

吊瓜组培苗快繁技术体系的建立

阮建^{1,2}, 单雷¹, 范仲学¹, 杨连群¹, 焦其庆³, 彭振英^{1,2}

(1. 山东省农业科学院生物技术研究中心/山东省作物遗传改良与生态生理重点实验室 山东 济南 250100;
2. 山东大学生命科学学院 山东 济南 250100; 3. 山东省果树研究所 山东 泰安 271000)

摘要: 为建立吊瓜组培苗快繁技术体系, 实现大规模生产优质吊瓜种苗, 本试验以“越菱2号”为材料, 探讨不同激素配比的初代培养基、继代培养基、生根培养基对离体茎段腋芽诱导、茎蔓生根的影响和炼苗移栽方式对组培苗成活率的影响。结果表明, 初代培养基中 6-BA、IAA 组合浓度为 0.5、0.2 mg/L 时, 腋芽诱导出苗率高达 99%; 生根培养基 IBA 浓度为 0.5 mg/L 时生根率为 88%, 平均侧根数最多; 诱导苗炼苗后成活率可达 90%, 可以实现吊瓜苗的批量生产。

关键词: 吊瓜; 组织培养; 快繁; 激素配比; 腋芽诱导

中图分类号: S567.904.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-4942(2018)05-0046-05

Construction of Rapid Propagation Technology System for *Trichosanthes kirilowii* Maxim

Ruan Jian^{1,2}, Shan Lei¹, Fan Zhongxue¹, Yang Lianqun¹, Jiao Qiqing³, Peng Zhenying^{1,2}

(1. Biotechnology Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences/Shandong Provincial Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Ecology and Physiology, Jinan 250100, China;
2. College of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China;
3. Shandong Institute of Pomology, Taian 271000, China)

Abstract In order to overcome the technical limitation of tissue culture and rapid propagation and realize the large-scale production of high-quality seedlings of *Trichosanthes kirilowii* Maxim, the first generation of virus-free *Trichosanthes kirilowii* seedlings of the variety Yuelou 2 was used as the material. After inducing axillary buds to seedlings, we induced root with seedlings directly, skipping the traditional subculture process. The results showed that the emergence rate of axillary buds was as high as 99% under the concentration of 6-BA as 0.5 mg/L and IAA as 0.2 mg/L. When the concentration of IBA was 0.5 mg/L, the rooting rate was 88%, and the average number of lateral roots was the highest. The survival rate of refined seedlings could reach 90%. In conclusion, the mass production of *Trichosanthes kirilowii* Maxim seedlings could be realized by using this rapid propagation technology system.

Keywords *Trichosanthes kirilowii* Maxim; Tissue culture; Rapid propagation; Hormone combination; Axillary bud induction

吊瓜学名栝楼(*Trichosanthes kirilowii* Maxim), 葫芦科多年生藤本植物, 又名瓜蒌^[1,2]。其块根肥厚^[3], 根与果实均可入药, 具有止泻、抗

菌、消炎、降低胆固醇、调节免疫力、抗衰老与抗癌的作用^[4,5]。吊瓜籽富含植物脂肪和微量元素, 是食用瓜子中的佳品^[6,7]。因此吊瓜是经济价值

收稿日期: 2018-01-19; 修回日期: 2018-03-28

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2014CP015)

作者简介: 阮建(1991—), 女, 硕士研究生, 主要从事作物遗传育种研究。E-mail: m17862973367@163.com

通讯作者: 彭振英(1970—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事作物遗传育种研究。E-mail: pengzhenying2005@126.com

