

小果型西瓜快速繁殖技术研究

宣 杨,徐洪国,仲娟娟,王英学,祁宏英

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院,黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要:为建立小果型西瓜组织培养快速繁殖方法,对小果型西瓜重要种质材料的保存扩繁提供技术支持。以小果型西瓜为材料、MS培养基为基本培养基,通过不同种类和浓度的植物生长调节剂配比试验,筛选小果型西瓜快速繁殖与生根的最佳培养基组成。结果表明:子叶苗茎尖丛生芽诱导培养基 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.1 mg·L⁻¹ 效果较好,试管苗继代增殖最适培养基为 MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.1 mg·L⁻¹,诱导试管苗生根的最适培养基为 1/2 MS+IBA 0.3 mg·L⁻¹。

关键词:小果型西瓜;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S651 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)11-0045-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.11.0045

小果型西瓜 (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai) 也称小西瓜或袖珍型西瓜,礼品西瓜等^[1]。它是普通食用西瓜品种中果型小、果皮薄,果实含糖量较高的一类优质品种。小果型西瓜是专门培育的优良西瓜新品种,果实小巧美观,肉质细嫩,汁多味甜,品质上乘^[2]。小果型西瓜在国内外市场上深受广大消费者的喜爱。小果型西瓜的售价一般也比普通西瓜高很多,生产者的经济效益也十分可观。目前,我们国家小果型西瓜的生产面积已经达到 7 万 hm² 以上,而且发展势头仍然热度不减^[3]。

小西瓜育种研究工作在全国各地深入开展。但是,西瓜遗传基础狭窄,种质资源缺乏,很多重要的性状无法通过常规育种方法进行改良。因此采用生物技术手段进行种质创新,培育优质、高产的抗病新品种已成为西瓜遗传育种研究的热点。植物组织培养技术作为生物技术的重要组成部分,越来越受到人们的关注。近年来西瓜离体培养技术已经被广泛用于离体快速繁殖、基因的遗传转化^[4-7]和诱导变异^[8]等方面。另外,利用茎尖与腋芽离体培养获得植株可以对重要稀缺材料进行长期保存与快速繁殖,同时避免优良性状的分离与丢失,已经在很多作物的育种中广泛应用^[9]。本研究以小果型西瓜为材料,以期建立高效的组织培养快速繁殖方法,为小果型西瓜重要种质材料的保存扩繁提供技术支持。

收稿日期:2017-09-13
基金项目:2016 年黑龙江省大学生创新创业训练计划资助项目(201610221031)
第一作者简介:宣杨(1995-),男,黑龙江省大庆市人,在读学士,从事西瓜生物技术研究。E-mail:766762723@qq.com。

Analysis of Hog Industry Production Efficiency of Jilin Province

WANG Yin-long¹, GAO Chong-yu²

(1. School of Economy and Management, Jilin Agricultural Technology College, Jilin, Jilin 132101; 2. Jilin Development Center of Technology Supervision and Information, Jilin, Jilin 132101)

Abstract: Jilin province as a famous agricultural province, since the 13th Five-Year Plan period has made outstanding achievements in the development of modern agriculture and agricultural modernization, development of modern animal husbandry has become a critical task. Hog industry has been paid more and more attention as an important part of modern animal husbandry in Jilin province. The labor productivity, capital efficiency and technical efficiency of production efficiency of the hog industry were analyzed, the development suggestion of hog industry in Jilin province was put forward from the development of hog breeding varieties, establish large-scale farming, reduce the breeding cost, strengthen hog breeding and epidemic prevention work.

Keywords: Jilin province; hog industry; C-D model; countermeasure proposal

1 材料与方法

1.1 材料

选用小果型西瓜自交品系 L1 为实验材料,西瓜种子由齐齐哈尔大学生命科学与农林学院园艺实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 种子的处理采用无菌萌发,将种子先浸种 6 h,去除种皮后,清洗干净,在无菌工作台上先用 70%酒精消毒 30 s,再用 3%Na-CIO 浸种消毒 20 min,无菌水清洗 3~4 次。直接接种于无激素的 1/2 MS 培养基上。先进行 3 d 的暗培养,之后再进行光培养,观察其生长情况。

茎尖外植体的获取和培养,在无菌条件下选取苗龄 5~7 d 的西瓜无菌苗,切割带部分子叶的茎尖,外植体基部插入培养基。以 MS 为基本培养基,蔗糖 30%,pH 为 5.8,0.9%琼脂。设置不同激素配比培养基,诱导子叶苗茎尖产生丛生芽。培养 21 d 后调查结果。

