

佛手瓜下胚轴离体培养及再生植株

王小素 李步勋 王广东

(西北农业大学园艺系, 陕西杨陵 712100)

摘要 对佛手瓜下胚轴再生植株、试管苗移栽及大田定植进行了试验, 结果表明, 在 MS+IAA 0.1 mg/L+BA 1.0 mg/L+LH 200 mg/L 培养基上容易形成下胚轴愈伤组织; 愈伤组织分化芽的培养基为 MS+IAA 0.5 mg/L+BA 0.5 mg/L, 诱导分化率可达 57.5%; 顶芽和带腋芽茎段生根的培养基分别为 MS+IAA 1.0 mg/L 和 $\frac{1}{2}$ MS+IAA 0.3 mg/L, 生根率分别为 81.8% 和 83.3%; 移栽培养土用土: 砂: 粪=3: 2: 1 的灭菌土, 幼苗成活率达 75%; 大田定植, 平均单株结果 88.43 个, 平均单果重 240.23 g.

关键词 佛手瓜, 下胚轴, 离体培养, 再生植株, 繁殖系数

中图分类号 S642.903.5

佛手瓜近年来在北方已引种成功, 但由于繁殖系数低, 成本高, 使推广受到一定限制^[1]。利用组织培养技术可大大提高繁殖系数^[2~4]。李保民等^[5]以整胚为外植体已培养出再生植株。而以下胚轴为外植体的组织培养尚未见成功的报道。本试验对佛手瓜下胚轴愈伤组织诱导、器官分化、试管苗移栽及大田定植进行了研究, 对提高佛手瓜繁殖系数, 降低育苗成本及大面积推广具有重要意义。

1 材料与方方法

本试验由下胚轴离体培养到成苗于 1993 年 11 月至 1994 年 6 月进行, 1994 年底到 1995 年秋末又进行了第 2 次试验并定植于大田观察结果情况。

1.1 外植体获得

在无菌操作下, 取出佛手瓜的整胚, 用 0.1% HgCl₂ 消毒 8~10 min, 再用无菌水冲洗 5 次。切取下胚轴成 0.5 cm³ 外植体备用。每个下胚轴切成 6 块外植体。

1.2 培养基筛选

采用 MS 为基本培养基, 添加蔗糖 3%, 琼脂 0.7%~0.8%, pH 调至 5.5~6.0, 培养基及其他器物在 121℃ 下灭菌 20 min。各阶段培养基设置见表 1。

表 1 佛手瓜各阶段组织培养培养基设置

培养基代号	愈伤组织诱导 (A)	愈伤组织分化 (B)	顶芽生根诱导 (C)	带腋芽茎段生根诱导 (C)
1	MS+6 BA1.0+ IAA0.1+LH200	MS+IAA0.5	1/2MS	1/2MS
2		MS+IAA1.0	1/2MS+IAA0.1	1/2MS+IAA0.1
3		MS+IAA0.5+BA0.5	1/2MS+IAA0.3	1/2MS+IAA0.3
4		MS+IAA1.0+BA0.5	1/2MS+IAA0.5	1/2MS+IAA0.5
5			MS+IAA1.0	

收稿日期, 1996-06-05

1.3 培养条件

培养室温度 $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 光照强度约为 $2\ 000\ \text{lx}$, 每天光照 12 h.

1.4 再生植株移栽试验^[5,6]

移栽前再生植株锻炼 4~5 d, 即将培养试管苗的三角瓶封口膜去掉, 放置在室温下 4~5 d, 并每日向瓶中滴加 2~3 滴蒸馏水。用镊子将苗小心取出, 用自来水冲洗掉粘附在苗上的培养基, 再用 0.1% 代森锰锌浸根 3~5 min, 栽于不同组份的培养土中(培养土组成见表 4), 浇足水分。在植株上罩一罐头瓶以保持湿度(见附图 1), 2 d 后逐渐揭瓶通风, 适量喷雾。光照开始为 $2\ 000\ \text{lx}$, 以后逐渐增至 $4\ 000\ \text{lx}$ 为宜。

