

厚皮甜瓜四倍体的诱导及其特性变化

张 勇, 房勇霖, 邓丽家, 耿黎哲, 李昌新, 张 显

(西北农林科技大学 园艺学院, 农业部西北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以 3 份二倍体厚皮甜瓜为试材, 采用 0.2%秋水仙碱处理去掉生长点的幼苗茎尖, 研究剥滴法对四倍体诱导率的影响以及四倍体甜瓜特征特性的变化。结果表明:网纹型材料 M066 的四倍体诱导率达 54.4%, 光皮型材料 M072 和 M0544 四倍体诱导率分别为 20.0%和 23.3%。与二倍体甜瓜相比, 四倍体植株侧蔓节间距变短, 花冠与叶片变大, 保卫细胞叶绿体数增加, 花粉可染率和单瓜种子可育率降低, 单果重及果形指数变小, 果肉厚度同二倍体, 可溶性固形物含量降低。该试验结果说明, 不同基因型甜瓜材料诱变率差异显著, 四倍体甜瓜生理生态特性变化显著。

关键词:厚皮甜瓜; 四倍体; 诱变育种

中图分类号:S 652.603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)04-0104-04

植物多倍体效应不仅可增加水果的果肉厚度, 也可改善和提高耐贮性、抗逆性、含糖量及产量等^[1-3]。有关获得多倍体甜瓜方法的报道较多^[4-12], 但在实际生产中尚未见到甜瓜多倍体品种像三倍体西瓜那样得到大面积应用, 其原因在于甜瓜多倍体诱导与应用研究开展还不够深入。目前, 瓜类作物多倍体的获得主要有 2 条途径:一是利用种子浸泡或幼苗生长点滴加秋水仙素活体诱导细胞染色体倍增^[4-5];二是利用子叶和真叶等离体组织培养诱导细胞分裂染色体加倍^[6-12]。前者方法简单易于开展, 但诱变率较低, 一般在 10%;而后者诱变率较高, 可达到 30%~40%, 但要求有组培设施, 有些育种单位尚无条件开展。谭素英等^[13]、梁倩倩等^[14]在活体诱导四倍体西瓜的研究中发现, 通过剥滴法, 即先剥去生长点外的幼叶后再用秋水仙素溶液滴苗, 其变异率较常规滴苗显著提高。现通过剥滴法对 3 个二倍体厚皮甜瓜进行诱导, 探索四倍体甜瓜的高效诱变方法, 观察诱变材料的特征特性, 为甜瓜多倍体育种提供材料和有价值的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试试材 3 个: M066 为网纹型甜瓜, 绿皮绿肉、圆

形、含糖量高; M072 和 M0544 为光皮型厚皮甜瓜, 均为白皮白肉、高圆形, 含糖量中上。鉴定对象包括诱变当代(C_0)及其自交第 2 代(C_1)。

1.2 试验方法

试验在西北农林科技大学园艺学院试验基地进行。2010 年 3 月 16 日催芽, 种子出芽后穴盘点播, 当幼苗生长至子叶展平时, 剥去生长点外肉眼可见小真叶, 将脱脂棉小球放在生长点上, 用浓度为 0.2%的秋水仙素溶液滴苗, 每日 8:00 和 17:00 各 1 次, 连续处理 3 d。处理完成后, 去除脱脂棉小球, 清水冲洗生长点。每个材料设置 3 次重复, 每重复处理 30 株幼苗。4 月 30 日统计幼苗成活率并定植于塑料大棚, 株行距 30 cm×80 cm, 匍匐生长, 常规管理。

1.2.1 诱变效果鉴定 以未处理的二倍体植株为对照, 在 C_0 代主要观测叶色、叶型、花器等变化, 初选出变异株。参考梁倩倩等^[14]方法观察变异株幼蕾体细胞染色体数, Olympus-CX31 光学显微镜观察并照相。

1.2.2 不同倍性甜瓜形态学的比较 2011 年在塑料大棚立架栽培 C_1 代, 地点同前, 每品系种植 30 株, 随机选择 10 株, 测量株高、主蔓 10~20 节的茎粗、节间距、叶形、果实和种子等性状。并在开花盛期以醋酸洋红染色鉴定花粉活性, 以 I-KI 染色观察叶片下表皮气孔特征。

