

文章编号:1001-1498(2016)01-103-07

滇杨多倍体苗期叶片形态及光合生理比较分析

唐军荣^{1,2}, 李斌^{1,2}, 朱丽娜³, 张俊⁴, 何承忠², 李贤忠², 辛培尧^{1,2*}

(1. 西南林业大学, 云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南 昆明 650224; 2. 西南林业大学, 国家林业局西南地区生物多样性保育重点实验室, 云南 昆明 650224; 3. 西南林业大学生命科学学院, 云南 昆明 650224; 4. 云南省林业高级技工学校, 云南 昆明 650213)

摘要: [目的] 以前期研究诱导获得的滇杨种质为试验材料, 比较分析其苗期叶片形态及光合生理与基因剂量的关系, 为滇杨多倍体育种提供理论指导。 [方法] 利用前期研究所获得的滇杨多倍体当年生苗为材料, 测定其叶片大小、叶片厚度、栅栏组织厚度、气孔特性及叶绿素含量, 并以滇杨二倍体为对照, 分析滇杨不同程度多倍化后的叶片形态及光合生理特性。 [结果] 表明: 嵌合体及四倍体滇杨的叶片长、宽均大于二倍体植株; 滇杨嵌合体及四倍体叶片厚度分别为二倍体的 1.16、1.41 倍, 栅栏组织厚度分别为二倍体的 1.10、1.23 倍, 叶片单位视野内气孔数明显少于二倍体, 气孔体积则大于二倍体, 叶绿素总含量分别为二倍体的 127% 和 141%; 滇杨嵌合体及四倍体植株的净光合速率在日变化过程中均高于二倍体; 气孔导度、蒸腾速率则与二倍体差别较小; 嵌合体、四倍体及二倍体的胞间 CO₂ 浓度在日变化过程中变化不明显。 [结论] 滇杨多倍化后, 由于其基因数量的增加, 在叶片形态及光合生理特性等方面, 表现出了明显区别于其二倍体的剂量效应。

关键词: 滇杨; 多倍化; 遗传效应; 分析

中图分类号: S792.11

文献标识码: A

Analysis on Leaf Morphology and Photosynthesis Physiology of Polyploidized *Populus yunnanensis* Seedlings

TANG Jun-rong^{1,2}, LI Bin^{1,2}, ZHU Li-na³, ZHANG Jun⁴, HE Cheng-zhong²,
LI Xian-zhong², XIN Pei-yao^{1,2}

(1. Yunnan Provincial Key Laboratory for Forest Disaster Warning and Control, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China;

2. Key Laboratory of Biodiversity Conservation in Southwest Region of China, State Forestry Administration, Southwest Forestry University,

Kunming 650224, Yunnan, China; 3. Faculty of Life Science, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China;

4. Yunnan Forestry Senior Technical School, Kunming 650213, Yunnan, China)

Abstract: [Objective] The morphological and photo-physiological difference caused by genome dosage of different ploidies *Populus yunnanensis* were investigated, in order to provide theoretical guidance for *P. yunnanensis* polyploid breeding. [Method] Polyploid *P. yunnanensis* seedlings were obtained which were used as materials to determine the leaf size, leaf thickness, palisade tissue thickness, stomata characteristics and chlorophyll content compared with diploid *P. yunnanensis*. [Result] The results showed that all the leaf sizes of mosaic and tetraploid were larger than diploid. The leaf thicknesses of mosaic and tetraploid were 1.16 times and 1.41 times of that of the diploid, while the palisade tissues of mosaic and tetraploid were 1.10 times and 1.23 times thicker than that of the diploid. The stomata number of polyploidized leaf surface in per unit visula field was obviously fewer than that of the diploid, but the volum was larger than that of the diploid. The total chlorophyll contents in mosaic and tetraploid were re-

收稿日期: 2015-06-15

基金项目: 云南省森林灾害预警与控制重点实验室开放基金(ZK14A102); 云南省教育厅科学研究基金重大专项项目(ZD2015014); 云南省林业厅省级林业科技推广项目([2013]TSYN26); 国家林业局林业公益性行业科研专项项目(201104076)

作者简介: 唐军荣(1982—), 男, 汉族, 广西全州人, 硕士, 讲师, 从事森林植物遗传育种与培育方面的研究。

* 通讯作者: 男, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事林木遗传育种与繁育方面的教学与研究。E-mail: xpytgyx@163.com

spectively 127% and 141% of that of diploid. The net photosynthesis ratios of mosaic and tetraploid were faster than that of the diploid, while the stomatal conductance and transpiration rate of diploid were little different from the diploid, and the intercellular CO₂ concentration in the diurnal variation process did not change significantly in these materials. [Conclusion] The obvious genetic dose-effect was put up after the chromosome number increased. The theoretical basis and practical guidance were offered by the research and the important material foundation were provided for polyploidized *P. yunnanensis* clone as well.

