

栝楼组织培养及非试管苗快繁技术研究

廖华俊^{1,2} 董玲² 江芹² 陈静娴² 孙善谋³ 宁志怨²

(1. 安徽农业大学 合肥 230036; 2. 安徽省农业科学院园艺研究所 合肥 230031;
3. 合肥经济技术开发区农业示范园有限公司 合肥 230601)

摘要: 对栝楼茎尖组织培养的研究结果表明,不同激素浓度对其芽丛的形成、分化及根的形成有不同的影响,栝楼茎尖组织培养的最佳诱导、增殖和生根培养基分别是 MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L、MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L 和 1/2 MS+IBA 0.5 mg/L。利用栝楼组培苗在隔离网棚中抽出的匍匐茎进行非试管快繁育苗,可低成本、快速繁育出栝楼优质种苗,其中以 9-10 月份繁出的种苗在当年假植中形成的地下块茎最大,定植当年坐果率、经济产量最高。

关键词: 栝楼; 组织培养; 非试管快繁; 育苗

Study on the tissue culture and non-test tube fast multiply technology of Snakegourd

LIAO Hua-jun^{1,2}, DONG Ling², JIANG Qin², CHEN Jing-xian², SUN Shan-mou³, NING Zhi-yuan²

(1. Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui, 230036, China; 2. The Horticultural Institute of Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui, 230031, China; 3. Hefei Economic and Technological Development Zone Agricultural Demonstration Garden Co., Ltd, Hefei, Anhui, 230601, China)

Abstract: The result of meristems culture of Snakegourd shows that the different hormone concentration had the influence on the formation of the bud cluster and root. The optimum media *in vitro* for different developmental stages were screened; the induction medium is MS+6-BA 1.5 mg/L + IBA 0.3 mg/L + NAA 0.05 mg/L, micropropagation medium is MS + 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.3 mg/L + NAA 0.05 mg/L, rooting medium is 1/2 MS + IBA 0.5 mg/L. Afterward, the plantlets were grown in the isolated greenhouse, for stolon expanding and cutting multiplying *ex vitro* with lower cost and higher rate. Among them the seedlings cut from September to October were the best with the biggest tubers, and produce the fruits in following year.

Key Words: Snakegourd; *In vitro* culture; *Ex vitro* multiply; Seedlings propagation

栝楼 (*Trichosanthes kirilowii* Maxim) 亦称苦瓠、吊瓜、柿瓜、野葫芦、药瓜、杜瓜,为葫芦科多年生攀缘草本植物,雌雄异株。栝楼属植物我国有 40 种之多,其中药用植物有 14 种^[1]。栝楼根、茎、叶、瓜皮、种子皆可作优良的中药材,其籽又是炒货中的佳品。

安徽潜山、岳西两县是全国较大的栝楼种植区,近年来面积不断扩大,由于种苗繁育技术的制约,优良种苗有着较大的缺口,导致近年选育出的一些新品种推广滞缓。栝楼传统育苗方式多采用栝楼籽直播育苗或地下块根(天花粉)切成小段进行催芽育苗^[2-4]。由于栝楼雌雄异株,籽播育苗往往形成雌雄比例严重失调,出现大量无效雄株苗造成浪费;块根切块育苗则需要较多的地下块茎,尤其是新品种推

广缓慢,同时该育苗方式繁育的种苗质量受块根质量影响,容易因病毒积累造成种性退化,传播根结线虫。栝楼组织培养近年来逐步得到研究,陈惠于 2001 年对栝楼不定根分化不定芽进行了研究^[5];曹孟德、郑树松、尹艺林等分别于 1996、2001、2005 年采用栝楼腋芽和茎段进行组织培养研究,繁育出了栝楼苗^[6-8]。但采用栝楼茎尖进行组培育苗并进入生产阶段的尚未见报道。笔者于 2002 年采用栝楼茎尖进行组培研究,建立起栝楼脱毒无性系快繁体系,目前已进入批量化的栝楼组培苗生产。为了降低育苗成本,笔者尝试采用茎尖脱毒组织培养和非试管快繁技术相结合的育苗新方式进行栝楼育苗技术研究,取得了较好的效果,现报告如下。

