

“东方蜜一号”甜瓜组织培养与快速繁殖研究

赵颖雷¹, 朱祝军², 任莉³

(1. 浙江农林大学 风景园林与建筑学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江农林大学 农业与食品科学学院, 浙江 临安 311300;

3. 新疆石河子大学 农学院, 新疆 石河子 832000)

摘要:选取“东方蜜一号”甜瓜的新生叶片为外植体, 接种于含有不同激素配比的 MS 培养基中, 诱导愈伤组织、不定芽与不定根的形成, 比较不同激素浓度对外植体脱分化和再分化的影响。结果表明:“东方蜜一号”甜瓜叶片离体培养的最佳愈伤组织诱导培养基为 MS+2,4-D 0.10 mg/L+6-BA 1.50 mg/L, 诱导率达 91%, 最佳不定芽诱导培养基为 MS+2,4-D 0.01 mg/L+6-BA 1.50 mg/L, 平均不定芽个数为 3.52 个; 最适生根诱导培养基为 MS+2,4-D 0.05 mg/L+NAA 0.20 mg/L+IBA 0.60 mg/L, 生根率达 85%。

关键词:“东方蜜一号”甜瓜; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号:S 652.603.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)18-0122-03

“东方蜜一号”甜瓜是上海市农业科学院科技人员对新疆哈密瓜进行南方气候适应性驯化后选育出的优良高品质厚皮甜瓜品种, 对南方高温高湿气候具有良好的适应性, 于 2004 年通过上海市农作物品种审定。其较好的口感与较高的糖度使之成为甜瓜类品种中的上品, 并获 2006 年上海市科学技术进步三等奖, 经江、浙、沪等地积极推广, 显示出良好的产业化前景。但由于其属 F₁ 代杂交品种, 制种成本较高, 在产量与市场推广方面受到限制^[1]。该试验通过组织培养实现了“东方蜜一号”甜瓜的组织离体快速繁殖, 为提高种苗产量, 降低生产成本与保存种质资源提供了技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

将消毒后的“东方蜜一号”甜瓜种子种于人工气候室中, 培养 3 周后^[2], 选取新生叶片并用自来水冲洗, 将外植体置于浓洗洁精溶液中浸泡 3 min 后, 于超净工作台中用体积分数为 75% 的酒精浸泡 30 s, 再用体积分数为 0.2% 的升汞溶液浸泡 10 min, 用无菌水漂洗 3 次, 置于培养皿中备用^[3]。

1.2 试验方法

“东方蜜一号”甜瓜的离体培养: 首先, 用含有 2,4-D

与 6-BA 的培养基诱导外植体产生愈伤组织及不定芽^[4], 再使用含有 2,4-D、NAA 与 IBA 的培养基诱导根的形成^[5]。将消毒处理后的叶片接种至编号为 A1~A9 的培养基(表 1)中^[6], 使其背面与培养基接触, 每个编号的培养基接种 100 个外植体, 每隔 2 d 观察记录外植体的启动情况, 20 d 时统计愈伤组织形成情况, 50 d 时统计不定芽形成情况^[7], 计算不定芽平均数和平均愈伤组织含量, 不定芽平均数=形成愈伤组织的外植体个数/不定芽总数, 平均愈伤组织重量=愈伤组织总质量/不定芽总数; 其次, 从分化出的不定芽(丛)中选取长度大于 1 cm 的个体^[8], 将连带其基部的母体外植体组织切下, 转接至 B1~B9 培养基(表 2)中诱导生根^[9], 每个编号的培养基接种 50 个不定芽, 每隔 2 d 观察记录不定芽的生根情况, 培养至 20 d 时^[10], 洗净根部培养基, 统计根长度大于 1 cm 不定芽个数与根的平均长度^[8], 按公式“平均不定根数=不定根总数/形成不定根的外植体个数”计算^[11]。培养过程中, 每日光照 14 h, 光照强度 2 200~3 000 lx, 培养温度为(25±1)℃^[12]。

表 1 A1~A9 培养基中 2,4-D 和 6-BA 的不同浓度配比

Table 1 Different combination of 2,4-D and NAA in medium A1~A9

培养基编号	2,4-D/mg · L ⁻¹	6-BA/mg · L ⁻¹
A1	0.01	0.50
A2	0.01	1.00
A3	0.01	1.50
A4	0.10	0.50
A5	0.10	1.00
A6	0.10	1.50
A7	1.00	0.50
A8	1.00	1.00
A9	1.00	1.50

第一作者简介:赵颖雷(1986-), 男, 在读硕士, 研究方向为园林植物与观赏园艺。

责任作者:朱祝军(1968-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事园艺作物生理和分子生物学研究工作。E-mail: Zhuzj@zafu.edu.cn.

