

doi:10.11937/bfyy.20165033

## 印度南瓜愈伤组织诱导及其离体再生培养

鲁晓晓, 郭威涛, 周俊国, 江毅, 姜立娜, 陈学进

(河南科技学院 园艺园林学院, 河南 新乡 453003)

**摘要:**以印度南瓜“北观”幼苗的下胚轴、子叶、真叶、茎段为外植体,采用离体再生方法,研究了不同种类激素对愈伤组织发育及离体再生的影响,以期建立高效的南瓜再生体系奠定基础。结果表明:以印度南瓜幼苗的下胚轴、子叶、真叶、茎段为外植体均可诱导出愈伤组织,其中子叶和茎段较易诱导出愈伤组织;愈伤组织在  $MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA}$ (或  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{KT}$ ) +  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$  培养基上进行继代培养效果较好,可获得质量较好的愈伤组织;在诱导愈伤组织再生培养中,通过不同激素配比处理外植体均未分化出不定芽,仅部分分化出不定根。

**关键词:**印度南瓜;外植体;愈伤组织;离体再生

**中图分类号:**S 642.103.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2017)15-0042-06

印度南瓜(*Cucurbita maxima* Duch.)属葫芦科南瓜属一年蔓生草本植物,是主要栽培种之一<sup>[1]</sup>,作为蔬菜在世界范围内广泛种植,具有较高的营养保健价值和经济价值<sup>[2-4]</sup>。因其根系发达,生长势强,抗病抗逆性强,部分资源亦作为瓜类砧木使用。近年来,随着瓜类生产面积的不断扩大和生态环境的恶化,筛选出抗逆性强的新品种已成为当前主要的育种目标,而现有的南瓜种质资源已经很难完全满足新品种选育的不同需求。传统的育种方法周期长、难度大、遗传性状难以稳定,越来越多的育种工作者借助基因工程进行种质创新,提高南瓜的抗逆性。建立高效稳定的再

生体系是开展南瓜基因工程的前提,虽然国内外有关南瓜建立再生体系的研究已有报道<sup>[5-11]</sup>,但大多数是通过以子叶节为外植体的器官再生途径,获得的不定芽大多数都是由已经分化好的腋芽(隐芽)形成<sup>[12]</sup>,而以叶片(叶盘)、下胚轴、胚根、茎尖等部位的外植体获得再生不定芽频率极低,甚至不能再生。植物愈伤组织是未分化的具有分生能力的原始细胞团,通过愈伤组织诱导不定芽进而开展遗传转化可高效进行遗传改良,通过该途径已在番茄<sup>[13]</sup>、猕猴桃<sup>[14]</sup>、月季<sup>[15]</sup>等植物取得成功,但在南瓜的遗传转化工作中尚鲜见报道。该试验以印度南瓜“北观”自交系为试材,通过不同外植体愈伤组织的诱导及愈伤组织继代培养条件的研究,探索愈伤组织再生体系的建立,以期建立南瓜遗传转化工作奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

供试印度南瓜“北观”系河南科技学院南瓜课题组经15年连续单株自交纯化的自交系。其根系发达、生长势强、抗病抗逆性强,试验用种子是2015年的自交种。

**第一作者简介:**鲁晓晓(1991-),女,硕士研究生,研究方向为蔬菜种质资源与育种。E-mail: luxiaoxiao914@163.com.

**责任作者:**周俊国(1967-),男,博士,教授,现主要从事园艺植物育种与蔬菜栽培生理等研究工作。E-mail: jun-guo1020@163.com.

**基金项目:**国家农业科技成果转化资金资助项目(2013GB2D000301);河南科技学院2014年自然科学重大培育资助项目(ZD2014003)。

**收稿日期:**2017-02-28

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 印度南瓜无菌苗的获得

挑选籽粒饱满的种子,剥去种壳,在超净工作台上先用 75%酒精消毒 30 s,再用 0.1%升汞消毒 9 min,无菌水冲洗 3~4 次,最后用无菌水浸种 5 min 后,置于含有用无菌水浸湿的滤纸桥的培养瓶中,28℃黑暗培养进行催芽。待胚根长 0.5 cm 左右时,将发芽种子转接到 MS 基本培养基(附加 30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖,6 g·L<sup>-1</sup>琼脂粉,pH 为 6.0)中,先进行暗培养 24 h,再进行光照培养,光周期 16 h·d<sup>-1</sup>,光照强度 2 000~3 000 lx,温度(26±1)℃。