Key words: *Pinus yunnanensis*; polyploidy; genetic effect; analysis

滇杨 (*Populus yunnanensis* Dode.) 是杨柳科 (Salicaceae) 杨属 (*Populus*) 青杨派 (Tacamahaca) 树种, 又名云南白杨、白杨树、东川杨柳等, 主产于云南、四川和贵州海拔 1 300 ~ 3 200 m 的山地^[1], 具有生长迅速、耐寒性高、成材较早和易于无性繁殖等特点, 但滇杨具有易感染杨树溃疡病、杨树黑斑病、易遭蛀干虫害的弊端, 致使其优良特性不能得到充分的发挥。目前, 滇杨植株大多以雄株为主, 雌株稀有, 遗传基础相对狭窄, 在一定程度上影响了对其不良性状的改良^[2]; 所以, 有必要利用多种非常规遗传育种手段, 对滇杨进行有效的改良, 创育滇杨新种质, 以达到充分利用其经济价值的目的。

在诸多的植物育种方法中, 多倍体育种是有效改良植物种质的方法之一, 可快速获得品质优、生长快、产量高及抗性强的林木新品种^[3]。和作物多倍体育种相同, 林木在多倍化后, 同样会依其多倍化程度的不同, 表现出不同于其二倍体的特征。由于基因剂量的增加, 不仅改变了植株的遗传组成, 同时还改变了相关基因的表达模式, 从而导致不同表型的出现^[4]。不同倍性材料间的比较分析都是基于多倍体和二倍体在细胞学、形态及生理生化等方面的差异而发展起来的^[5]。通常情况下, 多倍体常表现为叶片、气孔及叶绿素含量等性状的变异。如欧洲山杨 (*Populus tremula* L.) 天然三倍体的叶片表现出巨大性^[6]; 彩色马蹄莲品种 ‘Parfait’ 四倍体表现为叶色浓绿, 叶面积增大, 叶片更肥厚等特点^[7]; 泡桐四倍体植株与二倍体叶型有明显差异, 且四倍体的气孔较二倍体的长, 花器官也较二倍体大^[8]; 四倍体非洲菊植株叶片较对照厚, 且花朵更大、花梗更长^[9]。

目前, 关于杨树多倍性方面的研究已有报道, 白凤莹等^[10]对天然三倍体和二倍体的无性系进行了比较, 结果发现, 二者在胸径、材积、侧枝粗、气孔长度、气孔宽度、气孔密度等方面均存在极显著差异, 树高存在显著差异。王君等^[11]发现, 哲引 3 号杨 × 北京杨杂种三倍体比相同杂交组合二倍体在生长上

更有优势。石乐等^[12]对毛新杨 × 新疆杨子代的四倍体和三倍体植株的气孔进行比较发现, 倍性增加后, 其气孔增大, 单位面积气孔数减少; 而关于滇杨多倍体诱导仅见于陈杰等^[13]、辛培尧等^[14]的相关报道。试验对前期研究诱导获得的滇杨多倍体材料的苗期叶片形态及光合生理进行比较分析, 为滇杨乃至其他林木的多倍体育种工作提供理论依据和实践指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为西南林业大学提供的经组织培养结合秋水仙素诱导产生, 并经染色体数目鉴定的滇杨二倍体、嵌合体及四倍体的组培幼苗和半年生移植苗^[14]。

1.2 试验方法

1.2.1 形态分析 将不同倍性的滇杨进行组培炼苗移植, 移植半年后, 以二倍体滇杨为对照, 分别对滇杨嵌合体、四倍体的叶色及锯齿特点进行观察, 并用游标卡尺测量叶片长、宽及长宽比。

1.2.2 气孔鉴定 鉴于滇杨叶片表皮细胞难于撕取, 且撕取下来的叶表皮细胞含有大量叶肉, 不利于气孔的观察。试验利用市售指甲油或乒乓球溶于丙酮做成的糊状粘液为倒模材料, 均匀的涂抹于滇杨的叶表面, 待涂抹层自然风干后, 撕取叶表面的薄膜, 在 OLYMPUS BX51 显微镜 (40 ×) 下进行叶面气孔的观察。二倍体和多倍体各进行 15 个不同叶面的重复。

1.2.3 叶片厚度及栅栏组织厚度分析 试验参考李赞^[15]提出的试验方法, 对二倍体和多倍体材料组培苗分别取 5 个叶片进行徒手切片, 于 OLYMPUS BX51 显微镜 (40 ×) 下观察叶片厚度及栅栏组织厚度等, 选取 15 个均匀、破损少、效果良好的切片进行观察、拍照并测量。

