

文章编号:1001—7380(2021)03—0019—05

雌雄间性柳树自交子代当年生幼苗表型观测

周洁,王保松

(江苏省林业科学研究院,江苏 南京 211153)

摘要:为研究柳树的遗传多样性,以雌雄间性柳树自交子代478个个体为材料,对质量性状和数量性状进行表型特征评价和遗传变异分析。结果表明:柳树自交后质量性状发生了分离,枝条出现直立、弯曲和扭曲的类型,扭曲的比例为18.41%。有托叶的比例为2.3%,株型矮化的占11.72%,叶色、皮色、分枝等都发生了较大的变异。数量性状存在丰富的变异和遗传多样性,叶片长、叶片宽和托叶的变异系数为39%—58%,株高变异系数最大为66%,分布曲线表明叶长、叶宽、株高等呈偏态分布。此研究结果为研究柳树矮化、枝条扭曲等重要性状的解析和基因的定位提供了重要的物质基础,也为柳树的定向育种改良提供了新的途径和方法。

关键词:雌雄间性;柳树;自交;变异系数;矮化;枝条扭曲

中图分类号:Q944.43;S722.3⁺3;S792.12 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2021.03.005

Phenotypic characters in selfing generations of intersex willow

Zhou Jie, Wang Baosong

(Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China)

Abstract:In order to study the genetic diversity of willow, a total of 478 progenies produced by self cross of intersex willow were used to evaluate the genotype and genetic variation for the quantitative characteristics and discrete characters. The results showed that discrete characters were segregated. The branch exhibited upright, bent and twisted. The proportion of twigs twisted was 18.41%, the proportion of stipules appeared was 2.3%, and the rate of plant type dwarfing was 11.72%. The leaf color, branch color and branching showed great variation. There were abundant variation and genetic diversity in quantitative traits. The coefficient of variation of leaf length, width and stipule ranged from 39% to 58%. The maximum variation coefficient of plant height was 66%. The distribution curve showed that leaf length, leaf width and plant height were skewed. The results provide an important material basis for the study of important traits of willow, as well as a new way for the improvement of willow.

Key words:Intersex; Willow; Selfing; Coefficient of variation; Dwarf; Branch twist

柳树为杨柳科柳属的总称,全世界520多种,我国有257种,122变种,33种变型^[1]。柳树分布广泛,种类繁多,生长速度快,耐水湿,耐低度盐碱,造林范围广,是集观赏价值、生态价值和经济价值于一体的多功能树种^[2]。柳树一般是雌雄异体植物,虽有报道发现柳树存在雌雄同序和两性花^[3],但是雌雄同序三性型柳树的自交尚未见报道。

植物表型性状是物种资源研究最基本的方法和途径,是资源保护与评价的关键指标,也是育种的重要基础。关于园林植物观赏价值评价方法的研究比较多,大多数学者从美学角度着手,采用百分制法、层次分析法、心理物理学法、感官评分法、加权评分法、灰色关联分析法和模糊相似优先比法等评价方法,但由于不同植物的观赏重点不同,以

收稿日期:2021-03-15;修回日期:2021-04-19

基金项目:江苏省创新能力建设计划(科技设施类)—省属公益类科研院所自主科研经费“江苏省林业科学研究院自主科研项目”(BM2018022);江苏省农业科技自主创新资金项目“无絮观赏柳树新品种选育”[CX(20)3042];江苏省林业科技创新与推广项目“生物修复型柳树优良种质创新与栽培技术集成示范”(LYKJ[2020]03)

