

西瓜组培苗嫁接技术的研究

李文兰¹, 秦新民^{2*}

(1. 桂林市农业局, 广西桂林 541001; 2. 广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541004)

摘要: 西瓜组培苗往往不易移栽成活, 且生长差。通过砧木嫁接的方法, 可提高苗的成活率并改善苗的生长状况。实验研究了接穗炼苗的天数、接穗叶片数、接口用不同外源激素处理与嫁接成活率的关系。条件优化后, 嫁接后成活率可达 85%, 为西瓜优良品种的快速繁殖以及西瓜抗虫、抗病、品质改良等基因工程的研究奠定了基础。

关键词: 西瓜; 组培苗; 嫁接

中图分类号: Q944.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2004)05-0456-04

Study on the grafting technique of the regenerated plant of watermelon

LI Wen-lan¹, QIN Xin-min^{2*}

(1. *Guilin Agricultural Bureau*, Guilin 541001, China; 2. *College of Life Science, Guangxi Normal University*, Guilin 541004, China)

Abstract: Regenerated plants of watermelon are usually hard to survive after transplanting and hard to grow well. By the means of grafting on the stock can increase the survival rate and improve the growing status. The relation between the days of cion seedling hardening-off, the number of cion leaves, the different explicit hormone processing the interface and the survival rate of graft were investigated. After optimizing these factors, 85% surviving rate was obtained. The results established the foundation for the rapid propagation of watermelon and gene engineering on insect-resistance, disease-resistance, and quality improving of watermelon.

Key words: watermelon; the plantlets of tissue culture; graft

西瓜(*Citrullus vulgaris*)属葫芦科西瓜属一年生植物, 原产于非洲, 是世界十大水果之一。西瓜在我国的种植面积居世界首位, 是深受人们欢迎的盛夏消暑佳品, 特别是无籽西瓜由于品质好、食用方便, 倍受人们欢迎, 在国际市场上是畅销商品, 创汇率高, 但由于三倍体西瓜杂交制种过程非常复杂, 因而种子价格很高, 且三倍体西瓜种子发芽成苗率低, 从而限制了无籽西瓜的推广。而从国外购进大量的杂交种子不仅价格昂贵, 而且由于种子不纯基因型差异较大, 植株不整齐, 产量不稳定。一些由国外引

进的新品种制种工艺复杂, 国内进行不了。上述种子繁殖的困难可以通过组培方式来解决, 利用组织培养技术进行西瓜良种的快速繁殖近年来在国内外已有部分报道(邵宏波, 1999; Adelberg 等, 1990; 黄学森等, 1994; Dong 和 Jia, 1991; 刘敬梅等, 2000; 赵月铃等, 1999)。另外, 西瓜在生长过程中很容易受病毒感染, 严重影响产量和品质(林德佩等, 1993), 利用现代生物技术进行品种改良, 培育西瓜抗病良种已日益引起人们的关注。西瓜抗虫、抗病、品质改良等生物工程技术的研究首先需要建立西瓜快速、

收稿日期: 2004-03-12 修订日期: 2004-04-25

基金项目: 广西科技攻关项目(桂科攻 0228019-2)

作者简介: 李文兰(1971-), 女, 广西临桂县人, 硕士生, 农艺师。* 秦新民, 男, 教授, 博士, 分子生物学。

高效繁殖的再生系统,培育出大量组培苗,并诱导生根获得完整的试管植株。但西瓜的组培苗的移栽往往不易成活,且长势差。若用嫁接到砧木上的方法进行繁殖(宋吉清,1990),可提高组培苗移植的成活率,改善组培苗的生长状况。近年来西瓜种子苗嫁接技术的报道较多,而有关西瓜组培苗的嫁接技术报道较少,且研究不够深入,本文在建立西瓜快繁系统的基础上(秦新民等,2002),对西瓜组培苗嫁接技术作进一步的研究,从组培苗质量、砧木苗龄、组培苗炼苗天数、接穗所带叶片数及用不同外源激素处理接口等因素对嫁接成活率的影响作了较为系统的研究,优化嫁接条件以提高组培苗嫁接成活率,为今后西瓜的品种改良、抗病虫等基因工程的研究奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