1.5 大田定植

将成活的再生植株移置盖小拱棚的苗床中, 管理同其他蔬菜育苗管理, 待苗长出 4~5 片新叶, 于 5 月初定植入大田, 立即遮阴, 缓苗后加强田间管理。

1.6 调查数据及指标

接种后 28 d 调查形成愈伤组织天数、质地、色泽、出愈率及分化情况。愈伤组织接种 35 d 后调查其分化率及有效芽百分率^[5]。分化率指愈伤组织分化的不定芽总数占愈伤组织总数的百分率。有效芽指高于 1 cm 的不定芽。有效芽百分率 = 有效芽总数 / 分化的总芽数 $\times 100\%$ 。

生根培养: 在接种后 28 d 调查生根数、成苗率。

移栽成活率: 移栽后 21 d 苗子长出新叶时调查。移栽大田后调查成活率及结果数。

繁殖系数: 佛手瓜的一个下胚轴在一个培养周期(从愈伤组织到成苗 80~90 d)内形成再生植株的个数。

2 结果分析

2.1 愈伤组织诱导

下胚轴愈伤组织的诱导, 在 A 培养基上出愈率高, 易于成功。接种后 6 d 开始形成愈伤组织, 28 d 后增殖倍数达 5.3 倍(见附图 2), 质地致密, 呈白绿色, 有白绿色小突起多个。

2.2 愈伤组织诱导芽的培养基选择

在 $B_1 \sim B_4$ 4 种不同培养基上, 下胚轴愈伤组织切块分化情况见表 2。

表 2 4 种不同培养基对下胚轴愈伤组织不定芽分化的影响(接种后 35 d)

培养基代号	接种数	分化率 (%)	多重比较*		有效芽率 (%)	备 注
			0.05	0.01		
B_1	16	135	c	C	23.1	不定芽生长慢, 丛生性较强。
B_2	15	367.5	b	B	23.6	不定芽分化多, 一般只有一个生长占优势。
B_3	16	575	a	A	39.1	不定芽分化多, 生长快, 节间长(附图 10)。
B_4	16	82.5	c	C	15.2	接种后 12 d 形成根, 芽分化少, 生长慢。

注: * Duncan's 新复极差法。

表 2 说明, 4 种培养基对下胚轴愈伤组织不定芽的分化率有极显著的差异。 B_3 对不定

芽分化及形成有效芽效果最好,是理想的培养基(见附图3)。在试验中发现,B₃和B₂中产生的不定芽早于其他两种培养基,且生长快。尤其是B₃,接种28d后,最大芽达6.4cm,具有4片叶,两条根,根长分别为4.3cm和9.2cm。

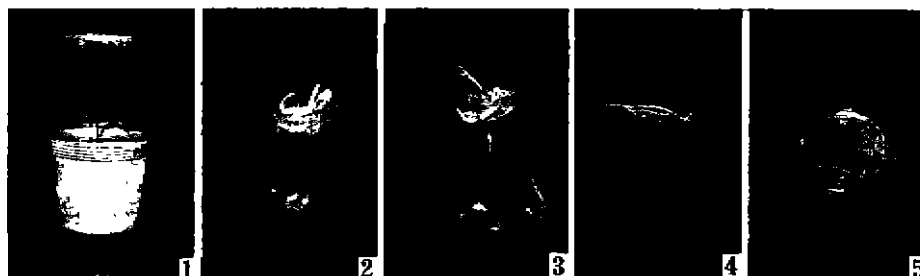
2.3 不定芽生根培养基的筛选

取诱导的顶芽和带腋芽的茎段置于C₁~C₅中进行生根培养。结果见表3。

表3 不同培养基对不定芽的生根培养(接种后28d)

