

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201704008

引文格式: 王发明, 李洁维, 胡亚康, 等. 猕猴桃属十个种的染色体倍性鉴定 [J]. 广西植物, 2018, 38(2):220-224

WANG FM, LI JW, HU YK, et al. Chromosome ploidy of ten species in genus *Actinidia* [J]. *Guihaia*, 2018, 38(2):220-224

猕猴桃属十个种的染色体倍性鉴定

王发明, 李洁维*, 胡亚康, 莫权辉, 蒋桥生, 龚弘娟, 叶开玉, 刘平平

(广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室, 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西 桂林 541006)
中国科学院

摘要: 猕猴桃属 (*Actinidia*) 植物全世界有 66 种, 约有 118 个种下分类单位 (也有新的划分方法将其划分为 54 种 21 变种), 其中大部分为中国特有。在猕猴桃杂交育种中, 不同倍性之间选配不当会出现杂交失败、后代不育等现象, 因此倍性鉴定是猕猴桃常规育种亲本选择的前提条件之一。但到目前为止, 不少猕猴桃种或亚种的染色体倍性研究并不十分清楚, 因而限制了这些资源的进一步开发利用。该研究针对广西植物研究所猕猴桃种质资源圃收集的目前倍性尚不明确的白萼、白花柱果、二色花、临桂、卵圆叶、桃花、宛田、长果、融水和五瓣猕猴桃等 10 个种类的猕猴桃, 使用酸解法制备染色体标本, 通过显微镜观察确定其倍性。这 10 个种类大多为广西特有, 其中蕴藏着独特的优良园艺性状, 具有很高的生产和开发价值。该研究结果表明这 10 个种类猕猴桃的染色体倍性均为二倍体 ($2n=2x=58$)。该研究结果进一步丰富了猕猴桃种质资源多样性数据库, 为这些猕猴桃资源的合理开发利用奠定了基础。

关键词: 猕猴桃属, 倍性, 酸解法, 溃疡病抗性, 广西特有

中图分类号: Q944 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)02-0220-05

Chromosome ploidy of ten species in genus *Actinidia*

WANG Faming, LI Jiewei*, HU Yakang, MO Quanhui, JIANG Qiaosheng,
GONG Hongjuan, YE Kaiyu, LIU Pingping

(Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany,
Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: The genus *Actinidia* contains more than 66 species and 118 taxa (In the latest revision of the genus, all of them were classified as 54 species and 21 varieties), and most of them were Chinese endemic. As we know, inappropriate mating between parents with different ploidy levels usually result in crossbreeding failing or offspring-infertility in kiwifruit

收稿日期: 2017-04-30

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金 (31560509); 中国科学院“西部之光青年学者”项目 (A 类); 广西自然科学基金 (2015GXNSFBA139073, 2015jjAA30059); 广西植物研究所基本业务费项目 (桂植业 15002); 广西科技创新能力与条件建设计划项目 (桂科能 14123006-36) [Supported by the Fund for Less Developed Regions of the National Natural Science Foundation of China (31560509); Young Scholar of CAS “Light of West China” Program (Category A Projects); Natural Science Foundation of Guangxi (2015GXNSFBA139073, 2015jjAA30059); Fundamental Research Fund of GXIB (15002); Construction Plans on the Innovation Ability and Foundation of Science and Technology (14123006-36)].

作者简介: 王发明 (1979-), 男, 山东日照人, 博士, 副研究员, 主要从事果树遗传育种及抗病分子机理研究, (Email) wfm_rz@163.com。

*通信作者: 李洁维, 研究员, 主要从事果树栽培与良种选育研究, (Email) lijw@gxib.cn。

crossbreeding, so ploidy test would be one of the prerequisites for selecting crossing parents. But so far the chromosome ploidy of quite a number of species in actinidia has been poorly understood, which limits further development and utilization of these resources. In this study, ten ploidy-unknown species of *Actinidia*: *A. albicalyx*, *A. cylindrica*, *A. diversicolora*, *A. linguensis*, *A. indochinensis* Merr. var. *ovatifolia*, *A. persicina*, *A. wantianensis*, *A. longicarpa*, *A. rongshuiensis* and *A. pentapetala* were studied for their chromosome ploidy with acid hydrolysis method, as most of the ten species are Guangxi endemic harboring unique and excellent horticultural traits and possess great production and development value. The results showed that all of the ten species were diploid ($2n=2x=58$). The findings expand the genetic diversity database of *Actinidia* and provide information for the further rational development and utilization of these resources.

