

甜瓜“黄醉仙”下胚轴再生体系的初步建立

王爱玲, 张敏, 廖新福, 赵荣华

(新疆维吾尔自治区葡萄瓜果开发研究中心, 新疆 鄯善 838200)

摘 要:以甜瓜品种“黄醉仙”下胚轴为外植体,研究了添加不同浓度的 BA 和 IAA 激素组合对其愈伤组织、不定芽的诱导和不定芽伸长的影响,同时研究了添加不同浓度 IBA 激素组合对其生根的影响。结果表明:甜瓜“黄醉仙”下胚轴诱导愈伤组织最适宜培养基是 MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 和 MS+BA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L,最适宜不定芽诱导的培养基是 MS+BA 2.0 mg/L,不定芽伸长的最适宜培养基是 MS+IAA 1.0 mg/L,而生根的适宜培养基是 1/2MS+IBA 1.0 mg/L。

关键词:甜瓜;“黄醉仙”;再生体系;下胚轴

中图分类号:S 652 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)12-0100-04

甜瓜品种“黄醉仙”商品性状优良,一直受到消费者的喜爱。但该品种耐贮藏性不佳,影响其经济效益。转基因技术的出现,使得增加其耐贮及其它一些优良性状成为可能。建立一套完整高效的再生体系是进行甜瓜转基因育种的基础。有关甜瓜再生体系建立的研究报道很多,但对于不同的品种都缺乏一定的可重复性,而且关于甜瓜黄醉仙再生体系的报道甚少^[1-2]。该研究的目的是通过初步建立甜瓜“黄醉仙”下胚轴高效再生体系,为其今后提高再生率,获得转基因植株作准备。

1 材料与方法

1.1 试验材料

甜瓜“黄醉仙”种子由新疆维吾尔自治区葡萄瓜果开发研究中心提供。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌材料的获得 种子去壳后,无菌条件下用 75%酒精 1 min,15% NaClO 30 min,无菌水冲洗 3~4 次,然后接种到 MS 培养基上(含蔗糖 30 g/L、琼脂 6.5 g/L、pH 6.0),放置于在 24~28℃下培养,每天光照 9~10 h,光照强度为 1 500~2 000 lx。

1.2.2 愈伤组织及不定芽的诱导 将生长 5 d 无菌苗在无菌条件下切成 4 mm×4 mm 的子叶和 5 mm 的下胚轴作为外植体,分别接种至表 1、2 所列的 25 种培养基

上,BA 和 IAA 激素(单位:mg/L)组合采用完全随机排列方案设计。每种外植体接种 5 瓶,每瓶 5 个外植体。30 d 后统计甜瓜品种“黄醉仙”子叶和下胚轴的出愈率和出芽率,观察外植体接种后的形态变化并统计数据。

1.2.3 不定芽伸长的诱导 将长出的不定芽接种至表 3 所列 9 种培养基上,每种培养基接 3 瓶,每瓶 4 个。统计甜瓜品种“黄醉仙”不定芽的伸长数,观察其伸长情况并统计数据。

1.2.4 生根培养 将不定芽伸长的植株,接种至表 4 所列 2 种生根培养基上。观察其生根情况。

1.3 数据分析

诱导愈伤组织率(%)=诱导愈伤组织数/接种外植体总数×100%,诱导不定芽率(%)=诱导出不定芽数/接种外植体总数×100%。

2 结果与分析

2.1 诱导下胚轴愈伤组织情况

由表 1 可知,2~19 和 21 号培养基愈伤组织诱导率均为 80%,14 和 15 号培养基的愈伤组织多,大部分为白色,有少量的绿色且疏松状的愈伤组织。2、5、8 和 25 号培养基愈伤组织少、白色且疏松状。7、9 和 13 号培养基愈伤组织少,白色且紧实状。1、20 和 22~24 号培养基没有诱导出愈伤组织。可见 14 和 15 号培养基,即 MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 和 MS+BA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L 最有利于其下胚轴诱导愈伤组织。