收稿日期: 2005-11-13; 修回日期: 2006-03-30。

作者简介: 廖华俊,男,助理研究员,主要从事园艺作物栽培、新品种选育及组织培养工作。电话: 0551-5160607; E-mail: lhj76814@163.com。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验材料为从安徽潜山栝楼地方品种中选育出的优质多果型品种 DG-2。该品种坐果能力强,果形匀称,籽粒饱满,同一坐果节位可结果 3-10 个,是非常优质的食用和药材兼用型品种。

1.2 试验方法

1.2.1 试材消毒、培养基及培养条件 取栝楼茎顶用 2% 洗衣粉洗去灰尘后在流水下冲洗 20 min,再用 20% 的 84 消毒液浸 10 min,无菌水冲洗 3-4 次,然后用 0.1% 的升汞液消毒 10 min,无菌水冲洗 3-4 次,用无菌纸吸干水分,在超净台上剥取 0.3-0.5 mm 的茎尖,作为外植体进行培养。以 MS 为基本培养基,附加不同种类和浓度的激素,20 g/L 蔗糖,6.5 g/L 琼脂,pH 值 5.8,培养基采用常规消毒方法。培养温度 25±2℃,光照每天 10-12 h,光照强度 2 000-2 500 Lx^[9,10]。

1.2.2 诱导培养 将消毒好的外植体接种于以 MS 为基本培养基的 1、2、3、4 处理培养基上,每种培养基接种 10 瓶,每瓶接种 3 个外植体,设置 2 次重复,进行诱导培养基的筛选,见表 1。

1.2.3 增殖培养 将分化出的芽丛转接在以下 3 种继代培养基上:1. MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.05 mg/L,2. MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L,3. MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L。每处理 20 瓶,每个培养瓶接种 4 个幼芽,进行增殖培养基的筛选。

1.2.4 生根培养 生根培养采用 1/2 MS 培养基,处理 1、2 采用不同的激素,见表 3。将培养出的无根栝楼小苗分别转接到生根培养基处理 1、2 上进行生根培养,每个培养瓶中接种 5 株。

1.2.5 非试管快繁 将试管苗定植到隔离大棚中,匍匐茎长到 2-3 m 长时,将匍匐茎剪成每段 2 节,同时剪去下部叶片,保留上部叶片,扦插到阳光温室非试管快繁育苗床,快繁苗床采用的基质为珍珠岩。非试管快繁采用的智能化快繁系统由浙江省丽水市农科所非试管快繁中心开发,环境的光照、湿度、营养液通过智能叶片感应,由 C 型专家系统自动控制。专家系统工作模式设置作物类型为喜阳作物,愈伤组织形成阶段湿度 95%,生根阶段湿度 80%,炼苗阶段 70%,全程无遮阴。弥雾水分采用地下水,营养液为格里克营养液配方。非试管快繁出的栝楼苗生根后假植到大棚中,翌年春天定植到大田。

2 结果与分析

2.1 芽的诱导

将栝楼外植体分别接种到 1、2、3、4 号培养基上进行培养,25 d 后外植体陆续开始出现黄绿色细胞突起,继而出现分化出的芽丛,如表 1 所示。1 号培养基:6-BA 浓度最低,仅为 0.5 mg/L,对茎尖的诱导能力很弱,分化倍数仅为 1.27 倍。3 号培养基:6-BA 浓度为 1.5 mg/L,芽丛分化倍数最高,为 5.60 倍,培养 35 d 后,芽丛分化出的小苗长度在 0.4 cm 以上。4 号培养基:培养 35 d 时,芽丛分化倍数只有 4.40 倍,且以愈伤组织为主。因此,栝楼诱导培养基 6-BA 浓度以 1.5 mg/L 3 号培养基最好。

表 1 不同浓度 6-BA 对芽诱导的影响

培养基	接种数	分化后芽丛总数	分化倍数	芽数
1. MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L	30	38	1.27	3.8
2. MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L	30	110	3.67	11.0
3. MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L	30	168	5.60	16.8
4. MS+6-BA 2.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L	30	132	4.40	13.2

