

核果类果树倍性育种研究进展

李元会,赵凡,张姗姗,李媛蓉,曾秀丽

(西藏自治区农牧科学院蔬菜研究所,西藏 拉萨 850000)

摘要:综合有关文献对主要核果类果树单倍体和多倍体的性状、育种途径及取得的成就、倍性鉴定、倍性育种中应该注意的问题进行了综述。目前,主要利用自然变异的选择、人工诱导、有性杂交培育、胚乳及原生质体融合培育等方式进行倍性育种;倍性鉴定可以从形态特征、解剖特征、生理生化特征和染色体数目观察等方面来考虑。本文主要是对核果类果树单倍体和多倍体产生途径和鉴定方法进行了综述。

关键词:核果;果树;多倍体育种;研究进展

中图分类号:S662

文献标志码:A

Research Progress in Ploidy Breeding of Drupe Fruit Trees

LI Yuan-hui, ZHAO Fan, ZHANG Shan-shan, LI Yuan-rong, ZENG Xiu-li

(Institute of Vegetables, Tibet Academy of Agricultural and Animal husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850000, China)

Abstract: This paper summarized the latest research, which related to haploid and polyploid, ploidy breeding pathways and achievements, ploidy identification and some problems in ploidy breeding of main drupe fruit trees. The ploidy breeding pathways include natural selection, artificial mutation, sexual hybridization, fusion breeding of endosperm and protoplast. Ploidy can be identified through morphological characteristics, anatomical characteristics, physiological and biochemical characteristics and chromosome number. This paper summarized the breeding pathways and identification methods of haploid and polyploidy of main drupe fruit trees.

Key words: Drupe; fruit tree; Ploidy breeding; Research progress

单倍体是原生物含有配子染色体数目的个体。由于单倍体没有等位基因,每一个基因都表现出对性状发育的作用,是研究高等植物遗传进化及基因组领域无法替代的材料。目前,苹果、葡萄、柑橘等重要果树花药培养已获得了再生植株^[1-4],仍有一些核果类果树,如桃、梅、李、杏等至今未获得单倍体植株,仅停留在获得的再生单倍体愈伤组织阶段。多倍体是指体细胞中含有3个或3个以上染色体组的植物个体^[5-6],多倍体植物促进了物种间的遗传物质交流,丰富了物种多样性,为多倍体育种奠定了基础^[7-9]。单倍体和多倍体在品种选育、遗传多样性、基因组学、突变体等果树生产实践和理

论研究中具有重要的意义^[10-13]。因此,倍性育种是近年来果树领域研究的热点。果树的倍性育种工作,是果树育种工作的重要组成部分,已成为广大育种学家研究的重点。本文主要就核果类果树倍性的性状、育种的主要途径及其成就、倍性的鉴定、果树倍性育种中应注意的问题等方面进行了分析和总结。

1 主要核果类果树单倍体和多倍体的性状

1.1 桃

我国桃属植物资源丰富,存在较为丰富的染色体变异,多倍化现象明显。王尚德等研究桃自然单倍体96-5-9实生原株,染色体基数 $x=8$ ^[14-15]。尚宗艳等经染色体计数法统计:长柄扁桃为十二倍体, $2n=12x=96$;"榆叶梅"为八倍体;"扁桃""蒙古扁桃""西康扁桃""矮扁桃"等均为二倍体, $2n=16$ ^[16];郭振怀等对桃的系列核型研究表明,"甘肃桃""山桃"

收稿日期:2020-04-21

基金项目:西藏光核桃种质资源保护与基因技术开发研究(XZNKY-2019-C-55);第二次青藏高原综合科学考察研究植物多样性可持续利用与评估子课题"传统农业资源调查与评估"(2019QZKK0502)。

作者简介:李元会(1991-),女,助理研究员,研究方向为果树栽培技术推广与遗传育种。Email:hui18398272337@163.com。

“新疆桃”“油桃”等种或品种染色体数目均为 $2n=16$ ^[17-18]。

1.2 李

李的染色体数目有二倍体、三倍体、嵌合体、六倍体及非整倍体5种类型。其中“欧洲李”为六倍体, $2n=6x=48$;“稠李”为四倍体, $2n=4x=32$ 。“杏李”“美洲李”“櫻桃李”等大多为二倍体, $2n=2x=16$;少量“櫻桃李”和“野生欧洲李”存在三倍体类型, $2n=3x=24$ 。

