

中图分类号: S603.6 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2004)01-0061-02

生物体内染色体数目的变化是以染色体组为单位进行增减,当生物体内染色体数达到3组或3组以上者,称为多倍体。它是许多生物群体染色体进化的重要特征。在自然界中普遍存在着多倍体物种,蕨类植物中多倍体可能高达50%,被子植物中大约有30%~35%的多倍体,其中70%的禾本科属于多倍体^[1]。多倍体是植物最重要的进化方式之一。因此近几十年来,人们对多倍体进行了深入研究,不仅为进化提供大量证据,而且在生产实践上有着广泛的应用价值。

1 多倍体的形成途径

多倍体的形成途径不外乎人工诱导和自然发生2种主要方式。人工诱导是通过各种方法使原种或杂种的合子染色体数加倍。而自然发生的频率很低,是通过原种或杂种所形成未减数配子的受精结合使染色体数加倍^[2]。

1.1 人工诱导形成多倍体途径

人工诱导多倍体的方法有很多,但真正具有跨时代意义的一步是在1937年Blakeslee和Avery发现秋水仙具有诱导细胞染色体加倍的效果,这一发现从技术上解决了进行染色体加倍的可靠、可行性,极大地推动了人工诱导多倍体的研究,迄今为止,通过人工诱导多倍体的方法已获得了一千多种多倍体植物,许多已广泛应用于生产,取得了巨大的成果。

1.1.1 物理途径

温度激变、射线照射、机械损伤、电离辐射和摘心等均可诱导多倍体的产生。中粒种咖啡花粉母细胞减数分裂时,用骤变低温(8℃~10℃)直接处理花器官,可获得大量二倍性花粉粒^[3];用紫外光照射甜菜花芽20 min(分钟)也能导致自交后代中有2株产生大花粉,Co射线照射处理萌动的杜仲种子、r射线照射珍珠粟、x射线照射水稻也可以产生多倍体;另外,植物的组织被切伤或嫁接后,往往在切口处产生愈伤组织,某些愈伤组织细胞内的染色体能自然加倍,将来发育成多倍体枝条,如在茄科植物中通过反复摘心打顶而诱导四倍体的产生,其频率可达10%。其实最早的物理诱导方式就是在番茄上通过打顶而实现的。

1.1.2 化学途径

化学方法诱导是目前应用最广泛的方法。有秋水仙素、蔡嵌戊烷、富明农、异生长素、蔡骈乙烷、甲苯磺硫苯胺基苯汞等诱变剂,其中前3种是最为常见的化学诱变剂,其中尤以秋水仙素处理效果最好。值得注意的是,秋水仙素有剧毒,为淡黄色粉末,针状结晶,易溶于凉水,但不溶于热水,它是从秋水仙的鳞茎和种子中提取出来的。秋水仙素的作用机理在于它能抑制细胞分裂时纺锤体的形成,染色单体分裂,但胞质不分离导致染色体数目加倍^[4]。处理时注意浓度和处理时间,秋水仙素的有效浓度为0.01%~1.0%,而以0.2%~0.4%应用范围最广。

1.1.2.1 活体条件下的诱导 秋水仙素是对正在分裂的细胞产生作用,因而生产上常选用萌动或萌发的种子、幼苗、正在生长的嫩梢及芽为处理材料,用一定浓度的秋水仙素或乳剂对材料进行浸渍、涂抹、滴液、注射等方法处理诱导。多种果树采用此方法均获成功,如猕猴桃^[5]。

1.1.2.2 离体条件下的处理诱导 组织培养技术的发展使以单个细胞或少数细胞为诱导材料,再由诱导加倍的细胞分化成植株成为可能,它不仅能减少或避免常规处理易产生嵌合体的干扰,获得同质的多倍体,提高诱变效果,而且能在人为控制实验条件下反复多次试验,提高诱变率。此外,诱变群体多也能保证多倍体筛选、选择的成功,并且一旦筛选出的多倍体能在短时间内迅速繁殖出大量纯度高、质量好、无病虫害的试管苗,便于进行田间鉴定、示范、推广。