### 1.2.2 印度南瓜幼苗不同外植体的制备

当无菌苗子叶微展、颜色刚转绿时切取子叶,去掉子叶叶缘、叶柄,垂直主脉横切为二,每片子叶得到 2 个子叶外植体,同时自子叶下约 2 mm 处的下胚轴切取约 5 mm 长,制成下胚轴外植体。当无菌苗的第二片真叶长至一元硬币大小时(2 周左右的苗龄),切取第二片真叶,去掉叶片叶缘,将其切成约 5 mm×5 mm 大小的叶块作为真叶外植体;当无菌苗刚长出第二节茎段时,切取茎段制成约 5 mm 长的茎段外植体。将制备好的子叶、真叶外植体按生物学体位叶背向下平放到 MS+2 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA 的愈伤组织诱导培养基上,下胚轴、茎段外植体平放到培养基上。每瓶(250 mL 的三角瓶,培养基 40 mL)接 5~6 个外植体(子叶、下胚轴外植体),每皿(直径 9 cm 一次性培养皿)接 10 个左右外植体(叶片、茎段外植体),每处理 60 个外植体,设 3 次重复。接种后,置于培养室中培养,观察不同外植体的愈伤组织诱导情况,培养 30 d 后统计不同外植体的愈伤组织诱导率。愈伤组织诱导率(%)=诱导愈伤的外植体数/接种总外植体数×100。

### 1.2.3 印度南瓜愈伤组织的继代培养

将培养 30 d 的子叶产生的愈伤组织切成黄豆粒大小,转接到含有不同的种类激素的培养基上进行继代培养。以 MS+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA 为基础培养基,分别添加不同浓度的 6-BA (0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>),KT(1.0、2.0、3.0 mg·L<sup>-1</sup>),以基础培养基为对照(CK)。25 d 后观察不同培养基上印度南瓜愈伤组织生长情况。

### 1.2.4 印度南瓜愈伤组织的再生培养

将带有愈伤组织的不同外植体(子叶、下胚轴、真叶、茎段)和从外植体上切取下来的愈伤组织块分别转接到不同激素种类和浓度配比的培养基上以诱导愈伤组织的再生。以 MS 为基本培养基,以不同浓度添加不同种类的激素,共有 7 个激素组合,58 个处理。接种后观察印度南瓜愈伤组织分化再生情况。培养基中添加的激素及浓度的配比组合见表 1。

表 1 印度南瓜愈伤组织再分化  
培养基的激素配比处理

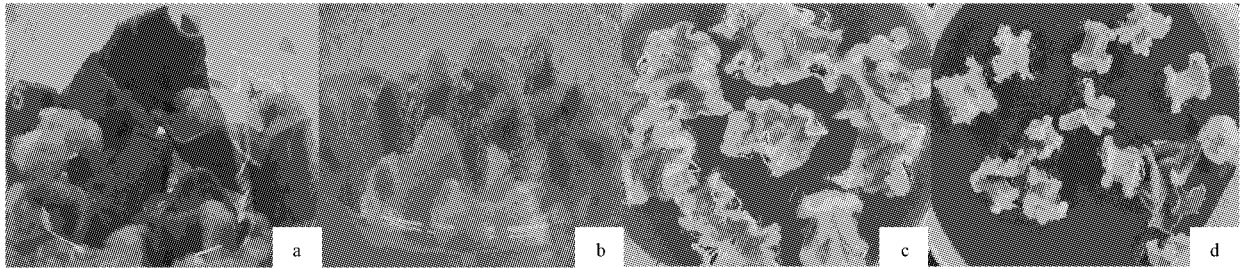
Table 1 Treatment of redifferentiation culture  
medium of *C. maxima* Duch. callus

