

# 甜瓜再生体系的建立

乔永旭

(唐山师范学院 生命科学系 河北 唐山 063000)

**摘要:**以‘鑫福 999’甜瓜 5 d 龄无菌苗的子叶、下胚轴、真叶为外植体,研究了添加 6-BA、IAA 和 2,4-D 的培养基对愈伤组织诱导、丛生芽的发生和丛生芽生根的影响。结果表明:诱导愈伤组织的最适外植体为子叶,由子叶诱导的愈伤组织生长速度最快、品质最好、数量最多,最适愈伤组织的诱导培养基为 MS+IAA 0.5 mg/L+6-BA 2 mg/L。最适宜诱导丛生芽的外植体为子叶,最适丛生芽诱导培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L,最适生根培养基为 MS 培养基。

**关键词:**甜瓜;再生体系;子叶

**中图分类号:**S 642.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)13-0166-03

甜瓜(*Cucumis melo*)是 1 a 生蔓生植物,因其香甜的风味和丰富的营养受到消费者的青睐<sup>[1]</sup>。近几年采用转基因技术将目的基因导入甜瓜已成为可能,这为提高甜瓜的抗逆性和改良品种提供了新途径<sup>[2]</sup>。转基因技术需要建立完备的再生体系,这有助于加快甜瓜新品种选育的进程<sup>[3,4]</sup>。目前通过甜瓜叶片<sup>[5,6]</sup>等外植体再生植株研究植株再生体系的建立。由于基因型对不定芽发生和植株再生具有决定性作用<sup>[7]</sup>,因此选择适合我国北方地区的‘鑫福 999’甜瓜子叶、下胚轴、真叶为外植体,

接种在 6-BA、IAA 和 2,4-D 混合的培养基中,目的是筛选最适合的外植体与最佳培养基配方,以期建立高效稳定的再生体系,为培育优良甜瓜品种建立基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

‘鑫福 999’甜瓜种子由唐山市农业科学研究院提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 无菌外植体的获得 种子去壳后,无菌条件下用 75%的酒精浸泡 30 s,1%的升汞消毒 5 min,无菌水清洗 4 次,然后接种于 MS 基本培养基上(含蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L、pH 5.8),放置于 25℃、1 600 lx 光照 16 h/黑暗 8 h 条件下生长(培养条件下同),备用。

**作者简介:**乔永旭(1978-),男,硕士,讲师,研究方向为植物细胞工程和植物资源开发与利用。E-mail: qiaoyx123@163.com。

**收稿日期:**2010-03-31

[4] 沈大刚.安康市生物柴油原料树种乌桕树的开发利用[J].陕西农业科学,2008(6): 107-108.

[5] 李冬林,黄栋,王瑾,等.乌桕研究综述[J].江苏林业科技,2009 36(4): 43-47.

[6] 兰呈荣,朱冠霖,杨建华.山乌桕在环城园林造景中的应用[J].中国科技信息,2006(24): 208.

[7] 金雅琴,李冬林,李荣锦,等.盐胁迫对乌桕幼苗某些生理指标的影响[J].江西农业大学学报,2009,31(5): 874-878.

## Tissue Culture and Regeneration of Wild *Sapium sebiferum*

LI Jian-ke, YANG Jing-hui, LIU Tai-lin, WANG Rui, ZHANG Wei-yu  
(Horticultural Department of Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384)

**Abstract:** The bud differentiation and roots regeneration were researched with stem explants under different sterilized method, hormone treatments in order to set up regeneration system and genetic transformation of *Sapium sebiferum*. The results showed that the contaminated ratio decreased to 12.5% when explants were sterilized by HgCl<sub>2</sub> and the bud differentiation rate was most in all treatment with 6-BA 1.0 mg/L. The IBA also affected the bud differentiation and the best treatment combination was MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L and the differentiation rate was 617%. The roots regeneration was 97.5% on culture medium of 1/2MS+NAA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L.

**Key words:** *Sapium sebiferum*; tissue culture; energy plant; bud differentiation; rooting

1.2.2 愈伤组织及不定芽的诱导 将生长 5 d 的无菌苗无菌条件下切成 4 mm×4 mm 的子叶、8 mm 的下胚轴和 12 d 龄无菌苗 4 mm×4 mm 的真叶作为外植体,分别接种在表 1 的 9 种培养基上。每种外植体接种 5 瓶,每瓶 4 个外植体。25 d 后统计甜瓜外植体的出愈率和出芽率,观察外植体接种后的形态变化。

表 1 9 种诱导愈伤组织的培养基			
培养基	IAA/ mg · L <sup>-1</sup>	2,4-D/ mg · L <sup>-1</sup>	6-BA/ mg · L <sup>-1</sup>
1	0	0	0.5
2	0.5	0.1	1
3	1	0.5	2
4	0	0.1	2
5	0.5	0.5	0.5
6	1	0	1
7	0	0.5	1
8	0.5	0	2
9	1	0.1	0.5

