

# 西瓜组织培养再生体系的研究现状

朱金英 王友平 高凤菊 张超 崔光泉

(山东省德州市农业科学研究所 山东德州 253015)

**摘要:** 介绍了西瓜组织培养再生体系的研究进展。根据近年来的研究成果,综述了西瓜组培再生体系的全过程;外植体的选择,不定芽的诱导及伸长,根的诱导及试管苗的移栽;提出了有待解决的问题。

**关键词:** 西瓜;组织培养;再生体系

## Current status of reseach on watermelon tissue culture

ZHU Jin-ying, WANG You-ping, GAO Feng-ju, ZHANG Chao, CUI Guang-quan

(Dezhou Agricultural Sciences Research Institute, Dezhou, Shandong, 253015, China)

**Abstract:** This paper introduces the application of the tissue culture on watermelon. It discussed on the whole process of regeneration system, including selecting the ex-plant, inducing the buds, stretching the shoots, transplanting the seeding from tubs. Some problems to be solved were also discussed.

**Key Words:** Watermelon; Tissue culture; Regeneration system

西瓜 (*Citrullus vulgaris*) 是重要的大众化水果,属葫芦科植物,其遗传基础十分狭窄,野生种及近缘物种的相关收集整理工作较少<sup>[1]</sup>。通过常规育种方法已培育出许多优良品种,但对某些性状的改良较为困难,利用基因工程对西瓜进行改良,使之更符合生产的要求实属必要。

在生物技术研究领域,高效组织培养和植株再生技术是转基因技术的先决条件。西瓜组织培养的研究于 20 世纪 70 年代,Andrus<sup>[2]</sup>于 1971 年首次报道其成功地建立了无籽西瓜的无性繁殖体系。在我国,许智宏等<sup>[3]</sup>以西瓜顶芽为外植体诱导丛生芽,并成功地获得了试管苗。随后,许多学者相继做了大量的研究,并取得了相应的进展<sup>[4-6]</sup>。笔者现就有关西瓜组织培养再生体系的研究现状作一评述。

## 1 最佳外植体的选择

西瓜不容易通过愈伤组织途径再生植株,目前已能用子叶<sup>[7-9]</sup>、下胚轴<sup>[7]</sup>和花药<sup>[10]</sup>等几种外植体再生植株,有的外植体还建立了高效再生体系<sup>[8,12]</sup>。苗龄对分化影响大;Dong<sup>[10]</sup>和 Compton 等<sup>[8]</sup>的研究认为,5 d 苗龄幼苗子叶的不定芽发生频率最高;宋道军等<sup>[12]</sup>研究认为 3 d 龄左右的西瓜基端子叶最易于再生;马国斌等<sup>[13]</sup>研究认为未成熟子叶和幼苗子叶是西瓜组织培养的适宜外植体(2 d 苗龄子叶的不定芽分化频率最高),种子萌动后只要种皮易于剥去,子叶便于切割,可以尽量缩短子叶外植体的苗龄;任春梅等<sup>[14]</sup>的研究则认为顶芽诱导不定芽的诱导率高于子叶,苗龄 8~9 d 的顶芽诱导产生的不定芽最多,刚刚由黄色转为浅绿色时(苗龄 4~5 d)的子叶诱导不定芽的诱导率最高;万勇、张铮等<sup>[15]</sup>的实验研究认为带完整子叶的顶芽诱导不定芽的效果最好,与任春梅等<sup>[14]</sup>的报道基本一致。如果再生体系的建立,是为了转基因,则采用子叶为外植体最合适。张志忠等<sup>[16]</sup>认为苗龄对于分化影响较

大,但由于培养条件和基因型等差异导致不同品种的种子发育快慢不同,不宜以天数来确定苗龄,而以子叶颜色判断可能更有效,无菌苗子叶淡绿色时不定芽诱导率最高,颜色发黄或已变为深绿色的子叶分化效果较差,这与 Dong<sup>[10]</sup>、黄学森<sup>[17]</sup>、任春梅<sup>[14]</sup>及王果萍等<sup>[18]</sup>的报道均是一致的。

## 2 不定芽的诱导

任春梅等<sup>[14]</sup>、宋道军等<sup>[12]</sup>许多学者研究认为西瓜愈伤组织分化芽的能力弱,绕开愈伤组织分化,直接进行不定芽的分化,省时省力,是一条捷径。BA 是诱导西瓜子叶和顶芽分化不定芽常用的物质<sup>[8,19,20]</sup>,统计不同研究者不定芽诱导培养基研究结果如表 1:

表 1 不同外植体的适宜诱导培养基

外植体	最佳培养基(mg/L)	研究者及出处
子叶	MS+BA10	任春梅 <sup>[14]</sup>
未成熟子叶及幼苗子叶	MS+BA2.252	马国斌 <sup>[13]</sup>
子叶	MS+BA2+NAA0.1+AGNO <sub>3</sub> 5	宋道军 <sup>[12]</sup>
子叶块	MS+BA1.0+IBA0.5	张志忠 <sup>[16]</sup>
顶芽	MS+BA2.0	万勇 <sup>[15]</sup>
带子叶的顶芽	MS+BA3.0+IAA0.2	任春梅 <sup>[14]</sup>

综合不同学者的研究发现:顶芽分化不定芽最适用的 BA 质量浓度高于子叶的 BA 质量浓度,任春梅等<sup>[14]</sup>认为这可能是由于顶芽本身合成的一些生长调节物质,在某种程度上抑制了不定芽的分化,因此,若用顶芽作外植体诱导较多的不定芽,应适当增加 BA 质量浓度。另外,万勇等<sup>[15]</sup>实验认为无子叶顶芽产生的不定芽生长弱,易玻璃化,而带完整子叶的顶芽诱导效果最好,与任春梅观点一致;万勇认为在顶芽诱导过程中,适当的暗处理有利于芽的增殖,与王春霞等<sup>[21]</sup>的实验结论一致。

收稿日期:2006-02-27。

作者简介:朱金英,女,农艺师,主要从事园艺植物的组织培养工作。电话:0534-2321660; E-mail: zhujinying@126.com。

### 3 促进不定芽的伸长

王果萍<sup>[18]</sup>认为,在促使不定芽伸长成苗过程中,KT的含量是至关重要的,其最佳浓度为0.3 mg/L。任春梅<sup>[19]</sup>认为不定芽在MS+KT 0.2 mg/L培养基上能较快地伸长,与黄学森<sup>[17]</sup>的实验结论一致,万勇等<sup>[15]</sup>也用含0.2 mg/L KT的培养基能有效地使芽伸长,但实验发现50%的伸长芽有不同程度的玻璃化。马国斌等<sup>[13]</sup>认为改良的MS+BA 1.1263 mg/L是促进不定芽伸长的简单实用的培养基。张志忠等<sup>[16]</sup>的实验表明,MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L可使不定芽获得良好的伸长效果,添加不同程度的KT、GA<sub>3</sub>会不同程度地加重幼苗玻璃化现象,以NAA替代则会促进根的过早萌发。

### 4 根的诱导

NAA、KT、IAA和IBA都能明显地促进生根。马国斌等<sup>[13]</sup>的实验结果表明生长调节剂的类型和含量是影响根系发生数量和品质的重要因素,IAA(0.5 mg/L)促进生根效果最好,其次是NAA和IBA。张志忠等<sup>[16]</sup>的实验结果与之相似:较低浓度的IAA(0.2 mg/L)即可较好地诱导形态正常的不定根,同样浓度的NAA也有类似的作用,但产生的不定根短而粗,无正常根毛。而任春梅等<sup>[19]</sup>的实验则认为:NAA、KT和IAA这3种激素对根的分化无明显差异。万勇等<sup>[15]</sup>则认为IAA与IBA的诱导差异不明显,总平均生根率均超过90%。

### 5 试管苗的移栽

西瓜再生试管苗较难移栽成活。低温、高湿是移栽成活的关键,这些措施可能通过抑制植株地上部分的生长,降低蒸腾,促进根部发育而起作用。张志忠等<sup>[16]</sup>在生根小苗炼苗后,除去部分叶片,移入由沙、泥炭土和草土灰混合而成的无菌基质中,保持高湿、低温(18~23℃),3周后成活率为38%。任春梅等<sup>[19]</sup>运用嫁接技术,常规嫁接成活率最高为44%,无菌嫁接最高成活率为86%。

以上所述均是建立西瓜组织培养再生体系较成功的探索,但还存在一些问题有待解决:(1)西瓜试管苗玻璃化是一个亟待解决的问题,试管苗一旦出现玻璃化现象,增殖系数降低,移栽不能成活。李竹梅、王果萍<sup>[22]</sup>针对西瓜试管玻璃苗与培养环境的关系,对其成因及防止方法进行了一些探讨,以后需要开展更多方面的研究,为生产提供理论及实践依据。(2)如何降低无性系繁殖成本、提高无性系繁殖系数及繁殖速度,有待探索有效措施。(3)西瓜花培成本是单倍体育种中的关键环节,西瓜花培研究相对较少<sup>[23]</sup>,急需形成一套成功的西瓜单倍体育种方法。

