

果 树

洋香瓜的组织培养及玻璃化防治

张树河 翁锦周 林江波 林加耕 周龙生

(福建省农科院甘蔗研究所、闽台园艺研究中心,漳州 363005)

摘 要:以洋香瓜的带芽茎段为试材,进行快繁,结果表明:洋香瓜外植体用 0.1% HgCl_2 溶液以 10 min 的消毒时间最为适宜,成功率达 65%。改良 H 基本培养基更适宜洋香瓜丛芽的继代增殖。继代增殖以改良 H + 6-BA 0.2 mg/L + KT 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基繁殖系数最高,达到 3.80;待芽长 2~3 cm 时转至生根培养基 1/2MS + IBA 0.5 mg/L 培养 15 d 后生根率达 92.5%。同时,本文还探讨了导致试管苗玻璃化的因素及控制措施。

关键词:洋香瓜 组织培养 玻璃化

洋香瓜(*Cucumis melo* L.)属葫芦科甜瓜属一年生蔓性草本植物,原产中东和非洲一带。洋香瓜以瓜大肉厚、色泽美观、甘甜爽口、营养丰富而成为宴席上的必备之品。其集水果、蔬菜于一身,富含多种维生素、氨基酸和矿物质,具有开胃健脾、清心醒脑、除烦止渴、美容保健之功效,并具有耐贮运的优良特性。在全国各地倍受广大消费者的青睐,几年来畅销不衰,被人们誉为“瓜果皇后”。但由于优质甜瓜种子价格高,种子发芽率低等因素,使其在生产上推广受到一些限制。通过植物组织培养技术进行离体快繁,可以在短期内生产出大量优质种苗,对推动优质洋香瓜生产的发展具有积极意义。但是,笔者在进行洋香瓜组织培养过程中,遇到试管苗玻璃化现象,曾一度阻碍了试验进程。在查阅有关试管苗玻璃化形成机理、诱发因素和防治措施等方面内容的基础上,结合自己的经验,特撰此文,以期供相关工作者参考。

1 材料与方法

材料为洋香瓜无病虫健壮嫩梢的带芽茎段。

1.1 材料的处理

取洋香瓜外植体用自来水冲洗干净,再用 70% 的酒精浸 30 s 后,在超净工作台上用 0.1% HgCl_2 溶液消毒 8 min、10 min、12 min,无菌水冲洗 4~5 次,切取带 1~2 个芽的茎段接种于启动培养基上。20 d 后统计不同时间处理对外植体污染率及死亡率的影响。

1.2 不同基本培养基的分化效果

在 MS、1/2MS、改良 H 3 种不同基本培养基均附

加浓度为 0.2 mg/L 的 6-BA 和 NAA 组合,对丛芽进行培养,观察最适宜丛芽分化的基本培养基。

1.3 丛生芽的诱导

在改良 H 培养基上附加不同浓度的 6-BA、KT、NAA 组合对丛芽进行培养,15 d 后观察培养基组合对丛生芽诱导及增殖系数的影响。

1.4 生根诱导试验

以 1/2MS(大量元素减半)为基本培养基,附加不同的生长素,比较不同生长素对洋香瓜试管苗生根的诱导作用。

培养条件:各培养基附加蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH 值 5.8,培养温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$,光强 1500~2000 Lx,每天光照 10~12 h。

2 结果与分析

2.1 不同消毒时间对无菌体系建立的影响

将消毒后的外植体切成带 1~2 个芽的茎段接在启动培养基 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 上进行培养。5~7 d 后,茎段上的腋芽开始萌动,15 d 后产生大量的不定芽。

洋香瓜外植体随消毒时间的延长污染率得到了有效的控制,在 10~12 min 内,可将污染率控制在 5.0%~15%,成功率达 65%。但同时,外植体死亡率也不断增加,其中 12 min 的死亡率高达 45%,而 8 min 的死亡率仅为 10%。综上所述,笔者认为,洋香瓜外植体以 10 min 的消毒时间最佳。见表 1。

表1 不同消毒时间对无菌体系建立的影响

消毒时间	接种个数	污染个数	污染率 %	死亡个数	死亡率 %	剩余个数	成功率 %
8 min	20	9	45	2	10	9	45
10 min	20	3	15	4	20	13	65
12 min	20	1	5	9	45	10	50

2.2 不同基本培养基对洋香瓜分化的效果

洋香瓜在 MS、1/2MS 和改良 H 3 种基本培养基中进行分化试验对比,结果见表 2。3 种培养基均能分化

出丛芽,但分化效果差异显著。接种 15 天观测分化最好的是改良 H 培养基,其次是 1/2MS,最差的是 MS。

表2 不同基本培养基对洋香瓜分化的效果

培养基类型	愈伤组织	玻璃化程度	苗长势
MS	多	严重	长势较差,分化率低
1/2MS	一般	一般	长势较好,分化率较高
改良H	较少	较少	长势好,分化率高

2.3 不同激素组合对诱导丛芽的影响

试验在改良 H 培养基附加 5 种不同的激素浓度组合进行继代培养,培养 15 d 后进行调查,其结果见表 3。结果表明,添加了不同浓度的 6-BA、KT 与 NAA 对芽的增殖效果有很大的影响。随着 6-BA 浓度的增