1.2.4 叶绿素含量分析 根据叶绿体色素提取液

对可见光谱的吸收,利用分光光度计在某一特定波长测定其吸光度,即可根据公式计算出提取液中各色素的含量。具体操作为:称取 0.2 g 新鲜擦净的叶片,去掉叶脉,置于研钵中,加入 95% 酒精 5 mL 研磨成浆,再加入 10 mL 酒精继续研磨至组织变白,避光静置 3~5 min,而后过滤至直径 1 cm 的比色皿中,在波长 665、649 和 470 nm 下测定吸光度。使用 UNICO UV-2600 紫外可见分光光度计进行测量,每类材料重复 15 次,并按下式计算各色素含量。

叶绿素 a (mg · g⁻¹) = 12. 72 × A663 - 2. 59 × A645

叶绿素 b (mg · g⁻¹) = 22. 28 × A645 - 4. 67 × A663

叶绿素总量 c(mg · g⁻¹) = 叶绿素 a + 叶绿素 b
式中:A663 为波长 663 nm 的吸光值;A645 为波长 645 nm 的吸光值。

1.2.5 光合指标测定 利用“LI-6400”便携式光合作用测定系统,取 3 种不同倍性材料各 5 株,分别测

试每个单株从上往下数的第 3 个叶片(测试时间为 12 月初,植株由上至下均无嫩叶,由上往下第 3 个叶片表观上健康状况和生长状况均最良好),测定净光合速率(*Pn*)、气孔导度(*Gs*)、胞间 CO₂ 浓度(*Ci*)和蒸腾速率(*Tr*)4 个生理指标。以二倍体植株为对照,连同嵌合体、四倍体一起置于同等条件下,选择晴朗无风无云的天气进行光合指标的测定,从早上 9:00 开始至下午 17:00,间隔 2 h 测试 1 次,每株重复 3 次,取其平均值绘出日变化曲线。

1.3 数据统计分析

试验所有观测数据均采用 Excel 2007 软件和 SPSS 17.0 数据分析软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 形态特征

对不同倍性滇杨半年生幼苗进行叶颜色和锯齿特点的观察,并测定叶长、宽、长宽比等外部形态,将测定结果进行方差分析,结果见表 1。

表 1 不同倍性滇杨形态特征分析

类型	叶长 /cm	叶宽 /cm	长宽比	叶色	锯齿大小	生长状况
嵌合体	13.1 ± 1.1a	5.6 ± 0.3b	2.3a	墨绿至浅绿	巨大,较规则	良好
四倍体	10.3 ± 2.3b	7.0 ± 1.6a	1.4b	墨绿	巨大且不规则	良好
二倍体	9.3 ± 1.8c	3.9 ± 0.4c	2.3a	浅绿	较小且致密规则	良好

注:同一列中不同字母表示在 0.05 水平差异显著,下同。

由表 1 可知:不同倍性滇杨材料两两之间均在平均叶长及平均叶宽性状方面存在显著差异,其中,嵌合体和四倍体叶片整体较长,分别为 13.1、10.3 cm,而二倍体滇杨的叶相对较短(为 9.3 cm)。嵌合体和四倍体在叶长性状上分别为二倍体滇杨的 1.41、1.11 倍,且 3 种倍性材料在该性状上差异显著。在叶宽方面,嵌合体和四倍体滇杨分别为 5.6、7.0 cm,二倍体滇杨相对前二者较短(为 3.9 cm),嵌合体和四倍体在该性状上分别为对照的 1.44、1.79 倍,同样在 3 种类型间叶宽性状表现显著差异。由于嵌合体和二倍体滇杨的叶均呈菱形,因此,方差结果显示:这两类材料在长宽比方面没有显著差异,四倍体叶形为圆形,长宽比为 1.4,其与嵌合体和二倍体滇杨均存在显著差异。形态观察发现,与二倍体滇杨比较,嵌合体滇杨表现为叶色墨绿至浅绿,叶缘锯齿巨大,排列较规则,叶缘无波浪状,而四倍体表现为叶色普遍呈墨绿色,叶缘锯齿巨大且排列不规则,叶边缘呈波浪状,二倍体滇杨则表现为叶片浅

绿色,叶缘锯齿细小且致密,无波浪状。
可见,滇杨不同程度多倍化后,其在叶长和叶宽上均较二倍体材料有所增加,且叶色均浓于二倍体滇杨(图 1),这也正是染色体剂量增加后,植物所表现出来的遗传效应,即多倍体的巨大性。

