

# 用离体培养二倍体×四倍体杂种干种子的异常胚来高效生产三倍体香瓜

周德强 译

(山东省烟台市农科所)

**提要:**将二倍体( $2x=24$ ; GSI 和 AdSI)和四倍体( $4x=48$ ; GE46 和 AsAd9)香瓜(*Cucumis melo*L.)植株相互杂交。二倍体×四倍体杂种果实有三种类型的种子,①子叶发育不完全,②胚乳发育不正常,③空种子,四倍体×二倍体杂种的果实仅含空种子一种类型。含异常胚的干种子播入土壤后不萌发,当把从干种子上切下的异常胚离体培养在MS培养基上时,大约有20%长成正常小植株,染色体观察表明,这些小植株均为三倍体( $3x=36$ )。从GSI×GE46杂交种和AdSI×AsAd9杂交种的每个果实中得到的三倍体植株数分别为6.8和17.2。在温室中三倍体植株生长旺盛,但花粉授精能力很低。三倍体植株自交虽不能结实,但用生长调节剂处理后则自交能够结实,三倍体香瓜仅含有空种子。

据报道,由香瓜(*Cucumis melo*L.)体细胞胚和不定芽的再生植株产生四倍体的频率高达30%,(ExuRA等人,1992)、BATRA(1952)用秋水仙碱培育出三倍体香瓜植株。SuZuk1(1958)和NuGENT等(1992)发现了天然四倍体香瓜植株。四倍体植株较二倍体植株( $2X=24$ )生长旺盛,这一特点对香瓜栽培是有益的。然而,四倍体香瓜由于形状扁平及易碎等特点而不能进入市场,因此认为,如果染色体倍数降到三倍体水平( $3X=36$ ),四倍体香瓜的这些不利性状便可得到改良。

通常人们是用二倍体与四倍体杂交来产生三倍体植株(MuRAMATu,1987)。Suzuki(1959,1960)用二倍体与天然四倍体香瓜植株杂交成功地培育出三倍体植株。FujiSHITA和SHIBATA(1990)通过胚株培养由二倍体×四倍体杂种异常胚诱导大量植株。

本文通过离体培养,从二倍体与组培产生的四倍体杂交种的干种子上切下的异常胚来高效生产香瓜植株。并对三倍体植株的性状特点也作了评价。

**材料和方法:**植物材料:供试材料为二倍体( $2X=24$ ,GSI 和 AdSI)和四倍体( $4X=48$ ;GE46 和 AsAd9)香瓜植株。GSI 和 AdSI 是品种 Green Pearl 和“Andes”的自交后代。GE46 和 AsAd9 是“Gree pearl”品种的体细

胞胚和“Andes”品种的不定芽产生的再生株系。

**胚培养:**将二倍体与四倍体植株相互杂交。每株选3—4朵两性花授粉,每株只留一个瓜,其余疏掉。授粉50—55天后收集种子晒干。将脱去种皮的异常胚用70%(V/V)的酒精消毒10分钟,再用1%(V/V)的次氯酸钠处理15分钟,用无毒蒸馏水冲洗3次。然后将这些胚离体培养在含3%蔗糖和0.8%琼脂(PH5.8)的MS培养基上使之萌发。培养3周后计数再生植株数,用EzuRA等人(1992a)的方法记录再生植株根尖细胞的染色体数。

**再生植株性状特点的观察:**将再生小植株移入花盆,驯化。放入温室中,人工自花授粉,但并不着果。用50mg/L 氯苯氧基乙酸溶液点滴处理后能够座果。观察再生植株的活力,花粉受精能力,果形、破碎率,布里克糖度(Brix)值(%)和果实中的成熟种子数。播种二倍体和四倍体植株做对照。

