

西瓜组织培养与再生体系的初步建立

邱敏,林聪

(福建农林大学生命科学学院,福建福州 350002)

摘要:以西瓜“长春1号”无菌苗子叶、下胚轴为外植体,对其离体培养及植株再生的条件进行了初步的研究。研究结果表明:芽诱导的最佳培养基配方为MS基本培养基附加6-BA 5.0mg/l、IAA 0 mg/l。

关键词:西瓜;外植体;组织培养;植株再生

1 前言

西瓜属葫芦科,西瓜属,是重要的大众化水果,深受人们欢迎^[1]。西瓜的组织培养工作始于20世纪70年代,自1979年许智宏等报道获得初步成功以来,国内外一些实验室也相继报道了这方面的研究成果,高新一等于1980年用顶芽做外植体获得再生植株,薛光荣等于1982年进行西瓜花药培养,成功地再生出花粉植株,王春霞等于1996年进行了西瓜子叶的组织培养研究^[2]。ANDRUS等报道用无籽西瓜下胚轴为外植体诱导形成丛芽,并首次建立了无籽西瓜的无性繁殖系。为此笔者以西瓜子叶和下胚轴为外植体,系统地研究了西瓜组织培养芽诱导的培养条件。

2 材料与方法

2.1 试验材料 “长春一号”西瓜

2.2 培养基 以MS为基本培养基,根据不同研究阶段配制附加不同配比激素培养基A-G(其中琼脂7g/l、蔗糖30g/l、pH5.80)。

无菌苗诱导培养基:

A MS培养基

B 1/2 MS培养基

不定芽诱导培养基:

C MS培养基附加6-BA 5.0mg/l、IAA 0 mg/l

D MS培养基附加6-BA 5.0mg/l、IAA 0.20 mg/l

E MS培养基附加6-BA 5.0mg/l、IAA 0.50 mg/l

F MS培养基附加6-BA 5.0mg/l、IAA 1.0 mg/l

G MS培养基附加6-BA 5.0mg/l、IAA 2.0 mg/l

2.3 试验方法

2.3.1 无菌苗的获得。选取饱满、大小一致、西瓜种子用无菌水浸泡2h。将尖端去皮与未去皮的种子分别用70%的酒精消毒40s,然后用30%的双氧水消毒30s,无菌水冲洗3~5次后分别接种于上述A、B培养基,在室温26℃,1500lx 12h d⁻¹光照条件下培养(以下培养条件均与此相同)。

2.3.2 不定芽的诱导。播种后10~20d后,待种子萌发长出子叶时,切取子叶(0.50cm×0.50cm)、下胚轴(1cm)分别接种于上述C-G五种不定芽诱导培养基培养。

2.4 统计方法

发芽率=出芽外植体数/总的外植体数×100(%)

污染率=污染外植体数/总外植体数×100(%)

愈伤组织分化率=愈伤组织数/总外植体数×100(%)

不定芽诱导率=分化不定芽外植体数/总外植体数×100(%)

3 结果与分析

3.1 无菌苗萌发条件的优化

西瓜种子按上述方法培养后,无菌苗生长情况见表1、图1。

肥60kg化肥(按尿素1.84元/kg、金化磷二氮2.42元/kg、金化混配肥1元/kg计算),投入成本为148.10元;在西瓜全生育期追施沼肥3次,比施用混合肥多投入人工费60元(按一个人工40元计算),这样每亩施用混合肥(化肥和土杂肥)比施用沼肥多投入成本108.10元,产值与新增投入比分别为32.91:1和12.67:1,说明施用沼肥虽增加了一个半人工,但投入产出效益较高。

2.4 不同处理经济性性状分析

表3 不同处理对西瓜经济性性状的影响

处理	中心含糖(%)	边糖(%)	平均单瓜重(千克)	最大单瓜重(千克)	肉质	果形	长势
I	12.30	9.80	3	4.30	细、甜、多汁、沙瓤	椭圆、皮色翠绿	旺盛
II	10.50	7.40	2.60	3.80	细、微甜、多汁、脆	椭圆、皮色浅绿	良好

由表3可看出,施用沼肥的经济形状比施用混合肥(化肥和土杂肥)表现明显,植株生长旺盛,无病虫害发生,西瓜口感好,商品性能高,耐贮藏。

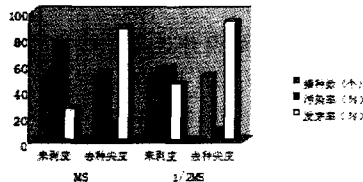
3 小结

通过本试验,可看出沼肥是一种速缓兼备的优质有机肥,既能满足西瓜前期营养生长的养分要求,又能满足西瓜后期结果的养分需要。施用沼肥虽增加了追肥的人工费,但产出与新增投入比达32.91:1,投入产出效益高。沼肥中含有的有机质、腐殖酸等,可降低土壤容重、增加土壤空隙度、改善土壤团粒结构,促进西瓜根系对各种养分的吸收利用,改善西瓜品质,是发展节约型循环经济的有效途径之一。

表1 不同处理方法对种子无菌萌发的影响

培养基类型	种子类型	播种数(个)	污染率(%)	发芽率(%)
MS	未剥皮	50	75	25
	去种尖皮	50	13	87
1/2 MS	未剥皮	50	56	44
	去种尖皮	50	8	92

图1



从上述结果可以看出,去尖端种皮的种子发芽率较未去种皮的种子发芽率高,且前者污染率极低,后者污染率非常高;用MS和1/2MS培养基比较两种试验结果无明显差别。所以将种子去皮培养将更易于无菌苗的获得。3.2 不定芽诱导结果