序号 No.	激素配比组合处理 Treatment of hormone proportion
1	6-BA(0.3,0.5 mg·L <sup>-1</sup> )+ NAA(0.3,0.5,1.0 mg·L <sup>-1</sup> )
2	6-BA(0.3,0.5 mg·L <sup>-1</sup> )+ 2,4-D(0.3,0.5,1.0 mg·L <sup>-1</sup> )
3	KT(0.3,0.5,1.0 mg·L <sup>-1</sup> )+ NAA (0.3,0.5,1.0 mg·L <sup>-1</sup> )
4	KT(0.3,0.5,1.0 mg·L <sup>-1</sup> )+ 2,4-D(0.3,0.5,1.0 mg·L <sup>-1</sup> )
5	ZT(0.3,0.5,1.0,2.0 mg·L <sup>-1</sup> )+ NAA(0.3,0.5,1.0 mg·L <sup>-1</sup> )
6	ZT(0.3,0.5,1.0,2.0 mg·L <sup>-1</sup> )+ 2,4-D(0.3,0.5,1.0 mg·L <sup>-1</sup> )
7	6-BA(1.0 mg·L <sup>-1</sup> )+ AgNO <sub>3</sub> (2.0,4.0,6.0,8.0 mg·L <sup>-1</sup> )

## 2 结果与分析

### 2.1 印度南瓜幼苗不同外植体愈伤组织的诱导

印度南瓜幼苗的不同外植体接种在相同的培养基中,接种 3 d 后外植体开始膨大,其中子叶和真叶膨大的速度较快,约为原来的 4~5 倍,子叶呈现凹凸膨胀状,向下表皮卷曲。培养 30 d 后,子叶外植体的切口处有愈伤组织出现,在接触培养基的部位,愈伤组织生长迅速,质地紧实,有淡绿色突起,但其周围有少量白色絮状组织;真叶外植体的叶脉膨大,在叶脉的切口处形成淡黄色愈伤组织,而在没有叶脉的边缘形成少量白色絮状组织,在叶柄着生的部位有不定根生成;茎段外植体在其切口处膨大形成质地疏松、淡绿色愈伤组织;下胚轴外植体在其形态学下端膨大产生愈伤组织,呈现疏松,淡绿色(图 1)。由表 2 可知,不同外植体均可诱导出愈伤组织,但愈伤组织诱导率存在一定差异,茎段和子叶外植体的愈伤组织诱导率显著较高,下胚轴次之,真叶的愈伤组织诱导率较低,只有 53.89%,但从愈伤组织的质量来看,子叶外植体的愈伤组织紧实,有淡绿色突起,



注:a. 子叶;b. 下胚轴;c. 真叶;d. 茎段。

Note; a. Cotyledon; b. Hypocotyl; c. True leaf; d. Stem segment.

图1 印度南瓜幼苗不同外植体愈伤组织的诱导

Fig. 1 Callus induction of different explants types from *C. maxima* Duch. seedlings

表2

印度南瓜幼苗不同外植体的愈伤组织诱导率

Table 2

Callus induction rate of different explants types from *C. maxima* Duch. seedlings

外植体类型 Explants type	外植体数 Number of explants/个	愈伤组织诱导率 Callus induction rate/%
子叶 Cotyledon	60	98.33a
下胚轴 Hypocotyl	60	90.00b
真叶 True leaf	60	53.89c
茎段 Stem segment	60	100.00a

注:不同小写字母表示 0.05 水平显著差异。

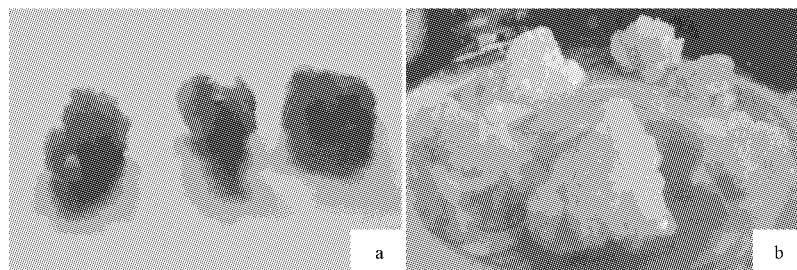
Note; Different lowercase letters show significantly different at 0.05 level.

