

染色体加倍对“珠美”海棠形态特征的影响

郭 玉, 邵建柱, 何建华, 徐继忠, 刘博燕, 王科峰

(河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071000)

摘 要:以二倍体“珠美”海棠为对照,研究了其同源四倍体形态特征的变化。结果表明:四倍体砧木树体生长量变小,树体高度和干径分别是对照的 41%、72%;一级、二级侧根数多,骨干根数量(直径>2 mm)少且细,分别是对照的 1.50 倍、1.65 倍和 56%;长、中、短枝数均减少,枝皮变厚,分别是对照的 1.7%、16.3%、9.3%和 1.33 倍;叶长、叶宽和叶柄长均减小,分别是二倍体对照的 77%、89%和 63%;气孔长和气孔宽均变大,分别是对照的 1.13 和 1.68 倍,但气孔密度降低,是对照的 55%;皮孔横径和面积变大,密度变小,分别是对照的 1.15 倍、1.13 倍和 55%。

关键词:“珠美”海棠;四倍体;形态特征

中图分类号:S 661.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)16-0101-04

苹果是重要的果树树种之一,主要采用嫁接繁殖,因此砧木育种对苹果生产具有重要的意义。苹果砧木不仅影响接穗品种的生长势、结果能力和果实品质,而且对提高其生态适应性具有重要的作用^[1]。选育具有矮化作用、多抗的苹果砧木是苹果砧木育种的重要目标。多倍体果树一般具有生长健壮、枝粗、叶厚、果大、少籽或无籽、产量高、适应性强等优点,一直是果树育种的一条重要途径^[2]。前人关于果树多倍体的研究多集中在品种培育方面,有关苹果砧木多倍体的研究鲜见报道。“珠美”海棠与苹果嫁接亲和力强、成活率高,抗白粉病和黑星病,抗涝、耐盐碱,在中、重度盐碱地上成活率高,还有一定的矮化作用^[3-6],是一种优良的苹果砧木。该研究以离体染色体加倍获得的四倍体“珠美”海棠为试材,以二倍体“珠美”海棠为对照,研究染色体加倍对其形态特征的影响,以期苹果多倍体砧木育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料四倍体“珠美”海棠为河北农业大学园艺学院生物技术实验室离体加倍获得,二倍体和四倍体植株均为试管繁殖自根苗,定植于河北农业大学园艺学院标本园,试验于 2009~2011 年进行。

第一作者简介:郭玉(1986-),女,河北石家庄人,硕士,现主要从事果树生物技术研究工作。E-mail:guo.yu1986@163.com.

责任作者:邵建柱(1970-),男,博士,教授,硕士生导师,现主要从事果树生物技术与育种研究工作。E-mail:shaojzh@21cn.com.

基金项目:河北省科技厅科研资助项目(11220114D)。

收稿日期:2012-05-07

1.2 试验方法

1.2.1 干粗和株高的测量 分别于 2010 年和 2011 年春季萌芽前,随机选取二倍体和四倍体“珠美”海棠植株各 35 株,用游标卡尺测量地面以上 5 cm 处干径(代表干粗),用卷尺测量株高,并计算生长率和粗度增长率。生长率=(第 2 年高度-第 1 年高度)/第 1 年高度;粗度增长率=(第 2 年粗度-第 1 年粗度)/第 1 年粗度。嫁接组合试验中,品种粗度以接口以上 5 cm 处的粗度为代表,品种高度指嫁接接口以上品种部分的高度。

1.2.2 枝类、枝量的调查 随机选取二倍体和四倍体“珠美”海棠植株各 15 株,调查每株的长枝数(长度>15 cm),中枝数(5~15 cm),短枝数(<5 cm)和枝条总数,最后求平均值。

1.2.3 枝皮率的测定 秋季落叶后,随机选取二倍体和四倍体“珠美”海棠植株各 3 株,取其 1 a 生枝,在 6 mm 处用游标卡尺测量各处去皮之后的直径大小。AB 代表枝的直径和,ab 代表木质部直径,依公式枝皮率=(1-ab/AB)×100%,计算枝皮率。

1.2.4 皮孔的测量 随机选取二倍体和四倍体“珠美”海棠植株各 3 株,每株上取直径为 0.6 cm、长 5 cm 的枝段,分别测量其皮孔个数、皮孔长度(皮孔最大纵径)、皮孔的宽度(皮孔的最大横径),计算出皮孔密度和皮孔面积。皮孔密度=皮孔个数/π×0.6 cm×5 cm(单位:个/cm²);皮孔面积=π×皮孔纵径×皮孔横径/4(单位:mm²)。