2.2 诱导下胚轴不定芽情况

由表 2 可知,17 号培养基诱导不定芽率为 16%,其次 9 和 10 号培养基诱导不定芽率为 12%,14 号培养基诱导不定芽率为 8%,12 和 13 号培养基诱导不定芽率为

第一作者简介:王爱玲(1983-),女,山西运城人,硕士,农艺师,现主要从事西瓜及甜瓜再生体系体系建立的研究工作。E-mail:ailing210@126.com。

基金项目:新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目(KY2012080)。

收稿日期:2013-03-04

表 1

诱导下胚轴愈伤组织情况

Table 1

The callus induced from hypocotyl

编号 Number	培养基类型 Medium type	诱导愈伤组织数 Induced callus number	诱导愈伤组织率 Callus induction rate/%	愈伤组织生长情况 Callus growth situation
1	MS	0	0	无愈伤
2	MS+BA 0.3 mg/L	20	80	愈伤组织少、白色且疏松状
3	MS+BA 0.3 mg/L+IAA 0.3 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
4	MS+BA 0.3 mg/L+IAA 0.5 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
5	MS+BA 0.3 mg/L+IAA 1.0 mg/L	20	80	愈伤组织少、白色且疏松状
6	MS+BA 0.3 mg/L+IAA 2.0 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
7	MS+BA 0.5 mg/L	20	80	愈伤组织少、白色且紧实状
8	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.3 mg/L	20	80	愈伤组织少、白色且疏松状
9	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L	20	80	愈伤组织少、白色且紧实状
10	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 1.0 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
11	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 2.0 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
12	MS+BA 1.0 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
13	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L	20	80	愈伤组织少、白色且紧实状
14	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L	20	80	愈伤组织多、大部分为白色,有少量的绿色且疏松状
15	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L	20	80	愈伤组织多、大部分白色,有少量的绿色且疏松状
16	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 2.0 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
17	MS+BA 2.0 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
18	MS+BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
19	MS+BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
20	MS+BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L	0	0	玻璃化
21	MS+BA 2.0 mg/L+IAA 2.0 mg/L	20	80	愈伤组织多、白色且疏松状
22	MS+IAA 0.3 mg/L	0	0	玻璃化
23	MS+IAA 0.5 mg/L	0	0	玻璃化
24	MS+IAA 1.0 mg/L	0	0	玻璃化
25	MS+IAA 2.0 mg/L	1	4	愈伤组织少、白色、疏松状且生根

表 2 诱导下胚轴不定芽情况

Table 2 The adventitious bud induced from hypocotyl

编号 Number	培养基类型 Media type	诱导不定芽数 Induce adventitious bud number	诱导不定芽率 Induce adventitious bud rate/%
1	MS	0	0
2	MS+BA 0.3 mg/L	0	0
3	MS+BA 0.3 mg/L+IAA 0.3 mg/L	0	0
4	MS+BA 0.3 mg/L+IAA 0.5 mg/L	0	0
5	MS+BA 0.3 mg/L+IAA 1.0 mg/L	0	0
6	MS+BA 0.3 mg/L+IAA 2.0 mg/L	0	0
7	MS+BA 0.5 mg/L	0	0
8	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.3 mg/L	0	0
9	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L	3	12
10	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 1.0 mg/L	3	12
11	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 2.0 mg/L	0	0
12	MS+BA 1.0 mg/L	1	4
13	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L	1	4
14	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L	2	8
15	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L	0	0
16	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 2.0 mg/L	0	0
17	MS+BA 2.0 mg/L	4	16
18	MS+BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L	0	0
19	MS+BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L	0	0
20	MS+BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L	0	0
21	MS+BA 2.0 mg/L+IAA 2.0 mg/L	0	0
22	MS+IAA 0.3 mg/L	0	0
23	MS+IAA 0.5 mg/L	0	0
24	MS+IAA 1.0 mg/L	0	0
25	MS+IAA 2.0 mg/L	0	0

