

5个黄皮品种实生苗倍性鉴定

何业华¹, 王瑞霞^{1,2}, 罗吉¹, 欧阳若¹, 叶自行¹, 林顺权¹, 高爱平¹, 谭耀文³

(¹华南农业大学园艺生物技术研究所, 广州 510640; ²中国科学院西双版纳热带植物园, 云南勐腊 666303;

³广州市果树研究所, 广州 510450)

摘要: 酸解去壁及低渗处理后, 对根尖细胞进行压片, 对从城黄皮、岐山屈督黄皮、甜黄皮、鸡心黄皮和郁南无核黄皮等 5 个品种的实生苗进行倍性鉴定, 结果显示, 它们均为二倍体, $2n=2x=18$, 未发现随体、多倍和混倍现象。

关键词: 黄皮; 染色体; 倍性鉴定

中图分类号: S666.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-9980(2007)05-696-03

Ploidy identification in the Seedlings of 5 wampee cultivars

HE Ye-hua¹, WANG Rui-xia^{1,2}, LUO Ji¹, OUYANG Ru¹, YE Zi-xing¹, LIN Shun-quan¹, GAO Ai-ping¹, TANG Yao-wen³

(¹Institute of Biotechnology for Horticultural Crops, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510640 China;

²Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Yunnan 666303 China; ³Guangzhou Fruit Research Institute, Guangzhou, Guangdong 510450 China)

Abstract: Root tips of 5 wampee [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels] cultivars, i.e. Congcheng, Qishanqudu, Sweet, Chicken Heart and Yunan Seedless, were de-walled with acid method and subjected to hypotonic treatment before squashed on slide. Ploidy analysis showed that the seedlings of such 5 cultivars were all diploids, with a chromosome number of $2n=2x=18$. No satellite, polyploid or mixoploid were found.

Key words: Wampee [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels]; Chromosome; Ploidy identification

黄皮 [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels] 是芸香科 (Rutaceae) 黄皮属 (*Clausena*) 植物, 原产我国华南地区, 为我国热带亚热带重要的特产果树。广东是黄皮的主产区, 有近 20 个品种, 其中郁南无核黄皮是著名的优良品种, 也是我国唯一大面积栽培的无核品种, 一直有人推测其为 3 倍体^[1]。迄今仅见对鸡心黄皮染色体数目进行过观察^[2-3], 因此研究无核黄皮及一些栽培品种的倍性, 对开展黄皮杂交育种及其它细胞学研究有重要意义。作者对郁南无核黄皮自然授粉后代的染色体数目进行了观察, 并与其它 4 个有核黄皮品种作了比较。

1 材料和方法

1.1 材料

供试果实采自于广州市果树研究所, 品种为郁南无核黄皮、从城黄皮、岐山屈督黄皮、甜黄皮和鸡心黄皮, 每个品种选 3 株, 各供试品种均为 19a 生。

1.2 方法

取供试品种种子, 播种到土壤中。待根长约 1~2 cm 时, 于上午 9:30—11:00 取根尖。每个品种各取根尖 20 个 (来自 20 粒种子), 重复 5 次, 每个根尖制成 1 片压片。

将所取根尖放入饱和对二氯苯或 0.025 mg/L 的 8-羟基喹啉中, 在 10~20℃ 下, 预处理 2~3 h, 蒸馏水冲洗 2 次。将预处理过的材料用 0.075 mg/L 氯化钾溶液前低渗 20 min, 倒去氯化钾溶液, 蒸馏水冲洗 3 次。

将前低渗材料在 5 mg/L 盐酸中, 室温下酸解 25~35 min, 倒去盐酸。将解离材料在室温下于蒸馏水中后低渗 15~20 min。将后低渗的材料用卡诺氏液 (95% 酒精 3 份 + 冰醋酸 1 份) 在 4℃ 冰箱中固定 12~24 h。

将固定好的材料用 70% 乙醇冲洗 2 次, 再用蒸馏水冲洗 2 次。接着, 截除根冠和伸长区部分, 只保留分生区, 用纱布包裹起来, 放入 4% 硫酸铁铵溶液中媒染 3 h, 蒸馏水冲洗 5~6 次。最后用 0.5% 苏木精染色过夜。

收稿日期: 2007-02-28 接受日期: 2007-06-07

基金项目: 广东省重大科技专项 (2004A20102002)

作者简介: 何业华, 男, 教授, 博士, 研究方向果树生物技术。Tel: 020-85288262, E-mail: heyehua@hotmail.com

取染色后的材料,放在载玻片上,将分生区切成数小块,然后滴上 1 滴 45%冰醋酸,加盖玻片。先用解剖针一类的东西,在盖玻片上轻轻敲打,使材料溃散。用火轻烤载玻片背面,然后继续轻敲,待材料呈云雾状即可。把片子放到冰箱中,待结冰后迅速揭下盖玻片,放于 37℃烘箱中,待完全干燥后,用中性树胶封片。