因此,不同外植体诱导愈伤组织的效果为子叶>茎段>下胚轴>真叶。

## 2.2 不同种类激素对印度南瓜愈伤组织继代培养的影响

将通过子叶外植体获得的愈伤组织转接到添加不同种类激素的培养基上进行继代培养,7 d后愈伤组织明显膨大,70%的愈伤组织能再生出新的愈伤组织团,有的呈绿色或淡绿色,质地紧

实,有的呈淡黄色,质地疏松(图2)。但对照的愈伤组织生长缓慢,呈淡黄色,质地疏松且脆。添加6-BA或KT的处理中,随着添加6-BA或KT浓度的增加,愈伤组织生长较快,但愈伤组织的质量随激素浓度的增加有明显的不同,其中添加 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA和 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  KT处理的继代培养效果较好,愈伤组织形成的较多,生长较快,呈淡绿色,质地较紧实,绿色芽点较多(表3)。



注:a. 带绿色芽点的愈伤组织;b. 淡黄色的愈伤组织。

Note; a. Callus with green bud points; b. Flavescent callus.

图2 印度南瓜愈伤组织继代培养中不同发育状况的愈伤组织

Fig. 2 Different callus in callus subculture of *C. maxima* Duch.

表 3

不同种类激素比对印度南瓜愈伤组织继代培养的影响

Table 3

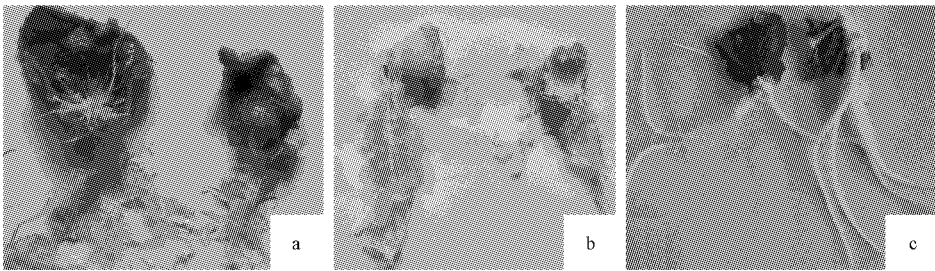
Effects of different hormone combinations on the callus subculture of *C. maxima* Duch.

处理 Treatment	愈伤组织的生长状况 Growth status of callus
MS+0.2 mg · L <sup>-1</sup> NAA(对照)	前期生长缓慢,淡黄色,疏松且脆,无绿色芽点,后期变黄
MS+0.2 mg · L <sup>-1</sup> NAA+0.5 mg · L <sup>-1</sup> 6-BA	有愈伤组织形成,生长较慢,淡黄色,疏松且脆,绿色芽点少
MS+0.2 mg · L <sup>-1</sup> NAA+1.0 mg · L <sup>-1</sup> 6-BA	形成较多愈伤组织,淡绿色,质地较紧实,绿色芽点多
MS+0.2 mg · L <sup>-1</sup> NAA+2.0 mg · L <sup>-1</sup> 6-BA	有愈伤组织形成,淡绿色,质地紧实,绿色芽点少
MS+0.2 mg · L <sup>-1</sup> NAA+1.0 mg · L <sup>-1</sup> KT	有愈伤组织形成,生长较慢,淡绿色,质地疏松
MS+0.2 mg · L <sup>-1</sup> NAA+2.0 mg · L <sup>-1</sup> KT	形成较多愈伤组织,生长较快,旺盛,黄绿色,较紧实,绿色芽点多
MS+0.2 mg · L <sup>-1</sup> NAA+3.0 mg · L <sup>-1</sup> KT	有愈伤组织形成,生长较快,淡黄色,较紧实,个别有绿色芽点

2.3 印度南瓜愈伤组织的再生培养

为使南瓜愈伤组织分化形成不定芽,继而发育成完整的小植株,对南瓜愈伤组织再生的培养条件进行了探索。在培养基中添加不同激素(6-BA、KT、ZT、NAA、2,4-D)和调节浓度配比来诱导愈伤组织的再生,但均未能诱导出不定芽。对带有愈伤组织的不同外植体的培养,真叶外植体