较高的药食两用植物^[8,9]。

吊瓜喜光耐阴,不耐寒与旱,怕涝,适宜在深厚、疏松、湿润的土壤中生长^[10]。利用种子播种方式进行繁殖时,后代分离严重、一致性差、病毒病发病率高、选育周期长^[11];而采用块根营养繁殖方式易受多种虫害与病害的侵袭^[12,13],其中以病毒侵害最为严重,感病率可达100%,致使果实产量与品质退化,两种方式都直接影响瓜农经济效益^[14,15]。为保证吊瓜的优良品性,人们利用茎尖脱毒组培技术生产吊瓜脱毒苗^[16],但因其操作难度大,出苗率低且周期长,极大地限制了脱毒苗的数量^[17]。因此,本试验利用离体茎段的腋芽来诱导组培苗,以期建立吊瓜组培苗快繁技术体系并为实现吊瓜脱毒苗的批量生产提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试吊瓜品种为“越菱2号”。移栽所用基质由珍珠岩、蛭石、草炭土(体积比1:1:1)调配,1 000倍多菌灵溶液消毒。

1.2 试验方法

1.2.1 离体茎段腋芽的消毒方法 选取生长10 d以内的吊瓜幼嫩藤状茎顶部,除去藤状茎上的叶片与卷须,将主茎剪成一叶茎段(上短下长),流水冲洗20~30 min。于超净工作台内,用洁净的干纱布吸去茎段表面的水分,75%酒精浸泡15 s后取出,用蒸馏水冲洗2~3遍,再用0.1%的 HgCl_2 溶液浸泡8~10 min,其间不断摇动,弃去 HgCl_2 溶液用无菌蒸馏水冲洗4~5遍。将茎段表面水分晾干后剪去茎段两端少许备用。

1.2.2 不同培养基配制 试验所用不同培养基设计见表1。

1.2.3 离体茎段诱导与茎蔓生根 将消毒后的离体茎段按照生物学极性方向接种到不同初代培养基配方下,每配方为1个处理,每处理接种6瓶,每瓶接种5~8个茎段。后置于25℃左右、光照12 h/d、黑暗12 h/d的环境下进行培养。1周后观察不同初代培养基处理的茎段腋芽诱导情况并计算诱导率。

待初代培养基中腋芽长至4~5节带叶茎蔓后,将带叶茎蔓剪成一叶茎段,去掉叶子后接种到继代培养基中,每瓶接种5~8个茎蔓。观察不同继代培养基配方处理的茎蔓生长情况。

表1 不同初代、继代、生根培养基的配方设计

处理	基本培养基	6-BA(mg/L)	IAA(mg/L)	IBA(mg/L)
初代培养基1	MS	0.3	0.2	—
初代培养基2	MS	0.5	0.2	—
初代培养基3	MS	0.8	0.2	—
初代培养基4	MS	0.3	0.5	—
初代培养基5	MS	0.5	0.5	—
初代培养基6	MS	0.8	0.5	—
继代培养基1	MS	0.3	0.05	—
继代培养基2	MS	0.4	0.05	—
继代培养基3	MS	0.5	0.05	—
继代培养基4	MS	0.3	0.1	—
继代培养基5	MS	0.4	0.1	—
继代培养基6	MS	0.5	0.1	—
生根培养基1	MS	—	—	—
生根培养基2	MS	—	—	0.2
生根培养基3	MS	—	—	0.5
生根培养基4	MS	—	—	0.8
生根培养基5	MS	—	—	1.3
生根培养基6	MS	—	—	1.8

注:MS培养基中蔗糖浓度为30 g/L,琼脂用量为7.5~8.5 g/L,pH值为5.8~6.0;“—”表示无激素添加。

待继代培养苗长至6~8节后,将茎段剪下接种到生根培养基中,每瓶接种2~4个,诱导生根。观察不同生根培养基配方处理茎段的生根情况并测量根直径、平均侧根数目。

1.2.4 组培苗炼苗与移栽 生根后将组培苗取出,冲洗干净琼脂后移栽到装盆的消毒基质中,淋透1 000倍多菌灵溶液,室温培养,湿度保持在90%以上。1周后湿度降低到70%~80%,喷1次1 000倍多菌灵。待湿度降低到50%~70%,试管苗长出新白根和叶片蜡质层后将苗移栽到大田。

1.3 数据处理

采用Microsoft Excel 2003进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 不同初代培养基处理对茎段腋芽诱导的影响

