

# 无籽西瓜离体快繁技术研究

昌正兴<sup>1</sup>,马陆平<sup>2</sup>,周 泉<sup>2</sup>,刘明月<sup>3</sup>,艾 辛<sup>3</sup>

(1.岳阳职业技术学院,湖南 岳阳 414000,2.湖南博达隆科技发展有限公司,湖南 岳阳 414000,3.湖南农业大学园艺园林学院,湖南 长沙 410000)

**摘 要:**以湘西西瓜 11 号(无籽西瓜)的子叶苗茎尖、真叶苗茎尖和带 1 腋芽的茎段为外植体进行离体快繁技术研究。结果表明:带 1 腋芽茎段的外植体成苗效果最好,能够有效解决丛生芽诱导苗参差不齐、大小不一的问题,可为无籽西瓜种苗工厂化和规模化生产提供大量健壮、生长一致的嫁接材料。带 1 腋芽茎段离体快繁的最佳培养基为 1/2MS+6-BA 0.6 mg/L。

**关键词:**无籽西瓜;湘西西瓜 11 号;离体培养;快繁

**中图分类号:**S651.339.45 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-060X(2008)01-0015-02

无籽西瓜制种存在采种量低、发芽率低、成苗率低的“三低”问题,加上无籽西瓜育苗技术性强,致使生产成本增加,严重影响了无籽西瓜的大面积推广和产业化发展<sup>[1-2]</sup>。近年来,国内外在无籽西瓜组织培养方面开展了大量研究,但报道多集中在胚、子叶、茎尖等组织(器官)的离体培养<sup>[3-5]</sup>,而对茎段培养(嫁接)成苗的报道极少。为解决外植体快繁中丛生芽诱导参差不齐、大小不一等问题,本试验以茎尖和茎段为试材,对无籽西瓜离体快繁技术进行了系统的研究,以期在短期内大规模、成批量获取健壮、整齐的嫁接材料,为无籽西瓜种苗工厂化和规模化生产提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试品种为湘西西瓜 11 号(洞庭 1 号),由湖南博达隆科技发展有限公司提供。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 取材与消毒** 分别以湘西西瓜 11 号盆栽的子叶苗茎尖、真叶苗茎尖及带 1 腋芽的茎段为外植体,将茎尖、茎段均切成 1 cm 的小段,自来水洗净后放入 250 mg/L  $\text{ClO}_2$  中浸泡 30 min,取出后用无菌水冲洗 3~4 次,再放入 0.1%  $\text{HgCl}_2$  中消毒 8 min,无菌水冲洗 5~6 次后,用滤纸吸干表面水分,接种待用。

**1.2.2 无菌培养** 基本培养基分别为 MS、1/2MS 和 1/4MS,其中蔗糖 3.0 g/L,琼脂 5.0 g/L,pH 值 5.8~6.0。在基本培养基中添加不同浓度组合的

6-BA、NAA、IBA,以及改变培养基中  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 、 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Fe}^{2+}$  浓度,以研究不同激素和 N、K、Fe 对茎段成苗的影响。将茎尖、茎段接种于诱导培养基中后,置于培养室中培养,温度  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,光照  $1\,500 \sim 2\,000\text{ lx}$ ,光照时数 12~14 h/d。

**1.2.3 试管苗嫁接** 嫁接在室外大棚中进行。用穴盘营养土播种砧木,常规育苗,待大部分砧木第 1 片真叶完全展开时,选取炼苗后的试管苗采用顶部插接法进行嫁接。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素配比对茎尖、茎段丛生芽的诱导效果

将湘西西瓜 11 号子叶苗茎尖、真叶苗茎尖以及带 1 腋芽的茎段分别接种在不同浓度组合的培养基上,6~14 d 后均产生不定芽。其中子叶苗茎尖、真叶苗茎尖诱导不定芽的时间较短,茎段诱导不定芽的时间稍长(见表 1)。结果显示,MS+6-BA 0.6 mg/L 培养基对 3 种外植体丛生芽的诱导效果均最好,不定芽出现最快,数量最多,生长最粗壮。实验还发现,用带 1 腋芽茎段诱导产生的丛生芽出芽期集中、芽苗整齐一致、生长健壮,克服了其它外植体材料快繁中出芽参差不齐、大小不一的问题。