1.3 统计分析

数据的统计分析采用 Excel 和 DPS 软件处理。

2 结果与分析

2.1 秋水仙素剥滴法诱导甜瓜多倍体的效果

试验发现, 经秋水仙素处理后的生长点生长速度受到明显抑制, 约 20%~40%植株生长点无变化或仅能露出极小幼叶, 这些植株由于生长极缓慢且随子叶老化而逐

第一作者简介:张勇(1971-), 男, 硕士, 讲师, 现主要从事西甜瓜育种研究工作。

责任作者:张显(1961-), 男, 教授, 博士生导师, 现主要从事瓜类作物遗传与育种研究工作。E-mail: zhangxian@nwsuaf.edu.cn。

基金项目:陕西省科技发展规划资助项目(2011K01-18); 西北农林科技大学唐仲英育种基金资助项目(59); 大学生创新性实验计划资助项目。

收稿日期:2011-11-27

渐死亡,其余植株 2~3 周后真叶可达到 1 cm² 以上,这些植株定植成活后茎蔓伸长加快,随真叶面积增大,部分植株多倍体效应开始显现。统计结果表明,M066、M0544 成活率分别达到 76.7% 和 66.7%,显著高于 M072 的 50.0%。网纹型材料 M066 变异植株最多,诱导率平均值达到 54.4%,比光皮型 M0544 和 M072 高出 1 倍多(图 1)。结果表明,不同基因型材料对秋水仙素敏感度和诱变率有差异,而敏感度和诱变率之间无相关关系。

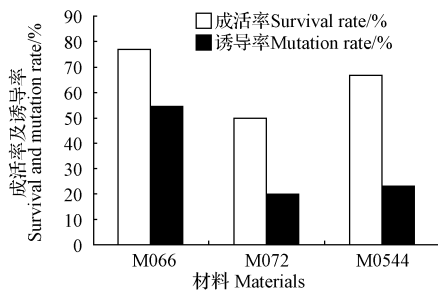


图 1 秋水仙素对厚皮甜瓜的诱导效果

Fig. 1 Mutagenic effects of dripping colchicines onto different muskmelon materials on induction of tetraploid

2.2 诱导甜瓜倍性鉴定

对经外部形态初步鉴定出的变异苗,利用幼小花蕾压片法观察染色体数,变异植株体细胞染色体 $2n=4x=48$ (图 2-A),表明所检测植株为诱变的四倍体。

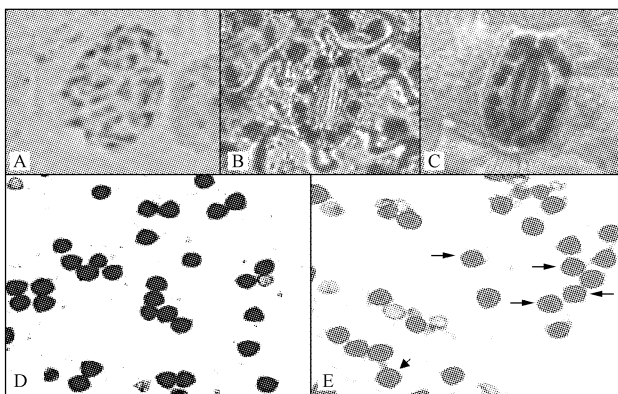


图 2 厚皮甜瓜四倍体与二倍体的细胞形态学比较

注:A,四倍体甜瓜体细胞染色体;B,二倍体叶片气孔;C,四倍体叶片气孔;D,二倍体花粉;E,四倍体花粉(箭头所指为四孔花粉,染色浅的为无活性花粉)。

Fig. 2 Cytomorphological characteristics of tetraploid and diploid muskmelons

Note: A, Chromosomes of tetraploid plant; B, Stoma of diploid plant; C, Stoma of tetraploid plant; D, Pollens of diploid; E, Pollens of tetraploid (arrows show four germinal apertures).