2.2 芽的增殖与生长

将诱导出的栝楼芽丛分别转接到 1、2、3 号培养基上进行增殖培养,20 d 后每个幼芽分化出 3-5 株高 2-3 cm、长有 3-4 片叶的无根栝楼幼苗,见表 2。3 号培养基增殖倍数最高,达到 6.2 倍,无根苗生长速度快,但叶片小,叶色浅,植株较脆。1 号培养基增殖倍数最低,只有 1.2 倍。2 号培养基增殖倍数为 4.5 倍,叶片较大、绿色,植株具有一定的韧性,生长速度较快,较符合试验要求。

表 2 不同培养基对试管苗增殖和生长的影响

培养基	增殖倍数	试管苗生长状况			
		叶片大小	叶色	脆性	生长速度
1. MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.05 mg/L	1.2	大	深绿	较韧	慢
2. MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L	4.5	较大	绿	正常	较快
3. MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L	6.2	小	浅绿	较脆	快

2.3 根的诱导与幼苗移栽

将增殖培养出的无根栝楼苗分别转接到 1、2 号生根培养基上进行诱导生根培养,10 d 后栝楼小苗开始生根,再继续培养 15 d,栝楼试管苗开始长出大量的白根,同时长成茁壮的小植株。1 号培养基上的小苗生根率达到 100%,且根系较发达,平均单株

生根数为 3.2 条。2 号培养基的小苗生根率只有 75%, 平均单株生根数仅为 2.6 条, 根系欠发达。

表 3 不同激素对试管苗生根的影响

生根培养基	接种株数 (株)	生根率 (%)	平均生根数 (条/株)	根系状态
1. 1/2 MS+IBA 0.5 mg/L	20	100	3.2	根系发达
2. 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L	20	75	2.6	根系一般

2.4 不同浓度生根水对栝楼非试管快繁苗生根的影响

将栝楼匍匐茎中部节位剪成 2 个茎节为 1 段, 修剪掉下部叶片, 分别采用 20、50、80 mg/L 生根水浸泡 5 min, 进行非试管扦插快繁育苗。从表 4 可以看出, 浓度 60 mg/L 生根水有利于栝楼匍匐茎的生根和快繁, 生根率达到 85%, 且根系发达; 20 mg/L 生根水处理过的栝楼茎段快繁育苗生根率只有 22.5%, 根系较少。

表 4 不同浓度生根水对栝楼生根的影响

处理	扦插日期 (月-日)	扦插株数 (株)	生根株数 (株)	生根率 (%)	根系生长 情况
1. 20 mg/L 生根水	8-2	40	9	22.5	根系较少
2. 40 mg/L 生根水	8-2	40	27	67.5	根系中等
3. 60 mg/L 生根水	8-2	40	34	85.0	根系发达

2.5 栝楼非试管快繁的繁育率

栝楼试管苗在 2004 年 4 月 5 日定植, 6 月 25 日栝楼的匍匐茎长度即达 3-4 m。1 株栝楼可以生 2-3 根主匍匐茎, 并且主匍匐茎达到一定长度后, 叶腋部位还会抽出侧匍匐枝。待栝楼匍匐茎长 2-3 m 时, 将其主、侧匍匐茎剪成每段 2 节, 同时剪去下部叶片, 保留上部叶片。扦插深度以栝楼下部茎节插入苗床珍珠岩基质中不少于 5 cm, 上部叶片不接触苗床为宜。扦插后快繁专家系统设定愈伤组织形成阶段湿度为 95%, 生根阶段湿度为 80%, 炼苗阶段湿度为 70%。快繁育苗期间的营养液的喷施由专家系统自动控制。同 1 株栝楼在 6 月 25 日、8 月 10 日、9 月 25 日可连续剪 3 次扦插, 1 株栝楼累计繁育 50 株, 甚至更多, 见表 5。