### 2.2 茎段类型和 IBA 对试管苗形成的影响

将湘西西瓜 11 号带 1 腋芽的上部茎段和下部茎段分别接种在含不同浓度 IBA 的 MS 培养基上,结果显示:两种茎段均能成苗生根,但上部茎段萌芽比下部茎段早,且 18 d 后上部茎段形成的试管苗叶片数较多,苗也较大。表 2 还显示:不同浓度的 IBA 对不定芽发生、出芽数和生根状况有明显影响。其中上部茎段在 MS+0.3 mg/L IBA 培养基上分化和生

收稿日期:2007-11-28

基金项目:湖南省科技厅资助项目(04NK3011)

作者简介:昌正兴(1964-),男,湖南邵阳市人,硕士研究生,主要从事园艺园林教学科研工作。

根效果最好,下部茎段在 MS + 0.4mg/L IBA 培养基上分化和生根效果最好。

表 1 不同激素对比对茎尖、茎段丛生芽诱导效果的影响

| 外植体类型    | 基本培养基 | 激素浓度(mg/L) |     | 外植体数 | 不定芽诱导时间(d) | 不定芽芽数 | 不定芽芽长度(cm) | 不定芽生长状况 |
|----------|-------|------------|-----|------|------------|-------|------------|---------|
| 子叶苗茎尖    | MS    | 6-BA       | NAA |      |            |       |            |         |
|          |       | 0.3        | 0   | 26   | 11         | 3.0   | 1.0        | 较细      |
|          |       | 0.4        | 0   | 26   | 9          | 4.8   | 1.1        | 较细      |
|          |       | 0.5        | 0   | 26   | 8          | 5.0   | 1.4        | 较粗      |
|          |       | 0.6        | 0   | 26   | 6          | 5.4   | 1.6        | 粗壮      |
|          |       | 0.4        | 0.2 | 26   | 7          | 3.2   | 1.4        | 较粗      |
|          |       | 0.6        | 0.4 | 26   | 8          | 3.6   | 1.2        | 较细      |
| 真叶苗茎尖    | MS    | 0.8        | 0.5 | 26   | 8          | 3.1   | 0.9        | 较细      |
|          |       | 0.3        | 0   | 22   | 10         | 3.1   | 0.9        | 较粗      |
|          |       | 0.4        | 0   | 22   | 9          | 4.7   | 1.0        | 较粗      |
|          |       | 0.5        | 0   | 22   | 8          | 4.9   | 1.3        | 较粗      |
|          |       | 0.6        | 0   | 22   | 6          | 5.2   | 1.4        | 粗壮      |
|          |       | 0.4        | 0.2 | 22   | 7          | 4.0   | 1.2        | 较粗      |
|          |       | 0.6        | 0.4 | 22   | 8          | 3.8   | 1.1        | 较细      |
| 带 1 腋芽茎段 | MS    | 0.8        | 0.5 | 22   | 8          | 3.1   | 0.8        | 较细      |
|          |       | 0.3        | 0   | 20   | 14         | 2.6   | 1.3        | 较粗      |
|          |       | 0.4        | 0   | 20   | 13         | 3.2   | 1.3        | 较粗      |
|          |       | 0.5        | 0   | 20   | 13         | 4.0   | 1.0        | 较粗      |
|          |       | 0.6        | 0   | 20   | 11         | 4.2   | 1.2        | 粗壮      |
|          |       | 0.4        | 0.2 | 20   | 12         | 3.6   | 0.9        | 较粗      |
|          |       | 0.6        | 0.4 | 20   | 10         | 3.1   | 0.7        | 较粗      |
|          |       | 0.8        | 0.5 | 20   | 11         | 2.5   | 0.5        | 较粗      |

表 2 茎段类型和 IBA 对试管苗形成的影响

| 外植体  | IBA 浓度 (mg/L) | 外植体数 | 开始萌芽天数(d) | 18 d 后试管苗的大小 |   | 生根情况     | 试管苗生长状况 |
|------|---------------|------|-----------|--------------|---|----------|---------|
| 上部茎段 | 0.2           | 30   | 6         | 4            | 6 | 生根慢,须根发达 | 好       |
|      | 0.3           | 30   | 5         | 4            | 6 | 生根快,须根发达 | 良好      |
|      | 0.4           | 30   | 8         | 4            | 6 | 生根慢      | 较好      |
| 下部茎段 | 0.2           | 30   | 10        | 3            | 4 | 生根慢      | 较好      |
|      | 0.3           | 30   | 9         | 3            | 4 | 生根慢,须根发达 | 好       |
|      | 0.4           | 30   | 11        | 3            | 4 | 生根快,须根发达 | 良好      |