将消毒的一叶茎段移入初代培养基,茎段污染率低(3%以下)。3 d后腋芽全部开始伸长并长出叶片,茎段下部膨大(图1 A);8 d后主茎伸长,叶片变大,卷须出现,茎段下部膨大部位变粗变白(图1 B);14 d后主茎长至4~6节带叶茎蔓(图1 C),此时的茎蔓可用继代培养。

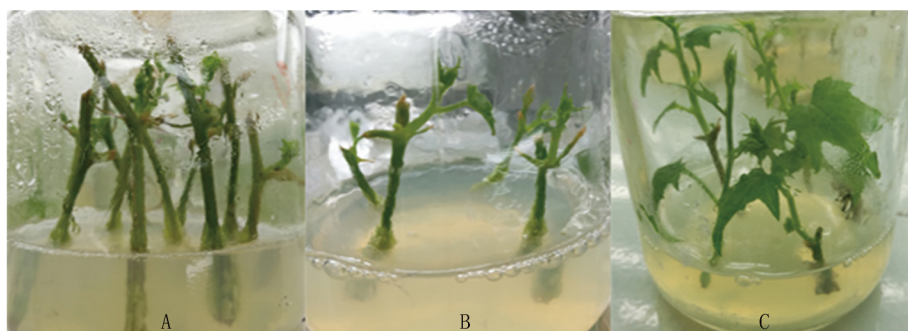


图1 初代培养基1处理的茎段腋芽经诱导形成茎蔓

不同初代培养基处理下的茎段腋芽诱导率不同。IAA 浓度为 0.2 mg/L 的初代培养基处理下, 茎段腋芽诱导率均高于 0.5 mg/L IAA 浓度处理; 初代培养基 2 处理下的腋芽诱导率最高(99%), 生长速度最快; 初代培养基 4 处理下腋芽诱导率最低(67%), 生长速度最慢(图2)。

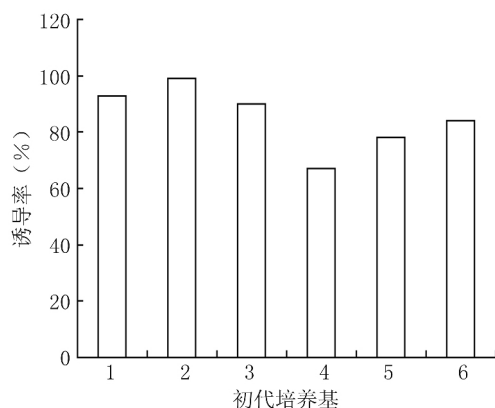


图2 不同初代培养基茎段腋芽诱导率

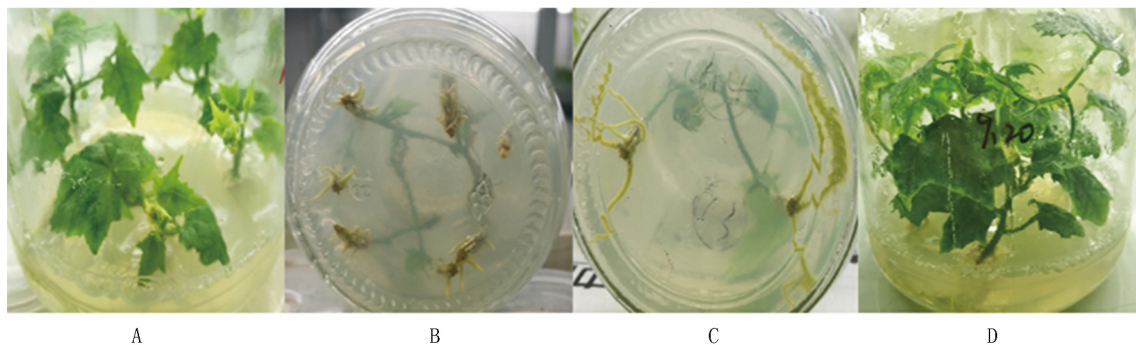


图3 不同生根培养基处理茎蔓生长状况

不同生根培养基处理对根的影响不同。茎蔓下端诱导生根第 22 d 时, 随着不同生根培养基处理中 IBA 浓度的增加, 根的直径变大(生根培养基 1—6 处理下分别为 0.10、0.15、0.20、0.23、0.30、0.31 cm), 平均侧根数减少(生根培养基 1—6 处理下分别为 4、5、8、2、1、0 个)。其中生根

