

不定胚诱导和大量增殖黄瓜不定胚诱导

〔日〕 田部井丰

一、黄瓜组织细胞培养概况

葫芦科蔬菜的组织培养与十字花科、茄科、伞形科等的其它双子叶蔬菜相比,较为困难,而近几年来,在黄瓜和甜瓜的组织培养上有许多报导。最初报导黄瓜再分化的是佐藤等从胚轴诱导的不定芽再生;Malepszy 等把真叶作为外植体诱导产生了不定胚;Rajasekeram 等从胚轴诱导了不定芽和不定胚。后来还有报导把未展开子叶或种籽子叶作为外植体诱导不定芽和不定胚。另外有文章报导了大量增殖的可能性,即把琼脂固体培养基和液体旋转培养基相结合,这样有大量固体使得培养容易操作,并获得了植物体再生率高的培养系。关于原生质体的培养,除了 Orczyk 等还有许多报导,都是通过诱导不定胚进行再分化的。

二、不定胚诱导实例

从原生质体再生不定胚,再分化和操作都比较困难,目前用于大量培养的培养系不适合,下面就组织个体诱导不定胚的再生作一介绍。

1. 固体培养基上的不定胚诱导和植物体再生。这一培养方法是把外植体置于琼脂培养基上,进行一定时间的培养,促进再分化,是最简单的培养方法,叙述如下:
(1)不定胚的诱导:把除去种皮的种籽灭菌后,切掉生长点和幼根部分,把子叶分成两等分作为外植体。培养基为 MS+0.5mg/LBA+20mg/LNAA。培养约 3—4 周后,在形成的愈伤组织上,能看到生长有许多不定胚。整个培养过程要求 25℃ 恒温、2000LX 左右照度、16 小时长日照的培养环境。
(2)不定胚的生长:诱导出来的不定胚,要放在无激素的 MS 培养基上,促进发芽、生长,一直到生育成幼小植株。
(3)锻炼:把生长到具有健全根系、地上部 4—5cm 的幼小植株,移栽到大苗了的蛭石中,开始给予弱光、湿润的环境,然后慢慢适应干燥、强光条件。

2. 液体旋转培养的不定胚诱导。Chee 等开发了代替琼脂培养基的液体振荡培养系,既有大量固体容易操作,又能保持愈伤组织在液体培养基中形成不定胚的能力提高。
(1)初期培养:把无菌条件下播种生长的幼小植物第 1、2 片真叶作为外植体,在 MS+5.M2、4、5—7+4.MBA 的琼脂培养基上诱导愈伤组织,温度保持 26℃,最初给予三周黑暗条件,以后 16 小时长日照下培养,把形成的愈伤组织转入相同激素浓度的液体培养基上进行旋转培养。
(2)继代培养:液体旋转培养是在 125ml 的三角瓶里加入液体培养基 25ml 进行的。旋转培养两周后,添加相同激素浓度的新培养基 6ml,以后每周每次换入 18ml 的新培养基。另外,每 1—2 周把培养物过 520 目筛网,剔除大的细胞团。
(3)再分化:把液体培养的细胞团,用含活性炭 0.5% 的 MS 液体培养基清洗一次,然后用不含活性炭的 MS 液体培养基清洗两次,在无激素的 MS 液体培养基上旋转培养,诱导不定胚。
(4)不定胚的生长:把诱导的正常不定胚,转入无激素的 MS 琼脂培养基上,再把生长到 5cm 左右的幼小植株移植锻炼。

3. 长期液体旋转培养获得再分化基础上的不定芽和不定胚的诱导比较。这里主要介绍不定胚诱导法。去年已经有人报导了不定芽的再分化过程,并获得了畸形苗和再分化后的生育结果,介绍了关于不定芽诱导法。
(1)初期培养:把无菌条件下发芽的黄瓜第一片真叶作为外植体,用 MS+5.M2、4—D+5.MBA+0.1% 防落素+3% 蔗糖的琼脂培养基,诱导愈伤组织,把诱导出来的愈伤组织 4g 转入注有 40ml 相同激素浓度液体培养基的 250ml 三角瓶中,以 110rpm 旋转培养,第三天过 1.125mm 的不锈钢筛网,剔除大细胞团。培养温度保持 25℃。
(2)继代培养:把每培养一周的细胞悬液 10ml 转入 40ml 的新培养基中,即 MS+5.M2、4—D+5.MBA 培养基,培养一周后,换成 MS+5.MNAA+5.MBA 培