### 2.3 不同的 MS 培养基对茎段成苗的影响

表 3 显示,3 种 MS 培养基均能较好地促进无籽西瓜茎段分化和成苗。其中 1/2 MS 培养基对湘西西瓜 11 号带 1 腋芽茎段的芽丛分化效果最好,成苗率最高,生根最多,幼苗生长状况最好;MS 培养基的诱导效果次之,1/4MS 较差,表明 1/2MS 培养基是诱导茎段成苗的最适基本培养基。

表 3 不同的基本培养基对茎段成苗的影响

| 培养基   | 接种茎段数 | 成苗数 | 成苗率 (%) | 生根苗 (%) | 平均生根数 | 生长状况 |
|-------|-------|-----|---------|---------|-------|------|
| MS    | 30    | 26  | 86.7    | 90      | 1.5   | 生长缓慢 |
| 1/2MS | 30    | 28  | 93.3    | 95      | 3.5   | 生长快  |
| 1/4MS | 30    | 20  | 66.7    | 70      | 1.2   | 生长缓慢 |

### 2.4 N、K、Fe 对茎段成苗的影响

由表 4 可以看到, - 1/2 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 能够促进茎段的萌发和生长,成苗率达 83.3%,生根率为 95.8%,而 + 1/2NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 仅为 58.3% 和 83.3%,表明高 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 对茎段的萌发和成苗有抑制作用;培养基中添加正常浓度的 KNO<sub>3</sub> 对茎段腋芽成苗率、生根率效果较好,分别达 84.1% 和 92.3%,而过高或过低浓度的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 均不利于茎段的萌发和成苗。结果还表明,增加或减少 K<sup>+</sup>、Fe<sup>2+</sup> 均不利于茎段的成苗及生根。

表 4 N、K、Fe 对无籽西瓜茎段成苗的影响

| 大量元素                                 | 接种茎段数 | 腋芽萌发天数(d) | 成苗数(d) | 成株数 | 成苗率 (%) | 生根率 (%) | 生长状况 |
|--------------------------------------|-------|-----------|--------|-----|---------|---------|------|
| + 1/2NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> | 24    | 5         | 14     | 14  | 58.3    | 83.3    | 较好   |
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>      | 24    | 5         | 13     | 18  | 75.0    | 91.7    | 较好   |
| - 1/2NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> | 24    | 5         | 12     | 20  | 83.3    | 95.8    | 良好   |
| + 1/2KNO <sub>3</sub>                | 26    | 5         | 13     | 19  | 73.1    | 88.5    | 较好   |
| KNO <sub>3</sub>                     | 26    | 5         | 12     | 22  | 84.1    | 92.3    | 良好   |
| - 1/2KNO <sub>3</sub>                | 26    | 5         | 14     | 16  | 61.5    | 76.9    | 较好   |
| + 1/2 铁盐                             | 28    | 5         | 13     | 19  | 67.9    | 75.0    | 较好   |
| 铁盐                                   | 28    | 5         | 12     | 20  | 71.4    | 92.9    | 较好   |
| - 1/2 铁盐                             | 28    | 5         | 13     | 18  | 64.3    | 82.1    | 较好   |

### 2.5 琼脂和蔗糖对无籽西瓜试管苗玻璃化的影响

表 5 显示,在一定范围内,培养基中的琼脂和蔗糖含量与无籽西瓜茎段试管苗玻璃化现象有较大关系。琼脂和蔗糖浓度越高,试管苗玻璃化率就越小,当琼脂浓度为 1.0% 时,试管苗未出现玻璃化现象;而当蔗糖浓度为 4.0% 时,试管苗玻璃化率仅为 6.9%。

表 5 不同浓度的琼脂和蔗糖对无籽西瓜试管苗玻璃化的影响

| 培养基 | 浓度   | 接种茎段数 | 成苗数 | 玻璃化苗数 | 玻璃化率 (%) |
|-----|------|-------|-----|-------|----------|
| 琼脂  | 0.5% | 30    | 22  | 19    | 86.36    |
|     | 0.7% | 30    | 26  | 7     | 26.92    |
|     | 1.0% | 30    | 28  | 0     | 0.00     |
| 蔗糖  | 2.0% | 30    | 26  | 11    | 42.31    |
|     | 3.0% | 30    | 28  | 8     | 28.57    |
|     | 4.0% | 30    | 29  | 2     | 6.90     |

### 2.6 激素类型和浓度对试管苗生根的影响

切下的芽头分别接种到 IAA、IBA 和 NAA 培养基中,4~7 d 后均观察到幼芽基部产生了数条不定根。表 6 显示,在不同激素配比的培养基中,以 0.3 mg/L IBA 诱导生根的效果最好,平均生根数达 4.0 根以上,且新根生长快,须根发达; (下转第 19 页)