部位	培养基代号	生根数/接种数	初发根		成苗数			根数		苗高(cm)	叶数(片)
			天数(d)	成苗率(%)	多重比较		平均根数(条)	多重比较			
					0.05	0.01		0.05	0.01		
顶芽	C ₁	4/24	7	16.7	c	C	0.33	c	BC	1.4	5.1
	C ₂	9/20	24	15.0	b	AB	1.0	b	B	2.8	6
	C ₃	14/21	14	66.7	a	A	1.67	a	A	2.4	5
	C ₄	6/24	25	25.0	c	BC	0.50	b	B	3.1	7
	C ₅	18/22	8	81.8	a	A	2.27	a	A	1.7	平均2~3个侧芽未展叶
带腋芽茎段	C ₁	0/24		0			0			0.8	
	C ₂	2/21	26	9.5	c	C	0.14	c	C	1.4	4
	C ₃	20/24	5	83.8	a	A	2.0	a	A	3.6	7
	C ₄	8/24	17	33.3	b	B	0.83	b	B	4.0	5

表3表明,不同培养基对不定芽生根诱导表现各异。C₃和C₅对顶芽生根及成苗无显著性差异,且二者生根早,平均根数多,生根率高,是适宜的生根培养基(附图4、5)。在带腋芽茎段生根成苗的4种培养基中,C₃是最适宜的培养基,而C₁和C₂几乎不能使之生根成苗。生长素IAA的浓度在0~0.3mg/L范围内生根数与成苗率和浓度的升高呈正相关关系,但当浓度超过0.3mg/L时,二者均显著下降。由此得出,在1/2MS为基本培养基中,添加0.3mg/L的IAA,生根和成苗效果均佳。



附图 1.再生植株移栽入培养土中;2.下胚轴愈伤组织诱导;3. B₃培养基中愈伤组织不定芽诱导;4. C₃培养基中不定芽生根;5. C₅培养基中不定芽生根。

2.4 再生植株的移栽

将经过锻炼的试管苗移入盛不同培养土的塑料营养钵中,选株高、叶数、根数及生长势基本一致的幼苗各数株,作好标记进行成活率统计(见表4)。

表4 不同培养土对再生植株移栽成活率的影响(移栽后21d)

编号	培养土		移栽株数(株)	成活数(株)	成活率(%)
	组成				
I	土:砂=1:1		23	4	17.4
II	土:砂:蛭石=1:1:1		19	5	26.3
III	土:砂:粪=2:1:1		19	11	57.9
IV	土:砂:粪=3:2:1		20	15	75.0

由表 4 可知,不同培养土对试管苗的影响很大,Ⅳ号培养土中幼苗成活率最高,依次是Ⅱ号、Ⅲ号和Ⅰ号。分析原因,Ⅰ号土/砂比例过大,孔隙大,保水性差,根系失水丧失生活力,Ⅳ号土/砂比例适中,通气性、保水性较好,又有一定量的腐熟粪土,易使根系恢复生长,故成苗率高。

2.5 再生植株大田定植

将覆盖小拱棚苗床中继续培养的再生植株,于 5 月 5 日定植于杨陵区李台乡西桥头村刘平林(农户)的田中,因土地面积有限只栽了 9 株,成活 7 株。植株于 9 月下旬陆续开花,10 月上旬结果,11 月 7 日采收,平均每株结果 88.43 个,平均单果重 240.23 g。

2.6 佛手瓜下胚轴无性繁殖系数计算

在 80~90 d 这一周期中,一个佛手瓜下胚轴经过离体培养,其最大繁殖系数为下胚轴分割切块、愈伤组织增殖倍数、不定芽分化率、由不定芽切成的茎段数、有效芽率、成苗率等几个指标的乘积,即 $6 \times 5.3 \times 575\% \times 1.5 \times 39.1\% \times 66.7\% \approx 71.53$ 。

3 结论与讨论

1)佛手瓜下胚轴愈伤组织诱导的适宜培养基为 A,愈伤组织在 B₂ 继代培养基上不定芽分化能力强,其次为 B₁,但二者的激素 IAA 和 BA 的比例与前人报道的不一致^[3,4,7],有待从植物内源激素的含量深入分析。

2)顶芽及带腋芽茎段在 C₁ 和 C₂ 培养基上生根快,根数多,80 d 左右可获得试管苗,故 C₁ 为顶芽诱导生根的适宜培养基,C₂ 为带腋芽茎段诱导生根成苗的适宜培养基。

众多报道认为不定芽生根多采用 1/2 MS 作基本培养基加一定的生长素,本试验中 C₁ 对顶芽的生根诱导虽好于 C₂,但二者无显著差异,而 C₂ 培养基少用了一半 MS 基本培养基,降低了生产成本,故用 1/2MS 作培养基基本仍是最佳的。