西瓜(*Citrullus vulgaris*)华铃品种种子和瓠瓜(*Lagenaria leucantua* Rushy)种子。

1.2 方 法

1.2.1 瓠瓜幼砧苗的培养 先将瓠瓜种子催芽,选择芽头一致的种子点播在配土营养钵内,播种 15 d 后,瓠瓜苗生长至真叶初展即可作为嫁接用的砧木。

1.2.2 西瓜组培苗的培育 选取西瓜饱满种子在超净台上破壳取种仁,然后用 0.1% 的升汞消毒 10 min,经无菌水冲洗 4 次,接种于 MS 基本培养基中(培养基中均添加 30 g/L 的蔗糖和 10 g/L 的琼脂, pH5.8,以下同),于 26 ℃ 暗培养 2~3 d 开始萌发,取 3~5 d 无菌苗的子叶接种于 MS+BA 0.4 mg/L 的分化培养基中。置于 26 ℃ 培养室中培养,光照 12 h/d,光照强度为 1 000~1 500 lx(以下同)。12 d 后开始出现不定芽,25 d 左右将芽丛分割进行繁殖,然后每 25 d 左右继代 1 次,可得到大量健壮的组培苗做接穗。

1.2.3 组培苗不定根的诱导 将长至 2~3 cm 高的无根组培苗接种在 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L(或 IBA 0.5 mg/L)培养基中,诱导其生根,1 周以后即可长出不定根,当不定根长至 1~2 cm 时,去掉瓶塞,炼苗 2~3 d,冲洗干净根部的培养基,移植后保湿 1 周即可成活,10 d 后统计自根苗的成活率。比较嫁接组培苗与自根苗(组培苗直接诱导生根成苗)的成活率及生长动态。

1.2.4 组培苗的嫁接 嫁接在日光温室内进行。组

培苗不经生根直接进行嫁接。嫁接前,打开瓶口炼苗,接穗采用插接法接于已培育好的瓠瓜砧木上。选择晴天嫁接,用楔形竹签自砧木两子叶间斜插下去约 1.5 cm 深,用刀片往接穗基部向下斜削一刀,切口要平滑,削面长度为 1.0 cm 左右,随即拔出砧木上的竹签,立即将削好的接穗插入砧木,紧实即可。另外嫁接前苗床要浇透水,嫁接时避免日光直射导致接穗萎蔫,嫁接完毕后苗床上做一小拱棚覆盖遮阳网,保证棚内相对湿度 90% 以上,可用喷雾器向空气中喷雾增加湿度,不可向苗床喷雾,以避免伤口感染。

嫁接后观察统计组培苗质量、砧木苗龄、组培苗炼苗天数、接穗所带叶片数及用不同外源激素处理接口等因素对嫁接成活率的影响。

1.2.5 嫁接苗的管理 小拱棚内相对湿度保持在 90% 以上,温度保持在 20~30 ℃,嫁接 3 d 后如果温度过高,可适当于棚的两头下部揭膜通风换气。嫁接后 5~7 d 逐渐除去遮阳网炼苗,10 d 后揭掉小拱棚炼苗。据观察统计,嫁接 3 d 后接口开始愈合,7 d 后接口愈合紧密,12 d 后统计成活率,15 d 后移植。

2 结果与分析

2.1 组培苗质量对嫁接成活率的影响

在继代培养基上生长至 25~30 d 左右的组培苗高约 2~3 cm,顶端可见明显的新叶,芽体健壮,这种组培苗生活力强,嫁接后最容易成活。组培苗继代培养时间过短,不超过 20 d,芽体细嫩,叶片细少,这种组培苗生活力弱,嫁接后容易萎蔫致死。继代培养时间过长超过 40 d 以上的组培苗,叶片大且密,顶端生长缓慢,已趋向老化,嫁接后生长缓慢,成活率不高。

2.2 砧木质量对成活率的影响

组培苗长至 2~3 cm,炼苗 2~4 d,选择健壮、长势一致的组培苗做接穗,带 4 片叶片。在砧木苗龄 15~20 d 时嫁接,经统计成活率达 80%,苗龄 30 d 时嫁接成活率为 45%。试验证明,砧木以一叶一心,即苗龄 15~20 d 时嫁接为宜,苗龄过老,下胚轴容易形成空心,影响嫁接成活率。所以培育健壮的砧木、砧木和接穗适时嫁接是提高成活率的基础。

2.3 组培苗炼苗时间对嫁接成活率的影响

组培苗从无菌的人工状态到自然状态,从培养室到室外,环境条件发生了巨大变化,如温度、湿度、

光照等。所以在嫁接前必须经过炼苗,以提高其对外界自然条件的适应能力,增强其抗性,提高嫁接的成活率。试验结果表明(表 1),嫁接成活率与炼苗天数有关,不经过锻炼的组培苗嫁接时对突变的外部环境条件适应性差,成活率很低。但如果炼苗时间过长,由于杂菌在培养基中大量繁殖,组培苗受到污染生活力下降,嫁接后成活率反而会下降。试验表明在其他因素相同的情况下,以炼苗 2~4 d 嫁接成活率最高。