表 5 单株栝楼试管苗非试管繁育情况

处理	扦插 时间 (月-日)	插穗 数量 (条)	生根 株数 (株)	移栽 时间 (月-日)	移栽 成活株数 (株)
第 1 次扦插	6-25	20	18	7-10	17
第 2 次扦插	8-10	28	24	8-25	22
第 3 次扦插	9-25	18	15	10-10	11

2.6 不同快繁季节对栝楼苗块茎形成的影响

分别在 2004 年 6 月 25 日、8 月 10 日、9 月 25 日快繁 3 批栝楼, 15 日后进行快繁育苗移栽, 并于翌

年匍匐茎萌芽初期对地下块茎大小进行调查, 快繁育苗生长情况调查见表 6。6 月 25 日的快繁育苗移栽后植株生长势很强, 匍匐茎生长旺盛, 但地下没有形成明显的块茎, 为长线形的根状茎, 第 2 年萌发的苗长势一般。9 月 25 日的快繁育苗定植后, 由于季节的原因, 生长势中等偏弱, 但块茎膨大明显, 直径达到 1.1 cm, 平均重量为 22 g, 块茎萌发出的苗很壮, 对定植当年形成产量有利, 见表 6。

表 6 不同时期快繁育苗地下块茎的比较

扦插 日期 (月-日)	移栽 日期 (月-日)	移栽 株数 (株)	植株 当年 长势	块根 形状	直径 (cm)	块根 重量 (g)	块茎 生长势
6-25	7-10	30	较强	长线形	0.2	10	一般
8-10	8-25	30	中等	细棒形	0.5	18	强
9-25	10-10	30	中等	短棒状	1.1	22	较强

[注] 块根调查日期 2005 年 2 月 10 日。

3 讨论

(1) 栝楼的组织培养前人多以试验为主, 接种材料以腋芽、茎段、不定根等进行栝楼愈伤组织或栝楼试管苗的培养为多。本试验是基于解决栝楼的生产问题而开展的, 通过茎尖进行组织培养可以对栝楼种苗进行脱毒和品种更新复壮, 采用非试管快繁的目的是降低栝楼种苗繁育成本, 加速种苗繁育进程。采用栝楼组织培养和非试管快繁技术相结合进行栝楼育苗, 可以繁育出优质栝楼苗, 大大提高繁育系数, 降低繁育成本。1 株栝楼试管苗当年采用非试管快繁技术可以繁育 50 株以上栝楼苗, 如果把当年第一批非试管快繁育苗抽出的匍匐茎继续进行非试管快繁, 这样繁育数量就会大量增加, 从而加速新品种推广进程。

(2) 栝楼进行非试管苗快繁时要选择合适的季节和营养积累较多的茎蔓, 一般以 8-9 月份为宜, 有利于快繁育苗在当年积累较大的块茎, 为第 2 年当年定植当年获得产量奠定基础。

(3) 栝楼为多年生植物, 生长年代长, 地下块茎营养积累多有利于栝楼的坐果, 从而提高产量。栝楼苗定植后通常第 3 年达到高产, 栝楼试管苗定植当年地下块茎的生长很快, 但块茎苗、试管苗、非试管快繁育苗三者的产量形成期是否有明显差异, 同一栝楼品种的块茎苗、试管苗、非试管快繁育苗在生产中的坐果习性、抗性、生长势等方面的差异性还有待进一步研究。

4 结论

栝楼组织培养在茎尖诱导阶段需要较高的 6-

信都红籽瓜重茬瓜田防病稳产技术研究

柳唐镜^{1,4} 汪李平^{2,3} 吴素萍⁴

(1. 华中农业大学生命科学技术学院 武汉 430070; 2. 国家蔬菜改良中心华中分中心 武汉 430070;
3. 园艺植物生物学教育部重点实验室 武汉 430070; 4. 广西壮族自治区贺州市信都红籽瓜研究发展中心
广西贺州 542813)

摘要: 针对红籽瓜生产上连作重茬引起的病害难题,1999—2003年设立了为期4年的“信都红籽瓜重茬优质增产技术研究”项目,进行了嫁接育苗栽培、地膜覆盖栽培及绿亨1号、移栽灵、NEB和肥力高等药剂或生物肥料在红籽瓜上的应用试验研究。结果表明,重茬红籽瓜通过种子、土壤消毒,配合嫁接育苗与地膜覆盖栽培,增施有机肥和生物肥,合理选择对口药剂防治,可有效解决或缓解红籽瓜重茬病害问题,达到增产稳产的目的。

