

# 观赏南瓜的组织培养和快速繁殖

贾文庆, 刘 宇, 唐米米

(河南科技学院园林学院, 河南新乡 453003)

**摘要:** 以观赏南瓜种子为材料, 进行了组织培养和快速繁殖技术的研究。试验结果表明: 观赏南瓜种子获取无菌实生苗的较好处理方式是将种子剥壳, 胚根垂直向下; 种子进行无菌萌发用 0.1% 的氯化汞溶液消毒, 消毒时间以 8 min 为宜; 子叶是愈伤诱导的最佳外植体; 芽诱导的最佳培养基是 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L; 1/2MS 是适宜的生根培养基。

**关键词:** 南瓜; 组织培养; 快速繁殖

**中图分类号:** S642.203.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)01-0091-03

观赏南瓜又名玩具南瓜, 属于葫芦科南瓜属, 美洲南瓜的观赏南瓜群<sup>[1]</sup>。它果形奇特, 果色丰富, 具有较强的观赏价值, 可当作城市、园林、庭院的绿化观赏植物来绿化环境、美化家园。它果实成熟后, 果壳坚硬, 可作为玩具或装饰品长期保存, 深受人们喜爱。但是该瓜在高温、干燥或多湿的条件下授粉不良, 结籽不佳。为了扩大繁殖, 对其离体培养进行研究具有一定的实用价值。植物组织培养技术已经应用于甜瓜、黄瓜等瓜类作物<sup>[2-3]</sup>, 但对观赏瓜类的

离体培养研究国内报道不多。因此, 开展观赏南瓜离体快繁技术研究, 对保持品种优良性状的稳定性, 扩大繁殖推广新品种以及开展体细胞变异育种都有重要的实际意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

观赏南瓜金童, 由河南科技学院园林学院南瓜育种室提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗的获得 选取饱满、大小一致的观赏南瓜种子以不同的处理方式, 即带壳、平放种子, 不带壳平放种子和带壳、胚根垂直向下的种子经 75% 酒精表面消毒 30 s, 置 0.1% 氯化汞溶液中分

gy, 1998, 49:481-500.

[17] Ludm L R, Eva H, Jaro S T. Optimization of conditions for *in vitro* pollen germination and tube growth in potatoes [J]. *International Journal of Plant Sciences*, 1996, 157(5): 561-566.

[18] 徐乘芳, 周 嫦, 杨弘远, 等. pH 值与聚乙二醇对芸薹属花粉人工萌发的影响 [J]. *武汉大学学报: 自然科学版*, 1996, 42(4): 453-460.

[19] Roberts I N, Gaude T C, Harrod G, et al. Pollen stigma interactions in *Brassica oleracea*: a new pollen germination medium and its use in elucidating the mechanism of self incompatibility [J]. *Theor Appl Genet*, 1983, 65: 231-238.

[20] Hodgkin T, Lyon G D. The effect of *Brassica oleracea* stigma extracts on the germination of *B. oleracea* pollen in a thin layer chromatographic bioassay [J]. *J Exp Bot*, 1986, 37: 406-411.

[21] Leduc N, Monnier M, Douglas G C. Germination of trinucleated pollen: formulation of a new medium for *Capsella bursa-pastoris* [J]. *Sex Plant Reprod*, 1990, 5(3): 228-235.

收稿日期: 2006-07-28

基金项目: 河南科技学院重点项目资金资助(编号: 5046)。

作者简介: 贾文庆(1979—), 男, 河南南阳人, 硕士, 助教, 主要从事观赏植物生物技术方面的研究。Tel: (0373) 3040384; E-mail: jiawq99@126.com.

(上接第 90 页)

[10] Taylor L P, Hepler P K. Pollen germination and tube growth [J]. *Ann Rev Plant Mol Biol*, 1997, 48: 461-491.

[11] Jackson J F. Borate control of energy-driven protein secretion from pollen and interaction of borate with auxin or herbicide—a possible role for boron in membrane events [J]. *Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology*, 1991, 10: 221-229.

[12] 年玉欣, 罗凤霞, 张 颖, 等. 测定百合花粉生命力的液体培养基研究 [J]. *园艺学报*, 2005, 32(5): 922-925.

[13] 符 碧. 尿素和硼及生长调节剂对荔枝花粉萌发与生长的影响 [J]. *云南师范大学学报*, 2001, 21(3): 62-65.

[14] 郭光明, 张福锁, 尚忠林, 等. 硼对百合花粉萌发过程中细胞内游离钙离子的影响 [J]. *中国农业大学学报*, 2002, 7(5): 32-37.

[15] Parton E, Vervaeke I, Delen R, et al. Viability and storage of bromeliad pollen [J]. *Euphytica*, 2002, 125(2): 155-161.