表 1 组培苗炼苗天数对嫁接成活率的影响

Table 1 Effect of the days of the plantlets of tissue culture on the survival rate of graft hardening-off

炼苗天数(d) Days of hardening-off	嫁接苗数(株) Number of grafted seedings	成活苗数(株) Number of survival plants	成活率 Survival rate(%)
0	20	1	5
2	20	14	70
4	20	15	75
6	20	10	50
8	20	7	35

2.4 接穗所带叶片数对嫁接成活率的影响

用炼苗 2~4 d 的健壮的组培苗做接穗,嫁接到苗龄 20 d 的砧木上,观察接穗所带叶片数对嫁接成活率的影响。试验结果表明,接穗所带叶片数对嫁接成活率有较大的影响,由表 2 可知,带 4~6 片叶片的接穗嫁接成活率最高,接穗所带叶片太多或太少其嫁接成活率均不高。

表 2 接穗所带叶片数对嫁接成活率的影响

Table 2 Effect of the number of cion leaves on the survival rate of graft

叶片数 Number of leaves(片)	嫁接苗数(株) Number of grafted seedings	成活苗数(株) Number of survival plants	成活率 Survival rate(%)
2	20	7	35
4	20	14	70
6	20	15	75
9	20	11	55

2.5 不同外源激素对嫁接成活率的影响

用炼苗 2~4 d 的健壮的组培苗做接穗,接穗保留 4~5 片叶片,嫁接到苗龄 20 d 的砧木上,嫁接苗数均为 20 株,接口处滴加浓度为 20 mg/L(韦志扬等,2000)的三种不同的外源激素 6-BA、2,4-D 和 NAA,同时以无菌水处理做对照(CK)。结果表明,三种激素中以 2,4-D 处理效果最理想,成活率为 85%,

6-BA 次之,成活率为 80%,NAA 与对照效果相当,成活率为 70%。

2.6 嫁接苗与自根苗成活率及生长动态比较

砧木和接穗都在适时嫁接,同时选择健壮的自根苗移栽,试验苗数为嫁接苗 60 株、自根苗 33 株,结果显示,组培苗的嫁接苗与自根苗的成活率分别为 75%和 45%。

经过多次试验,西瓜组培苗的移栽成活率很低,且移栽成活后生长缓慢,长势弱,采用嫁接的方式不仅能提高其成活率,且嫁接苗发达的根系能促进其地上部迅速生长。组培苗从嫁接到成活后 20 d,苗高约 10 cm(4~5 片真叶)即可定植。从表 3 可以看出,3~4 叶期嫁接苗与自根苗叶数和株高差异不显著,3~4 叶期后的嫁接苗生长速度加快,嫁接苗的最大叶长、叶宽以及最大叶节位茎粗显著高于自根苗,5~6 叶期后茎蔓节间长度和茎蔓长度均显著高于自根苗,表明嫁接可促进西瓜茎蔓的伸长和增粗及叶面积的扩大。第一雌花开放时间嫁接苗比自根苗平均早 2~3 d,节位高 4~5 节。

3 讨论

现代生物技术为培育高产优质和抗病、抗逆品种提供了一条十分广阔的新途径,通过生物技术手段达到改良育种目的首先要建立一个高效快繁系统。西瓜组培苗的获得及嫁接整个过程包括种子的消毒、外植体的芽分化及继代增殖、炼苗、嫁接、田间栽培等技术环节。而组培苗能否移植成活则是其中关键之一。近年来,虽然西瓜种子苗嫁接技术的报道较多,但组培苗的嫁接研究较少。同时,组培苗的生理特性与种子苗有较大差异,影响嫁接成活率的因素更多,难度也更大,需要从炼苗时间、接穗的叶片数以及外源激素的使用等方面进行实验。

组培苗的炼苗可以使其从人工的环境条件向外界的自然条件逐渐过渡,增强其自我调节能力和适应能力,提高其抗性,从而提高嫁接成活率。但是炼苗时间过长,在培养基中容易滋长大量杂菌,组培苗受到污染生活力下降,嫁接后成活率反而会下降。

接穗所带叶片能通过光合作用为嫁接苗提供营养,但叶片的存在增加了嫁接苗的蒸发面积,叶片过多会由于水分的过度蒸发而导致接穗萎蔫死亡,叶片太少,接口愈合后,其光合作用提供的营养不能满足嫁接苗生长的需要,也会造成死苗现象,因此接穗

