

陈露茜, 李宁宁, 邓晗彦, 等. 染色体加倍对黄毛草莓叶片形态的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(16): 123-125.  
doi: 10.15889/j.issn.1002-1302.2017.16.031

## 染色体加倍对黄毛草莓叶片形态的影响

陈露茜<sup>1,2,3</sup>, 李宁宁<sup>3</sup>, 邓晗彦<sup>3</sup>, 余斌斌<sup>3</sup>, 江云靖<sup>3</sup>, 李钧敏<sup>1,2,3</sup>

(1. 台州学院浙江省植物进化生态学与保护重点实验室, 浙江台州 318000; 2. 台州学院生态研究所, 浙江台州 318000;

3. 台州学院生命科学学院, 浙江台州 318000)

**摘要:** 比较分析了四倍体黄毛草莓与二倍体黄毛草莓的叶片数量、长宽比、叶柄长度、叶齿数、气孔周长等叶片形态指标的差异。结果显示, 与二倍体黄毛草莓相比, 四倍体黄毛草莓叶片长宽比极显著变大、叶柄长度显著伸长、中心小叶的宽度与复叶宽度比显著变大、气孔周长极显著变长、气孔密度极显著降低。而叶片数量、叶片面积、叶片重叠率、叶齿数、叶基部形态、叶柄毛数量、气孔长度等指标二者没有显著性差异。本研究结果可为四倍体黄毛草莓的开发利用提供理论依据。

**关键词:** 黄毛草莓; 四倍体; 二倍体; 叶片形态

**中图分类号:** S668.401 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)16-0123-03

染色体加倍技术是作物遗传育种及品种改良的重要手段, 近年来也应用于野生种优良基因向栽培种转移等领域。与二倍体植株相比, 染色体加倍后的植物常具有新的表型, 从而具有抗逆性强、器官大、有机合成速率快等特征, 具有更强的遗传可塑性和更好的生理适应性<sup>[1-2]</sup>。如 Zhang 等对二倍体草莓模式植物森林草莓 Hawaii 4 进行加倍, 发现得到的四倍体植株和二倍体植株叶片形态存在显著的差异<sup>[3]</sup>。

凤梨草莓(*Fragaria × ananassa*) 属于蔷薇科(Rosaceae) 草莓属(*Fragaria*) 多年生草本植物, 是一种深受大众喜爱的水果。如何改良并获得草莓优良品种已成为我国草莓业发展的重要环节。我国具有丰富的野生草莓种质资源, 合理开发

利用这些野生草莓种植资源将为草莓的育种提供重要的支撑。黄毛草莓(*Fragaria nilgerrensis*) 为二倍体植株, 分布于我国云南、四川、湖北、陕西、湖南、贵州、台湾等地。黄毛草莓具有许多优良特性, 生长势强、抗性强、果实色形较好, 圆球形, 白色, 具香气等<sup>[4]</sup>。但黄毛草莓染色体倍性低, 与栽培品种杂交时亲和力不足<sup>[5]</sup>, 难以在草莓品种改良方面发挥作用, 因此需要对其进行染色体加倍。开展多倍体植株的表型研究有助于进一步鉴别加倍的效果, 对草莓保存和育种都具有重要的意义。

本研究通过比较加倍的四倍体黄毛草莓与未加倍的二倍体黄毛草莓的叶片形态, 探讨四倍体草莓可能的适应性, 为四倍体黄毛草莓的开发利用提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

二倍体黄毛草莓于 2012 年 7 月采自西藏自治区林芝县色季拉山种子带回实验室萌发获得, 共 8 株。四倍体黄毛草莓幼苗以二倍体黄毛草莓种子经秋水仙素诱变获得, 经流式

收稿日期: 2016-05-31

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31261120580)。

作者简介: 陈露茜(1988—), 女, 浙江台州人, 硕士, 助理实验师, 从事植物生态学研究。E-mail: 295280782@qq.com。

通信作者: 李钧敏, 教授, 从事植物生态学研究。E-mail: lijmtzc@126.com。

学 2011(1): 58-60.

[2] 田 惠, 潘学军, 张文娥, 等. 套袋对鲜食葡萄果实经济性状的影  
响[J]. 中国南方果树 2008, 37(5): 54-55.

[3] 厉恩茂, 史大川, 徐月华, 等. 套袋苹果不同类型果袋内温、湿度  
变化特征及其对果实外观品质的影响[J]. 应用生态学报 2008,  
19(1): 208-212.

[4] 蒯传化, 刘三军, 杨朝选, 等. 葡萄日灼病的发生与防治[J]. 中  
国果树 2009(3): 42-45.

[5] 蒯传化, 刘三军, 杨朝选, 等. 空气湿度对葡萄日灼病的影响[J].  
中外葡萄与葡萄酒 2009(7): 38-39.