**估测花粉授精能力:**在开花当日从每个单株上采一朵雄花,用醋酸洋红染色法和把花粉粒放入含10%蔗糖和1%琼脂的培养基上,在25℃下萌发1小时,两种方法来检验该雄花花粉的授精能力。每个方法每朵花观察200粒花粉。

结果:二倍体与四倍体植株互交:每株授粉3—4朵花时,所有植株都能座果。表1列出了二倍体与四倍体植株互交产生的种子数。二倍体×四倍体的杂种果实中含有大量的种子但都得不到成熟种子。其中一部分种子没有胚,另一部分种子的胚则发育不正常,其子叶发育不全(图1—A略)或胚乳发育不良。GSI(2X)×GE46(4X)和 AdSI(2X)×AsAd9(4X)杂种中,胚异常的种子平均数分别为33.8和77.8,在四倍体×二倍体杂种果实中也含有大量种子。然而,AsAd9(4X)×AdSI(2X)杂种中的种子都没有胚,在GE46(4X)×GSI(2X)杂种中也只有一个不完全胚。

表1 由二倍体与四倍体西瓜植株杂交产生的异常胚数

组 合	考察果 实数	每个果实的种子数			
		总数	成熟 种子数	异常 胚数	其它*
GSI(2X)×GE46(4X)	4	492.0	0.0	33.8	458.2
GE46(4X)×GSI(2X)	6	293.2	0.0	0.2	293.0
AdSI(2X)×AsAd9(4X)	6	573.0	0.0	77.8	495.5
AsAd(4X)×AdSI(2X)	2	251.0	0.0	0.0	251.0
GSI(2X)自交	2	551.0	394.0	0.0	157.0
AdSI(2X)自交	2	436.0	365.0	0.0	71.0
GE46(4X)自交	2	265.0	90.0	0.0	175.0
AsAd(4X)自交	1	478.0	88.0	0.0	390.0

\*空种子与胚乳发育异常种子之和

由不正常胚再生植株:胚异常的种子播种在土壤后不能萌发,当将去掉种皮的异常胚离体培养在MS培养基上时,GSI(2X)×GE46(4X)和 AdSI(2X)×AsAd9(4X)杂种分别有20%和22%的异常胚长成小植株(表2),小植株上的子叶与后生叶片不同不能正常展开(图1—B略)。另一些异常胚或在下胚轴伸长及子叶展开后不能形成芽或只形成愈伤组织,而还有一些异常胚则保持原状不变。根据根尖细胞染色体数目的观察发现,所有再生小植株都是三倍体(3X=36)(图1—C略),并且生根植株极容易被驯化。

表2 由西瓜二倍体×四倍体植株产生的异常胚再生的小植株数

组 合	培养的 异常胚数	再生的异常 小植株数
GSI(2X)×GE46(4X)	110	22
AdSI(2X)×AsAd9(4X)	100	22

三倍体植株的性状特点:三倍体植株比二倍体植株生长健壮,植株活力与四倍体植株相同,三倍体植株的

花粉授精能力低于二倍体和四倍体植株的(表3),醋酸洋红对GSI(2X)×GE46(4X)和 AdSI(2X)×AsAd9(4X)杂种花粉粒的染色率分别为7%和12%。这些易染色的花粉粒在含10%蔗糖的琼脂培养基上根本不萌发。相反,大量染了色的二倍体和四倍体植株的花粉粒萌发率却高于三倍体植株的。三倍体植株自花授粉后不座果。而用氯苯氧基乙酸处理后再行自交,则能够座果。三倍体的果实为球形,类似于二倍体果形(图2略)。表4列出了三倍体果实的性状特点。三倍体植株的果实破碎率低于四倍体而高于二倍体植株的。GSI(2X)×GE46(4X)和 AdSI(2X)×AsAd9(4X)三倍体果实的布里斯克斯(Brix)糖度值分别为7.0~12.0%和8.0~15.2%。三倍体果实中有许多种子,但这些种子却没有胚。