1.3 梅

在不同种的梅中存在有二倍体、四倍体及嵌合体。黄燕文等^[19]在梅的染色体研究中发现,栽培种的“果梅”“花梅”及“野梅”多为二倍体, $2n=2x=16$;林盛华等发现云南省栽培的“云南杏梅”多为二倍体, $2n=2x=16$,存在少量四倍体细胞^[20]。江苏省的“迟红”梅为二倍体和四倍体的嵌合体, $2n=4x=32$ 。

1.4 櫻桃

在不同种的櫻桃中存在有二倍体、三倍体和四倍体。其中野生种类多为二倍体,部分园艺品种中发现有多倍现象;栽培櫻桃均为多倍体,“中国櫻桃”均为四倍体;“欧洲酸櫻桃”染色体数目有2种类型: $2n=2x$, $2n=4x=32$;食用类櫻桃染色体数目有3种类型: $2n=2x=16$, $2n=3x=24$, $2n=4x=32$;“圆叶櫻桃”染色体数目有2种类型: $2n=2x=16$, $2n=3x=24$;观赏类的“十月櫻”“大叶早櫻”染色体数目均为 $2n=3x=24$;“中国櫻桃”染色体数目为 $2n=4x=32$ 。

2 核果类果树单倍体和多倍体产生的主要途径

2.1 自然发生途径

果树单性繁殖即果树孤雌生殖或孤雌生殖结果,生产中常见的有湖北海棠和部分核桃品种。据文献资料记载,自然界许多果树能自然产生单倍体,如李、杏、桃,但一般数量较少、频率低,自然情

况下存活率很低,不能应用于实践生产。多倍体植株可以通过自然芽变产生,常见实生芽变和无性系芽变。

2.2 利用人工诱变技术进行倍性育种

生产实践中常采用人工诱导途径选育多倍体植株,例如温度骤变、机械损伤、秋水仙素(Colchicine)、奈嵌戊烷(Acenaphthene)、吲哚乙酸(IAA)等措施诱发多倍体,其中秋水仙碱诱变多倍体植株在生产实践中应用较多。张新忠等研究发现,热激处理桃、李离体花枝 $2n$ 花粉 12 h, $2n$ 花粉比例仅为 13.33%~20.37%^[21]。王尚德等在诱导油桃“丽春”花芽研究中,采用 0.1%~0.2% 的秋水仙素溶液 10 mL + 饱和洗衣粉润湿剂 1 mL + 甘油保湿剂 1 mL, 处理 24~32 h, $2n$ 花粉比例为 44.1%, 且得花率高^[8]。

3 果树单倍体和多倍体的鉴定方法

主要依据形态、生理生化特征及染色体数目进行植物倍性的鉴定。

3.1 形态特征鉴定

3.1.1 形态特征

主要根据植株形态特征进行表型鉴定。王尚德对多倍体桃的花粉研究表明,多倍体桃的花粉变异大^[15]。其中,三倍体“02-22-49”>嵌合体“早红珠芽变”>二倍体。其单倍体与多倍体形态特征详见表1。

3.1.2 解剖结构鉴定

依据植株梢端组织发生层细胞的大小、叶片栅栏组织的厚薄等进行倍性鉴定。常采用切片染色法比较多倍体梢端组织发生层3层细胞和细胞核的大小,多倍体明显比二倍体大。这一方法的优越性,在于对组织发生层的3层细胞都可以进行鉴定。

3.1.3 生理生化特性鉴定

核果类果树生理生化特性鉴定指标见表2,主要是通过测定植株组织的营养物质、酶的活性等判

表1 多倍体桃倍性鉴定形态特征

倍性	根系	茎	生长势	叶片及气孔	花粉	种子	结实率
单倍体	发达	细弱,节间缩短	缓慢、弱,成活率高	叶窄、薄、色浅,气孔开张	变异,花粉粒小	小	高
多倍体	弱	粗,节间长	旺、快,成活率低	叶宽、厚、色深,气孔紧缩	变异大,花粉粒大	大	低,无籽

表2 核果类果树生理生化特性鉴定指标

倍性	营养物质	酶活性	组织水分	渗透压	呼吸作用	蒸腾作用
单倍体	少	强	少	小	强	强
多倍体	高	弱	多	大	弱	弱

断倍性。通常,单倍体植株水分含量低,渗透压小,呼吸作用和蒸腾作用强,组织代谢物质及营养物质含量高,开花及熟期晚。而多倍体植株水分含量高,渗透压大,呼吸作用和蒸腾作用弱,组织代谢物质及营养物质含量低,开花及熟期早。这是目前最准确、直接的鉴定倍性的途径和方法。该方法常用根尖、嫩梢、卷须等作试材进行染色体制片。目前柑橘、葡萄、草莓等植物的倍性鉴定,均采用染色体计数法,且得到了较理想的结果。