大,愈伤组织形成较多,玻璃苗程度也随之加重,不利于丛芽的增殖。在本试验中,以 6-BA0.2 mg/L + KTO.2 mg/L + NAA0.2 mg/L 组合的增殖系数最高达到 3.80,是最佳培养基。

表3 不同激素组合对诱导丛芽的影响

激素组合(mg/L)			接种芽数	增殖芽数	增殖倍数
6-BA	KT	NAA			
0.1	0.1	0.1	30	86	2.87
0.2	0.2	0.2	30	114	3.80
0.3	0.2	0.2	30	94	3.13
0.4	0.2	0.2	30	72	2.40
0.5	0.2	0.1	30	53	1.77

2.4 不同生长素对生根诱导的影响

将从生芽切割成单芽,在分别添加不同浓度的 NAA 和 IBA 的 1/2MS 培养基上进行生根培养,20 天后调查生根率结果见表 4。在不同处理中,生根诱导效

果差异显著,以添加 IBA0.5 mg/L 表现最好,接种后 5 d 开始生根,生根率为 50%,12 d 生根率为 83.3%,20 d 后生根率达到 92.5%。见表 4。

表4 不同生长素对生根诱导的影响

生长素mg/L	接种株数	生根株数	生根率 %	根长(cm)
NAA0.5	40	31	77.5	1.9±0.8
NAA1.0	40	22	55	2.2±0.9
IBA0.5	40	37	92.5	2.1±1.0
IBA1.0	40	25	62.5	2.0±1.1

试管苗移栽,将根长约5~6 cm的试管苗移出培养室,在自然散射光下炼苗5~7 d,将苗取出洗净根部附着的培养基,移植于红壤土+砂(3:1)苗床中,遮荫保湿,成活率达90%。

3 试管苗玻璃化的防治

3.1 玻璃化的内涵

玻璃化是组织培养中一个常见问题。玻璃化苗含水量增加,干鲜重比例下降,外表呈玻璃状,茎叶透明易断,出现畸形,生长缓慢,甚至死亡;即使能够成活,其生根率、移栽成活率也很低。其实质是在高激素浓度、高湿度的培养条件下,植物细胞分裂与体积增大的速度,超过了干物质生产与积累的速度,植物只好用水分来充涨体积,从而表现玻璃化。

3.2 导致试管苗玻璃化的因素

NH₄⁺水平:培养基中NH₄⁺过多容易导致玻璃苗的发生。在不同基本培养基对洋香瓜分化的效果试验中表现,MS培养基比1/2MS和改良H培养基更容易形成玻璃苗,很明显前者NH₄⁺显著高于后者。

激素浓度:培养基中的细胞分裂素易导致玻璃苗的产生。从丛芽增殖过程中观察到,随着6-BA浓度的增加,玻璃苗的比例也增高,说明6-BA浓度对玻璃苗的发生有重要的影响。

琼脂:琼脂作为固体培养基的凝固剂,它能影响培养体系的水分状况,从而影响试管苗的玻璃化。在洋香瓜的继代过程中发现,适当增加琼脂的用量,可有效地减少玻璃苗的数量。

继代次数和时间:随着继代次数的增加和继代时间的延长,试管苗玻璃化程度也随之加重。通过减少继代次数和缩短继代时间(可由原来15~20 d缩至7~10 d)可有效地降低玻璃苗的产生。

3.3 控制试管苗玻璃化的措施

试管苗玻璃化的现象是组织培养快速繁殖的一大障碍,给生产造成极大的损失。因此,在实际工作中,有必要采取措施使试管苗的玻璃化现象降到最低限度,直至消除玻璃化现象。综合有关资料和经验,可以采取以下预防措施。

在MS培养基中,减少或除去NH₄NO₃,或采用低NH₄⁺水平的H培养基。

适当降低细胞分裂素6-BA的用量,在继代培养中,采用附加不同种类和浓度的激素如KT、IBA等的培养基。增加琼脂的用量。减少继代次数和缩短继代的时间。

4 小结

在本试验中,洋香瓜外植体无菌体系的建立取决于消毒时间,8 min与12 min的消毒效果都不甚理想,而以10 min的成功率较高。试验随着消毒时间的延长,造成外植体死亡数的增加,说明长时间用升汞作为消毒剂对洋香瓜幼嫩茎段有很强的杀伤力。

在洋香瓜的组织培养过程中,会产生大量的玻璃苗。玻璃苗移栽难以成活,继代培养仍然形成玻璃苗,因此,玻璃苗的出现与否是关系洋香瓜组培技术成功的关键所在。本文通过NH₄⁺水平、激素浓度、琼脂用量和继代次数及时间等方面对洋香瓜试管苗玻璃化作一探讨,有效地克服了试管苗玻璃化现象,为该品种的工厂化育苗打下良好的基础。

参考文献

- [1] 张宏志,唐前瑞,周朴华. 观赏植物试管苗玻璃化现象及防治研究进展. 湖南农业大学学报, 2000, 26(4): 318~322.
- [2] 邵长文,梅茜,孙涌栋等. 植物组织培养中玻璃化控制研究进展. 长江蔬菜, 2004(5): 34~36.

声 明

为适应我国信息化建设需要,扩大作者学术交流渠道,本刊已加入《中国期刊全文数据库》和《中国学术期刊综合评价数据库》。作者著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。如作者不同意将文章编入该数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

《广西热带农业》编辑部
二〇〇六年三月十日