表3 西瓜二倍体、三倍体和四倍体植株花粉授精能力的比较

品 系	倍数	考察植 株数	染色的 花粉粒%	萌发的 花粉粒%
GSI(2X)×GE46(4X)	3X	20	7	<1
AdSI(2X)×AsAd9(4X)	3X	20	12	<1
GSI	2X	10	92	73
AdSI	2X	10	96	58
GE46	4X	10	63	20
AsAd9	4X	10	63	29

\*每株每朵花观察大约200个花粉粒

表4 西瓜三倍体果实的某些特性

品 系	倍数	授粉 株数	结果 株数	破碎果 实(%)	考察布 里克斯 果实数	布里斯 克斯值 (%)范围	种子成熟 种子数*
GSI(2X)×GE46(4X)	3X	19	15	60.0	6	7.0~12.0	0
AdSI(2X)×AsAd9(4X)	3X	20	19	21.1	15	8.0~15.2	0
GSI	2X	10	10	0	10	11.6~15.0	224.4
AdSI	2X	10	10	0	10	10.0~13.4	213.7
GE46	4X	10	10	80.0	2	11.4~13.2	16.0
AsAd9	4X	10	10	90.0	1	11.0	5.0

\*数据不含破碎果实的

\*\*每株自交后用氯苯氧基乙酸处理

讨论:通常是由二倍体与四倍体杂交来产生三倍体植株,在本试验中,二倍体与四倍体植株相互杂交得不到成熟的种子。但二倍体与四倍体杂种中每个果实中含有34~78个胚异常的种子。当将这些不正常胚离体种植在MS培养基上时,大约有20%长成正常植株。GSI×GE46和 AdSI×AsAd9杂种平均每个果实产生三倍体

## 新奇特作物——甜葫芦

植株分别为 6.8 和 17.2。据 Suzuki(1959,1960)报道,正常播种二倍体和天然四倍体的杂种子得到的三倍体植株平均数为:二倍体×四倍体杂种每个果实是 0.22 株,四倍体×二倍体杂种每个果实为 0.093 株。因此,我们用离体培养产生三倍体植株的方法比以往的方法更为有效。本试验是用干种子上切下的异常胚培养来生产三倍体植株。将室温下在干燥器中贮存 2 年之久的 50 个异常胚离体培养时,得到了 22 个三倍体植株占异常胚总数的 44%(数据未列出)。因此认为,具有异常胚的干种子可贮存好几年。

我们曾报道过,体细胞胚再生和不定芽组织再生是生产香瓜三倍体植株的有效方法(EzuRA, 1992a, 1992b),由本试验显而易见,用组织培养生产的四倍体植株与 Suxukl(1958)用的天然四倍体植株及 FujzshITA 和 SHIBATA(1990)用的 Colhiplloid 植株一样可用来生产三倍体植株。三倍体植株由于自花授粉受精能力差而不结实。但用生长调节剂处理之后自花授粉便可产生只含空种子的果实。这种现象被认为是由生长调节剂所诱发的单性结实。三倍体植株的活力类似于四倍体植株,三倍体植株的果实特性如果形扁平而易碎等,通过降低染色体倍数到三倍体水平而得到改良。据 Suzuki(1959)报道,三倍体植株的布里克斯(Brix)糖度值低于二倍体植株的,然而在试验诱导的三倍体植株的果实,其布里克斯糖度值分布范围类似于二倍体果实的。通过选择以及选配二倍体与四倍体杂交组合,三倍体植株有可能结出含布里克斯糖度量高的果实。

译自《育种学杂志》1993. 43(2), 1993~1994(参考文献 10 篇略, 邮编:265500)