2.2 不同继代培养基处理对茎蔓生长的影响

将初代一叶茎蔓或多叶茎蔓转入不同继代培养基中, 发现茎蔓长势缓慢甚至停滞, 即使诱导出新的带叶茎蔓, 茎节短, 叶片呈现黄色、直径小。茎段下部膨大部位变粗变白趋势与初代培养茎段相比明显减小, 部分茎蔓变黄枯萎。故不同继代培养基下的继代培养苗均无法获得。

2.3 不同生根培养基处理对茎蔓生长的影响

因初代培养的茎段在继代培养基下无法获得继代茎蔓, 本试验将 4~6 节带叶茎蔓的初代培养苗直接转入生根培养基(图3 A)。不同生根培养基处理下生根前茎蔓均生长缓慢, 后下端颜色逐渐变深, 1 周后开始长出 3~5 条短根(图3 B); 3 周后主根上生长出侧根, 茎蔓生长变快(图3 C); 4 周后组培苗变为深绿色, 根部发达, 长势强劲(图3 D)。生根培养基 1—6 处理下的茎段生根率分别为 81%、85%、88%、88%、87%、89%。

培养基 3(IBA 浓度为 0.5 mg/L) 处理的根长势最快、直径适中, 侧根数目最多, 且幼苗长势相较于其他培养基植株快(图4)。

2.4 炼苗与移栽方式对组培苗成活率的影响

炼苗可以使植株定植后迅速适应大田环境, 缩短缓苗时间, 增强对不良环境的抵抗能力。这

对组培苗尤为重要,组培苗在培养期间环境湿度大,如果直接将其移栽至大田中植株会因失水而迅速死亡。

将生根组培苗从组培瓶中小心取出,洗去培养基,移栽至灭菌的基质中进行炼苗,无菌苗易感染杂菌,因此移栽后淋透1 000倍多菌灵溶液有助于幼苗生长。此时幼苗密度可适量增加(每平

方米100株)。

待吊瓜苗1个月后长至8~13节,主茎2~3 mm,叶片直径5~9 cm,新根增加,叶片形成蜡质层(图5 A)时,将其小心移栽至单盆中,也可以直接将幼苗移栽至大田中,移栽过程中避免损伤根部(图5 B)。经过炼苗移栽后幼苗成活率可达90%以上。

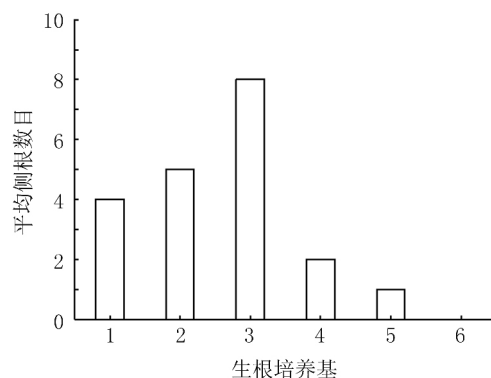
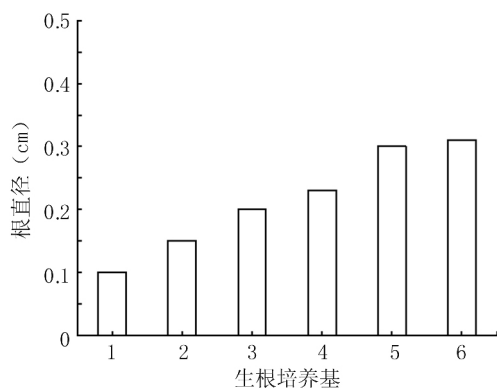