Key words: *Actinidia*, ploidy, acid hydrolysis method, resistance to bacterial canker, Guangxi endemic

猕猴桃属 (*Actinidia*) 植物全世界共有 66 个种, 约 118 个种下分类单位 (变种、变型) (黄宏文等, 2000), 也有最近的文献将其划分为 54 个种 (Li et al, 2007), 其中绝大部分为中国特有。猕猴桃种质资源具有丰富的多样性, 是进行品种改良和新品种选育的基础。目前世界上大部分的猕猴桃品种主要通过“中华”、“美味”类猕猴桃选育而来, 遗传背景比较单一, 制约了诸多性状的进一步改良, 例如“中华”、“美味”类猕猴桃普遍高感溃疡病, 通过实生选育或种内杂交获得抗性种质十分困难。而其它猕猴桃种类很多具有优良的溃疡病抗性, 通过种间杂交的方式获得溃疡病抗性品种成为一种有效手段。而进行猕猴桃种间杂交, 首先必须明确各个杂交亲本的染色体倍性, 以减少杂交育种的盲目性。黄宏文等 (2000) 对猕猴桃属的染色体倍性多样性进行了较充分的综述和研究, 但其中研究比较清楚的只有 46 个种或亚种, 仍有很大一部分猕猴桃种或亚种的染色体倍性未知。

目前, 针对猕猴桃属各种或亚种的染色体倍性研究进展相对缓慢, 主要是大部分研究单位缺少相应的种质资源或收集的资源比较分散, 无法进行系统研究。广西植物研究所自 1980 年开始猕猴桃的分类学研究和野生种质资源的调查、收集和保存, 并与武汉植物园等单位进行合作和交流, 目前已建立了华南地区最大的猕猴桃野生种质资源圃, 收集保存了 70 多个种 (包括变种), 其中原产于广西的种类 (变种) 38 个, 具有丰富的遗传多样性。本研究充分发挥资源优势, 针对倍性未知的 10 个猕猴桃种 (变种) 进行染色体制片和

观察, 确定其倍性, 以进一步丰富猕猴桃种质资源多样性数据库和为这些遗传资源的合理开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究使用的材料均采集于广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所猕猴桃种质资源圃。其中临桂长果、桃花、融水、二色花、白萼、五瓣和宛田猕猴桃为李瑞高等于 2003 年报道的新种, 而卵圆叶和白花柱果猕猴桃为李瑞高等于 2002 年报道的新变种。

