

河套蜜瓜组织培养和再生植株比较研究

张竞秋,郝金凤,方天祺,李 颖,哈斯阿古拉

(内蒙古大学生命科学学院生物工程中心,呼和浩特 010021)

摘 要: 无菌条件下,河套蜜瓜种子在 MS 培养基中萌发生长 5 d~7 d(天),取子叶近胚轴的下半段,转入愈伤组织诱导培养基(MS+IAA1.0+BA0.5)诱导产生愈伤组织,后转入芽诱导培养基(MS+IAA0.8+BA1.0+ABA0.26)诱导生芽。待芽长到 2 cm(厘米)左右转入 MS+IBA0.5 培养基中诱导生根,10 d~15 d(天)后再转入蛭石中,移入温室盆栽成苗,整个成苗过程约需 60 d~70 d(天),再生植株诱导率达 59%。

关键词: 河套蜜瓜;再生植株;甜瓜;组织培养

中图分类号: S652.03.6(226) **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2003)01-0052-02

河套蜜瓜(*Cucumis melo* L. cv Hetao)是内蒙古河套地区特产的甜瓜品种,该地区的气候和土壤条件非常适合瓜类的栽培,所产河套蜜瓜以含糖量高,浓香甘甜而享誉国内。但其果实不耐贮藏,果实成熟后迅速软化,腐烂变质,严重制约着河套蜜瓜的生产和销售^[1,2]。用传统的物理和化学方法一直未能解决河套蜜瓜保鲜耐贮藏的问题。植物分子生物学和基因工程技术的飞速发展,为果实保鲜耐贮藏开辟了一条崭新而有效的途径,通过反义 RNA 技术抑制果实中乙烯形成的关键酶基因的表达,可达到呼吸跃变型果实保鲜耐贮藏的目的^[3,4]。但此项工作的基础是首先要获得诱导率较高的再生植株。虽然国内外对瓜类的组织培养作了大量的工作^[5~8],但有关河套蜜瓜的组织培养和再生植株的报道很少^[9]。本文对河套蜜瓜的组织培养和再生植株的获得进行了比较研究,以期对河套蜜瓜的组织培养建立一个高效、实用的技术系统。

1 材料和方法

1.1 材料来源

河套蜜瓜原种种子为内蒙古巴盟国营乌兰布和农场培育。

1.2 无菌苗的培养

选取饱满的种子,将去壳种子在 0.1% HgCl₂ 溶液中浸泡 10 min(分钟),用无菌水冲洗 3~4 次,每次 5 min(分钟),种植于 MS 培养基上(不加任何激素),5 d~7 d(天)后,子叶变绿,胚根伸长,获得无菌苗。

1.3 外植体愈伤组织的诱导

采用 5 d~7 d(天)苗龄的子叶,在含不同激素组合的 MS 培养基上,筛选能诱导产生愈伤组织外植体的培养基。

1.4 芽诱导和生长

子叶外植体产生愈伤组织后移入附加有不同配比激素的

MS 培养基中,进行芽诱导培养。诱导出芽后,转入生根培养基。

1.5 生根培养

将 2 cm~5 cm(厘米)芽转入生根培养基中,诱导根的形成,形成完整的植株后,转入蛭石中生长,最后移入砂土盆栽。

2 试验结果和分析

2.1 不同激素配比诱导子叶愈伤组织和出芽率的比较

用子叶做外植体,试验了不同激素的不同组合诱导愈伤组织的效率。每个组合接种 10 瓶,每瓶 5 片子叶块,观察愈伤组织及出芽率见表 1。

表 1 子叶在不同激素配比条件下诱导产生愈伤组织和出芽率

培养基(激素 mg/L)	愈伤组织	出芽率
MS+NAA0.1+BA0.1	疏松质软,淡黄色	0
MS+NAA0.1+BA0.5	同上	5%
MS+NAA0.1+BA1.0	同上	0
MS+NAA0.1+BA1.5	同上	0
MS+NAA0.1+BA2.0	同上	0
MS+KT6.0	绿色,生长较旺,有瘤状突起	10%
MS+KT8.0	同上	24%
MS+KT10.0	同上	22%
MS+KT12.0	同上	16%
MB ₃ +IAA1.5+KT4.5	同上	6%
MB ₃ +IAA1.5+KT5.0	同上	5%
MB ₃ +IAA1.5+KT5.5	同上	10%
MB ₃ +IAA1.5+KT6.0	同上	10%
MS+IAA1.0+BA0.5	同上	45%
MS+IAA1.0+BA1.0	同上	36%
MS+IAA0.8+BA1.0+ABA0.26	同上	50%
MS+IAA1.5+BA1.0+ABA0.26	同上	28%
MS+ZT3.0	深绿色,有质地致密的瘤状结构	57%
MS+ZT5.0	同上	59%
MS+ZT7.0	同上	31%