[6] 郑 芳, 张志录, 邵明丽, 等. 套袋栽培对红提葡萄果实品质的影  
响[J]. 安徽农业科学 2007, 35(13): 3844-3845.

[7] 王桂莲. 套袋对红地球葡萄品质的影响[J]. 中国果树, 2006  
(6): 28-30.

[8] 潘佑找, 肖青华. 葡萄套袋效应初报[J]. 安徽农业科学, 2006,

34(11): 2368-2412.

[9] 吕洪兰, 万贵成, 何建军, 等. 套袋对红地球葡萄果实品质的影响  
[J]. 中外葡萄与葡萄酒 2004(5): 36-38.

[10] 郑 芳, 霍瑞庆, 许 丽, 等. 红地球葡萄果实套袋试验[J]. 北  
方园艺 2002(3): 56.

[11] 张传来, 何长敏, 贾文庆, 等. 套袋对红梨果实品质的影响[J].  
河南科技学院学报(自然科学版) 2006, 34(3): 26-28.

[12] 高庆玉, 代志国, 张露露. 套袋对葡萄品质及性状的影响[J].  
东北农业大学学报 2006, 37(5): 627-630.

[13] 张栋民, 李轶晖, 李成祥, 等. 套袋对葡萄浆果品质的影响[J].  
安徽农业科学 2008, 36(18): 7625-7626.

[14] 李以训, 何志刚. 巨峰葡萄套用绿达牌葡萄果袋的效果[J]. 福  
建农业科技 2007(5): 28-29.

[15] 王玉安. 3 种果袋对甘肃天水巨峰葡萄果实品质的影响[J]. 中  
国果树 2011(4): 29-30.

细胞仪鉴定染色体数量成功加倍,共18株。植株培养于智能温室中,湿度80%,白天温度20℃,晚上15℃。

### 1.2 试验方法

定植植株果实成熟后,调查每棵草莓植株叶片数。将每盆植株上完全展开的一张成熟叶片剪下,使用扫描仪(Epson Perfection 1670 Photo)分别对整叶和剪开三小叶进行扫描。利用ImageJ软件<sup>[6]</sup>分别对二倍体黄毛草莓和四倍体黄毛草莓植株的叶片进行长宽比、面积等指标的测量(图1)。

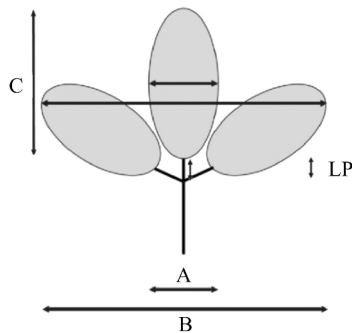


图1 叶片形态指标示意

测量3张小叶组成的复叶宽(B)、叶长(C),计算其比值(B/C),即为叶长宽比(R);叶片面积(S):测定完整叶片面积,包括三小叶和三叶柄;叶片重叠率(O):先测出完整的复叶面积( $S_1$ ),再测量分离后的3张小叶总面积( $S_2$ ),叶片重叠率=复叶面积/3张小叶总面积×100%;中心小叶宽度/复叶宽度A/B;中心小叶叶柄长度(LP);三小叶平均叶柄长

(ALP):测量3张小叶叶柄长度,求平均值;叶齿数(N);中心小叶柄到第1个叶齿的距离(DP)。

测量完后,选取叶片的一小段叶柄(0.5 cm)置于解剖镜下,计数叶柄茸毛数量;用6 mm的打孔器在叶片主脉两侧打取叶圆片,置于5 mL气孔解离液[10%的铬酸和10%的硝酸铵按1:1(V/V)的体积比例混合]暗中处理48 h,再使用镊子剥离叶片远轴面的表皮置于水中,于1%的番红染液中染色2 h,倒出染液,制成临时装片,置于数码显微镜(麦克奥迪BA410E)下摄像,统计气孔数量,同时采用ImageJ软件测量获得气孔长度及周长。每样品取5个视野,取其平均值。

### 1.3 数据统计与分析

数据采用平均数±标准差来表示,采用SPSS 18.0软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 四倍体黄毛草莓叶片形态变异