培养基,继代三次,培养三周,把这作为一个周期,重复进行。(3)再分化:在MS+5.0MNA+5.0MBAA的条件下培养后的第二周,把悬浮细胞移植到再分化培养基中,即转入MS+0.5MKT+0.1MIAA+2%蔗糖培养基中,大约第10天就开始形成不定芽,再培养12天以后,转入无激素MS培养基中,促进不定芽生长,切取生长成形的不定芽,再次插入无激素的MS培养基中,诱导不定根。

三、小结

至今已有许多关于黄瓜再分化的报导,特别是液体振荡培养的成功,表明了用组织培养进行黄瓜大量增殖是可能的,但要把这一大量增殖技术应用到实际中,仍有许多问题应该解决,如再分化的品种间差异,即使再分化能力低的品种也能利用的、优良的、再分能高的培养系的确定、再分化个体的生育整齐度、抑制变异以及经济性等等,有必要进一步研究。

译自:バイオホルテイ⑤

译者:山西省农科院蔬菜所 马洛丽

(参考文献13篇略 太原市南郊农科北路6号
030031)

要富,怎么办?

请订阅湖南省优秀科技期刊 《农家致富顾问》杂志

她将为您开辟致富门路,传播致富新经验,推广致富新技术,帮助您经营决策、预测市场和推销产品,使您早日脱贫致富、富上加富。她辟有政策法规、致富门路、致富经验、经营参谋、良种荟萃、作物种植、林果栽培、蔬菜栽培、食用菌园地、特种作物、畜禽养殖、兽医防疫、蜂蜜园地、特种经济动物、水产养殖、乡村工业、市场动态、编读往来、文娱窗、咨询台、牵线搭桥和供与求等栏目。月刊,每期定价1.4元,半年8.4元,全年16.8元。邮发代号:42-84,全国统一刊号:CN43-1056/S。全国各地邮局(所)均可订阅。如漏订可随时汇款向本杂志社订阅,但每期需加邮政建设费2角。

杂志社地址:长沙市八一西路27号。

邮编:410001 电话:(0731)446961。

非化学方法防治害虫

P. И. ФЛОПЦЕВА

农业技术和生物技术的非化学方法防治甘蓝害虫在世界上取得了愈来愈大的普及和推广。科罗拉多州(美国)大学昆虫学专家们已查明,如果在甘蓝收获后的地上种植不属于十字花科作物的谷类或者粮用豆类,多年生牧草或其它作物时,由于缺乏适宜的食用作物,这就会引起甘蓝越冬害虫的基本死亡。甘蓝地与任何一种十字花科作物地的空间隔离在这方面也很重要。在这种情况下,甘蓝种蝇危害程度降低42—78%(D. Andow, A. Nicholson, 1986年)。

很遗憾,没有抗综合性害虫的甘蓝品种。目前暂时培育的是一些害虫侵袭程度比较低的品种。例如,日本宫崎大学的专家们指出,在叶片上具有致密蜡质层的卷心菜品种,在菜蛾产卵期可驱避80%以上的成虫(H. Vematsu, A. Sakanoshita, 1989年)。

近年来在德国、瑞士、澳大利亚、丹麦及其它一些国家广泛应用的用于地面覆盖的合成薄膜有效地预防了甘蓝最有害的虫害。瑞士的Tegum A. G公司(在布恩费尔登城)制成了用于防治蔬菜作物,特别是防治甘蓝种蝇的穿孔合成薄膜。防治效果为98—100%(A. Haseli, P. Konrad, 1987年)。这种方法完全排除了甘蓝使用杀虫剂进行处理。这种情况下的产量超过对照1倍。

很久以来众所周知的利用除草植物做为植保方法愈来愈大地引起了重视。新西兰在防治甘蓝种蝇上,在甘蓝行间安排种植苜蓿,成功地利用苜蓿防治甘蓝种蝇(G. I. Kenny, R. B. Chapman, 1988年)。

加利福尼亚大学专家们已查明,三叶草是对甘蓝有害昆虫的最适合的除虫植物;在与三叶草相邻的花椰菜和卷心菜的植株上出现害虫数量最低而有益昆虫(食虫步行虫、隐翅虫、草蛉、瓢虫等)数量最多。在行间种植三叶草的花椰菜地比间种禾本科牧草的花椰菜地,十字花科跳甲密度减少到 $\frac{2}{5}-\frac{1}{3}$,甘蓝种蝇减少到 $\frac{2}{7}-\frac{1}{5}$,菜粉蝶减少到 $\frac{1}{2}$ (D. Andow, A. Nicholson, 1986年)。

芬兰在花椰菜的近处安排种植金盏花和小白菜,成功地防治了花椰菜的油菜后木甲虫。在这种情况下产量损失由(无除草植物)30%降到2—5%(H. M. Hokkanen, 1988年)。

美国的专家们已查明,间种苜蓿、箭舌豌豆、豆类作

北方园艺 (总92) 29