4%,其余培养基均未诱导出不定芽。可见,17号培养基即MS+BA 2.0 mg/L最有利于其下胚轴诱导不定芽。

2.3 不定芽伸长情况

由表3可以看出,9号培养基不定芽伸长苗数最多,共7个,其次是3号培养基不定芽伸长苗数为6个,2、4、5和8号培养基不定芽伸长苗数依次为1、2、2和3个。其余培养基,不定芽均未伸长。可见,9号培养基即MS+IAA 1.0 mg/L最有利于其不定芽伸长。

表 3 不定芽伸长情况

Table 3 The elongate adventitious buds

编号 Number	培养基类型 Media type	不定芽伸长苗数 Adventitious bud extension number of plants
1	MS	0
2	MS+BA 0.5 mg/L	1
3	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L	6
4	MS+BA 0.5 mg/L+IAA 1.0 mg/L	2
5	MS+BA 1.0 mg/L	2
6	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L	0
7	MS+BA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L	0
8	MS+IAA 0.5 mg/L	3
9	MS+IAA 1.0 mg/L	7

2.4 生根情况

由表4可知,1/2MS+IBA 1.0 mg/L培养基,根粗壮且分枝多,芽繁殖数较高,有利于其生根培养。

表 4 生根情况

Table 4 Rooting situation

编号 Number	培养基类型 Media type	生根情况 Rooting	成苗情况 Seedling
1	1/2MS+IBA 1.0 mg/L	根粗壮且分枝多	芽繁殖数较高
2	1/2MS+IBA 2.0 mg/L	根粗壮,但分枝少	芽繁殖数不高

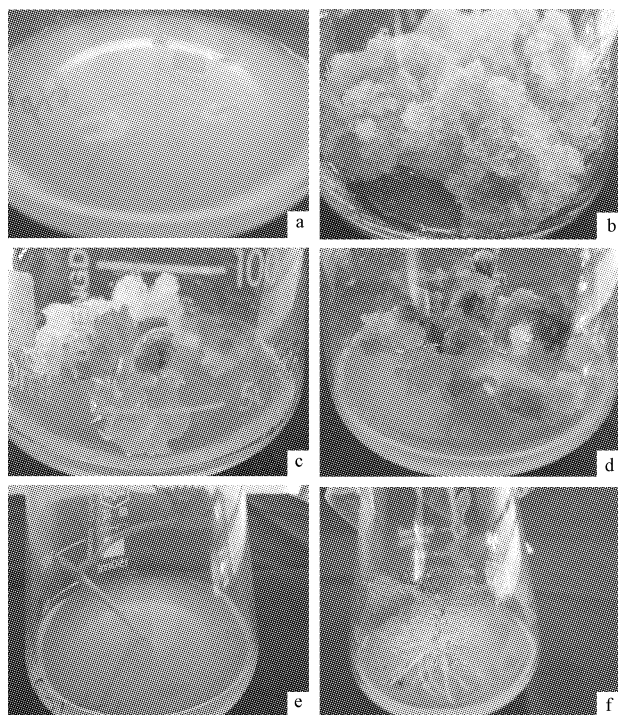


图 1 甜瓜“黄醉仙”下胚轴再生体系初步建立全过程

注:a. 下胚轴接种至培养基上;b. 下胚轴诱导出愈伤组织;c. 下胚轴诱导出不定芽;d. 不定芽伸长;e. 再生苗;f. 再生苗生根。

Fig. 1 The preliminary establishment process of hypocotyls regeneration system in melon cv. 'Huangzuixian'

Note:a. Hypocotyls were inoculated onto medium;b. The callus induced from hypocotyls;c. The adventitious bud induced from hypocotyls;d. The elongation of adventitious buds; e. Regenerative seedlings; f. Rooting of regenerative seedling.