1.2.5 叶片大小及厚度的测量 随机选取二倍体和四倍体“珠美”海棠植株各 5 株,每株上取生长良好、叶龄一致的叶片 9 片,测量叶片的长度、宽度、厚度(同一叶多点测量,3 次重复)和叶柄长,计算叶形指数(即叶长与叶宽

的比值)。

1.2.6 气孔大小和密度的测量 随机选取二倍体和四倍体“珠美”海棠成龄叶片各 9 张,撕取叶片的下表皮置于滴清水的载玻片上,加盖玻片,光学显微镜下观察。每张叶片观察 10 个视野,测量 30 个气孔的长、宽值。观察 30 个不同视野中的气孔数目,统计单位面积内的气孔个数,求其平均值,计算气孔密度(个/mm²)。

1.2.7 根系形态调查 随机选取二倍体和四倍体“珠美”海棠植株各 6 株,刨出后用水把根部洗干净。分别统计其一级侧根数、二级侧根数(一级侧根基部 10 cm 长度以内)、骨干根数(直径>2 mm)及其粗度。

2 结果与分析

2.1 染色体加倍对“珠美”海棠植株高度和粗度的影响

由表 1 可知,与二倍体对照相比,四倍体“珠美”海棠树体生长量变小,1 a 生时,二倍体树高 61.7 cm,四倍体树高 25.6 cm,四倍体的树高是对照的 41%。2 a 生时,二倍体树高 207.0 cm,四倍体树高 82.1 cm,四倍体是对照的 40%。对照的年生长率为 235%,而四倍体的年生长率为 220%。同年的生长率四倍体比对照低 15 个百分点。

1 a 生时,二倍体对照的粗度是 7.6 mm,四倍体的粗度是 5.5 mm,四倍体粗度是对照的 72%。2 a 生时,二倍体的粗度是 16.6 mm,四倍体的粗度是 9.7 mm,四倍体粗度是对照的 58%。对照的年粗度增长率为 118%,四倍体为 76%。同年四倍体的粗度增长率比对照低 42 个百分点。

表 1 四倍体与二倍体“珠美”海棠树高和干径的比较

Table 1 The comparison of tree height and trunk diameter between tetraploid and diploid *Malus zumi*

倍性 Ploid	1 a 生 Annual		2 a 生 Biennial	
	树高 Tree height /cm	干径 Trunk diameter /mm	树高 Tree height /cm	干径 Trunk diameter /mm
二倍体 Diploid	61.7±7.2Aa	7.6±1.2Aa	207.0±15.9Aa	16.6±1.9Aa
四倍体 Tetraploid	25.6±0.9Bb	5.5±1.6Bb	82.1±11.2Bb	9.7±0.9Bb

注:大写字母表示 $P<0.01$ 水平;小写字母表示 $P<0.05$ 水平;同一列中不同字母代表差异显著,下同。

Notes: Capital letter expresses $P<0.01$ level; small letter expresses $P<0.05$ level; significant differences treatments in the same column are indicated by different letters, the same below.

2.2 染色体加倍对“珠美”海棠发枝的影响

由表 2 可知,与对照相比,四倍体平均每株的长枝、中枝和短枝数量均减少,分别是对照的 1.7%、16.3%和 9.3%,总枝条量也仅为对照的 9.1%。从枝类比例上看,四倍体的中、短枝比例较二倍体大,是二倍体的 128.3%;但四倍体长枝比例较二倍体小,是二倍体的

表 2 四倍体与二倍体“珠美”海棠枝类的比较

Table 2 The comparison of shoot types between tetraploid and diploid *Malus zumi*

倍性 Ploid	项目 Project	枝条类型 Shoot type			合计 Sum
		长枝 Long shoot	中枝 Medium shoot	短枝 Short shoot	
二倍体 Diploid	数量 Quantity	6.0	6.1	9.7	22
二倍体 Diploid	比例 Ratio/%	27.5	28.1	44.4	100
四倍体 Tetraploid	数量 Quantity	0.1	1.0	0.9	2
四倍体 Tetraploid	比例 Ratio/%	7.0	50.0	43.0	100

25.5%。说明四倍体生长势较弱。

2.3 染色体加倍对“珠美”海棠枝条性状的影响

由表 3 可知,“珠美”海棠染色体加倍后节间变短,其中二倍体的节间长度为 1.61 cm,四倍体的节间长度为 1.12 cm,四倍体的节间长度是二倍体的 70%。四倍体的枝皮变厚,1 a 生枝 6 mm 粗度处四倍体与对照的枝皮厚度分别为 0.72 mm 和 0.54 mm,四倍体苹果砧木的厚度和枝皮率均是对照的 1.3 倍。由表 4 可知,四倍体“珠美”海棠的皮孔密度变小,但其横径和面积变大,其中四倍体“珠美”海棠的皮孔密度是二倍体对照的 55%,而横径和面积分别是对照的 1.15 倍和 1.13 倍(表 4)。

