

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.04.021

周玲艳, 潘伟明, 伍宇雁, 等. 猕猴桃三子叶突变体的形态特征研究[J]. 广西植物, 2013, 33(4): 547-551

Zhou LY, Pan WM, Wu YY, et al. Study on morphological characteristics of tricotyledon mutant of kiwifruit[J]. *Guihaia*, 2013, 33(4): 547-551

猕猴桃三子叶突变体的形态特征研究

周玲艳, 潘伟明, 伍宇雁, 莫燕坤, 梅树海, 梁红*

(仲恺农业工程学院 生命科学学院, 广州 510225)

摘要: 以“和平一号”美味猕猴桃辐射诱变过程所获得的三子叶突变体植株为材料, 对猕猴桃三子叶植株的形态特征如单叶长、单叶宽以及叶片气孔分布和表面毛状体等进行观察分析, 以获得其与双子叶猕猴桃植株的形态差异信息。结果表明: 三子叶植株的单叶长、宽大于正常的双子叶猕猴桃植株单叶长、宽; 三子叶植株的气孔数目与双子叶猕猴桃植株的差异不大; 三子叶植株叶表面的毛状体比双子叶猕猴桃植株更加浓密, 为三子叶猕猴桃育种利用打下基础。

关键词: 猕猴桃; 三子叶植株; 形态特性

中图分类号: Q948 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)04-0547-05

Study on morphological characteristics of tricotyledon mutant of kiwifruit

ZHOU Ling-Yan, PAN Wei-Ming, WU Yu-Yan,
MO Yan-Kun, MEI Shu-Hai, LIANG Hong*

(College of Life Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Tricotyledon plants of kiwifruit which obtained from radiation mutagenesis process of *Actinidia deliciosa* ‘He-ping No. 1’ were used as material. The morphological characteristics of tricotyledon plants, such as leaf length, leaf width and stoma distribution and leaf surface trichomes were analyzed and observed so that the different information between the tricotyledon plants and dicotyledon plants was obtained according to their morphology. The results showed that the leaf length and width of tricotyledon plants were longer and wider than those of the dicotyledonous plants; the number of stomata on the leaf surface was no significantly difference between the tricotyledon plants and dicotyledonous plants. The trichomes on the leaf surface of tricotyledon plants were denser than those on the dicotyledon plants.

Key words: kiwifruit; tricotyledon plants; morphological characteristics

猕猴桃是猕猴桃科猕猴桃属(*Actinidia*)植物的统称, 为多年生功能性雌雄异株的落叶藤本植物。其果实含有人体必需的多种维生素、氨基酸、蛋白质、果胶、矿物质和维生素 C, 且在人体中利用率高达 94%。因其维生素 C 含量在水果中名列前茅, 被

誉为“水果之王”。猕猴桃果实可鲜食, 还可做成果酱、果汁。其根、茎、叶、花、果都可入药, 特别是果和根在医药上有较高的利用价值。

植物的多子叶变异现象已被报道在多种植物中出现, 部分属于自然突变, 部分则是人工诱变产生。

收稿日期: 2012-11-30 修回日期: 2013-01-18

基金项目: 广东省自然科学基金(8151022501000010); 广东省科技计划项目(2011B020304007); 基础生物学与生物技术实验教学示范中心开放基金(IP2010002)

