

黄河蜜瓜子叶组培技术研究

苏永全, 张玉鑫

(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以甜瓜品种黄河蜜3号的无菌子叶为材料, 对6-BA与NAA不同配比的16种激素组合进行不定芽分化培养基的筛选及添加IAA的4种生根培养基进行生根培养研究的结果表明, 在MS+6-BA 1.50 mg/L+NAA 0.20 mg/L的培养基上, 不定芽的诱导率最高, 达到66.7%, 获得了较高的不定芽再生率; 在1/2 MS+IAA 0.20 mg/L的培养基上生根效果最好, 生根率达100%。

关键词: 甜瓜; 黄河蜜3号; 子叶; 组织培养

中图分类号: S66 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2007)06-0018-02

黄河蜜瓜果皮金黄色, 光洁美丽, 果肉绿色酥脆, 耐运输, 但是近几年由于种质退化、生产面积逐年减少。现代生物技术, 尤其是植物基因工程技术的发展, 为植物育种开辟了新的途径, 目前在甜瓜上已通过子叶^[1~7]、真叶^[8~9]等多种外植体再生植株, 但有关黄河蜜瓜的组织培养和再生植株的报道很少。为此, 我们开展了黄河蜜瓜子叶组培技术研究, 以期在黄河蜜瓜建立一个高效再生系统。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为黄河蜜3号种子无菌苗子叶。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗子叶的获得 将种子用纱布包好后浸于70℃的适量热水中让其自然降温至室温, 12 h后在0.1%升汞中消毒8 min, 用无菌水冲洗4次, 将种子接到MS基本培养基中, 在培养架上培养, 待子叶长出新绿后, 在超净工作台上切取无菌苗的子叶备用。为比较不同苗龄子叶再生能力的差异, 选用破嘴后2 d、5 d、10 d苗龄的子叶进行培养试验, 30 d后统计愈伤组织诱导率。

1.2.2 愈伤组织和不定芽的诱导 供试的不定芽诱导培养基为添加不同浓度6-BA(1.00~1.75 mg/L)和NAA(0~0.50 mg/L)配比的MS培养基(见表1)。将无菌苗的子叶切去顶部和基部, 再横切为二, 叶背与培养基接触, 接到不定芽诱导培养基上, 每处理接5个外植体, 重复3次, 28 d后观察培养结果, 统计不定芽诱导率。28~35 d后将分化出的不定芽(丛)连带其基部的母体外植体组织切下转接至伸长培养基上培养, 伸长培养基为MS+6-BA 1.00 mg/L+NAA 0.20 mg/L。

1.2.3 不定根的诱导 将长到2 cm左右的不定芽转接到生根培养基上, 培养条件同前。生根培养基为MS及1/2 MS培养基中分别加入IAA 0.20 mg/L、IAA 0.50 mg/L, 14 d后统计生根数和诱导生根率。

1.2.4 培养条件 培养架温度保持在25℃, 光照强度3 000 Lx, 日光照16 h。试验MS培养基pH 5.8, 蔗糖3.0%, 琼脂0.7%。

2 结果与分析

2.1 不同苗龄子叶对愈伤组织分化的影响

试验结果表明, 供试不同苗龄子叶愈伤组织的分化情况有所差别, 子叶刚转绿时愈伤组织的生长量最大, 随着叶龄的增加, 愈伤组织生长量逐渐下降, 破嘴后10 d深绿色的子叶只是膨胀, 产生的愈伤组织很少。子叶叶龄为2 d时愈伤组织的诱导率为73%, 子叶叶龄5 d时诱导率为33%, 子叶叶龄10 d时诱导率为13%。但并非叶龄越小越好, 子叶在未转绿时接到培养基上后并不膨大, 这可能是由于外植体的生理活性较低造成的。破嘴后2 d的外植体愈伤组织诱导率最高, 这可能是由于生理年龄较小的缘故。这与马国斌等人得出的结果一致^[10], 表明破嘴子叶转绿后应尽量缩短外植体的苗龄。

2.2 不同培养基对愈伤组织和不定芽诱导影响

结果表明, 外植体在芽诱导培养基上不断增大, 3~5 d外植体在切口处长出细小、鲜绿、生长旺盛的愈伤组织, 7~10 d外植体的愈伤组织处开始产生浓绿发亮的小突起, 15 d左右开始长出丛芽原基, 出芽部位多在近轴端与维管束的交接处, 另一端基本不产生愈伤组织。