表 3 四倍体与二倍体“珠美”海棠枝皮率的比较

Table 3 The comparison of Branch-cortex ratio between tetraploid and diploid *Malus zumi*

倍性 Ploid	带皮直径 Diameter outside bark/mm	去皮后直径 Diameter inside bark/mm	枝皮厚 Bark thickness /mm	枝皮率 Branch-cortex ratio/%
二倍体 Diploid	6.00±0.20	5.46±0.10Aa	0.54±0.02Bb	9
四倍体 Tetraploid	6±0.2	5.28±0.10Bb	0.72±0.10Aa	12

表 4 四倍体与二倍体“珠美”海棠皮孔性状的比较

Table 4 The comparison of lenticel traits between tetraploid and diploid *Malus zumi*

倍性 Ploid	密度 Density /个·cm ⁻²	纵径 Vertical diameter /mm	横径 Transverse diameter/mm	面积 Areas/nm ²
二倍体 Diploid	8.00±0.24Aa	0.64±0.08a	0.60±0.05Bb	0.30
四倍体 Tetraploid	4.43±0.66Bb	0.63±0.03a	0.69±0.09Aa	0.34

2.4 染色体加倍对“珠美”海棠叶片形态的影响

由表 5 可知,二倍体“珠美”海棠叶面无褶皱,锯齿小而尖锐,叶尖渐尖;而四倍体叶面褶皱,锯齿大而圆钝,叶尖是突尖。四倍体植株的叶长、叶宽、叶柄长均减小,分别是二倍体的 77%、89%和 63%。叶形指数也变小,四倍体是对照的 87%。但叶厚增加,为二倍体的 1.15 倍。

表 5 四倍体与二倍体“珠美”海棠叶片形态的比较

Table 5 The comparison of leaf morphology between tetraploid and diploid *Malus zumi*

倍性 Ploid	叶柄长 Petiole length/cm	叶长 Leaf length /cm	叶宽 Leaf width /cm	叶厚 Leaf thickness /mm	叶形指数 Leaf shape index
二倍体 Diploid	1.9±0.2Aa	7.9±0.7Aa	4.6±0.5Aa	0.13±0.01Ab	1.71±0.09
四倍体 Tetraploid	1.2±0.2Bb	6.1±0.6Bb	4.1±0.4Bb	0.15±0.01Aa	1.49±0.10

2.5 染色体加倍对“珠美”海棠气孔的影响

由表 6 可知,四倍体“珠美”海棠的气孔长和气孔宽均显著变大,分别是二倍体的 1.13 和 1.68 倍,但气孔密度显著降低,仅为对照的 55%。

表 6 四倍体与二倍体“珠美”海棠气孔形态的比较

Table 6 The comparison of stomata morphology between tetraploid and diploid *Malus zumi*

倍性 Ploid	气孔长 Stomatal length / μm	气孔宽 Stomatal width / μm	气孔密度 Stomatal density /个 $\cdot\text{mm}^{-2}$
二倍体 Diploid	16.7 \pm 0.73Bb	2.8 \pm 0.33Bb	400 \pm 25Aa
四倍体 Tetraploid	18.9 \pm 1.14Aa	4.7 \pm 0.41Aa	218 \pm 12Bb

2.6 染色体加倍对“珠美”海棠根系形态的影响

由表 7 可知,1 a 生植株根系四倍体的一级、二级侧根数比二倍体多,但骨干根(直径 $>2\text{ mm}$)少,且平均粗度小。其中四倍体一级侧根和二级侧根数分别是二倍体的 1.50 和 1.65 倍。四倍体的骨干根数量和骨干根的平均粗度分别是对照的 56%和 75%。

表 7 四倍体与二倍体“珠美”海棠根形态的比较

Table 7 The comparison of root morphology between tetraploid and diploid *Malus zumi*

倍性 Ploid	一级侧根数 First lateral root numbers	二级侧根数 Second lateral root numbers	直径 $>2\text{ mm}$ 根数 Diameter $>2\text{ mm}$ root number	直径 $>2\text{ mm}$ 粗度 Diameter $>2\text{ mm}$ thickness
二倍体 Diploid	4	132	18	3.69
四倍体 Tetraploid	6	218	10	2.76