2.3 不同倍性甜瓜特性变化

2.3.1 植株形态学比较 在 C₀ 代经秋水仙素诱导加倍产生的四倍体植株的叶片、茎节长、花器、果实等外观形状发生了变化。由于 C₀ 代四倍体种子饱满度差, C₁ 代四

倍体子叶边缘向下翻卷,用手摸明显变厚。四倍体植株的真叶叶缘变圆,叶基相互交叉,叶长与叶宽增大,但增大的幅度因基因型而异,如 M0544 四倍体叶长与叶宽增加均达显著水平,而 M066 与 M072 的四倍体则叶长与叶宽分别达显著水平;比较而言,二倍体甜瓜叶片相对较小,且叶片基部不重叠(图 3-A,表 1)。3 个四倍体甜瓜品系主蔓节间距均缩短,网纹型 M066 缩短尤其明显,达显著水平。四倍体侧蔓节长缩短更加明显,3 个品系均达到极显著水平(图 3-C~D,表 1)。由于节间缩短,生长前期四倍体植株高度低于二倍体,但后期四倍体植株长势仍然旺盛,至采收期植株高度接近二倍体(表 1)。与二倍体相比,四倍体雌花和雄花花冠较大,花瓣皱褶较多且颜色较深,子房变短,花柄变粗(图 3-B,表 1)。四倍体果实有变小趋势,表现在单果重、果实纵径显著减小。二倍体的果实为椭圆形或近圆形,而四倍体果形则为扁圆形,果形指数极显著变小。四倍体甜瓜的种腔也有减小的趋势,且与果形变化一致,主要表现为纵径极显著减少。虽然四倍体果实变小,但其果肉厚度与二倍体比较无显著差异,这与四倍体果实横径与果腔横径变化甚微相一致。此外,四倍体甜瓜果脐直径明显增大。与二倍体相比,四倍体甜瓜果肉可溶性固形物含量有不同程度的降低(图 3-C~E,表 2)。与二倍体相比,四倍体种子长度变化不大,但宽度极显著增大, M066 与 M072 种仁不饱满,以至于漂洗时与空种壳混在一起,只有 M0544 千粒重增加较多。四倍体胚囊育性下降,自交果实种腔内出现大量空秕籽粒,单瓜正常种子数显著降低,可育率仅为 5%~10%(图 3-F,表 3)。

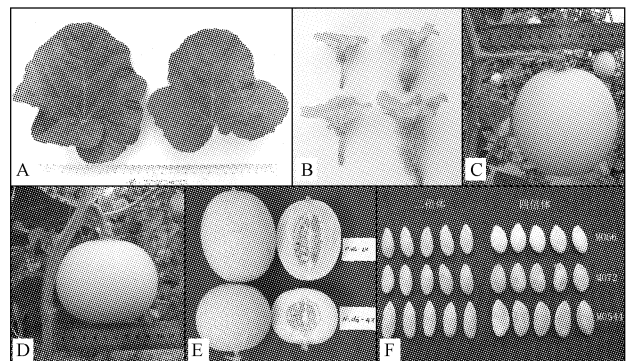


图 3 厚皮甜瓜四倍体与二倍体的形态比较

注:A,叶片(左为四倍体,右为二倍体);B,雌雄花(上为二倍体,下为四倍体);C,二倍体茎蔓及果实;D,四倍体茎蔓及果实;E,果实及剖面(上为二倍体,下为四倍体);F,种子(左为二倍体,右为四倍体)。

Fig. 3 Morphological characteristics of tetraploid and diploid muskmelons

Note: A, Leaves (left is tetraploid, right is diploid); B, Flowers (below is tetraploid, up is diploid); C, Fruit and stem of diploid; D, Fruit and stem of tetraploid; E, Sections of fruit (below is tetraploid, up is diploid); F, Seeds (left is diploid, right is tetraploid).

