

桢楠多胚现象与多胚苗形态发育的研究

余道平^{*1 2 3} 彭启新^{1 3} 胡庭兴⁴ 谢孔平^{1 3} 李小杰³

(1. 四川省自然资源科学研究院, 四川 成都 610041;

2. 四川省生物资源保护与可持续利用重点实验室, 四川 成都 610041;

3. 峨眉山生物资源实验站, 四川 峨眉山 614201; 4. 四川农业大学, 四川 雅安 625000)

摘要:通过对桢楠种子的解剖, 观察分析了桢楠种子多胚的形态和着生位置; 对其进行播种获得幼小植株, 观察其幼苗的生长发育状况, 取根尖进行了体细胞染色体数目鉴定。结果表明, 桢楠种子多胚率为12.4%, 多胚形态和着生位置各异。多胚再生植株的生长发育特点也不相同。多胚苗体细胞染色体数目是 $2n=24$, 未发现染色体的数目变异。

关键词: 桢楠; 多胚; 多胚苗; 无融合生殖

中图分类号: S722.3

文献标识码: A

文章编号: 1003-5508(2015)01-0035-03

Research on Polyembryony of *Phoebe zhennan* and Morphogenesis of its Polyembryonic Seedlings

YU Dao-Ping^{*1 2 3} PENG Qi-Xin^{1 3} HU Ting-xing⁴ XIE Kong-ping^{1 3} LI Xiao-Jie³

(1. Sichuan Nature Resource Institute, Chengdu 610015, Sichuan, China;

2. Sichuan Provincial Laboratory for Biotic Resource Protection and Sustainable

Utilization Chengdu 610015, Sichuan, China;

3. E mei Mountain Biotic Resource Experimental Station, E mei Mountain 614201, Sichuan, China;

4. Sichuan Agricultural University, Yaan 625000, Sichuan, China)

Abstract: The polyembryony of *Phoebe zhennan* seeds was found through their anatomy. Observation was conducted on the shape and position of the polyembryony seeds of *Phoebe zhennan*. Besides, analysis was made of the morphology and growth characters of generated seedlings. The results showed that its polyembryony rate was 12.4%. The shape and position of the embryos in seeds and growth characters of the seedlings with polyembryony in all the materials tested were very different. Somatic chromosome number of polyembryonic seedlings was $2n=24$, and no change in chromosome number was observed.

Key words: *Phoebe zhennan*, Polyembryony, Polyembryonic seedling, Apomixis

桢楠(*Phoebe zhennan*)为樟科(Lauraceae)楠属(*Phoebe* Nees)高大乔木,产于四川、陕西、云南等省。野生海拔100 m以下,分布区位于亚热带常绿阔叶林区西部,四川、湖北西部和贵州西部都有分布。桢楠是我国二级保护树种,树干高大、通直、挺拔,树冠浓荫,四季常青,常见于风景名胜区、寺庙等。在园林上常作为庭荫树或行道树,为我国著名

的观赏树种之一。在植物的一个胚珠中包含两个或两个以上种胚的现象称为多胚现象^[1]。桢楠的多胚现象已有部分报道^[2,3],但对桢楠多胚的形态特征和多胚着生位置等研究报道不多。本研究观察了桢楠多胚种子的形态特征及多胚苗的生长情况,观察了多胚苗体细胞染色体数目,旨在了解桢楠多胚形态特征和多胚苗的生长发育情况,并探讨其遗传

收稿日期: 2014-10-12

基金项目: 四川省“十二五”农作物育种攻关项目-突破性林(竹)新品种选育(2011NZ20098-10)和四川省科技基础条件平台-四川省植物资源共享平台建设项目共同资助。

作者简介: 余道平(1978-)女,汉,四川内江人,硕士,助理研究员,主要从事植物繁育研究工作。

* 通讯作者: E-mail: 550265856@qq.com

基础。

1 材料与方法

1.1 材料

桫欏种子于2013年11月初采自峨眉山海拔1000 m分布区,种子经揉撮除去外种皮,冲洗干净后用湿沙储藏备用。

1.2 方法

1.2.1 多胚形态及其发育观察

2014年3月将桫欏种子沿着种缝掰开,观察多胚种子中胚的形态与着生位置,并统计多胚率。将种子播于穴盘中培养,观察多胚苗的形态特征及生长发育状况。

1.2.2 多胚苗体细胞染色体数目鉴定

切取单胚种子和多胚种子萌发的幼嫩根尖为材料,用 $0.002 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 8-羟基喹琳预处理5 h, 4°C 冰箱中卡诺固定液固定20 h,在 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸中(水浴 60°C)溶液解离7 min~8 min,取出用水漂洗,切取根尖置于载玻片上,改良品红染液染色,过一下酒精灯(充分着色)放置约10 min,压盖玻片,敲片,于100倍油镜下观察30个细胞,统计染色体数目并拍照。