3 讨论与结论

多倍体育种是加大植物遗传变异、改良作物品质的重要手段。多倍体植株一般表现为树体生长健壮、枝粗、叶片大而厚等形态特征^[7]。但刘庆忠等^[8-9]研究发现,与二倍体相比,四倍体“皇家嘎拉”生长慢、节间短、植株矮化、叶柄短而粗、叶片增厚变宽、叶片长宽比变小等特点。李资等^[10]在应用气孔性状对苹果与梨的倍性判别分析中发现,多倍体的苹果、梨等果树叶片的气孔增大,气孔密度下降^[11-13]。该研究进一步表明,染色体加倍后的“珠美”海棠植株矮化,生长量变小,叶柄、节间变短,叶片变厚,叶形指数变小、气孔增大,气孔密度下降等特点,与前人研究结果一致。但叶片的长、宽均变小等特点与前人研究有所不同,这种不同可能与品种的差异有关。

有关倍体变化对皮孔影响少见报道。该研究发现,四倍体“珠美”海棠的皮孔密度变小,皮孔面积变大,但

其积值变小,仅为二倍体的 62.8%。于秋香等^[14]研究发现,皮孔的密度与面积之积值与轮纹病侵染率及侵染指数之间存在显著的正相关关系,积值越大侵染率和侵染指数越高,试材抗侵染能力越差。四倍体“珠美”海棠的抗病性是否与上述研究结果一致,有待进一步验证。

有关倍性变化对根部形态特征和枝皮率的影响也少见报道。该研究结果表明,四倍体“珠美”海棠的粗根变少,粗度变小,整体生长势变弱,同时枝皮率变大。一般来说,地上部与地下部的生长相关联,地下部生长势变弱会抑制地上部生长,而且枝皮率越大其矮化能力越强^[15]。四倍体“珠美”海棠是否会使其上嫁接的品种矮化,有待进一步验证。

参考文献

- [1] 王贵平,王金政,师忠轩,等. M 系苹果矮化砧木与砧穗组合研究[J]. 江西农业学报, 2011, 23(9): 44-46.
- [2] 李林光,何平,欧春青,等. 苹果三倍体后代培养及倍性鉴定[J]. 果树学报, 2008, 25(3): 400-403.
- [3] 王玉珍,冯学赞,罗景兰,等. 珠美海棠组培苗繁殖技术的研究[J]. 生态农业研究, 1999, 7(2): 50-52.
- [4] 王治国. 巴彦淖尔盟地区珠美海棠引种试验研究[J]. 内蒙古林业科技, 2003, 29(特): 7-12.
- [5] 王玉珍,冯学赞,罗景兰. 多用途耐盐碱经济树种—珠美海棠[J]. 林业科技, 1999, 24(2): 53-54.
- [6] 崔连明,刘桂荣,李军,等. 滨海盐碱地引种珠美海棠及嫁接苹果试验[J]. 经济林研究, 1997, 15(2): 45.
- [7] 曹春利. 果树多倍体的特征、获得方式的研究进展[J]. 现代园艺, 2010(4): 4-5.
- [8] 刘庆忠,刘鹏,赵红军,等. 同源四倍体皇家嘎拉苹果的生物学及光合生理特性研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(12): 1573-1578.
- [9] 刘庆忠,苑克俊,张力思,等. 同源四倍体皇家嘎拉苹果的生长结果特性[J]. 果树学报, 2006, 23(1): 102-104.
- [10] 李资,石荫坪,束怀瑞,等. 应用气孔性状对苹果与梨的倍性判别分析[J]. 果树科学, 1999, 16(1): 9-13.
- [11] Qin X, Rotino G L. Chloroplast number in guard cells as ploidy indicator of *in vitro* grown androgenic pepper plantlets [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993, 41: 143-149.
- [12] Standring L S, Pringle G J, Murray B G. The control of chloroplast number in *Solanum mueicatum* Ait and *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt and its value as an indicator of polyploidy [J]. Euphytica, 1990, 47: 71-77.
- [13] Bingham E T. Stomatal chloroplasts in alfalfa at four ploidy levels [J]. Crop Sci, 1968, 8: 509-510.
- [14] 于秋香,邵建柱,徐继忠,等. 苹果砧木杂交后代皮孔性状与抗轮纹病菌侵染的关系[J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(2): 21-25.
- [15] 束怀瑞. 苹果学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 156, 178.