肉眼观测发现,相比于二倍体黄毛草莓,四倍体黄毛草莓存在叶片形态的畸形,如二倍体黄毛草莓的叶片由3张小叶构成(图2-a),而四倍体黄毛草莓植株叶片出现了中心小叶缺失的现象(图2-b);二倍体黄毛草莓叶片(图2-a)为3张小叶相互独立,而四倍体黄毛草莓植株叶片的下侧2张小叶相连,且叶柄明显缩短(图2-c)。大部分四倍体黄毛草莓的叶片与二倍体相比,颜色更深、更加厚实,小叶叶片形状更宽短,叶缘锯齿变深变宽,小叶叶基部更宽,叶片绒毛更为丰富,并且叶片呈现波纹竖起的褶皱。



a. 二倍体黄毛草莓叶片 b. 四倍体黄毛草莓叶片 c. 四倍体黄毛草莓叶片

图2 四倍体黄毛草莓与二倍体黄毛草莓的叶片形态

### 2.2 染色体加倍对黄毛草莓叶片数量的影响

二倍体黄毛草莓的叶片数量为 $3.90 \pm 0.35$ ,染色体加倍后的四倍体黄毛草莓的叶片数量为 $4.12 \pm 0.34$ 。经独立样本t检验,两者之间不存在显著性差异。

### 2.3 染色体加倍对黄毛草莓叶片形态指标的影响

从表1可知,四倍体黄毛草莓的叶长宽比、中心小叶宽度与整叶的宽度比值、中心小叶叶柄长度均显著或极显著大于二倍体黄毛草莓;而四倍体黄毛草莓叶片面积、叶片的重叠率、三小叶叶柄长度、叶齿数及中心小叶叶柄到第1个叶齿距离与二倍体黄毛草莓差异不显著。

表1 四倍体黄毛草莓与二倍体黄毛草莓叶片形态指标的比较

染色体倍数	叶长宽比	叶片面积 (cm <sup>2</sup> )	叶片重叠率	中心小叶宽度/复叶宽度
二倍体	0.913 1 ± 0.024 832	9.449 5 ± 1.336 93	2.012 7 ± 0.684 26	0.469 0 ± 0.015 36
四倍体	1.024 3 ± 0.020 71	10.062 6 ± 0.768 70	2.593 4 ± 0.602 97	0.491 6 ± 0.031 77
P 值	0.004	0.677	0.573	0.035
染色体倍数	中心小叶叶柄长度 (cm)	三小叶平均叶柄长度 (cm)	叶齿数 (个)	中心小叶柄到第1个叶齿距离 (cm)
二倍体	0.187 0 ± 0.038 53	0.140 0 ± 0.022 81	16.380 0 ± 0.730 00	1.153 8 ± 0.134 99
四倍体	0.274 9 ± 0.021 52	0.195 5 ± 0.015 11	15.610 0 ± 0.525 00	0.936 5 ± 0.043 11
P 值	0.034	0.053	0.418	0.059

#### 2.4 染色体加倍对黄毛草莓叶柄毛的影响

每0.5 cm长二倍体黄毛草莓叶柄毛的数量为221.75 ± 12.47根,四倍体黄毛草莓叶柄毛的数量为208.89 ± 24.00,两者之间不存在显著性差异。

#### 2.5 染色体加倍对黄毛草莓叶片气孔形态指标的影响

从表2可知,四倍体黄毛草莓的气孔周长和气孔密度极显著大于二倍体黄毛草莓;气孔长度的均值大于二倍体黄毛草莓,但其差异不显著。

表2 四倍体黄毛草莓与二倍体黄毛草莓叶片气孔形态指标的比较

染色体 倍数	气孔周长 ( $\mu\text{m}$ )	气孔长度 ( $\mu\text{m}$ )	气孔密度 (个/ $\text{mm}^2$ )
二倍体	206.13 ± 12.02	59.52 ± 3.95	19.82 ± 6.38
四倍体	244.03 ± 42.73	71.14 ± 15.07	15.74 ± 6.80
P值	0.002	0.163	0.006

### 3 讨论与结论

不同倍性植株的表型存在差异,主要体现在在细胞学、形态及生理生化等方面<sup>[7]</sup>。本研究结果表明,经秋水仙素诱导发生染色体成功加倍的四倍体黄毛草莓的叶片形态与二倍体黄毛草莓显著不同,表现为叶片变宽变厚、叶色变深、中心小叶变得发达、叶柄长度伸长等。这与在细胞学上染色体组加倍往往导致细胞大小增大的现象是相一致的<sup>[8]</sup>,高秀岩等发现对凤梨草莓品种威斯塔尔(Veestar)加倍后也出现叶色变深、叶片变宽、变厚等相似性状<sup>[9]</sup>。

染色体加倍后黄毛草莓这些形态性状的改变,可能会导致其适应性发生变化。江莎等认为凤梨草莓叶片随光强的减弱变得大而薄,是为了适应弱光而产生了适应对策,增强了光合作能力<sup>[10]</sup>。本研究中四倍体黄毛草莓叶片变大变宽,同时叶柄伸长,避免了叶片的重叠,使得叶片能够最大限度暴露于光照下,能够捕获更多的光来进行光合作用。这种性状的变异让四倍体黄毛草莓也能够很好地适应弱光环境。同时,四倍体黄毛草莓的叶片增厚、叶色变深,这些性状使得其对强光也能很好地吸收。因此,四倍体黄毛草莓的叶片变异可能会使得其对光的吸收范围更广,但尚需进一步试验验证。