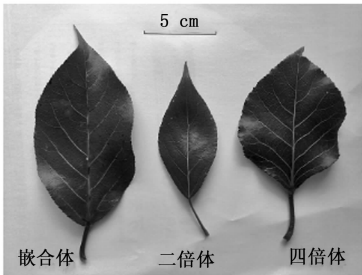


图 1 不同倍性滇杨叶片形态

2.2 叶片及栅栏组织厚度

对不同程度多倍化的滇杨幼苗进行叶片厚度及栅栏组织厚度的测定,以二倍体滇杨为对照,方差分析结果见表 2。

表 2 不同倍性滇杨叶片厚度及栅栏组织厚度比较

类型	μm	
	叶片厚度	栅栏组织厚度
嵌合体	$136 \pm 11\text{b}$	$85 \pm 9\text{b}$
四倍体	$165 \pm 10\text{a}$	$95 \pm 9\text{a}$
二倍体	$117 \pm 16\text{c}$	$77 \pm 10\text{c}$

嵌合体和四倍体滇杨的叶片厚度及栅栏组织厚度与对照之间都分别存在显著差异。嵌合体和四倍体滇杨叶片厚度分别为 136、165 μm ，二倍体滇杨的

叶片厚度为 117 μm ，嵌合体和四倍体叶片厚度分别为二倍体的 1.16、1.41 倍。可见，多倍化后，滇杨叶片均较二倍体叶片有所增厚；嵌合体和四倍体滇杨叶片的栅栏组织厚度分别为 85、95 μm ，均厚于二倍体滇杨材料（为 77 μm ），分别是二倍体滇杨栅栏组织厚度的 1.10、1.23 倍（表 2，图 2）。可见，滇杨多倍化材料的叶片厚度、栅栏组织厚度显著厚于二倍体叶片。

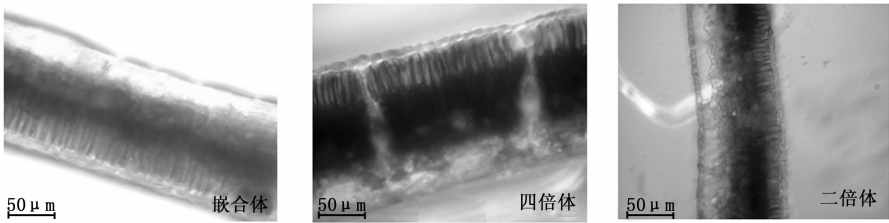


图 2 不同倍性滇杨叶片切片观察(40 ×)

2.3 气孔特性

对经过诱导的滇杨多倍体与对照二倍体气孔大小进行测定并作方差分析，结果见表 3。

表 3 不同倍性滇杨气孔特性分析

类型	气孔数/个	气孔长/ μm	气孔宽/ μm	长宽比
嵌合体	$18 \pm 4\text{b}$	$13.5 \pm 1.6\text{b}$	$8.1 \pm 1.3\text{b}$	1.6b
四倍体	$11 \pm 3\text{c}$	$17.0 \pm 1.5\text{a}$	$9.8 \pm 1.3\text{a}$	1.7a
二倍体	$28 \pm 5\text{a}$	$11.0 \pm 1.0\text{c}$	$7.4 \pm 0.9\text{c}$	1.4c

表 3 显示：滇杨嵌合体和四倍体分别与二倍体幼苗在单位视野内的气孔数量、气孔长及宽均存在显著差异。统计数据显示：嵌合体气孔数量在单位视野内平均为 18 个，气孔长度变化范围为 12.1 ~ 15.3 μm ，平均为 13.5 μm ，宽度变化范围为 7.4 ~ 9.0 μm ，平均为 8.1 μm ，长宽比为 1.6；四倍体气孔

数量在单位视野内平均为 11 个，气孔长度变化范围为 15.0 ~ 18.0 μm ，平均为 17.0 μm ，宽度变化范围为 8.5 ~ 11.0 μm ，平均为 9.8 μm ，长宽比为 1.7；而在单位视野内，二倍体滇杨的气孔数量平均为 28 个，气孔长度变化范围为 10.0 ~ 12.0 μm ，平均为 11.0 μm ，宽度变化范围为 6.1 ~ 8.0 μm ，平均为 7.4 μm ，长宽比为 1.4。不难看出，对照植株的气孔数量分别为嵌合体和四倍体的 1.55、2.54 倍，气孔长分别仅为嵌合体和四倍体的 81.48% 和 64.70%，气孔宽分别仅为嵌合体和四倍体的 91.35% 和 82.35%。40 × 显微镜下镜检观察时可以看出，2 种多倍体滇杨的气孔数目明显少于二倍体滇杨的气孔数目，表现为植物细胞多倍化后特征变异（图 3）。