℃之上。花粉正常发育的条件完全满足,所以表现跟常规稻一样。

在低海拔制种区,水稻生殖生长期,寒潮引起降温,这时平均气温降到生理临界温度上下,但由于阴雨北风天气昼夜温差小,最低温度仍在转向可育的最低温度之上。如江华县 2006 年 5 月 26 日~6 月 2 日的最低温度在 19℃左右,最高温度在 21℃左右,虽然平均气温降到生理临界温度上下,但最低温度极少出现低于 18℃。试验过程仅有 2006 年 5 月 30 日虽然出现了 17.8℃的最低温度,但只有一天,3 d 以下尚不足以转向可育。而且当日均气温降至生理临界温度以下时,发育处于停滞状态。连续 18℃以下的最低温度只出现于晚秋至次年初夏之间,这对于喜温作物而言,气温已降至生殖生长期的生理临界温度以下。因此,在高海拔区鉴定繁殖出来的低临界温度“两系不育系”,在同纬度或更低纬度低海

拔制种区会表现“终年不育”,完全没有制种的纯度风险。但在高海拔地区可以像常规稻那样自交结实。

试验验证了周宗岳“两系不育系”育性双向彻底转换的理论和方法。该技术在两系法杂种优势利用上具有划时代的价值。

参考文献:

[1] 张自国,严兴桂,袁隆平. 光敏核不育水稻育性转换的临界温度选择与鉴定的思考[J]. 杂交水稻 1992,7(6):29-32.

[2] 袁隆平. 水稻光温敏不育系的提纯和原种生产[J]. 杂交水稻, 1994,19(6):1-3.

[3] 周红玲,姜铁桥,毛建华. 温敏核不育系康 201S 制种技术研究[J]. 湖南农业科学,2005,(2):15-16.

[4] 王守海,李成荃. 安徽省两系杂交水稻种子生产安全技术与应用研究(Ⅳ)——两系杂交稻制种安全与高产技术研究[J]. 安徽农业科学,2003,31(1):8-13.

(上接第 16 页)

IAA 的诱导效果次之,NAA 效果最差,且玻璃化现象较明显。

表 6 激素类型和浓度对试管苗生根的影响

| 激素类型 | 激素浓度 (mg/L) | 试管苗数 | 开始生根 天数(d) | 平均生根数 | 生长状况       |
|------|-------------|------|------------|-------|------------|
| IAA  | 0.2         | 26   | 6          | 1.5   | 生长缓慢       |
|      | 0.3         | 26   | 6          | 2.8   | 生长势弱,须根不发达 |
|      | 0.4         | 26   | 6          | 2.0   | 生长慢,须根少    |
| IBA  | 0.2         | 26   | 4          | 3.5   | 生根快,须根发达   |
|      | 0.3         | 26   | 4          | 4.0   | 生根快,须根发达   |
|      | 0.4         | 26   | 4          | 5.0   | 生长慢        |
| NAA  | 0.2         | 26   | 7          | 1.4   | 生长慢        |
|      | 0.3         | 26   | 7          | 1.2   | 生长慢        |
|      | 0.4         | 26   | 7          | 1.0   | 生长缓慢       |

3 小 结

实验结果认为:以子叶苗茎尖、真叶苗茎尖以及茎段作为外植体,均可诱导产生丛生芽,但在无籽西

瓜的组培快繁中,选择 1 腋芽茎段外植体直接成苗效果更好,能够有效避免愈伤材料变异。上部茎段在 MS+0.3 mg/L IBA 培养基上分化和生根效果最好,下部茎段在 MS+0.4 mg/L IBA 培养基上分化和生根效果最好。选用含 1.0%琼脂、4.0%蔗糖的 MS 培养基能够有效控制茎段离体快繁试验中的玻璃化苗现象。

参考文献:

[1] 侯占铭,石昌瑜.三倍体无籽西瓜的组织培养[J].内蒙古师范大学学报(自然科学版),1996,(3):69-70.

[2] 孙光英.无籽西瓜离体培养及再生植株的快速繁殖技术分析[J].耕作与栽培,2004,(4):39-41.

[3] 任春梅,董延瑜.西瓜组织培养的研究[J].湖南农业大学学报, 2003,(1):50-53.

[4] 邵宏波.西瓜组织培养研究现状[J].松辽学刊(自然科学版), 1999,(3):49-51.

[5] 汤月丰,周 泉,马陆平.无籽西瓜组织培养与嫁接育苗技术研究[J].湖南农业科学,2006,(5):43-44.