[16] Blevins D G, Lukaszewski K M. Boron in plant structure and function [J]. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*

别消毒 4 min、6 min、8 min、10 min, 观察不同消毒时间对无菌苗萌发的影响, 然后用无菌水冲洗 4~5 次<sup>[4]</sup>。种子消毒后在无菌条件下分别将经过不同处理方式的种子接种于培养基上培养。基本培养基是 MS 中加入琼脂 8 g、蔗糖 30 g, 调 pH 值为 5.8。

1.2.2 不同的外植体类型对芽和愈伤组织诱导的影响 取观赏南瓜无菌苗的子叶、下胚轴、胚根作为外植体。在取用子叶时, 去掉子叶边缘, 将剩下的横切为二, 取其近叶柄端, 再纵切为二, 每片子叶得两块外植体; 下胚轴取子叶下约 0.2 cm 部位, 切成 0.4~0.8 cm 的切段; 胚根取靠近胚轴的区段, 切成 0.5~1.0 cm 的切段。将由子叶得到的外植体表面朝上接种在愈伤诱导培养基上; 由下胚轴和胚根得到的外植体分水平放置和下端插入培养基两种接种方式<sup>[5]</sup>。接种后, 放在培养室中培养, 观察不同外植体的芽诱导情况。

### 1.2.3 不同激素浓度对芽和愈伤组织诱导的影响

切取培养 5~8 d 高约 4~8 cm 的无菌幼苗子叶, 横切成 0.5 cm 的小块和带基端的芽作为外植体, 接种于以下 5 种培养基中: (1) MS+6-BA 0.5 mg/L; (2) MS+KT 0.5 mg/L; (3) MS+KT 2.0 mg/L; (4) 2/3MS+6-BA 0.5 mg/L; (5) MS+6-BA 2.0 mg/L 中进行初代培养。培养条件为光照 14 h/d、温度 (25±1) °C, 20 d 后观察统计不同的激素浓度对芽和愈伤组织诱导的影响。

1.2.4 生根培养基的诱导 将无菌苗分别置于以下 4 种培养基中诱导生根: (1) 1/2MS; (2) 1/2MS+BA 0.25 mg/L+NAA 0.01 mg/L; (3) 1/2MS+BA 0.25 mg/L+NAA 0.05 mg/L; (4) 1/2MS+BA 0.25 mg/L+NAA 0.1 mg/L。培养条件为光照 14 h/d、温度 (25±1) °C, 20 d 后观察生根情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体的不同处理方式对获取无菌苗的影响

由表 1 可以看出: 外植体的处理方式不同, 获取无菌苗的数量和污染程度明显不一样, 种子带壳的开始萌发时间最长, 成苗率最低, 污染率最高, 原因

表 1 外植体不同处理方式对获取观赏南瓜无菌苗的影响

处理	接入外植体 (个)	萌发时间 (d)	出苗数 (个)	污染数 (个)	污染率 (%)
带壳平放	60	5	24	11	18.3
去壳平放	60	3	48	9	13.6
去壳胚根垂直向下	60	2	54	6	9.5

是未经剥壳处理的种子吸水速度慢, 且要克服种壳阻力才能萌发; 而经去壳处理且胚根垂直朝下萌发最快, 萌发率最高, 受污染程度最低。

### 2.2 消毒时间对种子无菌苗萌发的影响

无菌萌发是植物组织培养中最基本的环节, 因此材料的灭菌效果和出苗情况直接影响试验的进程。本试验采用 75% 的酒精和 0.1% 的氯化汞溶液作为种子无菌萌发的消毒液, 它们对种子萌发的影响见表 2。

表 2 消毒时间对种子无菌萌发的影响

消毒时间 (min)	供试种子数 (粒)	萌芽数 (粒)	污染数 (粒)	萌芽率 (%)	污染率 (%)
4	45	43	16	95.6	35.6
6	45	42	5	93.3	11.1
8	45	40	0	88.9	0
10	45	34	0	75.6	0

从表 2 可以看出: 消毒效果与消毒时间的长短有很大的关系。当消毒时间为 4 min 时, 污染率高达 35.6%; 随着消毒时间的延长, 消毒效果越来越好。但时间过长, 容易对种子造成毒害, 降低种子的萌芽率。当消毒时间为 10 min 时, 污染率为 0, 可萌芽率与消毒 8 min 的相比降低了 13.3 个百分点。因此, 在对金童观赏南瓜种子消毒时, 消毒时间以 8 min 较为适宜。

在观察过程中发现, 消毒时间过长, 对种子的毒害有以下几个方面的表现: 抑制胚根的发生, 影响无菌苗生长; 下胚轴不伸长或伸长很短; 子叶生长出现扭曲, 伴随有失绿现象。

### 2.3 不同外植体类型对芽和愈伤组织诱导的影响

用 MS+1.0 mg/L IBA+1.0 mg/L NAA 培养基对胚根、胚轴和子叶分别进行愈伤组织和芽的诱导, 结果见表 3。从表 3 可以看出, 不同类型外植体间的愈伤组织和芽的诱导率有很大的差异。胚轴的诱导效果最差, 胚根有 50.0% 形成愈伤组织, 但只能诱导出极少数的芽; 而子叶愈伤组织诱导率可达 80%, 芽的诱导率也能达到 20%。可见, 子叶是金童观赏南瓜愈伤诱导的最适外植体。