图4 不同生根培养基处理对根的影响



A



B

图5 组培苗炼苗与移栽时的生长状况

3 讨论与结论

本试验结果表明,利用“越葵2号”吊瓜初代离体茎段经不同初代培养基诱导可获得茎蔓,其中6-BA与IAA浓度为0.5 mg/L和0.2 mg/L组合时,诱导率最高,为99%,此时茎蔓性状良好、长势旺盛。初代培养的茎蔓转入继代培养基后诱导率低,生长缓慢甚至死亡。植物激素与营养物质是植物生长所必需的,初代培养苗主茎纤细,本身营养物质少,对培养基中的营养物质吸收率低,只能依赖激素刺激生长,而继代培养后其本身的生命活力受限不能获得诱导苗。因此我们直

接用初代培养获得的茎蔓进行诱导生根。

植物生长调节剂IBA通常用来促进组织生根,但过量使用非但不利于侧根的形成而且易造成根部变粗畸化。本试验中IBA浓度为0.5 mg/L时吊瓜根的长势最快,根直径适中,侧根数目最多,且幼苗长势相较于其他培养基植株快。而去除继代培养这一环节,直接利用腋芽诱导茎蔓后进行生根诱导,大大提高了成苗率。

本试验炼苗移栽方式可使吊瓜组培苗成活率达90%以上。随着吊瓜市场的兴起,高品质的吊瓜苗供不应求。本试验极大地克服了利用茎尖培养脱毒苗出苗率低的技术限制,并且利用初代脱

毒苗进行诱导,大大降低吊瓜病毒感染率,使组培苗的果实品质得到保障,为建立品质优良的吊瓜组培苗繁育体系奠定了基础。

参 考 文 献:

- [1] 吉庆勇,程文亮,华金渭,等.不同栽培方式对吊瓜生长发育的影响[J].天津农业科学,2013,19(5):45-47.
- [2] 吉庆勇,华金渭,程文亮,等.吊瓜花山1号的引种栽培[J].浙江农业科学,2012(11):1497-1498.
- [3] 孙叶芳,郑琪,赵虎.吊瓜试管微型块根膨大研究初探[J].长江蔬菜(学术版),2012(14):49-51.
- [4] 陈鸿才,钱东南,斜凌娟.吊瓜籽抗氧化技术研究[J].现代园艺,2010(5):17-22.
- [5] 石圆圆,许培雅,裘娟萍.吊瓜皮提取物抑菌活性的研究[J].食品工业科技,2009(12):82-84.
- [6] 王建清,张玉.吊瓜籽中氨基酸质量分数的测定[J].氨基酸和生物资源,2006,28(2):76-77.
- [7] 王唯芬,蒋家新,王兰州,等.精炼吊瓜籽油的脂肪酸分析[J].中国计量学院学报,2007,18(4):322-325.
- [8] 吴道龙,吴彬.发展吊瓜经济的调查与思考——以浙江省庆元县五大堡乡为例[J].现代经济信息,2008(12):87.
- [9] 吴文安,周秋菊.吊瓜栽培技术与效益分析[J].上海农业科技,2006(3):68-69.
- [10] 李敬义,陈平.吊瓜生长发育的气候条件与高产栽培[C]//安徽科技论坛农业与气候生态学术研讨会论文集.2004.
- [11] 诸秋南,伍国强.吊瓜子繁育及高产栽培技术[J].现代园艺,2010(12):20-22.
- [12] 王芳,何小莉,何永栋.4种常用药剂防治吊瓜白粉病田间药效试验[J].长江蔬菜,2010(9):50-51.
- [13] 吴道龙.山区吊瓜病虫害及其防治技术[J].现代农业科技,2009(2):100-101.
- [14] 郑琪,孙叶芳,羊安兴,等.食用吊瓜脱毒组培苗幼苗管理技术[J].长江蔬菜,2014(5):40-41.
- [15] 郑卫东.吊瓜规模化高产栽培技术[J].安徽农学通报,2015,21(9):69-70.
- [16] 孙叶芳,郑琪,赵虎,等.吊瓜茎尖脱毒技术研究[J].贵州农业科学,2014,42(4):12-15.
- [17] 陈华夫.食用吊瓜新品种花山1号无性系选育[J].上海蔬菜,2009(2):19-21.