3 讨论与结论

转基因技术的出现,成为甜瓜育种者新的技术手段,同时也缩短了培育出具有优良性状甜瓜的周期。目前,对甜瓜作物的转化,仍以农杆菌介导方法和基因枪法为主,而这2种方法都是建立在细胞或组织能够再生完整植株的基础之上^[1-2]。转基因技术的前提是建立其高效的再生体系。甜瓜的再生体系建立一直是甜瓜育种工作者研究的主要方向之一^[3-13]。陶兴林等^[14]认为,甜瓜厚皮品‘绿宝石’在含有6-BA 2.0 mg/L的分化培养基上的不定芽诱导率最高,达93.75%,而‘甘甜一号’品种在含有6-BA 1.0 mg/L和6-BA 2.0 mg/L的分化培养基上的不定芽分化频率均为100%。另外,随着IAA浓度的增大,疏松愈伤组织的分化均有加重的趋

势,而提高6-BA的浓度,虽然分化进程有所加快,但玻璃化-褐化程度加重。该试验的研究结果也与上述研究较为一致。

于喜艳等^[15]认为,BA是甜瓜再生分化的关键物质。马国斌等^[16]认为,甜瓜未成熟子叶、幼苗子叶和真叶都是甜瓜组织培养的适宜外植体。改良的Miller+ZT 3 mg/L+IAA 0.1 mg/L培养基是甜瓜未成熟子叶和幼苗子叶不定芽诱导的适宜培养基。关于甜瓜品种“黄醉仙”再生体系的建立报道很少,其下胚轴再生体系的建立研究更少。该试验研究了最适宜诱导甜瓜品种“黄醉仙”下胚轴愈伤组织和不定芽培养基,以及适宜其不定芽伸长和生根培养基,为今后的研究作为参考。试验结果表明,下胚轴诱导愈伤组织最适宜培养基是MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L和MS+BA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L,最适宜不定芽诱导的培养基是MS+BA 2.0 mg/L,不定芽伸长的最适宜培养基是MS+IAA 1.0 mg/L,生根的适宜培养基是1/2MS+IBA 1.0 mg/L。

参考文献

- [1] 陶兴林,黄永红,赵长增,等. 厚皮甜瓜品种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.
- [2] 陆璐,赵长增,陆婷. 甜瓜‘黄蛋子’子叶再生完整植株研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2005,33(8):81-85.
- [3] 何承坤,黄美娟,吕柳新,等. 培养条件对甜瓜(*Cucumis melo* L.)不定根离体诱导的效应[J]. 自然科学进展,1999,9(4):362-368.
- [4] 蔡润,黄伟华,潘俊松,等. 甜瓜子叶离体培养直接再生不定芽的形态学和解剖学观察[J]. 武汉植物学研究,2002,20(5):338-342.
- [5] 谢丽琼,王咏星,刘晓颖,等. 甜瓜组织培养过程中的染色体数目变异[J]. 生物技术,2006,16(2):59-60.
- [6] 顾玉成,葛双桃,付志慧,等. 甜瓜组织培养及快繁技术研究[J]. 中国西瓜甜瓜,2003(2):8-10.
- [7] 马国斌,王鸣,郑学勤. 甜瓜组织培养再生植株中的四倍体变异[J]. 园艺学报,1999,26(2):128-130.
- [8] 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.
- [9] 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]. 果树学报,1999,16(3):232-234.
- [10] 葛屹松,赵晓琴,李冠. 新疆甜瓜组培体系的优化及抗病转基因研究[J]. 新疆大学学报(自然科学版),2003,20(1):55-58.
- [11] 于喜艳,孔庆国. ‘伊丽沙白’甜瓜子叶组织培养研究[J]. 天津农业科学,2002,8(3):55-56.
- [12] 侯丽霞,何启伟,赵双宜,等. 薄皮甜瓜自交系高效组织培养技术的研究[J]. 山东农业科学,2006(3):7-10.
- [13] 王爱玲,廖新福,张敏. 早皇后甜瓜无菌系的初步建立[J]. 中国瓜菜,2012,25(5):40-41.
- [14] 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.
- [15] 于喜艳,何启伟,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.
- [16] 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.