1.2 染色体制片

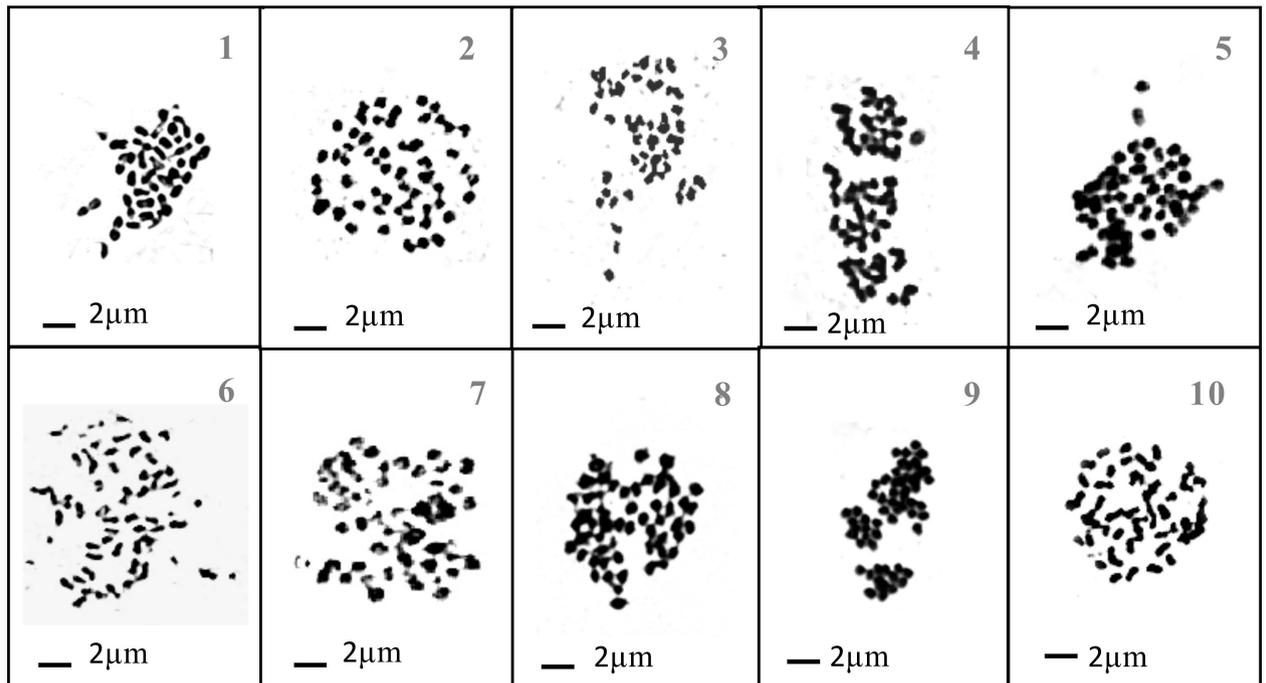
于春季 4 月初上午 10:00 左右, 取刚萌发的嫩枝茎尖, 使用锋利的解剖刀迅速剥去外面包裹的绒毛和皮层, 截取 2 mm 左右的茎尖部分, 迅速置于 0.1% 的秋水仙素中, 避光保存。用秋水仙素处理 2.5~3.0 h 后, 用无菌水冲洗干净, 使用卡诺固定液 (乙醇: 冰醋酸 = 3:1) 于 4 °C 固定 30 min 以上。去掉固定液, 无菌水冲洗 2 遍, 加入 1 mol · L⁻¹ 盐酸与 45% 醋酸溶液 1:1 的混合液, 于 60 °C 水浴锅中解离 5 min, 解离后用无菌水冲洗 3 遍, 至于载玻片上, 卡宝品红染色, 压片, 使用蔡司显微镜 Axio Imager M2 于 400 倍下进行染色体观察和计数。

2 研究结果

这 10 个种类的猕猴桃染色体倍性均为二倍

表 1 10 个种类猕猴桃的染色体倍性
Table 1 Chromosome ploidy of ten speices of *Actinidia*

种 (亚种) Species (Subspecies)	采样地 Sampling site	倍性 Ploidy
白萼 <i>A. albicalyx</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
白花柱果 <i>A. cylindrica</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
二色花 <i>A. diversicolora</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
临桂 <i>A. linguensis</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
卵圆叶 <i>A. indochinensis</i> var. <i>ovatifolia</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
桃花 <i>A. persicina</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
宛田 <i>A. wantianensis</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
长果 <i>A. longicarpa</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
融水 <i>A. rongshuiensis</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$
五瓣 <i>A. pentapetala</i>	桂林, 广西植物研究所 GXIB, Guilin	$2n = 2x = 58$



注: 1. 白萼; 2. 白花柱果; 3. 二色花; 4. 临桂; 5. 卵圆叶; 6. 桃花; 7. 宛田; 8. 长果; 9. 融水; 10. 五瓣猕猴桃。
Note: 1. *A. albicalyx*; 2. *A. cylindrica*; 3. *A. diversicolora*; 4. *A. linguensis*; 5. *A. indochinensis* var. *ovatifolia*;
6. *A. persicina*; 7. *A. wantianensis*; 8. *A. longicarpa*; 9. *A. rongshuiensis*; 10. *A. pentapetala*.