MB₃培养基由 MS 盐类+蔗糖 3 g/L(克/升)+肌醇 100 mg/L(毫克/升)+VB₁1.0 mg/L(毫克/升)+0.8 琼脂组成。

以上实验结果说明,除 NAA+BA 组外,培养基中加入一定量的 KT(或附加 IAA),ZT 或 IAA+BA(或附加 ABA)都能诱导河套蜜瓜外植体生芽,而以 ZT 和 ABA 组的效果最明显,它们诱导产生的愈伤组织致密,呈绿色,每个外植体可生 1~5 个小芽。在不含 IAA 的 KT 培养基上,能够诱导生芽,这种情况同唐定台等^[5]在哈密瓜组织培养中的结果相似,这



第一作者简介: 张竞秋,女,1969 年生,讲师,硕士。主要研究方向为植物病毒和植物分子生物学。先后参加国家自然科学基金项目四项,主持省级科研基金项目两项。

*内蒙古自治区高等学校科研项目 N96275 和内蒙古自治区自然科学基金资助项目 20001303

收稿日期:2002-10-29

可能是甜瓜内源激素含量较高之故。

2.2 子叶不同部位对芽诱导率的影响

我们在确定培养基的条件下,对子叶不同部位进行芽诱导发现子叶近胚轴的部位 的芽诱导率显然高于远轴端(见表 2)。

根据以上结果,我们选择(MS+ZT5.0)和(MS+IAA0.8+BA1.0+ABA0.26)两组作为主要的生芽培养基,在诱导生芽后,再转入生根培养基中培养。

表 2 子叶不同部位对芽诱导率的影响		
培养基(激素 mg/L)	子叶不同部位	出芽率
MS+KT6.0	远轴端	0%
	近轴端	20%
MS+KT8.0	远轴端	8%
	近轴端	40%
MS+KT10.0	远轴端	8%
	近轴端	36%
MS+KT12.0	远轴端	12%
	近轴端	20%
MS+IAA1.0+BA0.5	远轴端	32%
	近轴端	58%
MS+IAA1.0+BA1.0	远轴端	28%
	近轴端	44%

2.3 不同激素对生根率的影响

再生芽可在多种培养基中生根。选取 2 cm(厘米)左右

表 3 不同激素对生根的影响

培养基	激素	出根率
MS	0	0
MS	NAA0.1	8%
MS	NAA0.05	50%
MS	IBA0.5	75%
MB3	0	12%
1/2MS	0	10%

的再生芽,切取上面的愈伤组织,按表 3 所列培养基配方进行生根诱导,结果表明在 MS+IBA0.5 和 MS+NAA0.05 的生

根效果最好,生根率可达 75%。

不同培养基诱导产生的根系形态不同。NAA 诱导的根系主根粗短,侧根密集,整个根系呈三角形,较健壮。因此再生小植株转入土壤盆栽时,成活率较高。而 IBA 诱导的主根细长,侧根较稀疏,但生根率很高。

3 结论

从以上试验我们得出结论,在诱导河套蜜瓜再生植株的实验过程中,采用 ZT5.0 或 IAA0.8+BA1.0+ABA0.26 都是效率高的培养系统,但 ZT 价格昂贵,因此,下列路线是一个效率高、实用的方案。

萌发培养(MS+不加激素)^{切取}→5 d~7 d(天)龄子叶近胚轴的近轴端→诱导愈伤组织培养(MS+IAA1.0+BA0.5)→芽诱导培养(MS+BA1.0+IAA0.8+ABA0.26)→根诱导(MS+IBA0.5)。