表 1

厚皮甜瓜四倍体与二倍体植株形态比较

Table 1

Comparison of morphological characteristics of tetraploid and diploid muskmelons

cm

材料 Materials	倍性 Ploidy	雄花冠直径 Corolla diameter	叶长 Leaf length	叶宽 Leaf width	株高 Plant height	主蔓节长 Node length of main stem	侧蔓节长 Node length of lateral stem
M066	2×	3.1±0.2	12.5±1.1	14.7±1.6	147.6±17.6	6.0±0.5	8.1±0.6
	4×	3.8±0.3**	14.1±0.9**	15.6±1.6	123.8±5.1*	4.7±0.8*	2.8±0.8**
M072	2×	3.3±0.2	12.9±1.2	16.2±0.8	194.3±31.7	6.3±0.5	7.6±0.9
	4×	3.9±0.4**	13.0±1.2	17.7±1.0*	153.0±30.6	5.9±0.4	2.1±0.9**
M0544	2×	3.2±0.1	13.7±0.5	16.3±1.7	208.0±31.9	6.4±0.7	8.5±2.0
	4×	3.8±0.1**	15.0±1.3*	18.8±1.3*	177.2±11.5	5.7±0.6	4.4±1.5**

注:差异显著性检验采用最小显著极差法,*表示在 $P=0.05$ 水平上差异显著,**表示在 $P=0.01$ 水平上差异显著,下表同。Note: Using LSR test, * and ** means the differences at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$ respectively. The following table was described as same.

表 2

厚皮甜瓜四倍体与二倍体果实性状比较

Table 2

Comparison of fruit characteristics of tetraploid and diploid muskmelons

材料 Materials	倍性 Ploidy	单果重 Fruit weight/kg	种腔纵径 Longitudinal diameter of seed cavity/cm	种腔横径 Horizontal diameter of seed cavity /cm	果肉厚 Mesocarp thickness /cm	果实纵径 Fruit longitudinal diameter/cm	果实横径 Fruit horizontal diameter/cm	果形指数 Fruit shape index	可溶性固形物含量 Soluble solid content/%
M066	2×	0.79±0.15	7.8±1.3	5.1±0.4	2.4±0.4	11.9±1.3	9.9±1.0	1.21	10.8±1.1
	4×	0.55±0.14*	4.8±0.7**	4.9±0.8	2.7±0.3	8.8±0.7*	10.2±0.6	0.88**	10.3±1.1
M072	2×	0.73±0.1	6.9±0.1	5.1±0.4	2.9±0.1	11.6±0.1	10.7±0.1	1.21	14.8±0.7
	4×	0.50±0.0**	3.7±0.5**	4.4±0.4	2.8±0.1	7.8±0.1**	10.0±0.1	0.88**	12.6±0.8*
M0544	2×	1.30±0.27	8.9±0.6	5.8±0.7	3.8±0.3	15.5±1.5	12.8±1.2	1.08	14.3±1.9
	4×	0.78±0.24**	5.0±0.5**	5.1±0.6	3.3±0.4	10.4±1.1**	11.8±1.1	0.78**	10.7±1.5**

表 3

厚皮甜瓜四倍体与二倍体种子性状比较

Table 3

Comparison of seed characteristics of tetraploid and diploid muskmelons

材料 Materials	倍性 Ploidy	种子长 Length of seed /mm	种子宽 Width of seed /mm	千粒重 Weight of thousand seeds/g	单果正常种子数 No. of perfect seeds per fruit /粒	单果空秕种子数 No. of blighted seeds per fruit /粒	种子可育率 Fertility of seeds /%
M066	2×	10.8±0.4	4.8±0.5	31.9±2.0	240.0±97.0	196.7±25.5	53.4±14.5
	4×	10.3±1.2	5.6±0.4**	27.8±3.6	26.3±16.0*	278.0±135.7	10.4±7.1**
M072	2×	10.6±0.2	4.7±0.2	24.5±0.3	282.0±5.7	190.5±65.8	60.3±7.9
	4×	10.8±0.3	5.5±0.2**	23.0±1.7	29.5±3.5**	326.5±89.8	8.7±3.0**
M0544	2×	10.1±0.3	4.3±0.2	32.6±0.8	316.5±62.9	140.0±42.4	69.6±2.3
	4×	11.0±0.9	5.5±0.2**	36.2±2.8	12.1±7.2**	230.0±44.1*	5.0±2.6**