从表1的结果可以看出, 在所有添加激素组合

收稿日期: 2006-11-22

作者简介: 苏永全(1978-), 男, 甘肃永登人, 研究实习员, 主要从事蔬菜栽培技术研究和科研管理工作。联系电话: (0931)7614949。

表1 子叶外植体在添加不同配比激素的MS培养基上的分化情况^①

培养基	不定芽诱导率 (%)	器官发生类型
MS+6-BA 1.75 mg/L+NAA 0.50 mg/L	33.3	生成不定芽
MS+6-BA 1.75 mg/L+NAA 0.20 mg/L		生成不定根
MS+6-BA 1.75 mg/L+NAA 0.10 mg/L		生成不定根
MS+6-BA 1.75 mg/L		无芽茎分化
MS+6-BA 1.50 mg/L+NAA 0.50 mg/L		生成不定根
MS+6-BA 1.50 mg/L+NAA 0.20 mg/L	66.7	生成不定芽、不定根
MS+6-BA 1.50 mg/L+NAA 0.10 mg/L		生成不定根
MS+6-BA 1.50 mg/L		无芽茎分化
MS+6-BA 1.25 mg/L+NAA 0.50 mg/L		生成不定根
MS+6-BA 1.25 mg/L+NAA 0.20 mg/L		生成不定根
MS+6-BA 1.25 mg/L+NAA 0.10 mg/L	53.3	生成不定芽、不定根
MS+6-BA 1.25 mg/L		无芽茎分化
MS+6-BA 1.00 mg/L+NAA 0.50 mg/L		生成不定根
MS+6-BA 1.00 mg/L+NAA 0.20 mg/L		生成不定根
MS+6-BA 1.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L	26.7	生成不定芽、不定根
MS+6-BA 1.00 mg/L		无芽茎分化

①每处理组合接种15块外植体。

的培养基中,只有在MS+6-BA 1.75 mg/L+NAA 0.50 mg/L、MS+6-BA 1.50 mg/L+NAA 0.20 mg/L、MS+6-BA 1.25 mg/L+NAA 0.10 mg/L、MS+6-BA 1.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L上产生不定芽,其中以MS+6-BA 1.50 mg/L+NAA 0.20 mg/L对不定芽的诱导率最高,达到66.7%,且愈伤组织的不定芽在原培养基中培养时可产生根。其余几种诱导培养基在产生愈伤组织的基础上只分化出不定根或不再分化器官。

2.3 不同培养基对根诱导影响

试验结果(表2)表明,以1/2 MS+IAA 0.20 mg/L培养基上的生根情况较好,平均生根数为14条,生根率达100%,根多、粗且有较多根毛,有利于试管苗移栽成活。

表2 茎芽在不同培养基对根的诱导率

培养基	平均生根数 (条)	诱导生根率 (%)
MS+IAA 0.50 mg/L	9	86.7
MS+IAA 0.20 mg/L	7	80.0
1/2 MS+IAA 0.50 mg/L	12	93.3
1/2 MS+IAA 0.20 mg/L	14	100

3 讨论

3.1 试验结果表明,在MS+6-BA 1.50 mg/L+NAA 0.20 mg/L培养基上,不定芽的诱导率最高,达到66.7%,获得了较高的不定芽再生率。在1/2 MS+IAA 0.20 mg/L培养基上生根效果好,生根

率达100%。虽然本试验建立了黄河蜜瓜的再生系统,但不定芽的诱导率相对较低,需进一步的研究和完善。

3.2 一般认为培养基中较高浓度的细胞分裂素和低浓度的生长素是不定芽分化所必需的;在相反的配合时,则有利于根的分化,在愈伤组织和不定芽分化阶段需较高的细胞分裂素,待分化出不定芽后就应降低细胞分裂素浓度,以利于芽的生长。本试验也充分证实了这一观点。

3.3 在甜瓜再生系统研究中,外植体的基因型、类型、生理状态、培养基组成和环境条件等诸多因素影响甜瓜再生频率,其中外植体的基因型是决定甜瓜再生潜力的最主要因素之一,外植体的生理生化状态对甜瓜诱导途径有重要影响^[5-7]。未成熟子叶是甜瓜离体培养的最佳外植体,不仅再生能力强,不定芽分化率高,而且对培养基的适应性也较广^[2]。

3.4 子叶在培养过程中有明显的极性现象和敏感部位,该现象可能与内源激素在外植体的分布与积累有关。近轴端脱分化和分化能力较强,其愈伤组织发生的早且多,发生器官类型主要受培养基中生长调节剂的控制。

参考文献:

- [1] 马国斌,王鸣,郑学勤.甜瓜组织培养再生体系的比较研究[J].中国西瓜甜瓜,1999(2):2-6.
- [2] 于喜艳,何其伟,孔庆国.甜瓜子叶组织培养的研究[J].山东农业科学,2002(2):22-23.
- [3] 黄海良,赵国良,高建刚.杂种甜瓜组培快繁技术[J].江苏农业科学,2001(6):57-59.
- [4] 王建设,陈杭.甜瓜再生芽高效诱导方法的研究[J].园艺学报,1999,26(5):339-340.
- [5] 唐定台,张静兰,徐桂芳,等.植物激素对哈密瓜子叶形成愈伤组织和植株再生的作用[J].植物学报,1980,22(2):132-134.
- [6] 王国萍.西瓜高效组织培养技术体系研究[J].中国西瓜甜瓜,2002(2):1-3.
- [7] Dirks R. Vn Buggenum M. In vitro plant regeneration from leaf and cotyledon explants of Cucumis melo L. [J]. Plant cell reports. 1989(7):626-627.
- [8] Chee PP. Plant regeneration from cotyledons of Cucumis melo topmark[J]. Hortscience. 1991. 26(7):908-910.
- [9] 薛庆善.体外培养的原理与技术[M].北京:科学出版社,2001.
- [10] 马国斌,王鸣,郑学勤.西瓜和甜瓜组织培养中外植体的极性现象和敏感部位[J].果树科学,1999,16(3):232-234.

(本文责编:郑立龙)