“南高丛”蓝莓离体培养及增殖技术的研究

刘作梅¹, 王兰英¹, 宋祥兰¹, 邓晶², 王真¹

(1. 赣州市林业科学研究所, 江西 赣州 341000; 2. 湖南省农业科学院, 湖南 长沙 410000)

摘要:以1 a生“南高丛”蓝莓茎段为试材, 对其进行了外植体消毒、丛生芽诱导和增殖培养研究。结果表明: 茎段在75%乙醇湿润30 s, 0.1%升汞灭菌5~8 min的条件下较易获得无菌外植体; 丛生芽诱导最适宜培养基为改良WPM+ZT 1.0 mg/L, 萌动率达95%, 芽体饱满, 健壮; 丛生芽增殖培养最适宜培养基为改良WPM+KT 0.5 mg/L, 增殖系数为4.1。

关键词:“南高丛”蓝莓; 离体培养; 培养基; 激素

中图分类号:S 663.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)12-0103-03

蓝莓(Blueberry)属杜鹃花科越桔属(*Vaccinium*)多年生落叶或常绿灌木, 又名越橘。果实为蓝色浆果, 含特有的蓝莓花青素、黄酮等多种生理活性物质, 具有提高视力、抗衰老和防癌等功效^[1-2], 被誉为“21世纪功能性保健浆果”和“水果中的皇后”, 被国际粮农组织列为人类五大健康食品之一^[3], 是具有较高经济价值的新兴果树。目前, 国际市场上蓝莓果实售价昂贵, 处于供不应求的状态^[4]。

“南高丛”蓝莓完全是人工培育出的一个全新品系, 适于我国华中、华南和华东地区发展, 此品种群果实较大, 品质佳, 鲜食口感好^[5]。常规的种子繁殖和扦插繁

殖受生长季节的影响使得繁殖速度较慢, 难以满足市场对苗木生长的需要。现通过对“南高丛”蓝莓组培快繁进行初步试验和探索, 以期为我国长江以南地区快速发展蓝莓产业提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

外植体取材于赣州市林业科学研究所蓝莓种植基地, 品种为“南高丛”蓝莓“维尔康”, 在8~9月取材, 以田间生长的1 a生健壮、无病虫害、半木质化嫩枝为材料。

1.2 试验方法

无菌材料的获得: 将采自田间的健壮嫩枝, 放入低浓度的洗衣粉水中漂洗10~15 min, 然后用流水冲洗30 min。先用75%的乙醇湿润, 用无菌水冲洗1~3次, 0.1%氯化汞灭菌, 无菌水冲洗3~5次。用无菌滤纸吸干外植体表面的水分, 将嫩枝剪成1 cm左右的带腋芽(或具茎尖)茎段作为外植体。

第一作者简介:刘作梅(1981-), 女, 江西赣州人, 硕士, 工程师, 现主要从事植物组织培养与林木培育等研究工作。E-mail: liuzuomei703@126.com.

基金项目:江西省科技厅科技支撑计划资助项目(20112BBF60055)。

收稿日期:2013-01-24

Preliminary Establishment of Melon cv. ‘Huangzuixian’ Regeneration System

WANG Ai-ling, ZHANG Min, LIAO Xin-fu, ZHAO Rong-hua

(Xinjiang Development and Research Center of Grape and Melon, Shanshan, Xinjiang 838200)

Abstract: Taking the hypocotyl of melon cv. ‘Huangzuixian’ as explants, the effects of MS media with different concentrations of BA and IAA combination on the callus and adventitious bud induction, as well as adventitious buds elongation were investigated. Meanwhile, the effects of MS media with different concentrations of IBA on rooting of regenerative buds were also investigated. The results showed that the optimal medium for inducing melon ‘Huangzuixian’ callus was MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L and MS+BA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L, the optimal medium of adventitious bud induction was MS+BA 2.0 mg/L, and the optimal media of adventitious bud elongation was MS+IAA 1.0 mg/L while the optimal rooting media was 1/2MS+IBA 1.0 mg/L.

Key words: melon; ‘Huangzuixian’; regeneration system; hypocotyls