2 结果和分析

2.1 多胚现象观察结果

通过对450粒桫欏种子的观察,多胚种子数共56粒,多胚率为12.4%。多胚种子胚数有2胚、3

胚、4胚,依胚数可把桫欏多胚种子分为双胚型、3胚型、4胚型。其中双胚出现的频率较高,占9.0%,3胚率为2.4%,4胚率0.6%。

2.2 胚的形态与着生位置

桫欏多胚种子在外形和内部结构上与单胚种子有些差别,多胚种子外形不规整,有凸起,且2-4瓣。单胚种子的胚着生在种子的底部,子叶朝向种子顶部,胚具有发育完整的子叶和胚轴。本研究发现桫欏种子多胚的形态及其着生部位存在多样性,如图2所示。从多胚种子中切取胚进行胚形态的观察,发现胚有大胚和小胚之分,大胚的形态大小和生长发育状况与单胚种子的胚一致,胚发育正常;小胚个体小,有些发育完整,有胚轴和子叶,一些发育不完整。对胚的着生位置观察后发现,单胚种子的胚一般着生在种子的底部,而多胚种子的胚可出现在种子的底部、顶部、中部和中部的两侧;双胚有紧靠着的,有分开的。依多胚在种子内的着生位置可将双胚种子初步划分为3种类型:(1)双胚紧靠着生在种子底部(图2-B,E),(2)双胚紧靠着生在种子中部的两侧(图2-F,G);(3)双胚分离着生(一胚在种子底部,一胚在种子中部或顶部)(图2-C,D,H)。3胚种子一般分离着生,一胚着生在种子底部,另两胚在种子中上部(图2-I,J,K)。4胚种子中的大胚着生在种子底部,其他3胚分离着生在种子中部或顶部(图2-L)。

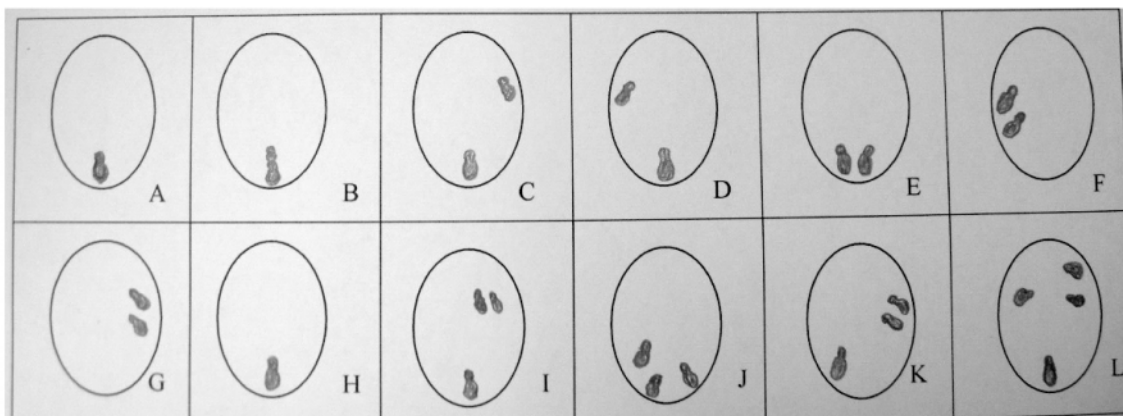


图1 桫欏多胚形态和位置示意图

Fig. 1 The shape and position of polyembryony in *Phoebe zhennan* seeds

A. 单胚正常胚位; B. 大胚在正常胚位,大小胚瓦叠着; C、D. 两胚分离,一胚在正常胚位,另一胚位于中部一侧; E. 双胚均在正常胚位紧靠着; F、G. 两胚位于中部两侧; H. 大胚在正常胚位,小胚位于顶部; I、K. 3胚,大胚在正常胚位,其他两胚位于中部; J. 3胚均在正常胚位紧靠着; L. 4胚,大胚在正常胚位,其他3胚位于中上部。

2.3 多胚再生植株的生长发育状况

多胚种子在穴盘里培养 20 d 后开始发芽,经 40 d 的生长发育,发现多胚苗在长势、个体大小、根、茎、叶器官发育等性状上各异;多胚苗存在大、小株,同株的比率少,多胚植株均具有自己独立的根和茎,在所观察的幼苗中,未发现多胚苗连体或无胚轴或无根等现象。双胚植株的形态可归纳为两种类型:(1) 双同株,即两植株大小、长势相同、生长发育正常(图 2-A);(2) 大小株,即两植株生长发育正常,但一株长势正常另一株长势稍弱(图 2-B)。在 3 胚和 4 胚再生植株中,可见 1~2 个植株生长正常,其余的长势较弱(图 2-C)。