基金项目:浙江省大学生科技创新活动计划资助项目。

收稿日期:2012-05-07

表 2 B1~B9 培养基中 2,4-D、NAA 和 IBA 的不同浓度配比

Table 2 Different combination of 2,4-D,NAA and IBA in medium B1~B9

培养基编号	2,4-D/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	IBA/mg · L ⁻¹
B1	0.01	0.10	0.30
B2	0.05	0.10	0.30
B3	0.10	0.10	0.30
B4	0.01	0.20	0.60
B5	0.05	0.20	0.60
B6	0.10	0.20	0.60
B7	0.01	0.30	0.90
B8	0.05	0.30	0.90
B9	0.10	0.30	0.90

2 结果与分析

2.1 愈伤组织与不定芽的诱导

将叶片置于 A1~A9 培养基上进行愈伤组织与不定芽的诱导。结果表明,不同激素浓度产生的愈伤组织在形态、大小上表现为 3 种类型:A7、A8、A9 培养基中外植体产生了疏松性愈伤组织,平均重量约 0.80 g 左右,颜色偏白,18 d 后开始产生,启动率较低,后期几乎不出芽;A4、A5、A6 培养基中产生瘤状愈伤组织(图 1),形成最快,6~8 d 即开始产生,平均重量约 4.47 g,数量明显高于其它培养基,以产生 91 个愈伤组织的 A6 培养基最佳,但出芽能力却一般;A1、A2、A3 培养基中产生较致密的愈伤组织,10~12 d 开始产生,平均重量约 3.21 g,颜色微绿,后期产生的不定芽数较多(图 2)。

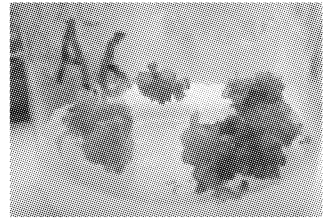


图 1 诱导产生的愈伤组织
Fig. 1 The callus induced

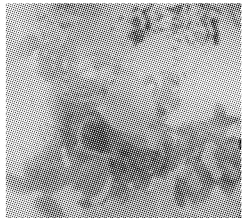


图 2 诱导产生的不定芽
Fig. 2 The adventitious bud induced

由表 3 可知,外植体在 A1、A2、A3 培养基中的出芽率均明显高于其它培养基,以平均每株 3.52 个不定芽的 A3 培养基最佳。2,4-D 浓度较高的 A7、A8 和 A9 培养基既不利于愈伤组织形成也不利于出芽,培养基中 6-BA 浓度对愈伤组织诱导率影响不明显,但随 6-BA 浓度的升高,对不定芽的诱导率也相应提高。

2.2 不定根的诱导结果

切取长度大于 1 cm 的不定芽,接种于生根培养基 B1~B9 中。培养至 6 d 时,接种于 B5 和 B6 培养基上的不定芽基部开始膨大,形成少量不定根。培养至第 20 天

表 3 不同激素对比对“东方蜜一号”外植体的影响

Table 3 Effect of different concentration of phytohormone to explant of ‘Dongfangmi No. 1’

培养基编号	形成愈伤组织的 外植体数/个	出芽的外植 体数/个	不定芽 总数/个	平均愈伤 组织重量/g	不定芽平 均数/个
A1	33	33	75	3.26	2.27
A2	38	38	94	2.98	2.47
A3	29	29	102	3.44	3.52
A4	79	61	64	4.52	1.04
A5	85	74	83	4.13	1.12
A6	91	81	59	4.45	1.37
A7	7	1	1	0.93	1.00
A8	3	0	0	0.72	0.00
A9	2	0	0	0.44	0.00

时,所有培养基中的外植体均有不定根形成(图 3),以 B5 培养基中 85% 的不定根诱导率最佳,平均产生 13.4 条不定根。由表 4 可知,具有相同 NAA 与 IBA 的浓度配比的培养基(如 B4、B5 与 B6)中不定根的诱导率接近,而 2,4-D 的浓度对生根影响不明显。



图 3 诱导产生的不定根

表 4 B1~B9 培养基中不定根的诱导率

Table 4 The rate of induction of adventitious root in medium B1~B9

培养基编号	平均不定根数/条	不定根诱导率/%	形成时间/d
B1	0.7	7	20
B2	1.3	4	20
B3	1.6	10	19
B4	12.8	67	8
B5	13.4	85	6
B6	11.6	74	6
B7	2.2	14	13
B8	1.9	21	13
B9	2.3	23	11

3 结论与讨论

西瓜、甜瓜和哈密瓜等藤本植物的组织再生能力较强,较多的品种均已通过组织培养获得了再生植株。试验验证了“东方蜜一号”使用组织培养技术进行快速繁殖的可能行。预试验中曾使用大田环境中生长植株的组织为外植体,但由于露天环境下生长的植株带菌较多,使培养过程中污染较严重。延长外植体在升汞与酒精中的浸泡时间可有效降低污染率,但同时也加深了消毒剂对外植体细胞的毒害,导致外植体的存活率极低。因此,正式试验中使用的外植体均取材于人工气候室中种子育出的新生植株,在降低污染率的同时提高了出芽

