

从二倍体柑桔获得三倍体的研究

陈力耕 胡运权

(中国农业科学院柑桔研究所)

提 要

作者对若干柑桔单胚品种的小种子进行了研究。在授粉后120~150天用胚压片法及实生苗根端细胞染色体计数均确证,除柚子外,单胚性二倍体柑桔品种的小粒种子为三倍体 $[2n = 27 = (3x)]$ 。这些小种子的重量约为正常发育大种子的 $\frac{1}{3} \sim \frac{2}{3}$,其出现率依品种而异。三倍体小种子成熟早,充实饱满,发芽良好,较易成苗。利用单胚品种的小种子培育三倍体,方法简便、易于实用,为培育无核柑桔品种提供了新的途径。

无核是商品柑桔的重要性状,也是我们培育新品种所希望获得的性状。因此,长期以来都把无核作为柑桔育种的主要目标之一,除了选择无核突变体外,人工培育三倍体是获得无核柑桔的主要手段。

三倍体育种,以往的常规方法是用四倍体品种与二倍体品种杂交。随着组织培养技术的发展,从胚乳培养再生三倍体柑桔植株获得成功^[1]。近年由Esen与Soost发现二倍体柑桔也可产生三倍体^[4],为培育三倍体柑桔开辟了一条新的途径。但目前,仅美国^[7]、日本^[3]从二倍体柑桔的栽培品种获得了三倍体幼苗。我们对若干二倍体品种小种子的染色体数量及其大小、出现率作了较为系统的研究,并获得了完整的三倍体植株。本文是报道由二倍体品种的小种子获得三倍体柑桔的初步结果。

材 料 和 方 法

试验在重庆北碚中国农科院柑桔研究所进行。供试材料为以下一些单胚品种作母本的杂交组合:韦尔金×蕉柑 $[C. reticulata \times C. reticulata]$,红桔广柑×哈莫林 $[(C. reticulata \times C. sinensis) \times C. sinensis]$,沙田柚×五步柚 $[C. grandis \times C. grandis]$,垫江柚×五步柚 $[C. grandis \times C. grandis]$;韦尔金,克力迈丁桔 $[C. reticulata]$,红桔广柑,沙田柚,垫江柚的自由授粉果实。1979年4月15~16日杂交,于8月中旬~九月中旬(约为授粉后120~150天)取上述各品种果实中重量大小不到正常种子三分之一而且发育饱满的小种子作染色体鉴定用。

将小种子剥去内外种皮后,把幼胚放入蒸馏水中,在 $0 \sim 4^{\circ}\text{C}$ 条件下先处理24小时,用1:3的醋酸酒精液固定12~24小时。固定后的材料依次用95%、85%和70%的乙醇洗净其醋酸味,水洗后用1N冷盐酸浸3分钟,再在 60°C 下水解约15分钟,用蒸馏水稍洗,按孚尔根氏染色法染色,在1%醋酸洋红中压片观察并计数。小种子实生苗根端细胞染色体计数的制片技术与胚压片法大致相同。用胚压片法观察染色体,如果采用刚

从果实中剥取的小种子为材料,常以下午2~6时之间开始固定的较易获得细胞分裂适期的制片。检查根端细胞染色体则以上午8~10时固定较好。每次剥取种子时均统计各品种小种子的重量及出现率。

小种子实生苗的培育:将小种子剥去内外种皮,放在垫有湿润滤纸的培养皿内,置于26~28℃的恒温箱中催芽,待发芽后,移至装有肥土与蛭石约为2:1的盆钵中,经常注意充分灌水,每隔1~2周施一次营养液(CaSO₄0.5克/升, KH₂PO₄0.25克/升, MgSO₄0.25克/升, Na₂BO₄0.12克/升, 尿素2克/升)。

实 验 结 果

(一)小种子的染色体数鉴定

授粉后120~150天,小种子基本上都已发育完全,充实饱满,而除柚子外,绝大部分大种子此时都未充实,这表明同一果实内的小种子比大种子早熟。因此,这时用胚压片法检查韦尔金、克力迈丁、红桔广柑等品种小种子的染色体,均观察到其染色体数为27条,即 $2n = 27 = (3x)$ 。11月中下旬对韦尔金成熟小种子的实生苗进行根端细胞染色体计数,也确证为三倍体(图版I, 1)。柚子的小种子出现率很低,而且几次镜检都表明,其小种子都是二倍体($2n = 18$)。

(二)不同品种小种子的大小及出现率

品种不同,小种子的大小各异。按重量计算,以宽皮柑桔类型的韦尔金、克力迈丁小种子最轻,平均单粒重仅为0.026克,其次为接近于甜橙性状的自然杂种——红桔广柑(0.035克),最大的是垫江柚小种子达0.07克。供试各品种的小种子重量与大种子相比,均不到 $\frac{1}{4}$,克力迈丁桔接近于 $\frac{1}{8}$ (表1)。韦尔金、克力迈丁、红桔广柑这三品种凡平均重量小于表1所示数值的小种子都是三倍体。因而,根据种子大小即可把三倍体小种子区别出来(图版I, 2)。