作者简介: 周玲艳(1972-), 女, 博士, 副教授, 从事植物生物技术研究。(E-mail) lingyanzh@163.com。

通讯作者: 梁红, 教授, 从事植物生物技术研究。(E-mail) lhoffice@yahoo.com.cn。

研究者(王守生,2005;安彩泰,1992;张远记,1990;张作忠,1990;张应华,1999;刘芳,2010)对多子叶突变是否会带来更为优良的农艺学性状进行了探讨和研究,但目前在不同物种上并没有形成统一的说法。当双子叶木本果树自然发生的三子叶胚萌发的植株具有较优良的性状时,则可将其作为杂种选择的指标,但三子叶植株是否具有生长上或其他方面的优势,不同种类差异较大。杨庆山等(1998)报道苹果相同亲本杂交后代幼苗中出现的三子叶苗,在生长势上有强于双子叶苗的趋势。Pushkar & Babeley(1990)发现三子叶植株的心皮、果实都与双子叶植株存在一定的差异,且比双子叶植株具有更多的叶片,并指出这有利于光合产物的积累。Kandya(1988)在阴行草(*Peltophrum ferrugineum*)三子叶突变体研究中发现,除子叶数目不同外,其幼苗干重、高度和含水量等与双子叶幼苗相比均无差异。张应华等(1999)对茄(*S. melongena*)及红茄(*Solanum aethiopicum*)三子叶植株的研究结果显示在生长势、植物学特征、离体器官形成及开花结果等习性方面无明显差异,且通过实验发现三子叶不具有遗传稳定性。陈德灿等(2006)在航天诱变处理的凤仙花 SP3 代中得到了 3 种不同类型的三子叶突变体,其中一株突变体整体性状变异大,而另外两种类型植株除了三片子叶以外,其它特征与对照组没有明显差异。推测这种差异是与种子在搭载过程中,所受到影响的随机性,以及搭载使其后代的某些生理特性发生变化所致。

子叶作为重要的营养器官发生于胚胎发育的早期,为幼苗的生长提供最初的营养来源。同时,子叶的发育也是胚胎极性发育的重要内容,对其发育过程的研究将利于阐明整个胚胎发育的调控机制,可稳定遗传的多子叶突变株的获得将加速这一领域的研究。课题组在猕猴桃诱变育种过程中获得了种子实生苗为三子叶的突变体植株,本试验对其形态特性等指标进行鉴定,从而分析猕猴桃三子叶植株是否有较优良的性状,结合后期的遗传稳定性分析,考虑三子叶是否可以作为杂种选择的指标,如果猕猴桃三子叶胚所长成的植株具有较好的栽培性状的话,便可以将育种选择提早到萌发之前的胚,这样将极大地提高育种效率。

1 材料与方法

1.1 材料

“和平一号”美味猕猴桃辐射诱变过程中获得

的种子实生苗三子叶突变体植株。2008 年 11 月从和平县水果研究所果园取 1~2 a 生的猕猴桃枝条切成 30 cm 左右的枝段,利用华南农业大学的钴源进行⁶⁰Co- γ 辐射处理,处理剂量为 50 Gy。辐射后的枝段取单芽茎段嫁接于和平县康源公司猕猴桃果园中已生长在 10 a 以上的猕猴桃植株上,于 2010 年 9 月取嫁接枝条上的果实,室内存放至完全软熟,挑取种子洗干净后晾干,在直径 6 cm 且内垫湿滤纸的培养皿中室温萌发,共出现 3 株长出 3 片子叶的幼苗。

1.2 方法

1.2.1 猕猴桃植株的种植与管理 2011 年 2 月将所发现的“和平一号”猕猴桃实生苗三子叶突变体植株(图 1)和同一时间萌发的部分双子叶实生苗分别盆栽种植,生长在同一环境中,生长 8 个月 after 取材进行观察比较。

1.2.2 猕猴桃外观表型观察 猕猴桃种植生长 8 个月 after,用直尺对三子叶突变体和双子叶植株处于相同位置、且叶色为深绿色、形状规则的叶片单叶长、宽(量取其叶片最长的长度和最宽的宽度),并观察其生长状况。

1.2.3 叶片表面结构观察 取成熟、深绿色的无病虫害的盆栽植株,从顶叶开始数起倒数第二片叶,在叶片主脉附近切取 5 mm² 的小方块,以 2.5% 的戊二醛固定,保存于 4 ℃ 的冰箱内,按扫描电镜要求脱水,临界点干燥仪干燥后,将样品装载于装载台上喷涂金粉,于 XL-30-ESEM 环境扫描电子显微镜下观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 猕猴桃三子叶突变体植株叶片形态

植物叶片的性状对植物的生长状况有着重要的影响。本试验将三子叶与双子叶猕猴桃植株在相同生长环境和相同的管理方法条件下,按照从顶叶开始数起,测量猕猴桃植株的单叶长以及单叶宽。表 1 结果表明,三子叶猕猴桃的单叶长、宽都明显大于双子叶猕猴桃的单叶长、宽,其叶片的相对表面积也更大一些。