在其叶柄着生部位有不定根生成,30%左右子叶和下胚轴外植体在其形态学下端有不定根生成(图3),其它愈伤组织逐渐停止生长,黄化死亡。愈伤组织继代培养后,将含有绿色芽点的愈伤组织转接到添加有不同浓度的 AgNO<sub>3</sub> 培养基中,也未能诱导出不定芽。因此,印度南瓜通过愈伤组织再生出小植株的诱导途径较困难。



注:a.子叶外植体;b.下胚轴外植体;c.真叶外植体。  
Note:a. Cotyledon explant;b. Hypocotyl explant;c. True leaf explant.

图 3 印度南瓜不同外植体培养后形成的不定根

Fig. 3 Adventitious root formation after different explants culture of *C. maxima* Duch.

3 结论与讨论

该试验以印度南瓜“北观”幼苗的子叶、下胚轴、真叶、茎段为外植体诱导愈伤组织,比较了愈伤组织的生长情况及愈伤组织诱导率,表明以印度南瓜的子叶、下胚轴、叶片、茎段为外植体均可诱导出愈伤组织,而子叶和茎段是诱导愈伤组织的最佳外植体。这一结果与李贞霞等<sup>[5]</sup>、张卫华等<sup>[16]</sup>的研究结果相似。

植物激素是愈伤组织生长分化的重要因素,该试验将愈伤组织转接在添加不同种类激素的培养基上进行继代培养,添加 1.0 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA 和 2.0 mg · L<sup>-1</sup> KT 培养基对愈伤组织的继代培养效果较好。邹克琴等<sup>[17]</sup>将“栗冠”南瓜愈伤组织

转接到 MS +1.0 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.1 mg · L<sup>-1</sup> NAA 培养基中继代培养效果较好,这与该研究结果相似。

为了通过愈伤组织再生出小植株,该试验借鉴了前人的经验对愈伤组织进行诱导,但均未获得再生植株。在前人的研究中发现,6-BA 和 KT 是瓜类愈伤组织和不定芽诱导、继代培养过程中的重要激素。如张玉园<sup>[10]</sup>研究 MS+1.0 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA是诱导印度南瓜“北观”子叶节形成不定芽的最适培养基;王爱玲等<sup>[18]</sup>在诱导甜瓜品种“黄醉仙”下胚轴愈伤组织时,MS 培养基中添加 1.0 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA 和 0.5 mg · L<sup>-1</sup> IAA 是诱导下胚轴愈伤组织的最适培养基;徐恒骥<sup>[19]</sup>认为 KT 的添加对黑籽南瓜子叶节不定芽的发生是必需的;张加

一等<sup>[11]</sup>发现,南瓜子叶节诱导出的不定芽在MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.02 mg·L<sup>-1</sup> IBA上继代扩增效果较好。该试验表明6-BA和KT是印度南瓜愈伤组织诱导、继代过程中不可或缺的激素。在该试验中,印度南瓜愈伤组织再生中使用不同激素种类及配比的6-BA、KT、ZT、NAA和2,4-D,均未能分化出不定芽,可能未筛选到适宜激素配比,还可能与“北观”自身的基因型有关,因为植物不同基因型对植物激素种类和浓度的敏感性有关,基因型不同其植物的内源激素也存在一定的差异<sup>[20]</sup>,而愈伤组织的诱导与再分化是内源激素与外源激素共同作用的结果。此外,也有研究表明,在培养基中添加一定量的AgNO<sub>3</sub>可以提高胚状体的诱导率和芽的再生率<sup>[21-23]</sup>,但该试验却未能成功使愈伤组织再生出不定芽或胚状体,这也可能与基因型有关。愈伤组织再分化(形态的发生)受外植体基因型、激素、苗龄<sup>[24]</sup>、光照<sup>[25-27]</sup>等多种因素的调控,是一个复杂的生长过程,因此对于印度南瓜愈伤组织再生还需要进一步研究探索。