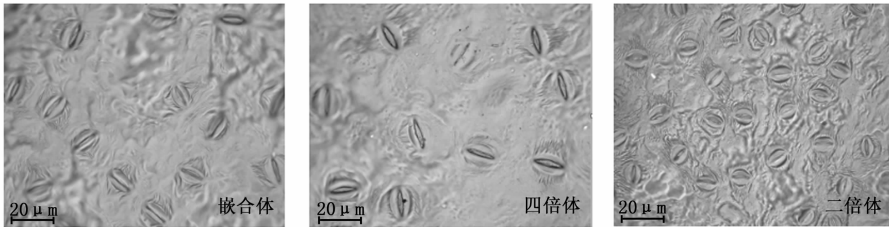


图 3 不同倍性滇杨叶片气孔观察(40 ×)

2.4 叶绿素及类胡萝卜素含量

由不同倍性滇杨材料叶绿素含量方差分析结果（表 4）可知：多倍体滇杨材料和二倍体滇杨材料在叶绿素含量方面存在显著差异。滇杨嵌合体叶绿素 a 含量为 18.297 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，四倍体叶绿素 a 含量为

表 4 不同倍性滇杨叶绿素含量 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

类型	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素总量
嵌合体	$18.297 \pm 0.497\text{a}$	$7.743 \pm 0.417\text{b}$	$25.114 \pm 2.323\text{b}$
四倍体	$16.910 \pm 0.073\text{b}$	$10.823 \pm 0.146\text{a}$	$27.732 \pm 0.219\text{a}$
二倍体	$11.929 \pm 0.219\text{c}$	$6.816 \pm 1.826\text{c}$	$19.672 \pm 0.636\text{c}$

16.910 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，而二倍体叶绿素 a 含量仅为 11.929

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,滇杨嵌合体和二倍体其叶绿素 a 含量分别为对照的 153% 和 142%;滇杨嵌合体叶绿素 b 含量为 $7.743 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,四倍体叶绿素 b 含量为 $10.823 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而二倍体的叶绿素 b 含量为 $6.816 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,嵌合体和四倍体的叶绿素 b 含量分别为对照的 114% 和 159%;滇杨嵌合体和四倍体的叶绿素总含量分别为 25.114 、 $27.732 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而对照二倍体叶绿素总含量仅为 $19.672 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,前二者的含量分别为后者的 128% 和 141%。可见,在滇杨多倍化后,随着 DNA 含量增加量的不同,其生物合成量明显增加。

2.5 不同倍性滇杨光合特性的日变化

2.5.1 净光合速率 由图 4 可知:二倍体、嵌合体和四倍体的净光合速率最高值均出现在上午 11:00 附近,分别为 15.0 、 21.9 、 $23.8 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,其中,净光合速率最高为四倍体,最低为二倍体植株,二倍体最大峰值分别为嵌合体和四倍体的 68.49% 和 63.03%;嵌合体和四倍体的净光合速率最低值均出现在下午 17:00 附近,分别为 11.6 、 $14.2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,而二倍体则出现较早(13:00 左右),其净光合速率最低值为 $11.1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。从整个净光合速率日变化过程可以看到:四倍体滇杨 > 嵌合体滇杨 > 二倍体滇杨。

2.5.2 气孔导度 由图 4 可知:3 种不同倍性材料的气孔导度最高值均出现在上午 11:00 附近,嵌合体、四倍体及二倍体的气孔导度分别为 0.592 、 0.681 、 $0.566 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,其中,气孔导度最高为四倍体,最低为二倍体植株,其最大峰值分别为嵌合体和四倍体的 95.61% 和 83.11%;嵌合体、四倍体和二倍体中,其气孔导度最低值均出现在下午 17:00 附近,分别为 0.186 、 0.324 、 $0.233 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。整个日变化过程中气孔导度上午高于下午,在上午 11:00 达到最高值,从上午 11:00 到下午 15:00 时下降最快,而后下降幅度趋于平缓,气孔导度呈明显的单峰现象,其日变化趋势与净光合速率(P_n)的日变化趋势在 13:00 以前具有较好的正相关性,13:00 以后则正相关性较差。

2.5.3 胞间 CO_2 浓度 由图 4 可知:嵌合体、四倍体和二倍体的胞间 CO_2 浓度最高值均出现在上午 9:00 附近,分别为 288 、 299 、 $330 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;嵌合体和二倍体最低值出现在下午 17:00 附近,分别为 244 、 $272 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,四倍体最低值则出现在下午 15:00,胞间 CO_2 浓度为 $252 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。整个日变化过程中,胞间 CO_2 浓度在不同的群体之间差别不明显,从上午 9:00 至下午 17:00,胞间 CO_2 浓度总体呈出缓慢下降的趋势。