继代培养,将上述分化培养的不定芽切下后,接种到添加不同配比激素的 MS 培养基上,进行不定芽的继代增殖培养。培养 21 d 后调查结果。

生根培养,将上述继代培养的不定芽切下后,接种到以 1/2 MS 为基本培养基,附加不同浓度 IBA 的生根培养基上,进行不定芽的生根培养。21 d 后统计再生植株的生根及生长情况。

驯化移栽,将已诱导出大量根的试管苗,驯化 3~5 d,移到无菌基质(珍珠岩、泥炭土 1:1 混合物)中,当长出 2~3 片新叶时,栽到花盆中。

1.2.2 测定项目及方法 不定芽诱导率=出芽外植体数/接种外植体数×100%;平均增殖数=出芽总数/出芽外植体数;生根率=生根不定芽数/接种不定芽数×100%。平均生根数=生根总数/生根外植体数。

2 结果与分析

2.1 初代培养

将种子在无菌条件下培养,选取苗龄 5~7 d 的西瓜无菌苗,切割带部分子叶的顶芽进行培养,设置不同激素配比培养基,诱导子叶苗茎尖产生丛生芽。培养 21 d 后调查结果(见表 1)可以看出,小果型西瓜的初代培养以 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 8 g·L⁻¹,pH 为 5.8 时效果较好,不定芽诱导率达到 95.00%,且植株生长健壮,叶色深绿,成活率较高,褐化、玻璃化苗少。

表 1 不同激素配比对子叶苗茎尖不定芽诱导的影响

Table 1 Effects of different hormone ratios on adventitious bud induction from shoot tip of leaf seedlings

6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	不定芽诱导率/% Rate of adventitious
0.1	0.1	73.21
0.1	0.5	48.05
0.5	0.1	90.73
0.5	0.5	62.75
1.0	0.1	95.00
1.0	0.5	84.44
2.0	0.1	84.55
2.0	0.5	69.23

2.2 继代增殖培养

将上述分化培养的不定芽切下后,接种到添加不同配比激素的 MS 培养基上,设置不同激素配比培养基,进行不定芽的继代增殖培养。培养 21 d 后调查结果(见表 2),不定芽在添加 6-BA 与 NAA 的 MS 培养基上能够在外植体基部诱导腋芽发育,形成丛生芽。在含有 6-BA 0.5 mg·L⁻¹和 NAA 0.1 mg·L⁻¹的处理中,诱导形成的不定芽较多,每个外植体可平均形成 3.63 个芽,而且形成的芽健壮,伸长明显,容易切割转接,是较为适宜的芽诱导增殖培养基。

表 2 不同激素浓度对试管苗继代增殖的影响

Table 2 Effects of different hormone combinations on subcultures proliferation of the shoots in vitro

6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	生长情况 Adventitious bud growth	平均增殖数/个 Proliferation number
0.5	0.1	芽长,长势较好,健壮	3.63
0.5	0.5	芽短,生长缓慢	1.92
1.0	0.1	芽短,长势较好	4.81
1.0	0.5	芽较长,长势一般	3.11
2.0	0.1	芽短,长势一般	4.90
2.0	0.5	芽较长,长势一般	3.90

2.3 生根培养及驯化移栽

由表 3 可知,添加不同浓度 IBA 能够很好的促进小果型西瓜再生植株的生根,生根率都达到 100%,在添加 0.3 mg·L⁻¹ IBA 的处理中,7 d 就可观察到不定根的发育,20 d 后能够平均形成 12.25 条根。进一步增加 IBA 浓度,虽然也能形

成大量的根,但小植株基部会形成大量的愈伤组织,再生根容易在移栽时脱落,移栽不易成活。驯化 3~5 d,移到无菌基质中,移栽后要保持湿度 90%以上、温度 23 ℃左右当长出 2~3 片新叶时,栽到花盆中,成活率达到 90%以上。

表 3 不同 IBA 浓度对不定芽生根的影响
Table 3 Effects of different IBA concentrations on rooting of adventitious bud

IBA/(mg·L ⁻¹)	生根率/% Rooting rate	平均生根数/个 Root number
0	100	4.97
0.1	100	8.23
0.3	100	12.25
0.5	100	13.37
0.7	100	14.31
1.0	100	13.05