## 参考文献

- [1] 林德佩. 南瓜植物的起源和分类[J]. 中国西瓜甜瓜, 2000(1): 36-38.
- [2] 刘洋, 屈淑平, 崔崇士. 南瓜营养品质与功能成分研究现状与展望[J]. 中国瓜菜, 2006(2): 27-29.
- [3] 盛英, 郭琪. 南瓜多糖的提取及其药理作用研究概况[J]. 天津药学, 2003(2): 58-60.
- [4] 黄黎慧, 黄群, 于美娟. 南瓜的营养保健价值及产品开发[J]. 现代食品科技, 2005(3): 176-179.
- [5] 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.
- [6] HAN J S. *In vitro* regeneration from cotyledon explants in figleaf gourd (*Cucurbita ficifolia* Bouche.), a rootstock for Cucurbitaceae[J]. Plant Biotechnol Rep, 2010(4): 101-107.
- [7] LEE Y K, CHUNG W, EZURA H. Efficient plant regeneration via organogenesis in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.)[J]. Plant science, 2003, 164: 413-418.
- [8] ANANTHAKRISHNAN G, XIA X, ELMAN C, et al. Shoot production in squash (*Cucurbita pepo*) by *in vitro* organogenesis[J]. Plant Cell Reports, 2003, 21: 739-746.
- [9] YOSHIHIKO N, YUTAKA T. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) and Kabocha squash (*Cucurbita moschata* Duch)[J]. Methods Mol Biol, 2015, 1223: 299-310.
- [10] 张玉园. 南瓜子叶节离体再生体系的构建与耐盐 *StNHX1* 基因的转化[D]. 新乡: 河南科技学院, 2015.
- [11] 张加一, 刘霞, 胡芳芳, 等. 南瓜子叶节再生体系的建立[J]. 中国瓜菜, 2016(5): 5-7, 10.
- [12] CURUK S, ELMAN C, SCHLARMAN E, et al. A novel pathway for rapid shoot regeneration from the proximal zone of the hypocotyl of melon (*Cucumis melon* L.)[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2002, 38: 260-267.
- [13] 蒋素华, 顾东亚, 崔波, 等. 番茄真叶愈伤组织诱导及植株再生研究[J]. 北方园艺, 2009(10): 113-114.
- [14] 吴秀华, 张艳玲, 周月, 等. ‘海沃德’猕猴桃叶片高频直接再生体系的建立[J]. 植物生理学报, 2013(8): 759-763.
- [15] 高莉萍, 包满珠. 月季‘萨蔓莎’愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 园艺学报, 2005(3): 534-536.
- [16] 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.
- [17] 邹克琴, 张拥军, 楼纪东, 等. 南瓜疏松愈伤组织诱导的研究[J]. 北方园艺, 2007(12): 201-203.
- [18] 王爱玲, 张敏, 廖新福, 等. 甜瓜‘黄醉仙’下胚轴再生体系的初步建立[J]. 北方园艺, 2013(12): 100-103.
- [19] 徐恒骥. KT和NAA对黑籽南瓜器官离体再生的影响[J]. 北方园艺, 2007(4): 200-202.
- [20] 李代丽, 康向阳. 植物愈伤组织培养中内外源激素效应的研究现状与展望[J]. 生物技术通讯, 2007(3): 546-548.
- [21] MOHIUDDIN A K M, CHOWDHURY M K U, ABDUL-LAH Z C, et al. Influence of silver nitrate (ethylene inhibitor) on cucumber *in vitro* shoot regeneration[J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 1997, 51: 75-78.
- [22] 赵巧阳, 赖钟雄. 硝酸银在离体培养和转化中的作用及其机理[J]. 亚热带农业研究, 2008(1): 62-66.
- [23] 刘娟, 汤浩茹, 王小蓉, 等. 硝酸银在植物离体培养中的应用之研究进展[J]. 中国农学通报, 2007(10): 400-406.
- [24] 张亚锋, 曹家树, 武涛. 南瓜属植物再生体系的建立及其应用[J]. 植物生理学通讯, 2007(3): 599-604.
- [25] 倪德祥. 光在植物组织培养中的调控作用[J]. 自然杂志, 1986(3): 35-40.
- [26] 王维荣, 王咏冬, 欧阳光察, 等. 光质对黄瓜及番茄愈伤组织培养中分化和有关酶的影响[J]. 植物生理学报, 1991(2): 118-124.
- [27] CURUK S, ANANTHAKRISHNAN G, SINGER S, et al. Regeneration *in vitro* from the hypocotyl of *Cucumis* species produces almost exclusively diploid shoots, and does not require light[J]. Hort Science, 2003, 38(1): 105-109.