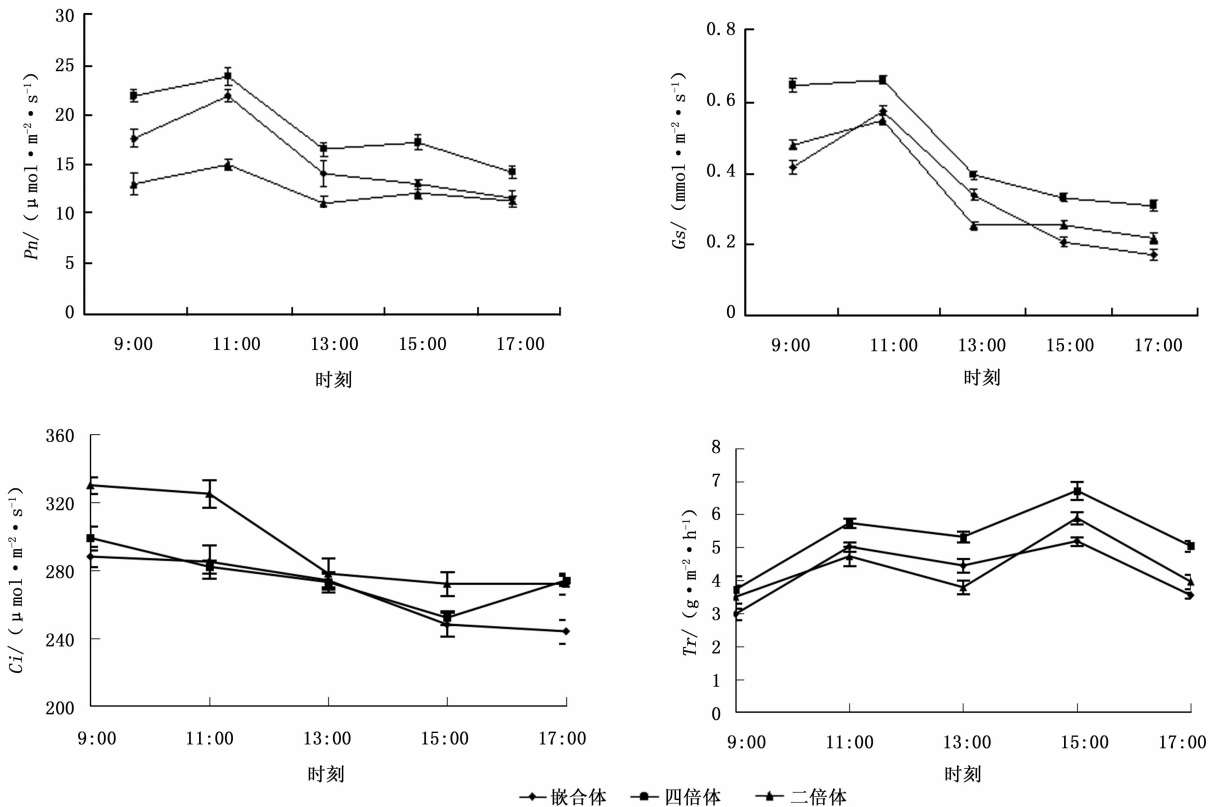


图 4 不同倍性滇杨净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和蒸腾速率(Tr)的日变化

2.5.4 蒸腾速率 由图 4 可知:嵌合体、四倍体和二倍体的蒸腾速率最高值均出现在下午 15:00 附近,分别为 5.19 、 6.72 、 $5.89 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$;蒸腾速率最低值则出现在上午 9:00 附近,分别为 2.98 、 3.72 、 $3.50 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,由于中午 13:00 较强的阳光照射,导致部分气孔关闭,因此出现了蒸腾速率低于临近的 2 个测试时间点 11:00 和 15:00。蒸腾速率整个日变化过程出现了明显的双峰现象。

综上,无论是嵌合体还是四倍体滇杨,其净光合速率均高于二倍体,多倍体特征明显;净光合速率(P_n)和气孔导度(G_s)以及蒸腾速率(T_r)呈现不明显正相关现象,胞间 CO_2 浓度(C_i)在日变化过程中变化不明显。可见,由于基因的剂量效应,多倍体滇杨的光合特性表现出明显差异。