表1 不同品种大小种子的平均重及其比值

| 品 种 | 供试种子数(粒) | | 种子平均重(克) | | 种子重之比 |
|-------|----------|-------|----------|-------|---------|
| | 大 种 子 | 小 种 子 | 大 种 子 | 小 种 子 | 小种子:大种子 |
| 韦尔金桔 | 949 | 208 | 0.119 | 0.026 | 1:4.6 |
| 克力迈丁桔 | 730 | 36 | 0.206 | 0.026 | 1:7.9 |
| 红桔广柑 | 320 | 28 | 0.125 | 0.035 | 1:3.6 |
| 垫江柚 | 1620 | 5 | 0.274 | 0.070 | 1:3.9 |
| 沙田柚 | 1427 | 0 | 0.340 | 0 | 0 |

小种子的发生率也依品种而不同(表2)。在供试各品种中,任何情况下均以韦尔金所获得的小种子最多,尤以杂交果中出现率更高,达到14.5%。而柚子的小种子出现率最低,除垫江柚自然授粉果实外,均未获得小种子;沙田柚无论是杂交或自然授粉的果实,都没有任何小种子出现。

(三)三倍体小种子实生苗的培育

由于三倍体小种子比正常大种子成熟早,而且充实饱满,因此,在授粉后4个月即具有发芽能力。剥去种皮的成熟小种子在26~28℃的恒温条件下,3~4天后即与二倍

表2 二倍体品种间杂交后代三倍体小种子出现率

| 杂交组合 | 种 子 数 | | | | |
|----------|-------|------|--------|--------|--------|
| | 供试总数* | 大种子 | (占总数%) | 三倍体小种子 | (占总数%) |
| 韦尔金×蕉柑 | 110 | 87 | (79.1) | 16 | (14.5) |
| 韦尔金自然授粉 | 3455 | 2794 | (80.9) | 221 | (6.7) |
| 小 计 | 3565 | 2881 | (80.8) | 237 | (6.7) |
| 克力迈丁自然授粉 | 1513 | 1430 | (94.5) | 36 | (2.4) |
| 红桔广柑×哈莫林 | 77 | 53 | (68.8) | 1 | (1.3) |
| 红桔广柑自然授粉 | 431 | 271 | (62.9) | 28 | (6.5) |
| 小 计 | 508 | 324 | (63.8) | 29 | (5.7) |
| 垫江柚×五步柚 | 1460 | 1260 | (86.3) | 0 | (0.0) |
| 垫江柚自然授粉 | 370 | 273 | (73.8) | 5 | (1.4) |
| 小 计 | 1830 | 1533 | (83.8) | 5 | (0.3) |
| 沙田柚×五步柚 | 1399 | 1151 | (82.3) | 0 | (0.0) |
| 沙田柚自然授粉 | 429 | 427 | (99.5) | 0 | (0.0) |
| 小 计 | 1828 | 1578 | (86.3) | 0 | (0.0) |

*包括发育完全的大、中、小粒种子及所有瘪子。

体大种子一样发生胚根(图版 I, 3), 半个月后即可展第一片真叶(图版 I, 4)。个别极小的种子因贮藏养分少, 萌发的根、芽很短小。大多数小种子实生苗只是生长速度慢于大种子实生苗, 如予细心照料, 就不难获得生长正常的三倍体实生苗。

讨 论

迄今为止, 培育三倍体柑桔主要通过三条途径: 一是采用四倍体品种与二倍体品种杂交。此法需先诱导成四倍体植株, 待其开花后再与二倍体品种杂交, 不仅需时长, 而且容易出现生育不良的非整倍体植株及遗传性状不良的个体^[2]。二是培养胚乳诱导产生三倍体植株^[1], 用此法培育的三倍体苗木纤弱, 成苗率较低, 而且目前尚停留于试管苗阶段。三是由单胚二倍体柑桔的小种子直接获得三倍体植株, 此法不仅能弥补前两种方法的某些缺陷, 而且方法简便, 易于实用, 是培育三倍体无核柑桔的新途径。

Esen与Soost认为, 这种小种子的三倍体系由母本的二倍性雌配子同父本的单倍性雄配子结合而成^[4]。他们在对 $2x \times 4x$ 中杂种四倍体来源的研究也认为, 出现率依母本而定的二倍性雌配子是产生四倍体的原因所在^[5、6]。在本研究中, 我们也观察到, 三倍体小种子只产生于单胚二倍体品种。这说明, 这种三倍体系由母本提供二套染色体, 由父本提供一套染色体。因此, 我们认为, Esen与Soost的这个推论是正确的。同时, 我们还认为, 三倍体小种子的出现率明显地依品种而异, 说明各品种二倍性雌配子的发生率可能受某个遗传因子控制。有关二倍体品种二倍性雌配子产生的原因和机制尚待进一步研究。