束。这样一株同时授粉的花长瓜一般大哪个也不化。

五、整形加工:当葫芦长到鸡蛋大时,把蔓树立起来,葫芦长的就圆大,长到 1—2 斤时,把土整平瓜放正,好加工,当第一个瓜长到 12 斤时就可以加工。加工的葫芦条放在竹杆架上晒,晴天晒 2—3 小时,阴天晒 4—5 小时。晒至 2—3 成干时入棚熏,每立方米用硫磺 2—3 钱,熏 2—3 小时,再拿出晒,晒 2—3 小时再入棚熏第二次,用硫磺 3—4 钱每立方米。这样熏一夜,第二天早上拿出来晒 8—9 成干,再入棚加硫磺熏几分钟,趁硫磺味装袋即成干葫芦条,放在通风干燥的地方妥善保管。

通过二年的生产实践,使我们感到,种植甜葫芦不仅能使农民通过精耕细作获得较高的经济效益、社会效益和生态效益。还可以缓解人多地少,劳力剩余、大豆面积过大,重迎茬面积危害加重的矛盾,是发展效益型农业的新途径之一。(陈永山 闫景堂 朱连波 靳先明 黑龙江省拜泉县经济作物站, 邮编:161700)

甜葫芦是从日本引进我国的一种葫芦科植物。是含有高级营养的蔬菜,其营养丰富、味道鲜美清香,并有减肥作用。最近几年在我国东北开始种植,其产品干葫芦条畅销日本、韩国、新加坡等国家,倍受消费者的青睐,是一项农业创汇产品,销售前景非常可观。1992 年上升乡巩固村张桂兰引种得到了成功,20 亩产干葫芦条 1.96 吨,总收入 1.96 万元。今年全县扩大到 500 亩,分布在上升、华光、建国三个乡镇。一年来由于干群辛勤培育和精心管理又获得了种植成功。亩产干葫芦条 100 公斤左右,收入 1000 多元,亩纯收入 700 元以上,总纯收入 35 万多元,是粮豆作物收入的 3—4 倍。其栽培要点有以下几个方面:

一、选地选茬、催芽播种:选择平川肥土地,排水良好,土壤肥力均匀的地块都可以种植,最忌种瓜茬的茬口,种重茬迎茬容易感病。一般正常年份在 4 月初开始催芽,催芽时将种子用 30℃ 温水浸泡 18—24 小时,同时用千分之三量的多菌灵溶液进行种子消毒,浸泡后用清水洗两次,然后放在 24—30℃ 左右的温度下进行催芽,出芽后放在营养袋内移植大棚内育苗。营养袋直径 10 厘米,高 10 厘米,每个营养袋内装上与有机肥混拌均匀的肥土。

二、苗期管理:出苗后注意棚内温度,中午温度超过 35℃ 时要进行通风。晚间用草帘盖上防止冻害,长出 2—3 片叶时,喷 1—2 次温水,同时还要拔草。

三、育苗移栽:当育苗一个月左右,便可移植大地里,在终霜过后地温稳定通过 10℃ 以上(5 月 25 日左右)每亩栽 110 株,株距 1 米,行距 6 米,栽时挖直径 40 厘米穴坑,坑深 30 厘米,多拌农家肥加二铵 100—200 克作底肥。每垅高出地面 20 厘米然后坐水移栽,栽后用 90 厘米见方地膜覆盖。

四、田间管理:当植株长到 6—7 片叶时打尖,出侧蔓后在上部留 2 个平衡权作主蔓。主蔓第 7 叶发出的权往下全留,7 叶前的权全掐去,出权就结瓜,有瓜的蔓留 3—4 叶打尖,早打尖高产,无瓜的蔓全不要,主蔓长到 3.5 米打头。开花后每天下午 5 时左右进行人工授粉,并拔净大草见瓜及时追肥,在一米以外的周围用木杆扎眼,每株追硝酸 250 克或尿素 150 克,夏季高温多雨季要进行打药防治病害。用甲基托布津或多菌灵 1000 倍液防治,不许用打过 2,4D 丁酯除草剂等药桶。人工授粉开始开小部分的花不要掐去,否则一株只结 1—2 个瓜下面小瓜全化,不下雨连续不间断授 4—5 天授粉结