

青檀多倍体诱导及特性分析

李岩利

天津大学, 天津 300392, 中国

摘要: 青檀是我国特有的纤维树种, 为国家一级重点保护植物, 主要分布于安徽、福建、浙江、湖北等19个省区。青檀常生于石灰岩山区沟谷溪畔疏林中, 是石灰岩、砂岩、山地、河岸造林的先锋树种。此外, 青檀集造纸、木材、饲料、药用价值于一体, 尤其是青檀韧皮纤维的独特性能, 是制作宣纸不可替代的原料, 具有重要的市场价值。查阅相关论文文献发现, 国外对青檀的研究较少, 而目前国内对青檀的研究相对较多, 但多局限于种子繁育、开发利用、造林试验等试验研究方向。许多科研机构或企业正在研究林木种质创新的关键技术及商业化开发, 但对青檀种质创新的研究较少。市面上仅有一本由南京林业大学编写的《中国青檀》一书, 但尚未见有关青檀育种的研究。

关键词: 青檀; 多倍体诱导; 青檀; 特性分析

Polyploid Induction and Characteristic Analysis of *Pteris Chinensis*

Li Yanli

Tianjin University, Tianjin 300392, China

Abstract: *Pteris chinensis* is a fiber tree species unique to my country and a national first-class protected plant. It is mainly distributed in 19 provinces and regions including Anhui, Fujian, Zhejiang, and Hubei. *Pteris chinensis* often grows in sparse forests along valleys and streams in limestone mountainous areas. It is a pioneer tree species for afforestation of limestone, sandstone, mountainous areas, and riverbanks. In addition, *Pteris chinensis* combines papermaking, wood, feed, and medicinal values. In particular, the unique properties of *Pteris chinensis* bast fiber are irreplaceable raw materials for making rice paper and have important market value. After consulting relevant papers and literature, it was found that there are few studies on *Pteris chinensis* abroad, while there are relatively more studies on *Pteris chinensis* in China, but most of them are limited to experimental research directions such as seed breeding, development and utilization, and afforestation experiments. Many scientific research institutions or enterprises are studying the key technologies and commercial development of forest germplasm innovation, but there are few studies on *Pteris chinensis* germplasm innovation. There is only one book on the market, "Chinese *Pteris chinensis*", compiled by Nanjing Forestry University, but no research on *Pteris chinensis* breeding has been seen.

Keywords: *Pteris tatarinowii*; Polyploid induction; *Pteris tatarinowii*; Characteristic analysis

青檀为榆科黄檀属落叶乔木, 又名青檀皮、剥榆、木兰。为中国特有纤维树种, 国家级珍稀濒危树种, 主要分布于安徽、浙江等19个省区。青檀适应性强, 喜钙, 喜生于石灰岩山地, 亦能生长于花岗岩地区。

青檀为榆科黄檀属落叶乔木，又名青檀皮、剥榆、木兰。为中国特有纤维树种，国家级珍稀濒危树种，主要分布于安徽、浙江、福建等19个省区。青檀适应性强，喜钙，喜生于石灰岩山地，亦能生长于花岗岩、砂岩地区。青檀树干皮和枝皮纤维是制作国内外驰名书画宣纸的优质原料；青檀坚实致密，坚韧耐磨，可用于制作家具、农具、画板和细木工品；种子可榨油。此外，青檀是我国特有的单属植物，对研究榆科植物的系统发育具有重要的学术价值。

染色体是遗传物质DNA的载体，一般认为染色体加倍后的植物具有体形巨大、叶片增厚、抗性强等特点，是筛选用材树种和抗性树种的有效手段[1]。在多倍体诱导过程中，常发生染色体倒位、易位等染色体突变，产生多种类型的变异，表现出很大的遗传可塑性。目前，利用秋水仙素诱导植物多倍体已在多种植物中取得成功。作为重要的用材树种和抗性宣纸树种，目前的研究主要集中在群体分布、抗栽培繁殖、开发应用、遗传结构分析等方面[2]。多倍体青檀在韧皮部纤维合成和抗逆性方面是否具有优势，以及多倍体青檀的遗传可塑性研究目前在青檀育种中多为空白。这方面的研究不仅填补了我国青檀倍性育种的空白，也是拓宽速生、优质、抗逆青檀新品种培育的有效途径。在多倍体植物的遗传研究中，大多数学者研究的是自然形成的多倍体的变异率和遗传力[3]，而对人工诱导多倍体植物的研究较少，在青檀方面还未见报道。本研究利用秋水仙素诱导同源四倍体青檀，并分析不同倍性青檀树皮的品质差异，为进一步进行多倍体育种，充分发挥青檀多倍体的优势提供理论依据。