2.2 猕猴桃三子叶突变植株的叶片气孔观察

植物叶片的气孔多少与开合情况,对于植物进行光合作用和呼吸有着重要的影响。在气孔大小基本相同的情况下,气孔数量的多少对光合作用的强弱起主要作用(曹五七,1995)。猕猴桃三子叶植株与



图 1 猕猴桃三子叶植株幼苗
Fig. 1 Seedlings of kiwifruit tricotyledon plants

表 1 三子叶与双子叶猕猴桃植株的叶长和叶宽比较
Table 1 Leaf length and width of kiwifruit tricotyledon and dicotyledon plants

叶片位置 Position of leaf	叶长 Leaf length		叶宽 Leaf width	
	三子叶 Tricotyledon plant	双子叶 Dicotyledon plant	三子叶 Tricotyledon plant	双子叶 Dicotyledon plant
	2	21	11.5	15.0
3	20	16.0	14.5	7.5
4	20.5	15.1	14.5	9.9
5	18	16.1	13.0	10.0
6	19.6	15.0	12.9	9.8
7	19	12.9	12.7	8.4
8	21.1	13.0	13.1	10.2
9	21.5	14.3	12.2	9.2
平均值 Mean	20.08	14.24	13.49	8.98

双子叶植株叶片上的气孔器均分布在下表皮,由两个肾形的保卫细胞围合而成。图版I: A 和表 2 结果表明,三子叶植株的气孔数目与双子叶植株相差不多,前者的气孔数目平均为 205 个/mm²,而后者的气孔数目平均为 209 个/mm²。从图版I: B 可以看出,猕猴桃三子叶植株和双子叶植株叶片表面气孔大小也差不多。

表 2 猕猴桃三子叶植株与双子叶植株的气孔数目
Table 2 Stoma number of kiwifruit tricotyledon and dicotyledon plants

植株 Plant	平均气孔数 (个/mm ²) Average of stoma	显著差异性 Significant difference	
		0.05	0.01
三子叶植株 Tricotyledon plant	205	a	A
双子叶植株 Dicotyledon plant	209	ab	AB