1.2.3 生根培养 当丛生芽有 1 ~2 片真叶时,转入 MS 和 1/2MS 生根培养基上进行生根培养。

2 结果与分析

2.1 诱导愈伤组织最适外植体的确定

由表 2 可知,子叶、下胚轴、真叶都可以诱导出愈伤组织(图 1),可达到 100%。其中下胚轴和真叶诱导愈伤组织比子叶形成愈伤组织的速度慢,并且下胚轴诱导出的愈伤组织玻璃化比例大。因此子叶在 3 种外植体中生长速度最快,长出的愈伤组织质量最好,数量最多。

表 2 不同外植体对愈伤组织诱导的影响				
外植体	接种总数	出愈块数	愈伤生长速度	形态观察
子叶	135	135	快	产生愈伤最早,边缘膨大,愈伤量多且细小紧密,呈白色,有不定芽,不定根长出
下胚轴	135	135	慢	两端膨大,愈伤量少,无不定芽、不定根,玻璃化严重
真叶	135	135	一般	边缘膨大,愈伤量中等,紧密,无不定芽、不定根

2.2 诱导子叶愈伤组织的最适培养基

由表 3 可知,当 IAA 和 6-BA 的比值等于 1 时(6 号培养基),子叶上有不定根长出;二者比例很小时(8 号培养基),子叶上长出的愈伤组织最多,质量最好。生长素的类型也影响外植体的分化,当 2,4-D 与 6-BA 比例很小时(4 号培养基),子叶上愈伤长出数量与质量均适中,没有芽体;随着二者比例的增加(7 号培养基)愈伤长出数量下降,质量降低。当 IAA、2,4-D 与 6-BA 共同使用时,长出的愈伤组织数量少且疏松。总之,当只有植物分裂素 6-BA 时(1 号培养基),有不定芽长出(图 2、3)。较其它几种激素共同作用效果要好。

表 3 子叶在 1~9 号培养基在长势情况调查			
培养基	接种总数	出愈块数	形态观察
1	15	15	子叶青绿色,切口松愈伤组织发白,致密,有不定芽丛长出
2	15	15	子叶黄绿色,切口愈伤组织黄白色,量适中,疏松呈团块状
3	15	15	子叶黄化,切口愈伤组织黄白色,量少,疏松,死亡率高
4	15	15	子叶黄绿色,切口有黄白色愈伤组织,疏松呈团块状
5	15	15	子叶黄色,切口有淡黄色愈伤组织,量大,疏松呈团块状
6	15	15	子叶浅绿色,切口愈伤组织黄白色,量大,疏松呈团块状且出现了不定根
7	15	15	子叶黄绿色,切口有白色透明愈伤组织,量少,疏松呈团块状
8	15	15	子叶黄绿色,切口有黄白色愈伤组织,量大,疏松呈团块状
9	15	15	子叶黄绿色,切口愈伤组织白色透明,量适中,疏松呈团块状

2.3 诱导不定芽最适培养基的确定

由表 4 可知,随 6-BA 浓度的增加,子叶分化出芽率明显增加,且分化速度增大。但随 6-BA 浓度的增加,子叶分化出的幼苗玻璃化比率也明显增大。因此,1 mg/L 的 6-BA 为子叶分化的适宜浓度。

表 4 子叶外植体在 3 种培养基中的长势情况			
培养基/ mg · L <sup>-1</sup>	接种总数	出芽率/ %	玻璃化率/ %
MS+6-BA 0.5	15	53	50
MS+6-BA 1.0	15	66	60
MS+6-BA 2.0	15	73	73

2.4 芽的生根

将长至 1~2 cm 的芽接种在 MS、1/2MS 培养基上 2 d 后均长出白色不定根,再生成完整植株。只是在 MS 培养基中的根较长且密(图 4)。甜瓜组培苗的生根培养基为 MS 最佳。

2.5 外植体的玻璃化现象及防治

由表 5 可知,聚乙烯醇对预防玻璃化有一定效果并随聚乙烯醇浓度的增加玻璃化幼苗的比率明显降低,但同时聚乙烯醇明显抑制了子叶分化,加入聚乙烯醇的培养基中子叶的分化率明显低于对照,且分化速度慢。结果表明,1 mg/L 聚乙烯醇为适宜浓度,可有效控制组培苗玻璃化现象,同时对子叶分化无明显影响。

表 5 不同浓度聚乙烯醇对玻璃化苗的影响				
培养基/ mg · L <sup>-1</sup>	接种总数	分化率/ %	玻璃化率/ %	出芽时间/ d
MS+6-BA 1.0	15	53	86	23
MS+6-BA 1.0+ 聚乙烯醇 0.5	15	46	66	26
MS+6-BA 1.0+ 聚乙烯醇 1.0	15	40	40	27
MS+6-BA 1.0+ 聚乙烯醇 2.0	15	20	33	31