3.2.1 不同外植体对愈伤组织、不定芽诱导的影响。选取无菌西瓜苗的子叶和下胚轴进行不定芽诱导培养,结果见表2。

表2 不同外植体对愈伤组织、不定芽诱导的影响

外植体	外植体 接种数	愈伤数	愈伤组织		不定芽 诱导率
			分化率 (%)	不定芽数	
子叶	251	226	90.03	103	41.04
下胚轴	274	267	97.45	178	64.96

表2结果表明西瓜的子叶和下胚轴愈伤组织和不定芽诱导率都较高,其中下胚轴愈伤组织诱导率高达97.45%,且愈伤组织生长较快,生长状态也较好。

3.2.2 不同浓度配比激素对愈伤组织、不定芽诱导的影响。将外植体分别接种于上述C-G培养基中培养,比较不同生长激素条件对外植体愈伤组织、不定芽分化诱导的影响,结果见表3。

表3 不同浓度配比激素对愈伤组织、不定芽诱导的影响

激素种类和 浓度(mg/l)	外植体 数(个)	愈伤数 (个)	出芽外植 体数(个)	愈伤组织 分化率(%)	不定芽诱 导率(%)		
						6-BA	IAA
C	5	0	105	105	31	100	29.52
D	5	0.20	105	103	49	98.10	46.67
E	5	0.50	105	99	73	94.29	69.52
F	5	1	105	101	89	96.19	84.76
G	5	2	105	85	39	80.95	37.14

将子叶接种于表3所示培养基中,2 d后外植体变绿,体积开始膨大,2周左右,大部分外植体子叶切口处产生绿色芽点。由表3结果可知,5种培养基均能诱导出不定芽,但是诱导率有很大差别,其中,MS基本培养基附加6-BA 5.0mg/l, IAA 1.0mg/l的激素组合的不定芽诱导率在本实验设计的IAA浓度范围内最高;在无IAA时,外植体愈伤组织分化率达到100%,且在实验设计的五种类别的激素培养基中不定芽诱导率最低。由上述试验结果表明

西瓜外植体诱导不定芽的最佳培养基为MS基本培养基附加6-BA 5.0mg/l + IAA 1.0mg/l;外植体诱导愈伤的最佳培养基为MS基本培养基附加6-BA 5.0mg/l。

4 讨论

4.1 西瓜无菌苗的获得 西瓜种皮较硬,发芽前应进行浸种处理,通常浸种1~2 h可以有效缩短出芽时间,提高出芽效率。在对种子进行消毒灭菌处理时应注意:虽然西瓜种皮较硬,浸种以后种皮变软,酒精消毒时间不可过长,试验表明酒精消毒时间以40 s为宜,要彻底杀菌还应结合双氧水或者次氯酸钠进行消毒;试验表明接种种尖剥皮的种子在萌发过程中污染较小。结果表明种子尖端去皮,用70%的酒精消毒40 s,然后用30%的双氧水消毒30 s的组合能达到种子最佳消毒效果。MS和1/2MS培养基对种子发芽两者无明显差异,故在诱导出苗时该两种浓度的培养基均可使用。

4.2 影响不定芽诱导的因子 诱导不定芽分化有两条途径:外植体直接诱导成芽和形成愈伤组织后再分化成芽。在西瓜的离体培养中,多数选择从下胚轴直接诱导芽分化途径,可以获得很高的分化率;而从愈伤组织再分化成芽,虽也可再生植株,但较费时,且诱导率低^[9]。

4.2.1 不同外植体对不定芽诱导的影响。本实验取12~16d苗龄的无菌苗的子叶、下胚轴为外植体,进行不定芽诱导比较试验,结果表明下胚轴不定芽诱导率高于子叶。植物不同器官组织培养效果有差异,可能是由于植物组织、器官内源激素分布不均而造成的。

4.2.2 植物激素对西瓜不定芽诱导的影响。不同激素浓度配比对于外植体发生分化至关重要,在西瓜的离体培养中,多数选择从子叶或下胚轴直接诱导芽分化途径,可以获得很高的分化率;一般认为细胞分裂素影响细胞分裂、顶端优势的变化和茎的分化,因此在培养基中加入细胞分裂素的目的,主要是促进细胞分裂和分化不定芽;生长素被用于诱导细胞的分裂^[4]。从参考文献可以看出,在西瓜组织培养所用激素中,细胞分裂素以6-BA最佳,而生长素以IAA最佳^[9],因此我们采用了这两种激素,并用以不同浓度作对比,筛选出最佳诱导不定芽激素配方,为后续转化体系建立提供基础。试验结果表明,高细胞分裂素(5.0mg/l 6-BA)低生长素(1.0mg/l IAA)配合时能获得较高的西瓜不定芽诱导率。

参考文献

- [1] 邵宏波.西瓜组织培养研究现状[J].松辽学刊(自然科学版),1990,(3):49-51.
- [2] 任春梅,董延瑜,洪亚辉,等.西瓜组织培养的研究[J].湖南农业大学学报,2000,26(1):50-53.
- [3] 牛爱国,朱海波,侯丽娟,等.无籽西瓜组培快繁技术初步研究[J].山东农业科学,1997,(1):32-34.
- [4] 何松林,杨秋生,等.组织培养容器环境因子调控技术研究进展[J].河南农业大学学报,2003,37(1):25-32.
- [5] 侯占铭,石晶瑜,王振兴.三倍体西瓜组织培养[J].内蒙古大学学报,1996,3(3):68-70.