另外,一般认为在生根培养基中,生长素浓度为 10^{-10} mol/L 时,促进根的发生, 10^{-6} mol/L 促进茎的生长, $10^{-1} \sim 10^{-10}$ mol/L 之间促进芽的生长。在本试验的 1/2MS 生根培养基中,生长素 IAA 浓度为 0.3 mg/L(即 1.7125×10^{-6} mol/L)诱导生根最适宜,其原因可能是,①植物因其种类及生长习性不同,体内携带生长素的量及对生长素的反应有别。②基因表达在一定程度上由激素水平调控,激素可引起继代培养基中组织染色体变异,从而影响植物生长发育^[3,4]。

3)试管苗移栽适宜培养土的为Ⅳ号,成活率为 75%。试管苗移栽培养是植物组织培养中重要的一环,特别是加强移栽后的保湿管理至关重要^[3,5,6]。此外在试验中发现一般具有 4~7 片叶,叶幅 1.5 cm × 1.5 cm,株高 3~5 cm,根系 5 条以上,根长 3~8 cm 侧根数多的试管苗成活率高。

4)再生植株栽植大田前,经一段时间(约 40 d)苗床锻炼,使其逐渐适应自然环境,当长至 4~5 片大叶时定植入大田。定植后注意遮阴,缓苗后加强管理,促进营养生长,到秋季能正常开花结果。本试验因条件有限,土地面积小,苗子较少,未与非组织培养苗作对比试验,是一缺陷。

5)关于繁殖系数的问题,试验所得繁殖系数与其他植物组织培养的有一定差距,主要原因是涉及培养基种类较少,有待于从初代和继代培养基上进一步研究,提高繁殖系数。

参 考 文 献

- 1 蔡克华.佛手瓜的“光胚”繁殖.中国蔬菜,1992(4),42~
- 2 李保民,申建材,张 林.佛手瓜种胚的组织培养.植物生理学通讯,1993(1),49~
- 3 杨增海.园艺植物组织培养.北京,农业出版社,1987
- 4 顾昌敏.植物组织培养手册.上海,上海科学技术出版社,1990
- 5 孙振久.辣椒属组织培养的研究[学位论文].陕西杨陵,西北农业大学,1987
- 6 罗士有.植物组织和细胞培养概况.植物生理学通讯,1997(3),47~49
- 7 加古舜治主编,王玉瑛等译.园艺植物的器官与组织培养.郑州,河南科学技术出版社,1987
- 8 Zimmerman R H *et al.* Tissue culture as a plant production system for Horticultural crops. 1986,259~266
- 9 张克忠,鲍雷珍.提高葡萄试管苗移栽成活率的技术.山东农业科学,1993(6),37~38

In Vitro Plantlet Regeneration from Hypocotyl of *Sechium edule Swortz*

Wang Xiaosou Li Buxun Wang Guangdong

(Department of Horticulture, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract Plantlet regeneration from hypocotyl of Buddha's hand (*Sechium edule Swortz*), plantlet transferring and its fruiting in the field were studied. The results showed that the calli were apt to be induced from hypocotyls at MS meddium supplemented with 0.1 mg/L IAA, 1.0 mg/L BA and 200 mg/L LH; Shoots were easily differentiated from tissue calli at MS mediu with 0.5 mg/L IAA and 0.5 mg/L BA, with the differentiation ratio of 575%; The optimal rooting medium for terminal bud and stem segments with axillary buds were MS medium containing 1.0 mg/L IAA and 1/2 MS medium containing 0.3 mg/L IAA respectively. Their rooting ratio was 81.8% and 83.3% respectively. The conposts composed of 3 parts of soil, 2 parts of sand and 1 part of manul were sterilized before transplanting. The survival rate of transferred plantlets reached 75%. The average number of fruits per plant was 88.43 and the average weight per fruit was 240.2 g.

Key words Buddha's hand (*Sechium edule Swortz*), hypocotyl, *In Vitro* cultue, regenerated plantlet, propagation, coefficient