1.1.3 生物学途径

1.1.3.1 体细胞杂交法 体细胞杂交又称原生质体融合,该技术的发展是建立在组织培养和原生质体培养的基础上的。随着原生质体再生体系的建立,融合研究的技术和条件的成熟,体细胞杂交法培育多倍体已切实可行。首先,用纤维素酶和果胶酶处理植物细胞,得到大量无壁的原生质体,再通过化学或物理方法诱导异核体,进一步融合后成为共核体,经培养后诱导分化出同源或异源多倍体植株^[6],如柑桔^[7]。

1.1.3.2 胚乳培养法 胚乳是由3个单倍体核融合而成的,其中1个单倍体核来自雄配子体,2个来自雌配子体,因此胚乳是天然的三倍体组织,具有双亲的遗传成分,对育种后代性状有一定的预见性。而且,胚乳同样具有一般细胞的全能性,因此,胚乳细胞的培养可得三倍体植株。如红江橙^[8]、柚^[9]、猕猴桃。

1.2 自然发生途径

多倍体有时会在自然授粉产生的实生苗中自发产生,果树多倍体有很大一部分来自于自然界偶然发生。现在生产上的三倍体苹果品种就有一些来源于二倍体自然授粉后代;从柑橘二倍体实生苗中也可发现三倍体和四倍体甚至更高倍性的多倍体。虽然发生的频率很低,但这些胁迫或气候等多原因产生的天然多倍体,成为直接发掘并利用其进行育种的丰富的自然源泉。

2 多倍体的鉴定方法

植物多倍体的判别和鉴定方法从原理上是依据其外在和内在的特征特性衍生而来的。一般而言,可以以形态外形观察为基础,组织化学、叶绿体计数为辅助、细胞学观察染色体数来确定。切忌以个别特征为依据妄言断之。

2.1 形态鉴定法

通常在对育成多倍体材料进行鉴定时,整个生长期均可以外部形态特征来判断,它是初步鉴定是否为多倍体的方法,也是最简单、最直观粗放的方法^[11]。它可以为育种工作者减

植物多倍体的形成途径及鉴定方法

王丽艳,梁国鲁

少大量工作量。如巨大性是多倍体最为显著的外部形态特征,多倍体一般茎粗壮且短,生长缓慢,发育迟缓,叶变厚,叶色变深,叶形指数变小,花果都较二倍体大。这些主要分四个阶段来识别^[12]:幼苗期,营养生长期,花期,果期。

2.2 细胞学鉴定法

多倍体较二倍体气孔变大,花粉粒萌发孔沟数目增多,花粉粒大小不整齐,败育花粉粒较多,小孢母细胞增大,小孢母细胞在减数分裂中有异常行为,梢端组织发生层细胞及核较大^[4]。

2.3 染色体计数法

通常通过检查分生旺盛的器官、组织的染色体数目来进行鉴定,它是最直接、也是最准确的鉴定方法^[13,14]。它不但能区别倍性而且还能鉴定是整倍性或非整倍性的变异。因染色体制片技术早已成熟,故切实可行。

2.4 分子水平的鉴定

随着分子生物学技术的发展,人们开始从分子水平入手研究多倍体,对其倍性、来源进行鉴定。目前就有用扫描细胞光度仪来测定单个DNA含量,再根据DNA含量比较来推断细胞倍性的报道^[15]。同时,原位杂交技术的日趋成熟也为多倍体的鉴定提供了全新的途径。GISH、FISH的应用不仅能鉴定细胞的倍性,而且还能鉴定其亲本来源;此外RAPD和RFLP技术也已成功的应用到本领域的研究中^[16,17]。

3 发展

随着研究的深入,现有的多倍体的诱导方法会不断的改进,尤其是生产上用的最多的化学诱导方法。因现在所使用的诱导剂属于生化制品,价格昂贵且对生物有毒害作用,故需要找到一种更适宜的诱导剂。随着分子生物学的发展,以及与各学科的融汇贯通必将有更简单、更直接的方法对多倍体进行鉴定。

参考文献:

[1] 郭启高,宋明,梁国鲁.植物多倍体诱导育种研究进展.生物学通

报[J].2000,35(2):8~11.

[2] 沈显生.浅析植物多倍体现象.生物学杂志[J].1995,5:8~11.

[3] 余凤英,凌绪柏等.中粒种咖啡小孢子染色体加倍方法的研究.热带作物学报[J].1990,11(1):45~54.

[4] 周广芳.秋水仙素在诱导果树多倍体中的应用.落叶果树[J].1991,3:50.