2.3.2 细胞形态学比较 四倍体甜瓜花粉粒直径极显著增大,M066 增加最多,达 53.6%,M0544 最少,也达 25.2%。同时四倍体甜瓜花粉中四萌发孔比例较高,而二倍体均为三萌发孔花粉。花粉染色结果显示,四倍体甜瓜花粉可染率极显著下降,M066 平均花粉可染率最低仅为 44.4%,表明四倍体雄性配子活性显著降低。四倍体甜瓜真叶下表皮气孔面积增大,气孔保卫细胞叶绿体数目比二倍体增加约 1 倍,达极显著水平(表 4,图 2)。

表 4 厚皮甜瓜四倍体与二倍体花粉及
保卫细胞叶绿体数的比较

Table 4 Comparison of pollen and chloroplast characters of
tetraploid and diploid muskmelons

材料 Materials	倍性 Ploidy	花粉直径 Pollen diameter /μm	花粉可染性 Rate of stained pollen/%	保卫细胞叶绿体数 No. of chloroplast per guard cell/个
M066	2×	49.3±2.3	95.0±2.6	8.8±1.2
	4×	75.7±3.8**	44.4±7.0**	20.0±1.2**
M072	2×	48.6±1.6	95.0±2.5	9.6±1.5
	4×	63.5±2.1**	72.3±9.5**	16.6±2.3**
M0544	2×	49.2±2.2	97.8±1.5	9.1±1.7
	4×	61.6±5.1**	63.2±4.5**	18.6±1.5**

3 讨论

秋水仙素作用是破坏或抑制生长点分生细胞纺锤体的形成,导致细胞不分裂,而着丝点继续分裂,从而达到染色体数目加倍的目的。剥去包被生长点的幼叶可以使药液直接接触顶端分生组织,发挥秋水仙素的诱变作用。通过剥滴法,该研究获得了最高 54.4%的诱变率,与谭素英等^[13]在西瓜上的诱导效果一致,与甜瓜茎尖离体诱导的比例相近^[5-11],表明了剥滴法具有简单易行、效率高的优点。

由于染色体加倍过程中的加倍因素和非加倍因素的影响,同源四倍体的 DNA 遗传结构较其同源二倍体产生了变异,进而导致其表现型发生相应的变异^[15]。四倍体甜瓜形态变异主要表现为:叶片变大,保卫细胞叶绿体数增加,花粉和种子育性降低,果实及果形指数变小,果肉增厚,可溶性固形物含量增加^[3-5,10-11,16-17]。该研究中四倍体性状与前人研究基本一致,但自交果实可育种子大大低于前人报道的 20%,这不仅有四倍体花粉形态及减数分裂异常的细胞学因素影响^[18-19],更认同贾媛

媛等^[19]关于同源四倍体甜瓜育性低还存在其它未知原因的观点。该试验获得的四倍体还存在果肉厚度未增加、可溶性固形物含量降低的不同结果,分析认为,除了试材的因素外,栽培技术也有很大的影响,有待于进一步研究。

甜瓜四倍体资源可以作为常规品种直接应用于生产^[20],也可以作为中间材料,培育四倍体或三倍体杂交一代品种^[21],发挥多倍体及杂种一代的优势效应。尽管研究者对甜瓜多倍体应用前景充满憧憬,但实际利用中仍存在繁殖系数低、优势不明显等问题^[4]。因此,在创制四倍体甜瓜资源的同时,有必要进一步加强甜瓜多倍体基础理论研究,从而实现甜瓜多倍体育种技术的重大突破。