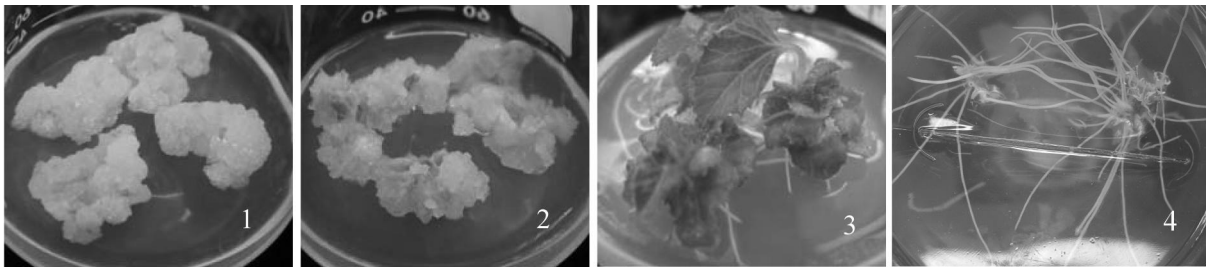


图1 愈伤组织

图2 诱导的丛生芽

图3 丛生芽的生长

图4 丛生芽的生根

由表 6 可知, 随聚乙烯醇的加入量增加, 玻璃化率呈减少的趋势, 与子叶分化试验结果一致, 但随聚乙烯醇浓度的提高, 子叶黄化率增加, 愈伤产生受到明显抑制, 且分化速率减慢。综合利弊, 该试验认为聚乙烯醇 0.5 g/L 时为最适浓度, 可在一定程度上抑制玻璃化现象, 同时对子叶脱分化无太大影响。

表 6 不同浓度聚乙烯醇对愈伤组织的影响

培养基/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	接种总数	分化率 /%	玻璃化 率/%	出愈天 数/d
MS+IAA 0.5+6-BA 2.0	15	100	67	4
MS+IAA 0.5+6-BA 2.0+ 聚乙烯醇 0.5	15	73	53	7
MS+IAA 0.5+6-BA 2.0+ 聚乙烯醇 1.0	15	66	600	8
MS+IAA 0.5+6-BA 2.0+ 聚乙烯醇 2.0	15	47	43	11

3 讨论

外植体不同需要的激素种类和浓度不同, 研究发现不定芽的诱导需要 6-BA 而不需要 IAA, 这与陶兴林<sup>[1]</sup>等的观点一致。研究表明添加 IAA 较 2, 4-D 诱导出的愈伤数量更多, 质量更好, 可能与二者的作用效果有关。

植物生长素与分裂素的种类对不同植物的敏感性差异很大, 因此激素种类的选择应以植物种类不同而异。由于甜瓜本身的内源生长素的含量比较高, 所以也需要根据不同的目的调整植物生长素与分裂素的比值。另外聚乙烯醇是一种水分胁迫剂。培养基中添加聚乙烯醇后明显降低了水势, 减轻了组培苗的玻璃化作用, 这已经被孔祥生<sup>[7]</sup>在甜柿中证明。

参考文献

[ 1 ] 陶兴林 黄永红 陆璐 等. 2 个甜瓜品种高效再生体系的建立[ J ]. 西北植物学报, 2005, 25(4): 806-811.  
[ 2 ] 侯丽霞. 甜瓜组织培养及遗传转化研究进展[ J ]. 中国瓜菜, 2007(4): 25-28.  
[ 3 ] 宋莉英. 我国葫芦科植物离体培养研究进展[ J ]. 植物学通报, 2004, 21(3): 360-366.  
[ 4 ] HUANG Yong hong. Establishment of plant regeneration system for *Cucumis melon* cv. GT-1[ J ]. Journal of Fruit Science, 2006, 23(5): 740-744.  
[ 5 ] 夏海武. ‘弥河银瓜’高效植株再生体系的建立[ J ]. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 235-238.  
[ 6 ] 辛建华. 甜瓜愈伤组织诱导过程中的生理生化变化[ J ]. 北方园艺, 2007(7): 171-172.  
[ 7 ] 孔祥生 张妙霞. 甜柿组织培养中试管苗化现象的发生与防治[ J ]. 北方园艺, 1999(4): 15-16.

Establishment of Regeneration System of Muskmelon

QIAO Yong-xu

(Department of Life Science, Tangshan Teacher's College, Tangshan, Hebei 063000)

**Abstract:** In this experiment, we chose cotyledon, hypocotyl, leaf which excised from 5-day-old plant of muskmelon as explants, and researched MS medium containing different concentrations of 6-BA IAA and 2, 4-D how to influence the regeneration of these explants. The results showed that the best callus induced explant were cotyledon, and the callus grown rates were fastest, quality was the best, the number was the most high. The best callus induction mediums were-IAA 0.5 mg/L+6-BA 2 mg/L. The best buds induced explant were cotyledon, that the best shoots induction medium for muskmelon was MS+6-BA 1 mg/L, and the best roots induction medium was MS.

**Key words:** musk melon; regeneration system; cotyledon