参考文献

[1] 林德佩,吴明珠,王坚.甜瓜优质高产栽培[M].1994.108.
[2] 骆蒙,李天然,张治中等.河套蜜瓜成熟期中某些生理生化过程的变化[J].内蒙古大学学报(自然科学版),1996,27(2),234~236.
[3] Ayub R et al. Expression of ACC oxidase antisense gene inhibits ripening of cantaloupe melon fruits Nature Biotechnology, 1996(14):862.
[4] Grierson D. Manipulation of fruit ripening by genetic manipulation. Transgenic Plant Research(Ed. by K. Lindsey). 109~124.
[5] 唐定台,张静兰等.激素对哈密瓜子叶形成愈伤和植物再生的作用[J].植物学报,1980.22(2):132.
[6] 赵艳茹.西瓜(Citrullus Lanatus)子叶的组织培养和植株的高效再生[J].植物生理学通讯,1995,31(4):263~265.
[7] 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).
[8] 张治中,李天然,邓香兰.河套蜜瓜子叶的组织培养和再生植株研究[J].内蒙古大学学报(自然科学版),1998,29(2):235~239.

枸杞栽培技术

枸杞作为传统的抗衰老补药早已众所周知。近代医学研究发现:其叶、果、果柄皆有抗癌的作用,哈尔滨市已流行用枸杞子与大米做成长寿粥饭;作调料、配菜入席日渐广泛。经笔者观察抗寒大果枸杞在七台河、勃利县露地栽培 13 年,成熟枝条越冬无冻害,当年栽植,当年见果。

- 1 选地 枸杞为茄科强阳性灌木,耐寒、耐旱、耐碱、耐瘠薄。栽植以肥沃、地势高燥、排水良好的沙壤土为佳、怕积水。施有机肥 5 000 kg(公斤),二铵 15 kg(公斤),最好能深松 30 cm(厘米)与肥料拌匀。
- 2 育苗 播种:667 m²(平方米)用种 200 g~300 g(克),播前用多菌灵等农药拌种,以防立枯病。如系床播,行距 20 cm~25 cm(厘米)开沟,沟深 2 cm~3 cm(厘米),播种后盖 1.5 cm(厘米)土,以后保持床土湿润即可。扦插:春选成熟无病害的枝条,剪成 10 cm(厘米)长,浸入清水中备用。在整好地后浇足水覆膜以 20 cm×8 cm(厘米)株行距,将枝条插入膜下二分之一地上露二节,出苗后只留 1 个壮芽(如播种最好以 40℃水浸种 24 h(小时)之后再播)。
- 3 定植 如以卖嫩叶上市,株行距为 2 m×0.5 m(米),如以生产枸杞子为目的,要整形,可 2 m×1.2 m(米)。定植坑深、

- 直径均为 30 cm~40 cm(厘米),让苗木根系向四面舒展立于中央,先回填混有有机肥的表土,后回填混有有机肥的底土。浇透水后铺上地膜。
- 4 管理与修剪 幼树枝叶量一大,常常倾斜或倒伏,可埋土堆护干,也可用木竿绑缚。栽植后要对幼树整形,在距地面 40 cm~50 cm(厘米)处留 4~5 个壮枝,其余剪掉。当新枝长至 30 cm(厘米)时,剪留 20 cm(厘米),待侧枝长至 30 cm(厘米)时,再剪留 20 cm(厘米),这样基本骨架就已形成了。成树修剪。要经常疏除扫地枝、病弱枝、交叉枝。对枝条多的部位徒长枝从基部疏除,对缺枝部位的徒长枝要打顶缓放形成结果枝,也可剪留二分之一促发侧枝补空。总的原则是疏密分布均匀合理,通风透光,长短截结合既要多结果,也要长树。
- 5 病虫害防治 黑果病,发生在雨季,受害的果、花、花蕾变黑。防治:清除病花、病果,用代森锰锌或退菌特喷洒防治。蚜虫,主要为害叶片和嫩枝,防治:用 40%乐果 1 000 倍喷杀。
- 6 采收与加工 果从 7 月至 10 月陆续成熟,可随熟随摘,要轻采轻放。也可在树下铺塑料布,晃动树枝使熟果落下收起,晾果厚度不能超过 3 cm(厘米),不能用手翻动,否则变黑,初采果不能在烈日下爆晒,待皱皮后才能见烈日后期晾晒。待水份降至 12%时,才能收起封存。烘干效果更好。鲜果的折干率为 3~4:1,667 m²(平方米)产干果 300 kg(公斤)。(庄程彬 黑龙江省勃利县社科教科,154500)