3 结论与讨论

用于西瓜离体培养无性快繁的外植体有子叶苗茎尖、子叶、真叶苗茎尖和带腋芽的茎段等^[10-11],本研究采用子叶苗茎尖为外植体,具有取材方便,不受时间和数量限制,是一种较理想的适合西瓜离体培养无性快繁的外植体。

生长调节物质的浓度及配比是调控植物器官产生愈伤组织和丛生芽的主导因素。因此,培养基中激素的种类、浓度与组合对愈伤组织及丛生芽的形成起着至关重要的作用。植物生长调节剂是芽增殖培养基中必不可少的,本试验研究了生长调节剂的不同组合对西瓜不定芽诱导及增殖的影响。6-BA 的浓度太低,不利于芽的诱导,芽萌动的时间长,且不容易形成丛生芽,但浓度太高,容易产生褐变,而且丛生芽数量过多,生长细弱;在继代增殖阶段 6-BA 浓度过高,繁殖系数也高,

但同样存在丛生芽数量过多,生长细弱的问题,因此在西瓜组织培养快速繁殖过程中,不需要追求过高的分化系数,而要求最佳成苗数,因此,6-BA 浓度不宜过高,适宜浓度为 0.5~1.0 mg·L⁻¹。NAA 浓度过高,在诱导不定芽和继代增殖阶段都会产生大量愈伤组织,影响不定芽的再生和增殖。在生根方面,本研究显示,从小果型西瓜不定芽诱导出不定根相对比较容易,而且在未添加任何生长调节物质的 1/2 MS 培养基上也能诱导出不定根,本试验得出 1/2 MS+0.3 mg·L⁻¹ IBA 是诱导小果型西瓜 L1 不定芽生根的适宜培养基。利用西瓜组培技术繁殖速度快,苗生长健壮,是西瓜重要种质材料保存扩繁的重要途径。

参考文献:

[1] 肖光辉.小果型西瓜早春设施再生栽培技术[J].长江蔬菜,2011(1):13-15.
[2] 李婷,曾剑波,陈艳利,等.北京地区秋季大棚小果型西瓜吊蔓栽培技术[J].中国瓜菜,2013,26(6):52-53.
[3] 王迎儿,马凯慧,陆袁波,等.“甬砧5号”嫁接小西瓜立架栽培关键技术[J].宁波农业科技,2014(2):24-25.
[4] Li J, Tang Y, Qin Y, et al. Agrobacterium-mediated transformation of watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(24): 6450-6456.
[5] 张志忠,吴菁华,吕柳新.根癌农杆菌介导的西瓜遗传转化研究[J].果树学报,2005,22(2):134-137.
[6] 李娟,李万宁,唐懿,等.根癌农杆菌介导的西瓜遗传转化研究进展[J].中国蔬菜,2010(8):7-13.
[7] 任俊杰,王丽霞,高洪波,等.农杆菌介导的西瓜枯萎病菌遗传转化[J].植物保护,2015,41(1):93-97.
[8] 杨国志,张明方,顾学根,等.NaNO₂处理条件下西瓜直接再生试验体系研究[J].长江蔬菜,2009(6):11-14.
[9] 王建树,孙松松,刘浩,等.西葫芦茎尖离体培养和快速繁殖技术[J].北方园艺,2015(22):96-98.
[10] 昌正兴,马陆平,周泉,等.无籽西瓜离体快繁技术研究[J].湖南农业科学,2008(1):15-16.
[11] 孙光英.无籽西瓜离体培养及再生植株的快速繁殖技术分析[J].耕作与栽培,2004(4):39-39.

Study on Rapid Propagation Techniques of Small Fruit Watermelon

XUAN Yang, XU Hong-guo, ZHONG Juan-juan, WANG Ying-xue, QI Hong-ying

(College of Life science and Agroforestry, Qiqihar University Qiqihar, Heilongjiang 161006)

Abstract: In order to establish tissue culture rapid propagation method of small fruit watermelon, provide technical support for small watermelon germplasm preservation and propagation of important materials. The small fruit watermelon was used as the material and MS medium as the basic medium, the optimum medium composition for rapid propagation and rooting of small fruit watermelon was screened through different kinds and concentrations of plant growth regulators. The results showed that MS+6-BA 1 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹ was the best medium for cotyledon bud shoot induction, plantlet propagation the optimum culture medium was MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹, the optimum medium for rooting of plantlets *in vitro* was 1/2 MS+IBA 0.3 mg·L⁻¹.

Keywords: small fruit watermelon; tissue culture; rapid propagation