## Induction of Callus and Regeneration of *Cucurbita maxima* Duch. *in vitro*

LU Xiaoxiao, GUO Weitao, ZHOU Junguo, JIANG Yi, JIANG Lina, CHEN Xuejin

(School of Horticulture Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003)

doi:10.11937/bfy.20164665

## 双断根嫁接对茄子幼苗生长的影响

王 波<sup>1</sup>, 刘 舒 雅<sup>1</sup>, 李 阳 丹<sup>1</sup>, 陈 昊<sup>1</sup>, 张 修 国<sup>2</sup>, 蒋 欣 梅<sup>1</sup>

(1. 东北农业大学 农业部东北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030;

2. 山东农业大学 植物保护学院, 山东 泰安 271018)

**摘 要:**以“托鲁巴姆”为茄子砧木,以“沈茄一号”为接穗,采用双断根套管方式进行嫁接,研究了双断根嫁接方法对茄子幼苗生长的影响。结果表明:在茄子双断根嫁接法和常规砧木不断根嫁接在茄子嫁接苗的嫁接成活率、株高、茎粗、节间长及壮苗指数均差异不显著;但茄子双断根嫁接法促进了茄子嫁接苗的根系发育,提高了壮苗指数,而且茄子砧木根系再生初期根系活力最高,随着时间的增加有降低趋势。

**关键词:**茄子;双断根嫁接;生长;壮苗指数

**中图分类号:**S 641.116 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2017)15-0047-04

随着设施农业的不断发展,茄子栽培面积也逐年增大。常年连作导致日光温室茄子秋延后与

越冬茬栽培土传病害普遍发生,严重影响茄子的产量及经济效益。也导致了土壤养分损失严重及土壤结构改变<sup>[1]</sup>。

**第一作者简介:**王波(1991-),男,硕士研究生,研究方向为蔬菜栽培与生理。E-mail:1044039470@qq.com.

**责任作者:**蒋欣梅(1968-),女,硕士,副研究员,硕士生导师,现主要从事蔬菜栽培与生理等研究工作。E-mail:jxm0917@163.com.

**基金项目:**国家大宗蔬菜产业技术体系专项资助项目(CARS-25-C-08);黑龙江省应用技术与开发计划重大资助项目(GA15B104-2)。

**收稿日期:**2017-02-03

嫁接育苗可以有效地防止蔬菜土传病害的发生,能够消除连作障碍,并且嫁接后的秧苗抗逆性和产量均能有效提高<sup>[2]</sup>。但有研究表明瓜类在嫁接后管理阶段由于高温、高湿、弱光环境中极易使幼苗徒长<sup>[3]</sup>。双断根嫁接方法是将砧木和接穗的根部同时切断,然后通过套管嫁接方式或劈接方式将砧木与接穗结合在一起的嫁接方法。双断根嫁接在黄瓜、甜瓜上已有应用,可有效防止嫁接

**Abstract:** The hypocotyls, cotyledons, true leaves and stem segments of *C. maxima* ‘Beiguan’ inbred seedlings were used as explants, regeneration *in vitro* method was used to study the effects of different kinds of hormones on the development of callus in subculture, and to explore the regeneration of callus *in vitro* respectively for constructing high efficient regeneration system by callus way of pumpkin. The results showed that the callus could be induced from the hypocotyls, cotyledons, true leaves and stem segments of *C. maxima* ‘Beiguan’ inbred seedlings, and cotyledons and stem as explants were easier to induce callus than hypocotyls and true leaves. MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA (or 2.0 mg·L<sup>-1</sup> KT)+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA medium was better in callus subculture by obtaining better quality of the callus. In the induction of callus regeneration culture, none the adventitious bud was inducted from all callus explants with different hormone combinations, only part of the callus differentiated into adventitious roots.

**Keywords:** *Cucurbita maxima*; explants; callus; regeneration