming<sup>1</sup>, ZHOU Jun-guo<sup>1</sup>

(1. School of Landscape and Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, China; 2. College of Economic and Management, Xinxiang Institute, Xinxiang, Henan 453003, China)

**Abstract:** Took the seeds of disease resistant pumpkin germplasm 482-2 as the initial material, rapid propagation in vitro was performed by medium selecting. The result showed that the suitable medium for pumpkin adventitious buds regeneration from cotyledon was MS medium supplemented with BA 1.0 mg/L, on the medium of MS supplemented with BA 1.0 mg/L, the multiplication rate was 4.0, and on the rooting medium of MS supplemented with IBA 0.2 mg/L, radiation rate reached 83.3%. After acclimatization and transplantation, the regenerated plantlets' survival rate was 95%.

**Key words:** Pumpkin; Tissue culture; Regeneration in vitro; Rapid propagation in vitro