表 3 不同外植体类型对观赏南瓜芽诱导的影响

外植体	接种数 (个)	诱导愈伤数 (个)	愈伤诱导率 (%)	芽诱导数 (个)	芽诱导率 (%)
子叶	30	24	80.0	6	20.0
胚轴	30	6	20.0	1	3.3
胚根	30	15	50.0	2	6.7

#### 2.4 不同激素浓度对芽诱导的影响

培养1周左右,从子叶切口处长出愈伤组织,少数可逐步分化成芽;而顶芽则先伸长,抽新叶,然后腋芽萌发,同时在切口处产生少量愈伤组织,在20 d分化成不定芽。从表4可以看出,6-BA诱导观赏南瓜产生芽的能力比KT强,6-BA浓度为0.5

表4 不同激素浓度对观赏南瓜芽诱导的影响

培养基	接种数		芽诱导数(个)		芽诱导率(%)	
	子叶	顶芽	子叶	顶芽	子叶	顶芽
MS + KT 0.5 mg/L	40	40	5	7	12.5	17.5
MS + KT 2.0 mg/L	40	40	8	10	20.0	25.0
MS + 6-BA 2.0 mg/L	40	40	16	18	40.0	45.0
MS + 6-BA 0.5 mg/L	40	40	23	27	57.5	67.5
2/3MS + 6-BA 0.5 mg/L	400	40	30	34	75.0	85.0

mg/L时,顶芽的诱导率比6-BA浓度为2.0 mg/L时的高。培养基使用2/3大量元素,减少营养成分中盐的浓度,有利于子叶在切口处先产生大量颗粒状愈伤组织,然后分化出芽,同时在培养过程中发现高浓度的6-BA容易诱导愈伤组织,愈伤组织多呈水浸状或海绵状,难以分化成苗,易褐化而死。

#### 2.5 生根培养基的选择

以1/2MS为基本培养基,附加不同浓度的NAA和BA,诱导观赏南瓜苗生根,第10 d和第14 d调查统计,结果表明:以不加任何激素的1/2MS培养基诱导生根效果最好。其特点是生根快,3 d就有肉眼可见的不定根突起,10~14 d即可移栽驯化,生根率高,根的质量也好(表5)。

表5 不同生长调节剂对观赏南瓜生根培养的影响

培养基	接种数(个)	生根10 d		生根14 d	
		生根数(个)	生根率(%)	生根数(个)	生根率(%)
1/2MS	40	32	80.0	36	90.0
1/2MS + BA 0.25 mg/L + NAA 0.01 mg/L	30	16	53.3	25	83.3
1/2MS + BA 0.25 mg/L + NAA 0.05 mg/L	36	13	36.1	20	55.6
1/2MS + BA 0.25 mg/L + NAA 0.1 mg/L	30	14	46.7	23	76.7

### 3 小结与讨论

对外植体进行消毒获取无菌材料是组织培养的第一步,本试验结果表明:获得观赏南瓜的最佳外植体是去壳、胚根垂直向下,用75%酒精表面消毒30 s,然后用0.1%的氯化汞溶液消毒8 min、无菌水冲洗4~5次,经过这样处理的外植体诱导无菌苗的污染率低。观赏南瓜愈伤的发生情况及芽分化效果与外植体的类型和培养基的种类有密切关系。诱导观赏南瓜愈伤组织的最适外植体是子叶,诱导芽分化的最适培养基是低浓度的6-BA。在诱导愈伤组织过程中发现,以带茎端的芽作为外植体很容易出芽,进而形成完整的小植株。原因在于植物器官如根、茎、叶的分化成熟度高,进行再生培养是要经历脱分化,再分化才能形成新的植株,而带茎端的芽处于分生状态,不必经历脱分化,可直接形成完整的植株<sup>[6-7]</sup>。所以,以带茎端的芽作为外植体比子叶、胚

根作为外植体效果好。在黄瓜的组织培养中有类似的结果。

#### 参考文献:

- [1] 耿新丽,赵一鹏,秦勇. 金童观赏南瓜离体繁殖技术研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(7):1338-1339.
- [2] 盛玉萍,王爱勤,何龙飞,等. 利用组织培养快速繁殖无蔓一号南瓜[J]. 广西农业生物科学,2002,21(3):185-187.
- [3] 周素平,王广东,王湘军,等. “春丰1号”厚皮甜瓜的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,1999,35(4):301.
- [4] 王首锋,梁海曼. 升汞和次氯酸钠对黄瓜萌发及幼苗生长的影响[J]. 植物生理学通讯,1996,32(2):117-120.
- [5] 赵建萍,柏新付,蒋小满,等. 利用组培技术快繁艾西西南瓜良种[J]. 北方园艺,1999(5):14-15.
- [6] 张恒涛,宋尚伟,陈延惠,等. 无籽西瓜黑密2号组培条件研究[J]. 河南农业科学,2004(3):35-38.
- [7] 牛爱国,朱海波,侯丽娟,等. 无籽西瓜组培快繁技术初步研究[J]. 山东农业科学,1997(1):32-34.