图 1 10 个种类猕猴桃的染色体数目
Fig. 1 Chromosome numbers of ten species of *Actinidia*

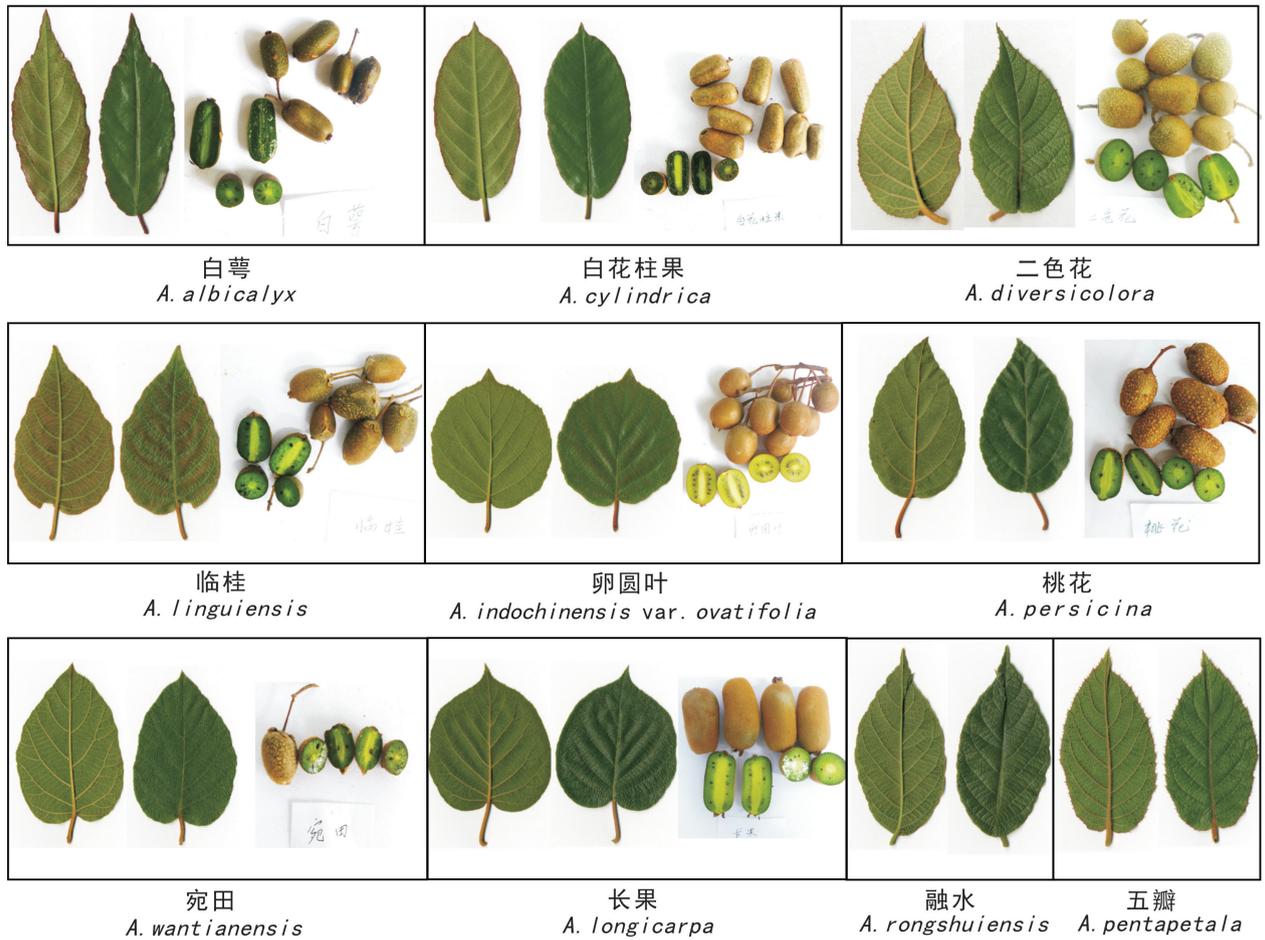


图 2 猕猴桃 10 个种类的叶片和果实基本性状 (融水和五瓣暂缺果实图像)

Fig. 2 Leaves and fruits characters of the ten species of *Actinidia* (No fruit pictures for *A. rongshuiensis* and *A. pentapetala*)

体, $2n=2x=58$ (表 1), 其染色体数目详见图 1。

3 讨论

猕猴桃染色体数目较多且形态较小, 每条染色体的平均长度 $0.6 \sim 1.5 \mu\text{m}$ (Bowden, 1945; Mcneilane & Considine, 1989; Watanabe & Takahashi, 1989), 使得其染色体制片和进行核型分析相对困难。而且猕猴桃属于多年生雌雄异株果树, 其基因组杂合程度较高, 在生产上或研究上一般通过嫁接的方式进行繁殖或进行种质资源的异地迁移保护, 所以对其进行染色体制片观察无法选用常用的效果较理想的根尖材料, 只能使用接穗上的组织。使用茎尖分生组织进行猕猴桃染色体的制