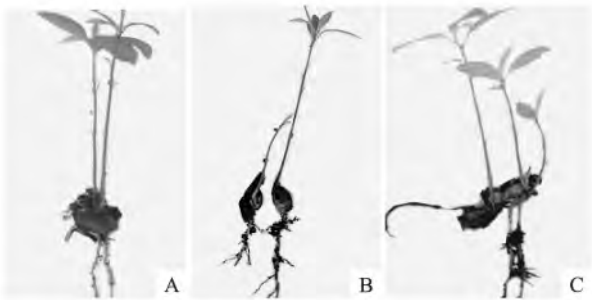


图 2 多胚植株发育状况

Fig. 2 Developmental status of polyembryonic seedlings

A. 双同株; B. 大小株; C. 3 胚植株

2.4 多胚植株体细胞染色体数目鉴定结果

对桉楠单胚植株、多胚植株进行体细胞染色体数目鉴定,结果发现它们的体细胞染色体数目相同,均为二倍体($2n=24$) (图 3),未发现染色体数目异常的情况,说明桉楠多胚植株是二倍体植株。

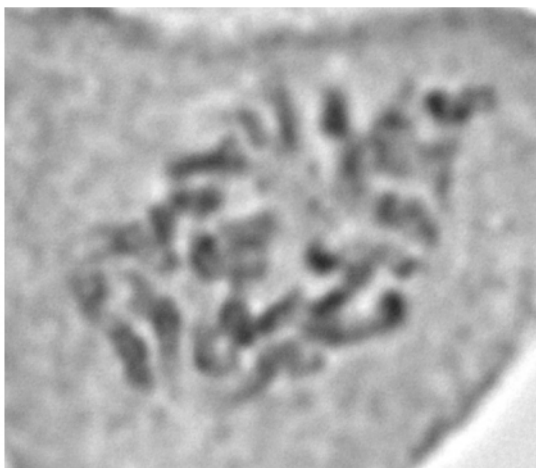


图 3 桉楠多胚苗体细胞染色体

Fig. 3 Somatic chromosomes of *Phoebe zennan* polyembryonic seedlings ($2n=24$)

3 结论与讨论

由 1 粒多胚种子可以同时萌发出两株或两株以上的幼苗,这种一籽多苗称之为多胚苗^[4]。有许多研究表明植物的多胚现象与其无融合生殖现象具有一定的相关性。因此许多学者试图寻找多胚苗材料,进而从中筛选出具有无融合生殖特性的基因资源^[5-6]。本试验是通过解剖、观察胚的形态来判断桉楠的单胚、多胚比率和胚着生位置的,这与张蕾^[7]的研究方法较为一致,而黄宇^[8]、莫饶等^[9]是依据多胚苗形成情况来判定的。本研究发现桉楠多胚率为 12.4%,多胚在种子内的位置不定,且形成的多胚苗的生长发育也有差异。对于桉楠多胚的形成是否为无融合生殖还有待于进一步弄清其胚胎发育特性,以及多胚发生频率是否与其遗传基因、环境因子有关,都还有待于进一步研究,这将对其开展育种工作具有重大意义。

本研究还对桉楠单胚苗、多胚苗的体细胞染色体数目进行了鉴定,结果发现单胚苗、多胚苗均为二倍体材料($2n=24$),这与莫饶等^[10]在芒果多胚研究中的结果一致。为了了解多胚种子后代在遗传基因上的关系,还需进一步开展其染色体核型分析、SSR 标记等研究。

参考文献:

- [1] 黄群策,孙敬三.被子植物多胚苗的研究进展[J].植物学通报,1998,15(2):1~7.
- [2] 余道平,彭启新,李小杰,等.细叶楠穴盘育苗技术[J].林业实用技术,2012(12):39~40.
- [3] 舒金枝.桉楠容器育苗[J].广西林业科学,2009,38(3):45~46.
- [4] 冯辉,翟玉莹.韭菜多胚苗及其与无融合生殖关系的研究[J].园艺学报,2007,34(1):225~226.
- [5] 冯辉,赵钟志.韭菜无融合生殖的遗传特性及其与多胚性关系的研究[J].沈阳农业大学学报,2010,41(3):270~274.
- [6] 张斯淇,徐强,邓秀新.无融合生殖与柑橘多胚现象的研究进展[J].植物科学学报,2014,32(1):88~96.
- [7] 张蕾,葛钧.平邑甜茶多胚现象研究[J].安徽农学通报,2008,14(21):61~62.
- [8] 黄宇.闽楠种子萌发与多胚苗研究[J].福建林业科技,2014,41(3):27~31.
- [9] 莫饶,郑成木,朱稳,等.咖啡多胚现象与多胚苗形态发育的研究[J].植物学通报,2004,21(2):189~194.
- [10] 莫饶,罗远华,周世民,等.几个芒果品种的胚性及多胚苗遗传分析[J].热带亚热带植物学报,2005,3(6):475~479.