流式细胞鉴定法(Flow Cytometry, FCM)由流式细胞仪对于处于细胞分裂期的DNA含量进行检测,通过计算机统计分析,最后绘制出DNA(倍性)的分布曲线图。采用FCM方法,可以快速分析出高等植物细胞的倍性,已广泛应用于柑橘、葡萄、草莓等果树的倍性鉴定^[14]。

参考文献:

- [1] 张圣仓, 魏安智, 杨途熙. 果树单倍体和加倍单倍体(DH)技术研究与应用进展[J]. 果树学报, 2011, 28(5): 869-874.
- [2] 赵永钦, 吴新新, 郑禾, 等. 草莓‘甜查理’和‘章姬’花药培养及单倍体植株的获得[J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(5): 39-45.
- [3] 陈智炜. 柑橘单倍体-二倍体原生质体融合及其再生愈伤的倍性分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [4] HE D Y, SUN S, CUI D C, et al. Apple Haploid Induction by Pollination with High Dose Irradiated Pollen [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2001, 28(3): 194-199.
- [5] 沈德绪. 果树育种学[M]. 北京: 农业出版社, 1992.
- [6] ISLAM-FARIDI M N, MUJEEB-KAZI A. Visualization of Secale Cereale DNA in Wheat Germ Plasm by Fluorescent in Situ Hybridization [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 90(5): 595-600.
- [7] 郭振怀, 葛会波, 王秀伶, 等. 桃属植物染色体核型及种间亲缘关系分析[J]. 园艺学报, 1996, 23(3): 223-226.
- [8] 王尚德, 刘家琴, 兰彦平, 等. 秋水仙素诱导油桃2n花粉的研究[C]//2008年园艺植物染色体倍性操作与遗传改良学术研讨会论文集. 郑州, 2008: 13.
- [9] 王利虎, 吕晔, 罗智, 等. 流式细胞术估测枣染色体倍性和基因组大小方法的建立及应用[J]. 农业生物技术学报, 2018, 26(3): 511-520.
- [10] IWATSUBO Y, KAWASAKI T, NARUHASHI N. Chromosome Number of 193 Cultivated Taxa of *Prunus* subg. *Cerasus* in Japan [J]. Journal of Phytogeography and Taxonomy, 2002, 50: 21-30.
- [11] IWATSUBO Y, KAWASAKI T, NARUHASHI N. Chromosome Number of 41 Cultivated Taxa of *Prunus* subg. *Cerasus* in Japan [J]. Journal of Phytogeography and Taxonomy, 2003, 51: 165-168.
- [12] IWATSUBO Y, NARUHASHI N, IWATSUBO Y, et al. Chromosome Number of 36 Cultivated Taxa of *Prunus* subg. *Cerasus* in Japan [J]. Journal of Phytogeography and Taxonomy, 2004, 52: 73-75.
- [13] GERMANÀ M A. Doubled Haploid Production in Fruit Crops [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2006, 86(2): 131-146.
- [14] 王尚德, 刘家琴, 吉王鹏, 等. 秋水仙素诱导油桃‘丽春’2n花粉的研究[J]. 园艺学报, 2010, 37(7): 1155-1160.
- [15] 王尚德. 桃多倍体的花粉研究[C]//中国园艺学会桃分会第三届学术研讨会论文集. 西安, 2011: 63-67.
- [16] 尚宗燕, 苏贵兴. 我国扁桃属植物的染色体数[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 363-366.
- [17] 郭振怀, 吕增仁, 李桂芹, 等. 山桃和甘肃桃染色体核型分析[J]. 河北农业大学学报, 1986, 9(4): 1-5.
- [18] 郭振怀, 贾希有. 新疆桃和新疆甜仁桃染色体核型分析[J]. 河北农业大学学报, 1989, 12(1): 22-26.8
- [19] 黄燕文, 包满珠, 沈清宇, 等. 野梅和栽培梅染色体数目及形态的研究[J]. 北京林业大学学报, 1995, 17(S1): 37-41, 179-180.
- [20] 林盛华, 褚孟娜. 梅染色体研究[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(2): 91-93.
- [21] 张新忠, 刘国俭. 热激处理对桃, 李离体花枝2n花粉产生的影响[J]. 园艺学报, 1998, 25(3): 292-293.