在 BHO₂ 型 Olympus 显微镜下观察并显微摄影。每制片至少观察 10 个清晰可数的中期分裂相,以确定其倍性水平。

2 结果与分析

用黄皮的根尖为材料制片,杂质较多,为了染色充分,把常规压片法与酶解去壁低渗法结合起来进行压片。结果表明从城黄皮、岐山屈督黄皮、甜黄皮、鸡心黄皮和郁南无核黄皮产生的有活力的种子,染色体数为 $2n=2x=18$ (图版),均为二倍体,未发现随体、多倍和混倍现象。

3 讨 论

郁南无核黄皮的形成机理尚不清楚,有人根据其花粉败育率高来推测它为三倍体变异株^[1],但迄今未见其染色体数目方面的报道。据我们观察,郁南无核黄皮胚退化时期约在花后 38 d 左右^[4],而在自然授粉条件下,郁南无核黄皮成熟果内,绝大多数无种子,少数果内有 1 粒正常或退化的种子,本实验所取的 19 年生郁南无核黄皮的无核率在 80%以上。本次实验所用的郁南无核黄皮的材料是在自然授粉条件下产生的有活力种子,这些种子经过检测染色体数为二倍体($2n=2x=18$),尚不能证明其母本(郁南无核黄皮)是否也是二倍体。

在染色体观察研究中取材时间是关键,不同植物的细胞周期及高峰期各不相同,尤以不同科属植物间的差异更为显著^[3]。在本实验中,黄皮的取材时间主要集中在上午 9:30—11:00,品种间无差异,而其余时间根尖细胞分裂缓慢,很多细胞核未溶解,做出来的片子找不到好的染色体视野。材料处理过程中,预处理的目的是为了阻止纺锤体的活动,但并不抑制前期的细胞分裂,以获得更多的中期分裂相,同时使染色体缩短变粗,并使之分散和使染色体形态更清晰,便于染色体分散核计数。因此预处理时间的掌握在制片各环节中非常重要。

通过对每个品种 100 粒种子的根尖进行制片观

察,郁南无核黄皮中产生的有活力的种子及其它 4 个品种均为二倍体。其中,鸡心黄皮的二倍体与郭文武等^[2]、姜燕等^[3]的研究结果一致,对其余 4 个品种实生苗的倍性研究还是首次。

由于果树常有嵌合体存在,鉴定其品种染色体倍性最直接可靠的方法以用该品种无性繁殖植株的幼芽为材料,但由于黄皮枝、芽中酚类物质等杂质含量很高,制片质量极难达到染色体观测要求,均以实生苗根尖为材料^[2-3]。本研究所用材料为郁南无核黄皮产生的未败育种子萌发出的根尖。由于该品种与有种子黄皮品种混栽,实验所用的郁南无核黄皮种子可能是与其它黄皮品种的杂种,因此,所用根尖可能反映不出郁南无核黄皮的倍性。本实验结果显示,郁南无核黄皮产生的有活力的种子为二倍体,这虽然还不能说郁南无核黄皮无性繁殖植株也是二倍体,但据我们解剖观察和胚培养实验表明^[4],郁南无核黄皮无性繁殖植株的胚退化现象发生在开花后约 35~40 d,开花后 35 d 之前的幼胚均能诱导出生长的愈伤组织和开花后 30~35 d 幼胚诱导成苗能力来看,郁南无核黄皮也不像是三倍体,因此,对于郁南无核黄皮无性繁殖植株的倍性及其无核机理需要进一步的探讨。

参考文献 References:

- [1] WU J H, ZHAO X Y. Mechanism and gemplasm resources of non-seed *Clausena lansium*[J]. Guangxi Agricultural Science, 2004, 35 (2): 116-117. (in Chinese)
吴健华,赵向阳. 无核黄皮的形成机理及主要品种[J]. 广西农业科学, 2004, 35 (2): 116-117.
- [2] GUO W U, PANG X M, HUO H Q, DENG X X. Chromosome observation of Chinese wampee [*Clausena lansium* (Lour.)][J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2000, 19 (2): 166-167. (in Chinese)
郭文武,庞晓明,霍合强,邓秀新. 黄皮染色体数目观察[J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(2): 166-167.
- [3] JIANG Y, GUO Q G, LI C Y, LI X L, LIANG G L, XIE J H. Chromosome karyotype analysis of two species in *clausena*[J]. Journal of Southwest Agricultural University: Natural Science, 2005, 27 (4): 544-546.
姜燕,郭后高,李春艳,李晓林,梁国鲁,谢江辉. 黄皮属 2 个种的染色体分析[J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2005, 27 (4): 544-546.
- [4] WANG R X, HE Y H, LUO J, YU X L, HAN J Z, GAO A P. Embryo culture of Chinese wampee [*Clausena lansium* (Lour.)][J]. Journal of Fruit Science, 2006, 23(4): 581-586.
王瑞露,何业华,罗吉,余小玲,韩景忠,高爱平. 黄皮胚培养研究[J]. 果树学报, 2006, 23(4): 581-586.