水分在植物的生理生化活动中起着极其重要的作用,而蒸腾作用是指水分从植物体表面(主要是叶片)以水蒸气的形式散失到大气中,蒸腾作用不仅受外界环境条件的影响,还受植物自身叶片形态的影响。李永华等认为,叶片宽度的增加会快速提高叶面积,从而导致植物总体水分通过蒸腾作用的损失量加大<sup>[11]</sup>。因此四倍体黄毛草莓的叶片变宽将会导致植物耐旱性能下降。四倍体黄毛草莓的叶柄伸长,叶柄长度的变长会使叶片容易发生抖动,可以大大降低叶片表面温度,并能规避一些物理伤害。叶片的气孔和大小以及气孔密度与染色体倍性密切相关<sup>[12-13]</sup>。本研究发现四倍体黄毛草莓叶片出现气孔增大、气孔密度下降等现象,与前人的研究结果<sup>[14]</sup>一致。气孔与水分的蒸腾及呼吸作用密切相关<sup>[15]</sup>,叶片气孔的大小是控制蒸腾速率的通道。黄毛草莓四倍体植株气孔大于二倍体植株,会损失更多的水分,一般认为,抗旱性强的品种叶片气孔小而多<sup>[16-17]</sup>,四倍体黄毛草莓的气孔变

大、密度下降也会导致植物抗旱能力下降。因此,四倍体黄毛草莓的叶片变异可能会使得其耐旱性下降,但尚需进一步试验验证。

倍性的变化必然会造成各种各样的表型特征的变化,但是表型的变化方向却是不定的<sup>[14]</sup>。本研究中发现四倍体黄毛草莓在叶片数量、叶柄毛数、叶片面积、叶片重叠率、叶齿数和叶基部形态方面并没有表现出与二倍体显著性的差异,数据离散性大,这表明有个别四倍体植株的叶片在形态上表现出有不同方向的变异存在,需要加大对四倍体黄毛草莓的优良性状的筛选。

#### 参考文献:

- [1]陶抵辉,刘明月,肖君泽,等. 生物多倍体诱导方法研究进展[J]. 生命科学研究,2007(增刊1):10-17.
- [2]韦荣昌,吴庆华,马小军,等. 植物多倍体的研究进展[J]. 种子,2013,32(7):50-53.
- [3]Zhang Q,Folta K M,Davis T M. Somatic embryogenesis,tetraploidy,and variant leaf morphology in transgenic diploid strawberry (*Fragaria vesca* subspecies *vesca* 'Hawaii 4') [J]. BMC Plant Biology,2014,14(1):23.
- [4]雷家军,杨高,代汉平,等. 我国的草莓野生种质资源[J]. 果树学报,1997(3):198-200.
- [5]高凤娟. 野生草莓种质资源在草莓育种中的应用[J]. 北方果树,1999(3):1-4.
- [6]戴志聪,杜道林,司春灿,等. 用扫描仪及Image J软件精确测量叶片形态数量特征的方法[J]. 广西植物,2009,29(3):342-347.
- [7]Dhooghe E,Van Laere 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.
- [8]傅世耀. 植物多倍体与作物育种[J]. 生物学通报,1965(3):42-46.
- [9]高秀岩,杜国栋,张志宏,等. 草莓染色体加倍的研究[J]. 北方果树,2006(4):15-17.
- [10]江莎,胡阳,郑书馨,等. 不同光强与光质对“达赛莱克特”草莓叶片形态结构的影响[J]. 电子显微学报,2009,28(5):453-461.
- [11]李永华,卢琦,吴波,等. 干旱区叶片形态特征与植物响应和适应的关系[J]. 植物生态学报,2012,36(1):88-98.
- [12]闫海锋,黄夕洋,梁萍,等. 二倍体与多倍体罗汉果生物学性状的比较研究[J]. 广西科学,2011,18(2):177-180.
- [13]付金娥,覃斯华,李天艳,等. 秋水仙素诱变薄皮甜瓜同源四倍体研究[J]. 中国瓜菜,2008,21(2):11-15.
- [14]杜晓华,孙涌栋,袁少寒,等. 两种凤仙花多倍体的诱导[J]. 西北农业学报,2011,20(7):56-59.
- [15]樊明,杨滨齐,李红霞,等. 不同生态类型春小麦的光合生理特性差异[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):87-89.
- [16]冯晓敏. 不同黍稷品种耐旱性差异及生理生态特性研究[D]. 临汾:山西师范大学,2012.
- [17]肖军,袁林. 四种阔叶树叶片解剖结构特征及其耐旱性比较研究[J]. 泰山学院学报,2010,32(6):117-120.