Effect of Chromosome Doubling on Morphological Characteristics of *Malus zumi*

GUO Yu, SHAO Jian-zhu, HE Jian-hua, XU Ji-zhong, LIU Bo-yan, WANG Ke-feng
(College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000)

山西省野罂粟种质资源亲缘关系的 RAPD 分析

亢秀萍, 常啸啸, 陈琳, 李森, 邢国明

(山西农业大学 园艺学院, 山西 太谷 030801)

摘要:为了明确分布在山西省不同地域的野罂粟材料之间的亲缘关系和遗传多样性,以在山西省采集的 6 份野罂粟和采集于内蒙古的 1 份野罂粟引种为研究对象,利用改进的 CTAB 法提取 DNA,并通过单因素多水平梯度试验,筛选了模板、 Mg^{2+} 、*Taq* DNA 聚合酶、dNTP 和随机引物的浓度及用量,建立了山西省野罂粟 RAPD 技术扩增体系。结果表明:在 20 μ L 反应体系中,*Taq* DNA 聚合酶、模板、引物、 Mg^{2+} 和 dNTP 5 种主要成分的适宜浓度和用量分别为:2.0 U、20 ng、1.2 μ mol/L、2.0 mmol/L、150 μ mol/L,并在此基础上构建 UMPGA 聚类图,经过分析得知,地域分布为野罂粟聚类的主导因素,花色为野罂粟聚类的次要因素。

关键词:野罂粟;遗传多样性;RAPD

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)16-0104-04

野罂粟(*Papaver nudicaule*)为罂粟科罂粟属多年生草本植物^[1],又名毛罂粟,为抗寒植物,生长于山地林缘、草甸、草甸草原、沙地灌丛和沟谷地带。作为药材有镇咳、镇痛和镇静作用,作为园林观赏植物有较大的开发价值^[2]。

以往研究以野罂粟的花粉、化学成分和药理作用等方面为多,尚未有关于引种驯化、亲缘关系或分子水平的研究报道^[3]。该试验采用 RAPD 标记方法对山西省野罂粟种质资源的 DNA 多态性进行分析,构建 UMPGA 聚类图,目的在于明确分布于山西省不同地域的野罂粟材料之间的亲缘关系和遗传多样性,为野罂粟种质资源的园艺开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为采集于山西境内朔州市平鲁区打草坪

村、忻州市原平市云中山、五台县五台山和吕梁市交城县关帝山的 6 份野罂粟和山西农业大学园艺学院蔬菜花卉研究所采集于内蒙古四子王旗的 1 份野罂粟驯化种(表 1)。采样用叶片硅胶干燥法^[4]。

表 1 供试野罂粟材料

编号	名称	来源	海拔/m	经度°	纬度°	花色	生长环境
A	野罂粟 (引种驯化)	内蒙古四子王旗	1 487	111°42"	41°32"	纯黄	草甸草原
B	野罂粟	吕梁市关帝山	2 831	111°26"	37°8"	纯黄	亚高山草甸
C	野罂粟	忻州市五台山	2 485	113°19"	38°43"	纯黄	亚高山草甸
D	野罂粟	忻州市五台山	2 485	113°19"	38°43"	橙黄	亚高山草甸
E	野罂粟	平鲁区打草坪村	2 147	112°12"	39°53"	纯黄	沟谷地带
F	野罂粟	原平市云中山	2 348	112°42"	38°44"	纯黄	山地林缘
G	野罂粟	原平市云中山	2 348	112°42"	38°44"	橙黄	山地林缘

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 取样品的嫩叶叶尖,采用改良 CTAB 法提取 DNA,采用琼脂糖凝胶电泳法进行 DNA 检测^[5]。

第一作者简介:亢秀萍(1962-),女,山西临汾人,副教授,硕士生导师,现主要从事花卉栽培的教学与科研工作。

基金项目:山西省重大科技攻关资助项目(20080311010-1)。

收稿日期:2012-05-24

Abstract: Taking diploid *Malus zumi* as control, the changes of morphological characteristics of tetraploid *Malus zumi* were studied. The results showed that the height and the diameter of trees were 41% and 72% of the control, respectively. The number of the first and the second lateral roots were 1.50 and 1.65 times of the control, respectively. The diameter of the backbone roots became lessened, and the number was 56% of the control. The number of the long, medium and the short shoot was 1.7%, 16.3% and 9.3% of the control. The thickness of the shoot bark was thicker and 1.33 times of the control. The length and width of the leaf and the length of the petiole were 77%, 89% and 63% of the control, respectively. The length and width of the stomatal were bigger, and 1.13 and 1.68 times of the control. However, the density of the stomatal was 55% of the control. The diameter and the area of the lenticel were 1.15 and 1.13 times of the control, however the density of the lenticel was 55% of the control.

Key words: *Malus zumi*; tetraploid; morphological characteristics