率。该试验中 9 种 A 类培养基对“东方蜜一号”叶片外植体愈伤组织与不定芽的诱导能力各不相同。在 A4、A5、A6 培养基中形成愈伤组织的时间最短,且数量明显高于其它培养基,以 A6 培养基最佳,而后期丛芽分化率不及 A1、A2 和 A3,以 A3 培养基的出芽率最佳。可见该植物的外植体在组织培养过程中的不同时期所需的 2,4-D 浓度各不相同,浓度为 0.10 mg/L 时能够较快的促进外植体启动,加速愈伤组织的形成,浓度为 0.01 mg/L 则更有利于不定芽的形成。所以最佳愈伤组织诱导培养基为 MS+2,4-D 0.10 mg/L+6-BA 1.50 mg/L,最佳不定芽诱导培养基为 MS+2,4-D 0.01 mg/L+6-BA 1.50 mg/L。芽的诱导是进行无性系快速繁殖的关键环节,因此可先以 A6 培养基诱导外植体形成愈伤组织,于 20 d 时转接入 A3 培养基诱导不定芽,从而缩短培养时间,提升不定芽质量。在生根试验中,根的诱导率主要由 NAA 与 IBA 的浓度决定,2,4-D 的浓度对其影响不大,最佳不定根诱导培养基为 MS+2,4-D 0.05 mg/L+NAA 0.20 mg/L+IBA 0.60 mg/L。

参考文献

- [1] 冯凤娟,梁东,马锋旺,等.甜瓜叶片高效再生体系的建立[J].西北农业学报,2008,17(5):321-324.
[2] 陶兴林,黄永红,赵长增,等.厚皮甜瓜离体培养再生植株能力的基

因型差异研究[J].果树学报,2005,22(3):252-255.

- [3] 师桂英,徐秉良,薛应钰.厚皮甜瓜黄河蜜植株再生研究[J].兰州大学学报(自然科学版),2006,42(5):48-51.
[4] 褚剑峰,郑琪,林国美.西瓜和甜瓜的组织培养技术研究[J].安徽农业科学,2004,32(6):1169-1170.
[5] 谢泽君,林文丽.海蜜 2 号厚皮甜瓜的组织培养和快速繁殖[J].中国蔬菜,2003(6):39-40.
[6] 夏海武,吕柳新,夏天,等.‘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.
[7] 潘俊松,蔡润,刘晓,等.甜瓜子叶节培养高效再生体系建立[J].上海交通大学学报(农业科学版),2003,21(4):295-303.
[8] 黄海良,赵国良,高建刚,等.杂种甜瓜组培快繁技术[J].江苏农业科学,2001(6):57-59.
[9] Galperin M,Patlis L,Ovadi A,et al. A melon genotype with superior competence for regeneration and transformation[J]. International Journal of Dairy Technology,2003,122(1):66-69.
[10] Galperin M,Zelcer A,Kenigsbuch D. High competence for adventitious regeneration in the BU-21/3 melon genotype controlled by a single dominant locus [J]. Hort Science,2003(6):1167-1168.
[11] Curuk S,Ananthakrishnan G,Singer S,et al. Regeneration in vitro from the hypocotyl of Cucumis species produces almost exclusively diploid shoots, and does not require light [J]. Hort Science,2003,38(1):105-109.
[12] Zha D Sh. Haploid plant production and ploidy level determination in netted melon(*Cucumis melo* L.)[J]. Acta Agriculture Shanghai,2002,18(1):43-45.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of ‘Dongfangmi No. 1’ Melon

ZHAO Ying-lei¹, ZHU Zhu-jun², REN Li³

(1. College of Landscape and Architecture, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300; 2. College of Agriculture and Food Science, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300; 3. College of Agronomy, Shehezi University, Shehezi, Xinjiang 832000)

Abstract: New born leaves of ‘Dongfangmi No. 1’ melon were selected as explant and planted into the MS medium with different concentration and variety of endocrine to induce the formation of callus and adventitious buds and roots. The results showed that the most ideal medium for callus inducing was MS+2,4-D 0.10 mg/L+6-BA 1.50 mg/L with the best induction rate 91%; The most ideal medium for adventitious buds inducing was MS+2,4-D 0.01 mg/L+6-BA 1.50 mg/L with the best average 3.52; the best rooting medium was MS+2,4-D 0.05 mg/L+NAA 0.20 mg/L+IBA 0.60 mg/L with the best rooting rate 85%.

Key words: ‘Dongfangmi No. 1’ melon; tissue culture; rapid propagation