总之,生物的复杂多样性导致不同种、不同品种(基因型),甚至是同一植株的不同外植体,进行组培时对培养条件的要求都不尽相同。因此,植物组培看似简单烦琐,实质上要总结出一套成功的适合不同基因型的组织高效培养的规律,并建立起相应的离体再生高效培养体系并非易事,因此,作为植物遗传转化研究的一个重要组成部分的高效组织培养

体系的建立,仍需加强基础理论研究,对培养机理进行深入的探讨与总结。

### 参考文献

- [1] Zhang X, Prodes BB. RAPD molecular marker in watermelon[J]. Hortscience, 1993, 28(5): 223.
- [2] Andrus CF. Production of seedless watermelon[J]. USDA Tech Bull, 1971: 1452.
- [3] 许智宏, 卫志明, 刘桂云. 用离体培养无性系繁殖三倍体无籽西瓜[J]. 植物生理学报, 1979, 5(3): 245-251.
- [4] 高新一, 林翔鹰, 杨春燕, 等. 无籽西瓜无性系繁殖的研究[J]. 中国农业科学, 1983, (2): 58-63.
- [5] 张孝祺, 魏振承, 黄河勋, 等. 西瓜离体培养技术研究[J]. 中国西瓜甜瓜, 1996, (2): 13-16.
- [6] 刘敬梅, 刘玲, 陈杭. 西瓜的快速高效植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(1): 46.
- [7] Srirastava DR, Andrianov VM, Piruzian ES. Tissue culture and plant regeneration of watermelon (*Citrullus Vulgaris* Schrad. cv. Melitoposki) [J]. Plant cell Reports, 1989, 8: 300-302.
- [8] Cimpton EE, Gray DJ. Shoot organogenesis and plant regeneration from cotyledons of diploid, triploid, and tetraploid watermelon[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1993, 118(1): 151-157.
- [9] Zhang XP, Rhodes BB, Adelberg JW. Shoot regeneration from immature cotyledons of watermelon[J]. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 1994, 17: 111-115.
- [10] Dong JZ, Jia SR. High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon[J]. Plant cell Rep, 1991, 9(10): 559-562.
- [11] 薛光荣, 余文炎, 费开伟. 西瓜花药离体培养获得花粉植株[J]. 植物生理学通讯, 1983, 4: 40-42.
- [12] 宋道军, 陈若雷, 尹若春, 等. 西瓜高效组织培养再生体系的初步研究[J]. 中国西瓜甜瓜, 2000, (4): 8-11.
- [13] 马国斌, 王鸣, 郑学勤. 西瓜组织培养再生体系的比较研究[J]. 中国西瓜甜瓜, 1998, (3): 9-11.
- [14] 任春梅, 董廷瑜, 洪亚辉, 等. 西瓜组织培养研究[J]. 湖南农业大学学报, 2000, 26(1): 50-53.
- [15] 万勇, 张铮, 刘红梅, 等. 西瓜组织培养快速繁殖的初步研究[J]. 江西农业学报, 2002, 14(4): 47-50.
- [16] 张志忠, 吴菁华, 吕柳新. 西瓜高频再生系统研究[J]. 中国农学通报, 2004, 20(2): 151-153.
- [17] 黄学森, 焦定量, 那丽. 西瓜子叶离体培养获得再生植株[J]. 中国西瓜甜瓜, 1994, (3): 15-16.
- [18] 王果萍. 西瓜高效组织培养技术体系研究[J]. 中国西瓜甜瓜, 2002, (2): 1-3.
- [19] 曹华兴, 顾永强, 何小华. 激素在西瓜组织培养中对不定芽发生的影响[J]. 上海农学院学报, 1986, 4(4): 279-284.
- [20] 陶燕敏, 章志刚, 叶健, 等. 几种理化因子对无籽西瓜无性系繁殖的影响[J]. 上海农学院学报, 1994, 12(1): 48-51.
- [21] 王春霞, 简志英, 刘遇, 等. “京欣1号”西瓜子叶组织培养的研究[J]. 园艺学报, 1996, 23(4): 401-403.
- [22] 李竹梅, 王果萍. 西瓜试管玻璃苗的成因及防止[J]. 山西农业科学, 2004, 32(3): 43-46.
- [23] 袁万良, 付润民, 雷保林, 等. 西瓜花培试验初报[J]. 陕西农业科学, 1995, (1): 29-30.