关键词: 红籽瓜; 重茬; 防病; 增产; 技术

Techniques of the stable yield and disease control of Xindu Red-seeded using watermelon under continuous cropping condition

LIU Tang-jing^{1,4}, WANG Li-ping^{2,3}, WU Su-ping⁴

(1. College of life science and technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei, 430070, China; 2. National center for vegetable improvement (Central China), Wuhan, Hubei, 430070, China; 3. Key laboratory of horticultural plant biology, Ministry of education, Wuhan, Hubei, 430070, China; 4. Research and Development Center for Xindu Red-seeded Using watermelon in Hezhou city Guangxi province, Hezhou, Guangxi, 542813, China)

Abstract: The difficult disease problem of Red-seeded using watermelon results from successive planting and continuous cropping. From 1999 to 2003, the project of high quality production increasing technological research on continuous cropping of Xindu Red-seeded using watermelon was carried out. Through graft seedlings cultivation and mulch-plastic cover cultivation, medicament experiment (including No. 1 LuHeng-Hymexazol, YiZaiLing-Transplant effective mixed chemical) and biological fertilizer conducts (including NEB-Vesicular-arbuscular mycorrhizae, FeiLiGao-Bio-bacterial fertilizer) experiment were studied at the same time. The result indicated that the disease problem of continuous cropping Red-seeded using

收稿日期: 2005-12-07; 修回日期: 2006-04-12。

基金项目: 华中农业大学人才基金项目“西瓜甜瓜栽培与遗传育种专项基金”(52204-05020)。

作者简介: 柳唐镜,男,主要从事西、甜瓜植物遗传育种及生物技术和分子生物学研究。电话: 027-87280903; E-mail: hzliutangjing@163.com。

通讯作者: 汪李平,男,教授,博士,华中农业大学生物学院蔬菜系副主任,主要从事蔬菜生理生态及西、甜瓜遗传育种的教学与研究。电话: 027-62461971; E-mail: wanglp@mail.hzau.edu.cn。

BA 浓度,以 1.5 mg/L 最好。增殖阶段采用 MS 培养基附加 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.3 mg/L + NAA 0.05 mg/L 增殖效果较好。尹艺林等采用腋芽进行增殖,在 MS 培养基中只附加 6-BA 0.5 mg/L 也取得了较好的增殖效果^[8]。在 1/2 MS 附加 IBA 0.5 mg/L 的培养基中进行生根培养效果最好。

参考文献

- [1] 黄璐琦,杨滨,崇熙,等. 栝楼属药用植物资源调查[J]. 中国中药杂志,1995,20(4): 195-196,252.
- [2] 宋强,张磊. 栝楼的不同种植方法与采收 [J]. 时珍国医国药,2004,(11): 807-808.
- [3] 师俊杰. 中药材—栝楼高产栽培技术[J]. 河北林业科技,2003,

(6): 39-40.

- [4] 刘小琴. 籽用瓜蒌高产栽培技术要点[J]. 河南农业科学,2005,(2): 74.
- [5] 陈惠. 栝楼不定根尖分化不定芽过程中的细胞组织学研究[J]. 云南植物研究,2001,23(4): 488-492.
- [6] 曹孟德,陈辉,王君健,等. 栝楼的快速繁殖及愈伤组织的诱导[J]. 生物技术,1996,(4): 15-17.
- [7] 郑树松,苑华毅,王莉江,等. 药用植物栝楼的组织培养及其表达蛋白的分析[J]. 生物工程学报,2001,17(4): 60-62.
- [8] 尹艺林,吴永超. 栝楼的组织培养研究[J]. 皖西学院学报,2005,21(2): 56-58.
- [9] 李凌明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业出版社,2002.
- [10] 武维华. 植物生理学[M]. 北京: 科学出版社,2003.