一、材料与方法

1. 试验时间与地点

本试验于2020年10月至2021年6月在泰安市林业科学研究所进行。

2. 试验方法

青檀多倍体诱导：2020年10月底至11月初采集同一青檀母株，播种于穴中，用沙藏芽盘后，次年4月初幼苗出土，从子叶展平留真叶翻动，将蘸有浓度为0.4%、0.6%、0.8%和1.2%秋水仙素溶液的脱脂棉球涂抹于幼苗茎尖生长点，分别处理24h、48h、72h。早晚各滴1~3滴，然后覆盖塑料薄膜和遮阳网。每次处理30株，4次，共120株。从第一滴开始计算处理时间，达到预定时间后取出脱脂棉球，用清水冲洗以除去药液的影响。对已存在变异（叶片粗厚、植株矮小）的植株进行倍性鉴定。

青檀多倍体鉴定：染色体鉴定：提取待测青檀茎尖，采用常规茎尖压片法对二倍体和四倍体青檀幼苗茎尖的染色体数目进行鉴定。采用蔡司光学显微镜进行观察和成像。

流式细胞术鉴定：取约0.2g幼苗顶叶，在山东农业大学采用BD FACS Calibur流式细胞仪进行倍性鉴定。

青檀纤维形态学观察：取二倍体和四倍体青檀的2年生嫩枝，采用方胜佐（2001）的方法提取纤维，制成切片，用DT2000生物显微镜进行数码成像。系统测量纤维长度和宽度，每个处理测量30根纤维。

青檀特性分析：随机选取2年生二倍体和四倍体青檀各10个品系，按照国标方法测定并计算其基本密度、水分、灰分、苯醇提取物、合成纤维素、酸不溶性木质素、酸溶性木质素等成分。

青檀性状综合评价：各指标测值通过隶属函数计算公式进行定量换算将每个品种所有指标的隶属函数值累加，得到每个品种的平均隶属函数值。

3. 数据分析

使用SPSS19.0对所得数据进行OVA和DUNCAN多重比较，并在0.05水平上检验不同倍性之间的差异显著性。

二、结果与分析

1. 秋水仙素对青檀幼苗的诱导效果

结果表明,秋水仙素处理后紫檀幼苗的形态变异率分别为33.3%和34.2%,死亡率分别为12.5%和13.3%,诱导效果最佳。四倍体紫檀叶片宽大粗壮,叶片深绿色;叶表面具有皱褶、生长迅速的生长特性。由于大多数发生外部形态变异的植物都会发生染色体倍性改变,因此秋水仙素诱导青檀形态变异可作为多倍体植株的初步鉴定指标。秋水仙素浓度过高或过低处理对诱导多倍体效果均有较大影响,因此,以0.6%—0.8%的秋水仙素浓度处理72h对青檀多倍体诱导较为适宜。

采用流式细胞术检测二倍体和疑似四倍体植株的细胞DNA含量。结果显示在相对荧光强度约50的位置处仅出现一个单峰,在相对荧光强度约100的位置处也仅出现一个单峰,说明与对照(四倍体)相比,细胞内DNA含量增加了一倍。

对四倍体植物青檀的细胞染色体计数鉴定,采用常规压片法对天然绿色作物青檀种植中的二倍体和四倍体诱导植株茎尖进行染色体检查,发现青檀的二倍体染色体数目为 $2n=2x=18$,经过秋水仙素溶液处理的植株,虽然存在一定比例的高比例二倍体和嵌合体,但也获得了较多的纯合四倍体,全株染色体数目为 $2n=4x=36$ 。

2. 青檀纤维形态分析

四倍体青檀纤维平均长度、宽度及长宽比显著高于二倍体青檀,二倍体青檀纤维平均长度、宽度及长宽比分别为2450.88 μm 、10.53 μm 和207.59 μm ;四倍体青檀纤维平均长度、宽度及长宽比分别为3053.70 μm 、11.91 μm 和270.99。四倍体青檀皮革纤维的平均长度、宽度及长宽比分别比二倍体高24.59%、13.11%和30.54%。一般认为普通棕褐色皮革纤维平均长度值在2126~2788 μm 、平均宽度在9.84~11.99 μm 、平均长宽比在186.40~268.98之间,是一种很好的造纸原料,本研究发现四倍体青檀皮革纤维长度、长宽比均明显高于对照,因此,四倍体青檀可能是一种良好的造纸原料。