参考文献

- [1] 孙敏红,张蜀宁.多倍体育种在园艺作物中的应用[J].江苏农业科学,2004(1):68-72.
- [2] 黄金艳,付金娥,覃斯华,等.水分胁迫对二、四倍体薄皮甜瓜苗期生理生化特性的影响[J].安徽农业科学,2011,39(11):6305-6307,6355.
- [3] 王志强.甜瓜再生植株四倍体变异的形态观察及耐盐无性系诱导研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2006.
- [4] 柴兴容,童莉,王欣,等.甜瓜四倍体育种及其生产利用研究[J].中国西瓜甜瓜,1998(2):16-19.
- [5] 付金娥,覃斯华,李天艳,等.秋水仙素诱导薄皮甜瓜同源四倍体研究[J].中国瓜菜,2008(2):11-15.
- [6] Adelberg J W, Rhodes B B, Skorupska H T. Generation tetraploid melons in tissue culture[J]. Hortscience, 1990, 25(9):1073.
- [7] Adelberg J W, Rhodes B B. Explant origin affects the frequency of tetraploid plants from tissue culture of melons [J]. Hortscience, 1994, 29:689-692.
- [8] Ezura H, Amagai H, Yoshioka K, et al. Highly frequent appearance of tetraploidy in regenerated plants, a universal phenomenon, in tissue cultures of melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Plant Science, 1992, 85(2):209-213.
- [9] 何欢乐,蔡润,潘俊松.甜瓜不定胚再生植株的染色体数目变异[J].遗传,2002,24(2):166-170.
- [10] 马国斌,王鸣.甜瓜组织培养再生植株中的四倍体变异[J].园艺学报,1999,26(2):128-130.
- [11] 马国斌,王鸣.西瓜和甜瓜茎尖离体诱导四倍体[J].中国西瓜甜瓜,2002(1):4-5.
- [12] 王双伍,刘建雄,张广平,等.秋水仙碱离体诱导薄皮甜瓜四倍体的研究初报[J].湖南农业科学,2006(5):28-30.
- [13] 谭素英,黄秀强,刘济伟.提高西瓜四倍体诱导率的研究[J].华北农学报,1993,8(4):12-15.
- [14] 梁倩倩,张显,顾桂兰.温度和处理时段对西瓜四倍体诱导的影响及其倍性鉴定[J].西北农业学报,2009,18(4):301-305.
- [15] 姜金仲,李云,程金新.植物同源四倍体生殖特性及DNA遗传结构的变异[J].遗传,2006,28(9):1185-1190.
- [16] 江舰,姚自鸣,吕凯,等.甜瓜倍性育种研究[J].安徽农业科学,1999(2):164-165.
- [17] 张文倩.四倍体厚皮甜瓜植株形态特征和果实品质性状的研究[D].泰安:山东农业大学,2010.
- [18] 刘文革,王鸣,阎志红.不同倍性西瓜花粉形态观察[J].园艺学报,2003,30(3):328-330.
- [19] 贾媛媛,张永兵,刁卫平,等.四倍体甜瓜花粉母细胞减数分裂的观察[J].中国瓜菜,2009(2):7-9.
- [20] 覃斯华,何毅,李天艳,等.四倍体甜瓜 JM-4n 特征特性及栽培技术[J].中国瓜菜,2010,23(3):45-47.
- [21] 金荣荣,陈柏杰,汪磊,等.三倍体薄皮甜瓜新品种哈甜3号的选育[J].中国蔬菜,2011(20):95-97.

Induction and Change of Its Characteristics of Tetraploid Muskmelon

ZHANG Yong, FANG Yong-lin, DENG Li-jia, GENG Li-zhe, LI Chang-xin, ZHANG Xian

(College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Key Laboratory of Northwest Horticultural Plant Biology and Germplasm Enhancement, Ministry of Agriculture, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Three diploid varieties were treated by removing growth point of seedlings and dripping 0.2% colchicines onto the stem tips to induce tetraploid muskmelon. The results showed that the tetraploid mutation rate of netted melon 'M066' was 54.4%, that of smooth rind melon such as 'M072' and 'M0544' were 20.0% and 23.3% respectively. Compared to autotetraploid with original diploid, the length of lateral branch internode was shorter, the size of corolla and leaf were larger, the number of chloroplast per guard cell increased. But the number of perfect seeds per fruit, the stainability of pollen grains, fruit weight and the index of fruit-type decreased. The flesh qualities of soluble solid content declined, but its thickness was same as original diploid. These results demonstrated the mutagenic effects were different according to genotypes, and there were significant changes in physiological and biochemical characteristics between autotetraploid and diploid.

Key words: muskmelon; tetraploid; mutation breeding