2.3 猕猴桃三子叶突变植株叶片表面结构扫描电镜观察

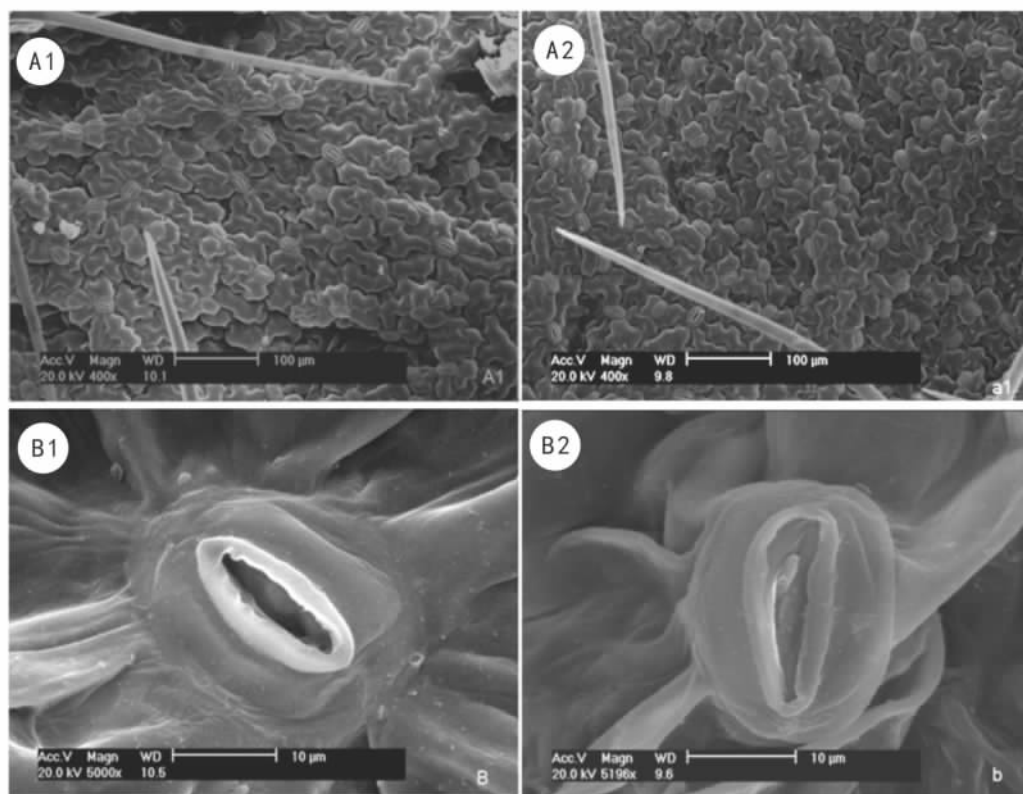
植物叶片的表面绒毛和蜡质能减少叶片的蒸腾

作用,减少水分流失,同时蜡质也能防止叶片受损,对叶片具有很好的保护作用。从图版 II: A 可以看出,猕猴桃叶片上表皮分布有表皮毛,其中三子叶突变体植株平均为 320 根/cm²,双子叶植株平均为 150 根/cm²;图版 II: B 结果表明,猕猴桃下表皮分布有毛状体,且毛状体有数目不等的分枝,分枝数目在 3~6 之间,其中,三子叶突变体植株叶片下表皮星状毛比双子叶的分布要多,但猕猴桃三子叶植株表面蜡质与猕猴桃双子叶植株相差不多。

3 讨论

子叶数目是植物进化及分类的一个重要指标,但子叶数目变异及进化机理尚不十分清楚,子叶数目可能受基因型、激素、诱变剂、生长环境和营养状况等多种因素的影响。张应华(1999)发现红茄三子叶自然发生率明显高于茄,认为三子叶的产生受基因型的影响。张远记等(1990)发现在莎巴珍珠葡萄胚胎发育的球状体阶段,用 2,4-D 处理可诱导出三子叶。Reinholz(1953)以 X-射线诱导多种植物形成多子叶,同时发现 X-射线诱导效果受处理时温度的影响。Straub 发现矮牵牛在营养不良的情况下,“不正常”子叶比例明显增加。

扫描电镜观察是一种能够很清晰观察到植物叶片表面各种结构的有效方法。扫描电镜结果表明,猕猴桃三子叶植株与双子叶植株叶片表皮细胞紧密排列,形态特征无明显差异,上表皮无气孔器,气孔器分布在叶片下表皮由两个肾形的保卫细胞围合而成。保卫细胞在气孔器中的主要作用是控制气孔开关和大小,调节植物与外界之间的气体和水分交