3. 青檀特征分析

平均值是反应变量集的参数,也是变量的重要特征数。二倍体青檀树皮的基本密度、水分含量、灰分含量、苯醇提取物含量、总纤维素含量、酸溶性木质素含量和酸不溶性木质素含量分别为0.2512、40.03%、6.31%、8.15%、65.86%、0.71%和17.02%。二倍体青檀树皮的基本密度、水分含量、灰分含量、苯甲醇提取物含量分别为0.2512、40.03%、6.31%、8.15%、65.86%、0.71%和17.02%。2, Issue 1: 8-15, DOI: 10.25236/AJALS.2021.020102

提取物、合成纤维素含量、酸溶性木质素含量和酸不溶性木质素含量分别为0.2928、31.03%、6.25%、7.70%、71.22%、0.59%、18.8%。与二倍体相比,四倍体青檀树皮基本密度、总纤维素含量和酸不溶性木质素含量分别比二倍体高14.21%、7.52%和9.89%;水分、灰分、苯醇提取物和酸不溶性木质素含量分别比二倍体低22.48%、0.95%、5.52%和16.90%。标准差、标准误差和变异系数可以表示变量的离散性特征。统计值越大,变量的离散程度越大。综合三项指标可以看出,在青檀皮革各组分中,二倍体青檀和四倍体青檀中苯醇提取物的离散度最大,棕色纤维素的离散度最小。四倍体青檀纤维的碱密度、水分、灰分、酸不溶性木质素含量的离散度高于二倍体青檀纤维,而苯醇提取物、合成纤维素、酸不溶性木质素含量的离散度低于二倍体青檀纤维。

对紫檀芪7种纤维成分的百分含量进行双变量相关性分析,结果表明不同纤维成分之间存在较好的相关性。灰分与酸不溶性木质素的相关性为0.913,基本密度与水分的相关性最低,为0.017。两两比较中,灰分与酸-来苏尔、苯醇提取物与酸-来苏尔、纤维素与酸-来苏尔呈负相关,其余成分均呈正相关。四倍体青檀中苯醇提取物与酸不溶性木质素的相关性最高,为0.962,基本密度与灰分的相关性最低,为-0.011。两两比较中,基本密度与灰分、水不溶性木质素和酸不溶性木质素、水不溶性木质素和酸不溶性木质素、灰分和酸不溶性木

质素、复合纤维素和酸不溶性木质素、复合纤维素和酸不溶性木质素呈负相关，而其他成分两两比较则呈正相关。可见，不同多倍体青檀之间的纤维组成差异较大，易受其他因素的影响。

4. 青檀药材综合评价

从不同倍性青檀各项性状综合评价结果可以看出，二倍体青檀综合评分为0.26，四倍体青檀综合评分为0.31，综合评价排序为：四倍体青檀>二倍体青檀。因此，根据试验数据，得出两年生四倍体青檀各项性状优于二倍体青檀的结论。

三、结论

秋水仙素浓度和处理时间是影响多倍体诱导的关键因素，不同品种和诱导材料类型对其多倍体诱导率也有较大影响。张志胜等研究表明，红掌在含有 $0.2\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 秋水仙素的液体培养基中培养14d后，多倍体诱导效果最好（45.5%）。张海峰等研究发现，0.1%秋水仙素处理12h对四倍体杜仲的诱导效果最好。本研究发现，最佳组合为0.6~0.8%秋水仙素溶液处理72h，四倍体诱导率最高可达34.2%。本文首次对不同倍性青檀的特性进行了研究。初步结论如下：四倍体青檀纤维平均长度、宽度及长宽比分别比二倍体高24.59%、13.11%和30.54%；四倍体青檀基本密度、总纤维素含量及酸不溶性木质素含量分别比二倍体青檀高14.21%、7.52%和9.89%。青檀是可以用来造纸的不可替代的原料，其纤维特性与宣纸产品、青檀纤维特性与纸张润色、变形等工艺性能之间存在很多联系，有待进一步研究[7]。产量与质量之间的关系是我们下一步的研究方向，在明确四倍体青檀皮革产量、质量与宣纸性能之间关系的基础上，有待进一步分析青檀韧皮纤维合成酶基因的表达调控，为今后指导青檀纸浆林育种、鞣革质量评价及提高我国纸张质量提供科学依据。

参考文献：

- [1] 韩永锋，张胜娜，张燕，侯晓玲. 矮秆紧白柄同源四倍体不结球白菜的诱导与优质育种，南京农业大学学报，2014，37(2)：15 - 20.
- [2] 何明玲，杨娜，刘晓哲，张红艳. 阿什越橘组织培养体系的建立及多倍体诱导，现代农业科技，2019(23)：59 - 61.
- [3] 孔胜平，曹庆伟，孙建强，刘斌，徐凯. 秋水仙碱诱导大蒜茎尖苗四倍体的研究，中国农业科学，2014，47(15)：3025 - 3033.