[5] 韩礼星,赵改荣,李玉红等.猕猴桃多倍体诱导研究.果树科学[J].1998,15(3):273~276.

[6] 曾云中,左小明,吴雷昌等.原生质体电融合构建酵母多倍体的研究[J].微生物学报,1995,35(4):264~270.

[7] 郭文武,邓秀新,史永忠.柑桔细胞电融合参数选择及种间体细胞杂种植株再生[J].植物学报,1998,40(5):417~424.

[8] 陈如珠,李耿光,张兰英.红江橙胚乳愈伤组织诱导和三倍体植株再生[J].植物学报,1991,33(11):848~854.

[9] 王大光,张进仁.从胚乳培养再生三倍体柑桔植株[J].中国科学,1978,(4):247~250.

[10] Geraci G, Esen A, Soost R K. Triploid Progenies from $2x \times 2x$ Crosses of Citrus Cultivars. J. Hered. 1975, 66: 177~178.

[11] 常月梅.果树多倍体鉴定进展[J].山西林业科技 2000 3(1):1~4.

[12] 龚宗俊.西瓜多倍体育种新进展[J].中国西瓜甜瓜,1993,(3):22~23.

[13] 李懋学,张赞平.作物染色体及研究技术[M].北京:中国农业出版社,1996.

[14] 李步勋,陶抵辉,阮万辉.西瓜离体组织细胞染色体加倍技术的研究和应用[J].陕西农业科学,1999,(3):21~23.

[15] Zhang X-P, BB Rhodes. Determination of watermelon Ploidy level using Flow Cytometry C G C Report. 1994 17: 102~105.

[16] 张有做,楼程富,周金妹等.不同倍性桑品种基因组DNA多态性比较[J].浙江农业大学学报,1998,24(1):79~81.

[17] Mark E S. Development and application of RFLPs in Polyploids. Crop Sci. 1992, 32: 1086~1091.

(西南农业大学果树生物技术实验室,重庆 400716)

南花北引应注意的事宜

吕 睿

随着人们生活水平的提高,花卉作为一种精神消费品,已悄然进入百姓家庭,特别是南花北引数量逐年增多。这里提醒您,在南花北引时应注意以下几点。

1 引种时期 早春引进,此时引种后可直接陆地驯化,在北方地区4月上中旬至5月上旬是气温逐渐回升的时期,这时的气温在 10°C ~ 25°C 之间,广东、广西、福建等地气温在 20°C ~ 33°C 之间,根据多年来栽培实践,南方花卉日均温在 12°C ~ 15°C 以上就能生长,尽管气温相差 10°C ,只要加强管护,随着气温的回升就会逐渐恢复生机,且成活率也高。

晚秋引进。一般在11月中旬至12月下旬北方地区气温在 -10°C ~ 10°C 之间,而南方气温在 10°C ~ 25°C 之间,花木处于生长阶段,引进后直接进入温室进行养护,温室温度可以在 0°C ~ 30°C 之间调节,根据花木特性和市场需要采取温度处理、日照处理、药剂处理和栽培措施处理,调整花期和株型,丰富春节市场。为提高成活率,要搞好包装和选用保温好

的运输工具。

2 引进品种 引进时,首先应了解品种的特性,选抗耐寒性强,适应性广的品种(耐盐碱、病虫能力强),不要盲目引进,以免造成损失。

3 栽培方式 花木栽培方式有盆栽和地栽。盆栽花卉生长势受到一定限制,一般株型小,但根系全,引种方便,不易损伤,成活率高。地栽花卉因生长在苗床上水肥充足,株体大,长势好,但引种时需切断部分根系,成活率低。因此,应尽量选盆栽。

4 植物检疫 引种时注意选无病虫害的植株,并通过检疫部门搞好检疫,以免引进携带检疫病虫害的植株,造成损失。

5 搞好包装 根据花木的形状及特性用木箱、牛皮纸、纸箱等将植株包好,以免长途运输损坏。

6 加强管理 由于长途运输,花木会不同程度受到损伤。引进后加强管理,及时浇水、施肥,促进快速恢复生机。冬季保温、夏季遮阳,地面或叶面要经常喷水增加空气湿度,喜酸性花卉每15 d(天)施用一次硫酸亚铁或硫磺粉调节北方碱性土壤,促进生长。

(海南省海口市龙华区坡博路1号1—802室,570206)