图版 I 叶片气孔扫描电镜观察 A1. 三子叶植株下表皮; A2. 双子叶植株下表皮; B1. 三子叶植株气孔; B2. 双子叶植株气孔。

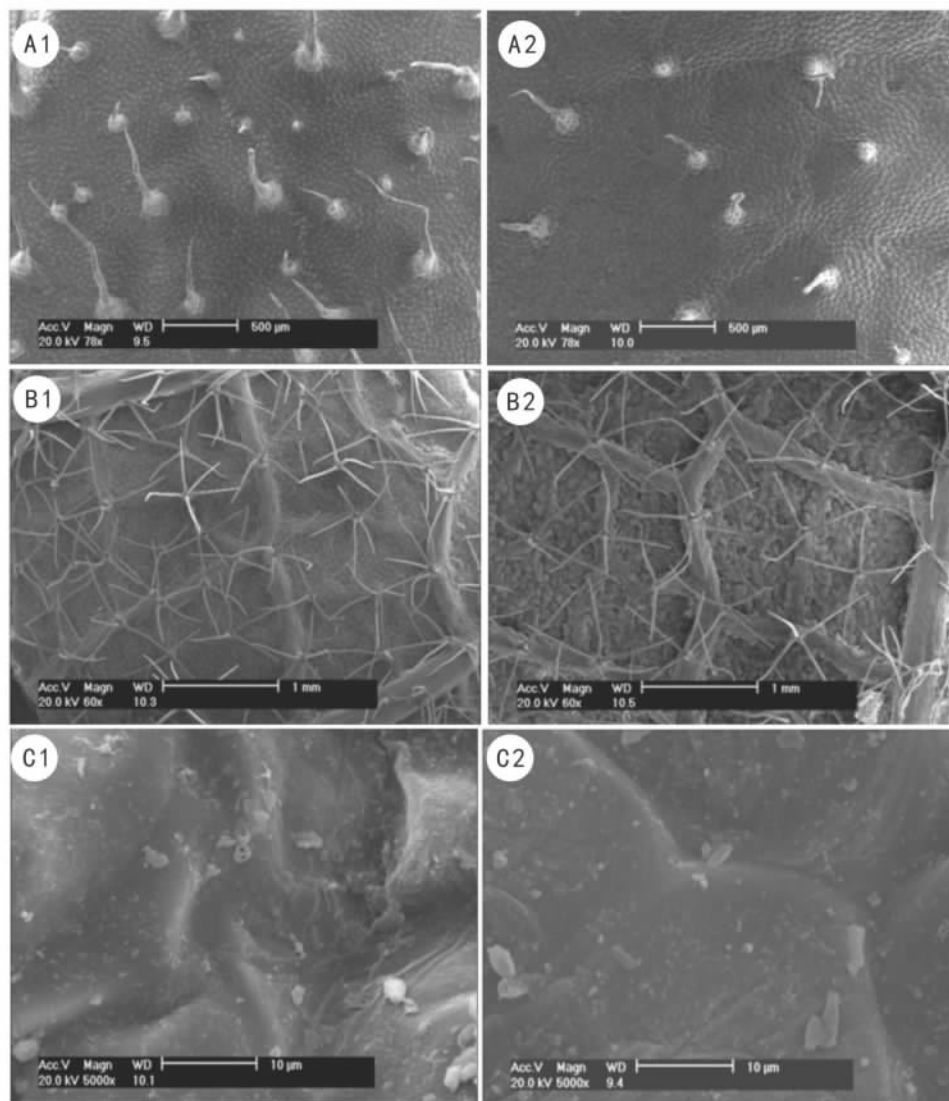
Plate I Scanning electron microscopy of leaf stomas A1. Lower epidermis of tricotyledon plants; A2. Lower epidermis of dicotyledon plants, bar=100 μm; B1. Stoma of tricotyledon plants; B2. Stoma of dicotyledon plants, bar=10 μm.

换,从而调节水分平衡和光合作用这两个重要的生理代谢过程(王书伟等 2010)。猕猴桃三子叶植株叶片气孔平均数目和气孔保卫细胞大小均与双子叶植株相差不多。因此从气孔分布不能确定猕猴桃三子叶植株比猕猴桃正常双子叶植株有更大的优势。

植物叶片的表面绒毛多少、蜡质分布情况会影响植物的呼吸作用和蒸腾作用。叶面浓密的绒毛能反射更多的光,在太阳辐射强烈时能防止叶温过高,还可能增加界面阻力,从而减少水气的逸出,同时绒毛还可以保护叶片不受损伤(宋尚伟等 1998)。扫描电镜结果表明,猕猴桃三子叶植株叶片上表皮表皮毛平均数目为 320 根/cm²,而双子叶植株为 150 根/cm²;且猕猴桃三子叶植株下表皮星状毛明显比猕猴桃双子叶植株的浓密。因此,猕猴桃三子叶植株在蒸腾作用和自我保护方面可能比猕猴桃双子叶植株有更大优势。

参考文献:

- An CT(安彩泰),Li XC(李学才). 1992. The tricotyledon mutants in *Brassica napus* L. (甘蓝型油菜的三子叶突变) [J]. *Chin J Oil Crop Sci*(中国油料) **30**(2):27-30
- Cao WQ(曹五七),Li XX(李逊谢),Lin BQ(林白琦). 1995. Observation of hybrid cotton leave stoma with scanning electron microscope(杂种棉花叶片气孔形态及数量的扫描电镜观察) [J]. *J Sichuan Agric Univ*(四川农业大学学报) **13**(2):158-160
- Chen DC(陈德灿),Tang ZS(汤泽生),Yang J(杨军),et al. 2006. Change in cotyledons impatiens balsamina in third generation(SP3) induced by space flight(航天诱导凤仙花 SP3 代子叶变化的研究) [J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报) **14**(3):202-206
- Kandya S. 1988. A note on tricotyledonous seeding of copper pod plant(*Peltophrum ferrugineum* Benth.) [J]. *J Trop For*, **4**(4):339-400
- Liu F(刘芳),Li Y(李媛). 2010. A primary study on the tricotyledon mutant of *Dianthus plumarius*(石竹三子叶变异株研究初讨) [J]. *Highl Sciencepap Onl*(中国科技论文在线) **3**(19):2 000-2 006
- Pushpkar BP, Babeley GS. 1990. A report on tricotyledonous seedlings of amla(*Emblica officinales* Gaertn.) [J]. *Ind For*, **116**(7):597-599
- Reinholz E. 1953. Further study on X-ray induced changes of embryos leaf [J]. *Experientia* **10**(12):486-488
- Song SW(宋尚伟),Chen WS(陈巍峙). 1998. Comparison on leaf morphology of different drought-resistant Kiwifruit varieties(不同耐旱力猕猴桃品种叶片形态结构比较) [J]. *Northern Hortic*(北方园艺) **Z1**:115
- Wang SW(王书伟),Wang W(王巍),Li HX(李海侠),et al. 2010. Function of guard cell photosynthesis in light regulation of



图版 II 猕猴桃叶片表面结构扫描电镜观察 A1. 猕猴桃三子叶植株叶片上表皮; A2. 猕猴桃正常双子叶植株叶片上表皮; B1. 三子叶猕猴桃植株叶片下表; B2. 猕猴桃正常双子叶植株叶片下表皮; C1. 猕猴桃三子叶植株叶片表面蜡质; C2. 猕猴桃双子叶植株叶片表面蜡质。

Plate II Scanning electron microscope of surface structures on plant leaves A1. Upper epidermis of tricotyledon plant leaf; A2. Upper epidermis of dicotyledon plant leaf, bar=500 μm ; B1. Lower epidermis of tricotyledon plant leaf; B2. Lower epidermis of dicotyledon plant leaf, bar=1 mm; C1. Surface wax on tricotyledon plant leaf; C2. Surface wax on dicotyledon plant leaf, bar=10 μm .

stomatal movements(保卫细胞的光合作用在光调节的气孔运动中的功能 [J]. *Plant Physiol Comm*(植物生理学通讯) **4** (5): 499-504

Wang SS(王守生). 2005. Twins seedlings and dicotyledon seeds of tea plants(双胚及三子叶茶树种子) [J]. *J Tea Business*(茶业通报) **27** (2): 61

Yang QS(杨庆山), Wang DS(王东升), Ma XL(马香莲) *et al.* 1998. A report on the characters hybridization seedlings of apple spur-type variety under seedling stage(苹果短枝型品种杂种实生苗苗期性状表现初报) [J]. *Chin Fruits*(中国果树), (1): 21-22

Zhang YJ(张远记), Wei XP(魏小萍). 1990. Induction of tricotyledon from embryos of *Vitis vinifera* L. (诱导葡萄胚产生三子叶的研究) [J]. *Acta Bot Bor-Occ Sin*(西北植物学报), **10** (3): 228-231

Zhang YH(张应华). 1999. A report on tricotyledonous seedlings of *Solanum melongena* L. and *S. aethiopicum* L. (茄及红茄三子叶现象研究初报) [J]. *J Yunnan Agric Univ*(云南农业大学学报) **14**(4): 376-380

Zhang ZZ(张作忠). 1990. Discovery and preliminary study on tricotyledon mutants of rapeseed(三子叶油菜的发现及研究初报) [J]. *Seed*(种子) **19** (5): 68