3 讨 论

植物经诱导产生多倍体后,可产生区别于其对应二倍体的明显变异,这种变异可通过形态特征、细胞特征、解剖结构以及生理生化特性等表现。植物多倍体最直接的遗传效应就是细胞体积的增大,在外观形态上通常具有明显差别,其典型的特征便是其巨型性。试验中将滇杨嵌合体和四倍体材料与对照的二倍体滇杨进行叶片长、宽的测量及叶色、叶缘锯齿数及锯齿形态的比对,发现滇杨嵌合体和四倍体植株,其叶片长分别为二倍体滇杨的 1.41 、 1.11 倍,叶片宽分别为二倍体滇杨的 1.44 、 1.79 倍。同时,多倍化滇杨的叶色均较二倍体更浓绿,叶缘锯齿数较二倍体更大且排列不及二倍体整齐致密。这与王侠剑^[16]在对桑树进行多倍化处理时的研究结果相同,多倍化桑树同样表现为叶幅变大,叶色深绿,叶面较粗糙的现象。另有研究发现,三倍体毛白杨当年生的叶片最宽甚至可以达到 53 cm ^[17]。李凤兰等^[18]对所获得的白杨三倍体植株叶片面积与其亲本、二倍体进行比较,其各相关指标均大于后两者;然而,胡晓丽^[19]在对白杨杂种三倍体进行叶面积测定时发现,尽管大多数三倍体杂种表现为巨型性,但也存在部分三倍体叶面积小于二倍体的现象。在叶片厚度上,嵌合体和四倍体滇杨植株叶片厚度分别为二倍体的 1.16 、 1.41 倍,其栅栏组织厚度分别为二倍体的 1.10 、 1.23 倍,多倍化植株均较二倍体滇杨在叶片厚度和栅栏组织厚度上更厚,这与矮牵牛多倍体叶片厚度的研究结果相同^[20];而在苹果、梨、草莓的不同倍性植株叶片解剖研究表明,多倍体仅

在栅栏组织细胞长度上有增加,对于叶片厚度和海绵组织厚度在倍性之间并没有差异,因此认为多倍化后的植物材料,其叶片及栅栏组织的变厚并不是绝对的^[15]。同样,国内也有学者在对青杨派树种进行多倍体诱导研究时,发现了这种现象^[11]。可见,植物多倍化后,由于基因剂量效应,通常会表现出营养和生殖器官的巨型性,但并不是所有的多倍体均表现为这种遗传效应。

叶片气孔性状通常较为稳定,易于观察,常应用于植物不同倍性间的比较分析^[21-24]。试验中,滇杨四倍体与嵌合体的气孔数量在单位面积内明显少于滇杨二倍体的气孔数量,这与美洲黑杨 \times 小叶杨的杂种(*P. deltoides* Marsh. \times *P. simonii* Carr.) 多倍体^[25]、甜叶菊四倍体^[26]等的研究结果相一致。此外,叶绿素含量,光合特性等指标^[27]在多倍体比较时也是重要的分析指标。在试验中发现,滇杨嵌合体和四倍体叶绿素 a 含量分别是对照二倍体的 153% 和 142% ,叶绿素 b 含量分别是对照二倍体的 113% 和 159% ,叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均高于二倍体,这与皇家嘎啦苹果^[28]、西瓜多倍体^[29]的研究结果相同。在光合特性测定中,净光合速率与气孔导度和蒸腾速率,正常情况应该为正相关的关系,而上述 3 项指标与胞间 CO_2 浓度应该为负相关关系。试验中发现,净光合速率与气孔导度正相关一致性较好,最高峰与最低峰以及双峰比较一致的出现在同一时间点,蒸腾速率与这两性状的正相关性表现不一致,主要原因可能是测试时间为 12 月初,气温相对较低,上午 9 点和下午 5 点约为 12°C ,中午 19°C ,气温较低以及冬季的弱光照引起了蒸腾速率的减慢。胞间 CO_2 浓度与上述 3 个性状的负相关特性并不明显,表现为 CO_2 浓度在 1 天当中没有发生显著的变化,且不随净光合速率的改变而发生变化,这说明在弱光条件下, CO_2 浓度对净光合速率的影响较小。明显可见,由于多倍化后滇杨基因的剂量增加而表现出明显生理方面的遗传效应。

表型性状的测定是研究植物遗传变异的一种快捷途径,特别是在短期内对种质变异资源进行评价时,常作为一种重要的评价手段;而植物的叶片形态和光合生理与植物的新陈代谢关系紧密,可作为一些林木品种遗传改良的重要指标。试验比较了不同倍性滇杨苗期的叶片形态和光合生理等表型性状,这些指标与滇杨速生性有较大的关联性,其研究结果较好地反映了不同倍性滇杨间的表型差异;但由