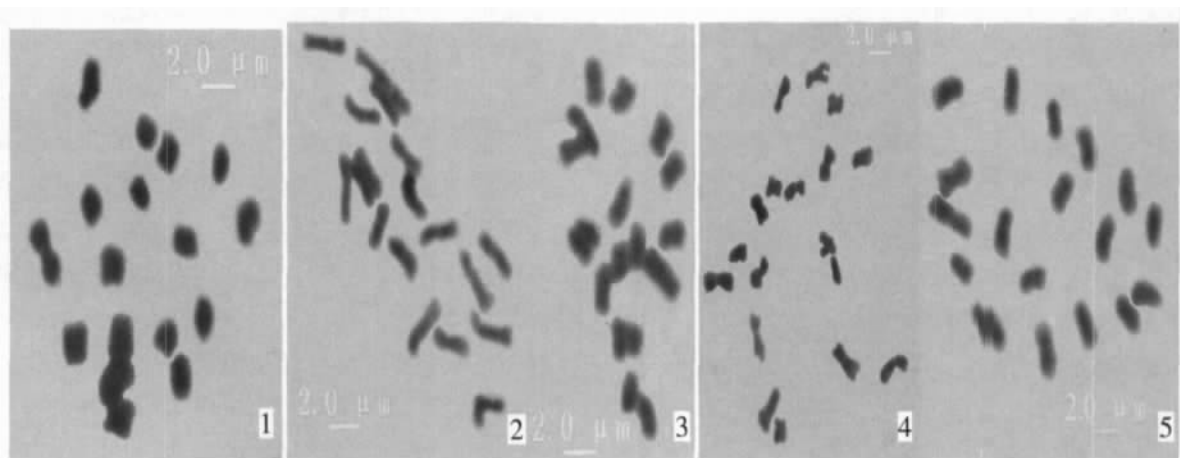


图 版 说 明

1. 从城黄皮; 2. 岐山屈督黄皮; 3. 甜黄皮; 4. 鸡心黄皮; 5. 郁南无核黄皮

Explanation of plates

1. Congcheng; 2. Qishanqudu; 3. Sweet; 4. Chicken Heart; 5. Yunan Seedless

欢迎订阅2008年《植物遗传资源学报》

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会主办的专业性学术期刊, 全国优秀农业期刊。该刊为中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、中国科学引文数据库来源期刊(核心期刊)、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊, 又被《中国生物学文摘》和中国生物学文献数据库、中文科技期刊数据库收录。据中国期刊引证研究报告统计, 2006年度《植物遗传资源学报》影响因子达0.872。

季刊, 大16开本, 128页。定价20元, 全年80元。各地邮局发行, 邮发代号: 82-643。国内刊号 CN11-4996/S, 国际统一刊号 ISSN1672-1810。

地址: 北京市中关村南大街12号 中国农业科学院《植物遗传资源学报》编辑部 邮编: 100081 电话: 010-62180257 62180279(兼传真) E-mail: zwyczyxb2003@163.com zwyczyxb2003@sina.com

欢迎订阅2008年《中国南方果树》

我国南方和西部惟一的全国性技术类果树期刊, 直接从生产、科研、教学人员的自由来稿中, 择优编发那些根据实践得到的第一手资料撰写的高新技术、应用技术原始文献。注重技术的创新性、先进性、实用性以及对生产的指导性和报道的时效性。报道树种囊括南方栽培的所有果树, 对落叶果树, 突出在南方温暖湿润气候条件下与北方不同的栽培管理、病虫害防治特点及适宜发展的品种。是果业从业人员的理想帮手。第三届国家期刊奖百种重点科技期刊, 中国期刊

方阵‘双效’期刊, 第三届重庆市‘十佳’科技期刊。

全国各地邮局(所)均可订阅, 邮发代号 78-13。双月刊, 16开本, 逢单月20日出版。定价5元, 全年价30元。电话: 023-68349196, 68349198(兼传真)

地址: 重庆市北碚区歇马镇柑桔研究所 邮编: 400712

投稿 E-mail: tougao@southfruit.com.cn

广告 E-mail: gg@southfruit.com.cn

欢迎订阅2008年《中国果业信息》

沟通果业信息, 聚焦产业发展, 立足市场分析, 预测市场动向, 探讨业界重点、热点、难点问题, 展示最新科技成果。融新闻性、实用性、指导性、可读性为一体, 为我国水果生产、科技、经贸活动以及各级政府业务主管部门、大型果场、龙头企业、产业协会规划决策提供参考。是果树行业各级管理人员, 科研及技术推广人员, 专业户, 企业、协会工作人员, 水果生产者与经营者等业界人士的必备刊物。包括产业论坛、区域果业、国外果业、标准化建设、果业快讯、成果快报、品种·引种等栏目, 果业快讯栏目又包括产业动态、产地传真、市场纵

横、产销行情、国际短波等小栏目。中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊, 中国期刊全文数据库全文收录期刊, 中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊。

全国各地邮局(所)均可订阅, 邮发代号 78-10。大16开本, 月刊, 每月20日出版。定价4元, 全年价48元。电话: 023-68349197, 68349198(兼传真)

地址: 重庆市北碚区歇马镇柑桔研究所, 邮编: 400712

投稿 E-mail: tougao@southfruit.com.cn

广告 E-mail: gg@southfruit.com.cn