片和倍性观察是一种常用的方法, 然而选用的茎尖最好是处于分生组织分裂较旺盛的阶段, 所以取样的季节和时间对制片效果都至关重要, 本研究通过多次取样比较, 发现春季 4 月份气温上升到 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右时于白天上午 $10:00 \sim 11:00$ 取样效果相对较好, 获得的中期分裂比例相对较多。

猕猴桃倍性变异较为广泛, 从二倍体到八倍体甚至非整倍体均有报道 (黄宏文等, 2000; 曾华等, 2009), 该研究报道的 10 个猕猴桃种类均为二倍体, 但不能排除在自然群体中可能存在其它倍性的变型或变种, 有待进一步考察和发现。在猕猴桃杂交育种中, 不同倍性之间选配不当会造成杂交失败、后代不育等后果 (王圣梅等, 1994), 因此倍性鉴定是猕猴桃常规育种亲本选择前提条件

之一。该研究使用的材料大部分为广西植物研究所收集保存的广西特有物种(其叶片和果实的基本性状见图2),很多种类中蕴藏着独特的优良园艺性状,具有很高的生产和开发价值,例如长果猕猴桃因其独特的风味、高Vc、易剥皮和其它多种优异的园艺性状,目前已经选育成品种并已初步推广(李洁维,2007)。而其它几个种也具有较高的利用价值,如白萼和白花柱果的常绿性状,二色花、临桂和卵圆叶对溃疡病的高抗性状等。该研究为利用这些猕猴桃种类进行种间杂交培育新品种,或为其系统发育、细胞遗传以及其它方面的研究提供了生物学资料,丰富了猕猴桃种质资源多样性数据库,为进一步推动这些猕猴桃种类的合理开发利用奠定基础。

参考文献:

- BOWDEN WM, 1945. A list of chromosome numbers in higher plants. I. Acanthaceae to Myrtaceae [J]. *Am J Bot*, 32(2): 81-92.
- HUANG HW, GONG JJ, WANG SM, et al, 2000. Genetic diversity in the genus *Actinidia* [J]. *Chin Biovers*, 8 (1) : 1-12. [黄宏文,龚俊杰,王圣梅,等,2000.猕猴桃属(*Actinidia*)植物的遗传多样性[J].生物多样性,8(1):1-12.]
- LI JQ, LI XW, SOEJARTO DD, 2007. *Actinidiaceae* [M]//

- WU CY, RAVEN PH. *Flora of China*. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 12: 334-360.
- LI JW, 2007. Biological characteristics and evaluation of *Actinidia longicarpa* of new kiwifruit species [J]. *Chin Fruits*, (1):32-33. (in Chinese) [李洁维,2007.猕猴桃新种长果猕猴桃的生物学特性及评价[J].中国果树,(1):32-33.]
- LI RG, LI JW, WANG XG, et al, 2003. Nine new species of *Actinidia* Lindl [J]. *Guihaia*, 23 (3) :193-202. [李瑞高,李洁维,王新桂,等,2003.猕猴桃属植物九个新种[J].广西植物,23(3):193-202.]
- LI RG, LI JW, WANG XG, et al, 2002. Three new varieties of *Actinidia* Lindl from Guangxi [J]. *Guihaia*, 22 (5) : 385-387. [李瑞高,李洁维,王新桂,等,2002.广西猕猴桃三个新变种[J].广西植物,22(5):385-387.]
- MCNEILANE MA, CONSIDINE JA, 1989. Chromosome studies in some *Actinidia* taxa and implications for breeding [J]. *New Zeal J Bot*, 27(1):71-81.
- WATANABE K, TAKAHASHI B, 1989. Shirato K. Chromosome numbers in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) and related species. [J]. *Engei Gakkai Zasshi*, 58(4):835-840.
- WANG SM, HUANG RH, WU XW, et al, 1994. Studies on distant hybridization breeding of kiwifruit [J]. *J Fruit Sci*, 11(1): 23-26. [王圣梅,黄仁煌,武显维,等,1994.猕猴桃远缘杂交育种研究[J].果树学报,11(1):23-26.]
- ZENG H, LI DW, HUANG HW, 2009. Distribution pattern of ploidy variation of *Actinidia chinensis* and *A. deliciosa* [J]. *J Wuhan Bot Res*, 27(3) : 312-317. [曾华,李大卫,黄宏文,2009.中华猕猴桃和美味猕猴桃的倍性变异及地理分布研究[J].武汉植物学研究,27(3):312-317.]