于林木新种质的培育及鉴别,所需周期长,为了更加科学,今后还需要对滇杨多倍体材料进行多点区域试验,并对不同倍性滇杨的生长量、适应性等作进一步的跟踪调查和验证,从而作出更加准确、科学的结论。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1984.
- [2] 何承忠,张志毅,陈宝昆,等. 滇杨遗传改良策略初论[J]. 西部林业科学,2004,33(1):44-48.
- [3] 康向阳,王 君. 杨树多倍体诱导技术研究[M]. 北京:科学出版社,2010.
- [4] 罗向东,戴亮芳,钱春桃,等. 黄瓜属不同倍性异源多倍体的形态及生理特性分析[J]. 西北植物学报,2008,28(3):542-546.
- [5] Dhooghe E, Van L K, Eeckhaut T, *et al.* Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2011,104(3):359-373.
- [6] 李 云. 杨树三倍体选育研究进展[J]. 植物学通报,2001,18(4):451-458.
- [7] 刘晓静,华小平,陆 波,等. 彩色马蹄莲品种‘Parfait’多倍体诱导及其生物学特征变化[J]. 植物资源与环境学报,2014,23(3):81-85,101.
- [8] Tang Z Q, Chen D L, Song Z J, *et al.* In vitro induction and identification of tetraploid plants of *Paulownia tomentosa* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2010,102(2):213-220.
- [9] Saikat G, Nirmal M, Somnath B, *et al.* Induction and identification of tetraploids using in vitro colchicine treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2011,106(3):485-493.
- [10] 白凤莹,曾青青,康 宁,等. 毛白杨基因库优树倍性检测及性状对比分析[J]. 北京林业大学学报,2015,37(4):113-119.
- [11] 王 君. 青杨派树种多倍体诱导技术研究[D]. 北京:北京林业大学,2009.
- [12] 石 乐,张平冬,毛彦科,等. 高温处理诱导染色体加倍获得白杨杂种多倍体[J]. 核农学报,2012,26(8):1118-1123.
- [13] 陈 杰,周 军,孙正海,等. 组织培养结合秋水仙素诱导滇杨多倍体的研究[J]. 云南农业大学学报:自然科学版,2013,28(2):251-256.
- [14] 辛培尧,陈 杰,唐军荣,等. 滇杨多倍体的诱导研究[J]. 中南林业科技大学学报:自然科学版,2014,34(3):24-28,57.
- [15] 李 贇. 果树多倍体倍性鉴定方法的研究[D]. 泰安:山东农业大学,1997.
- [16] 王侠剑. 桑树多倍体植株育成初报[J]. 蚕业科学,1981,7(2):83-86.
- [17] 房桂干,邓拥军,李 萍. 三倍体毛白杨制浆性能的评价[J]. 林业科技管理,2001(增刊):87-90.
- [18] 李凤兰,张志毅,张民侠. 白杨染色体加倍技术研究及三倍体育种(Ⅲ)-加倍体某些形态特征的观察[J]. 北京林业大学学报,1994,16(2):15-18.
- [19] 胡晓丽. 三倍体毛白杨纸浆材新品种产业化应用关键技术研究[D]. 北京:北京林业大学,2006.
- [20] 魏 跃,王开冻,颜志明,等. 矮牵牛的多倍体诱导试验[J]. 浙江农业科学,2007(2):164-166.
- [21] Beck S L, Dunlop R W, Fossey A. Stomatal length and frequency as a measure of ploidy level in black wattle, *Acacia mearnsii* (de Wild) [J]. Bot J Linn Soc, 2003,141(2):177-181.
- [22] Aryavand A, Ehdiae B, Tran B, *et al.* Stomatal frequency and size differentiate ploidy levels in *Aegilops neglecta* [J]. Genet Resour Crop Evol,2003,50(2):175-182.
- [23] Shiga I, Uno Y, Kanechi M, *et al.* Identification of polyploidy of in vitro anther-derived shoots of *Asparagus officinalis* L. by flow cytometric analysis and measurement of stomatal length [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2009,78(1):103-108.
- [24] 戴洪义. 葡萄的染色体倍性与气孔性状的关系及其判别分析[J]. 葡萄栽培与酿酒,1990(2):5-9.
- [25] 高彩云,潘惠新,贾 恒,等. 美洲黑杨×小叶杨杂种多倍体诱导研究[J]. 西北植物学报,2010,30(1):50-55.
- [26] 漆慧娟. 甜叶菊多倍体诱导及其生物学特性的研究[D]. 临安:浙江农林大学,2014.
- [27] 郭巧萍. 桃叶型半夏多倍体诱导研究[D]. 杭州:浙江理工大学,2009.
- [28] 刘庆忠,刘 朋,赵红军,等. 同源四倍体皇家嘎啦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.
- [29] 施先锋. 西瓜多倍体诱导及倍性鉴定的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2007.

(责任编辑:张 玲)