要保持适当的叶片数。

激素处理可促进细胞分裂, 促进形成层活动, 产生新的疏导组织, 进而促进接口的愈合过程, 使得接穗和砧木接合更加紧密。用激素处理的愈伤组织形

成早且多, 愈合速度比不用激素处理的快。有人认为, 成功的嫁接接穗上必须保留叶片或芽, 这些叶片可以提供一定量的植物激素, 促进形成层活动产生愈伤组织。

表 3 嫁接苗与自根苗生长动态比较

Table 3 The comparison of growth trends between grafted and non-grafted seedlings

项目 Items	3~4 叶期 3~4 Leaves stage		5~6 叶期 5~6 Leaves stage		伸蔓期 Sprouting stage		开花坐果期 Blossom fruit setting stage	
	I	II	I	II	I	II	I	II
	株高 Plant height(cm)	10.7	9.8	16.1	12.5	40.6	27.1	216.4
最大叶长×宽 Area of the biggest leaf	9.7*8.7	9.4*8.2	11.5*12.0	9.6*8.9	15.0*12.8	11.7*9.5	15.5*14	12.9*12.1
叶片数(片) Number of leaves	4	4	6	5	13	13	28	28
最大叶节位茎粗 Diameter of stem on the biggest leaf position	—	—	—	—	0.43	0.3	0.41	0.35
最大节间长度 Length be- tween the biggest stem	—	—	—	—	6.5	2.7	7.8	5.5
第一雌花节位 Position of the first female flower	—	—	—	—	—	—	24	19

注: I-嫁接苗 Grafted seedlings; II-自根苗 Non-grafted seedlings.

嫁接苗与自根苗在生长发育的各个时期叶数差异均不显著, 这表明嫁接苗茎蔓长度显著高于自根苗不是通过增加叶数而是通过节间的伸长。这与 Atsushi(1994)的研究结果一致。

在长势方面, 嫁接苗之所以比自根苗长势强劲, 与嫁接苗有较发达的根系和较大的叶面积有关, 发达的根系使得其从土壤中吸收营养元素的能力增强, 叶面积的增大使得光合作用增强从而为嫁接苗提供充足的营养。

有关西瓜嫁接苗开花结果习性的研究报道很少, 本试验结果中嫁接苗第一雌花开放时间比自根苗平均早 2~3 d, 这与苏胜举(1991)的试验结果一致。嫁接苗第一雌花节位比自根苗高 4~5 节, 这与 Atsushi(1994)研究结果不一致, 可能与品种和气候条件的差异有关。而嫁接对西瓜雌花发生节位的影响的内在机理有待于进一步研究。

参考文献:

- 韦志扬, 思利华, 于平福. 2000. 激素对无籽西瓜嫁接成活率的影响[J]. 广西农业科学, (6): 289-290.
- 宋吉清. 1990. 西瓜嫁接及其栽培技术试验研究[J]. 中国蔬菜, (3): 27-28.
- 苏胜举. 1991. 西瓜嫁接苗应用及栽培技术开发试验[J]. 北方果树, (1): 14-19.
- 林德佩, 仇恒通, 孙兰芳, 等. 1993. 西瓜甜瓜优良品种与良

- 种繁殖技术[M]. 北京: 林业出版社, 1-2.
- 赵月铃, 夏海武, 万永霞, 等. 1999. 西瓜茎尖快繁技术及其问题探讨[J]. 山东农业科技, (3): 22-23.
- 黄学森, 焦定量, 那丽. 1994. 西瓜子叶离体培养获得再生植株[J]. 中国西瓜甜瓜, (3): 15-16.
- Adelberg J, Rhodes BB, Skorupska H. 1990. Generating tetraploid melon from tissue culture[J]. Hort Sciences, 25(9): 1073.
- Atsushi Yamasaki. 1994. Mineral concentrations and cytokinin activity in the xylem exudate of grafted watermelons as affected by rootstocks and crop load[J]. J Japan Soc Hort Sci, 62(4): 817-826.
- Dong JZ, Jia SR. 1991. High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon[J]. Plant Cell Reports, (9): 559-562.
- Liu JM(刘敬梅), Liu L(刘玲), Chen H(陈杭). 2000. Rapid and effective regeneration of *Citrullus vulgaris* (西瓜的快速高效植株再生)[J]. Plant Physiology Communications(植物生理学通讯), 36(1): 46.
- Qin XM(秦新民), Zhang LZ(张丽珍), Li WL(李文兰). 2002. Study on effective regeneration system of *Citrullus vulgaris* (西瓜高效再生系统的研究)[J]. Journal of Guangxi Normal University (Natural Science Edition)(广西师范大学学报(自然科学版)), 21(2): 75-78.
- Shao HB(邵宏波). 1999. The current status; there search of Watermelon tissue culture(西瓜组织培养研究现状)[J]. Song liao Journal(Natural Science Edition)(松辽学刊(自然科学版)), 3(8): 49-51.