据我们观察, 早、中、晚熟品种(如克力迈丁、红桔广柑)的小种子在授粉后约4个月就充分发育, 具有发芽能力; 晚熟品种(如韦尔金)约在授粉后130~150天也发育充实。所有品种的小种子均比大种子早熟一个月以上。这为提早到当年秋季播种杂交小种子提供了有利条件。

参 考 文 献

- [1] 王大元、张进仁, 从胚乳培养再生三倍体柑桔植株。中国科学, 4(1978):452~455。
- [2] 岩政正男, 1978, 关于柑桔育种的若干问题。农业和园艺, 53(3):465~469。
- [3] 岩政正男, 柑桔的品种。静冈县柑桔农业协同连合会出版, (1977):92~94。
- [4] A.Esen, R.K.Soost.1971. Unexpected triploids in citrus: their origin, identification and possible use.J.Hered.62(6):329~333.
- [5] A.Esen, R.K.Soost.1972. Tetraploid progenies from $2X \times 4X$ crosses of citrus and their origin. J.Amer. Soc.Hort.Sci.97(3):410~414.
- [6] A.Esen, R.K.Soost, G.Geraci.1977. Seed set, size and development after $4X \times 2X$ and $4X \times 4X$ crosses in citrus.Euphytica.27(1):283~294.
- [7] G.Geraci, A.Esen, R.K.Soost.1975. Triploid progenies from $2X \times 2X$ crosses of citrus cultivars.J.Hered.66(3):177~178.

STUDIES ON OBTAINING TRIPLOIDS FROM DIPLOID CITRUS CULTIVARS

Chen Ligeng Hu Yunquan

(*Research Institute of Citrus, Chinese Academy of Agricultural Science*)

Abstract

Studies were made on the small seeds of some monoembryonic citrus. Chromosome counts of young embryo squashes 120~150 days after pollination and of root tips of seedling demonstrated that small seeds of monoembryonic diploids in citrus are triploids [$2n = 27 = (3 \times)$], except pummelo. The weight of these small seeds is about $1/3 \sim 1/8$ that of the large seeds and the frequencies of small seeds are dependent on the cultivars. Because the triploid small seeds are precocious and fully developed, they germinate well and grow up into seedlings easier. By making use of the small seeds of the monoembryonic cultivars to produce triploids, the method is simple and easily practicable, so it provides a new approach for producing seedless varieties of citrus.

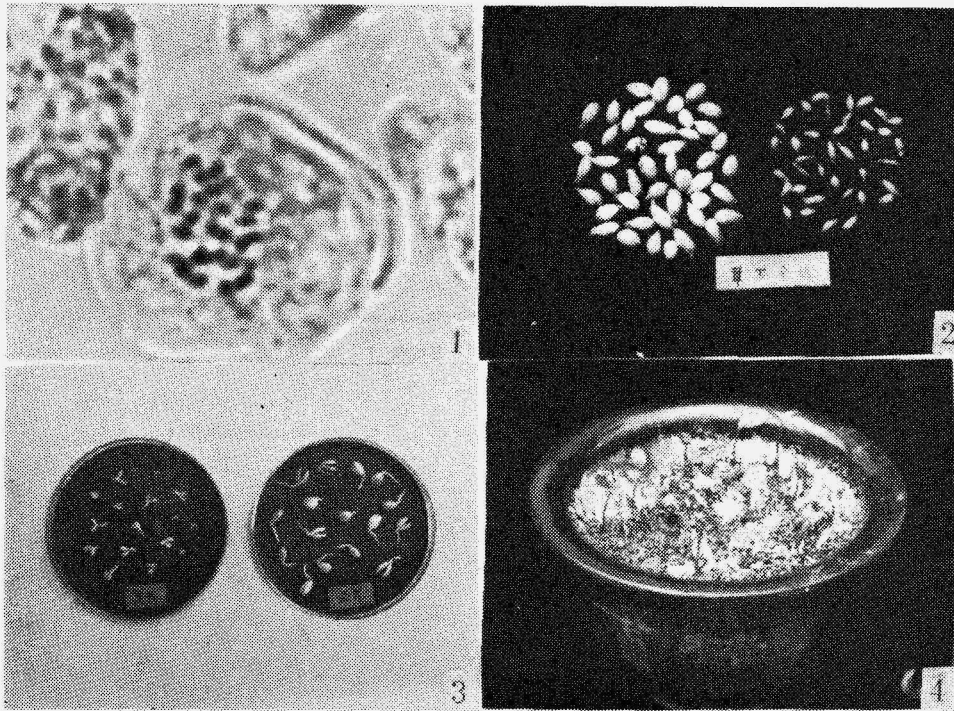


图 版 说 明

1. 韦尔金桔小种子实生苗根端细胞染色体 $2n = 27 = (3x) \times 1024$
2. 韦尔金桔大、小种子的比较
3. 韦尔金桔 $3x$ 小种子(左)的萌发情况
4. 经培养半个月的韦尔金桔 $3x$ 小种子实生苗