作者简介:周洁(1986-),女,江苏宜兴人,副研究员,博士。从事林木遗传育种工作。

及评价过程中各种定性与定量指标权重和分值的不确定性,导致暂且未形成公认的比较成熟的评价方法和评价体系^[4-9]。

自交是创制优异中间材料和种质资源的有效方式之一。通过自交可使一些隐性基因得到表现,从而获得丰富的基因变异及表型差异^[10]。本研究通过自交的方法建立了柳树的自交 F1 代,在自交群体中发现了性状的分离,出现枝条的变异、叶片的皱缩、植株的矮化、分枝的变化等表型的改变。通过对表型,如株高、叶片长、叶片宽、枝条弯曲程度及比例的描述和评价,分析柳树自交群体的性状分离程度,为柳树重要性状的分离和基因的鉴定奠定重要的基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验材料为雌雄间性柳树品种‘苏柳 795’(如图 1)自交所获得的子代群体。于 2019 年 1 月中采集‘苏柳 795’花枝进行水培,置于江苏省林业科学研究院柳树种质资源圃温室,对花枝进行修剪,去除多余的叶片和花芽,3—4 月待开花后进行人工杂交。杂交时为避免花粉互相传播,利用纱网将花枝包住,待花序完全开放后,采用人工涂抹的方式进行杂交。将全雄花序和雌雄同序的雄花花粉给全雌花序和雌雄同序的柱头授粉,获得自交种子,收获种子后播于装有泥炭的穴盘中,获得自交苗。待 5 月苗生长健壮时移栽入装有泥炭珍珠岩混合基质的无纺布袋子中,对所有个体进行编号,以待观测。

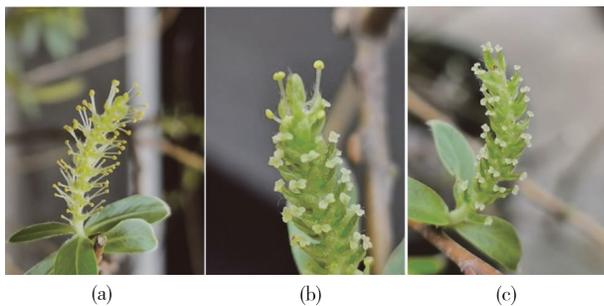


图 1 ‘苏柳 795’不同性别花序
a. ‘苏柳 795’雄花序;b. ‘苏柳 795’雌雄同序;c. ‘苏柳 795’雌花序。

1.2 表型性状的观测与统计

表型性状的观测于杂交当年秋季 10 月待苗木生长健壮时统计。叶长、叶宽、叶柄长的取样部位为从顶部开始往下数第 3 片完整老熟具有代表性的

叶片。株高的测量为从植株顶部至基质表面的高度。于当年秋季和次年的春季分别进行测量。

1.3 数据统计分析

使用 Excel 2010, SPSS 20.0 软件,分别对各种表型性状的数据进行遗传变异度分析。数量性状直方图使用 R(V4.0.2 版本)软件中自带的 hist() 函数进行作图。具体参数说明如下: x , 输入数据; $probability=T$ 绘制样本频次;若为 F 则绘制密度; col 设置直方图中柱子的颜色, $xlab$ 设置横轴标签; $main$ 设置图标签, $xfit$, 设置横轴显示范围(最小值到最大值), $yfit$ 根据 x 变量生成拟合 y 值, $lines()$ 函数根据 x 和 y 画线, lwd 设置线宽。并用 R 中自带的 ks.test() 函数和 shapiro.test() 函数对数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 表型性状特征

在自交子代群体中,表型性状枝条、叶片、干型、分枝等都出现了较大的变异。枝条颜色有绿色(b, d)、金色(c)和红色(a, e)(如图 2)。枝条姿态有直伸(j)、弯曲(k, n)、扭曲(b, c)、矮化(g)(株高 < 5 cm)等不同的类型。分枝数和分枝角度也出现了较大的分离, h—n 较为高大,有通直没有分枝的类型 j,也有分枝数较多的如 i 和 m;分枝部位不同,有基部分枝 f,上部分枝的 h 和中部分枝的 i;分枝角度也出现了较大变化,如 i 的分枝几近平展, l 和 m 的分枝角度较窄。

在自交 F1 代中,叶片的叶形出现了多种类型(见图 3)。「苏柳 795」为披针形,叶柄绿色,无托叶。子代中叶形有披针形(231, 292),卵圆形(310, 350, 140),长披针形(242, 11, 299),变小(96),叶柄颜色有红绿(242, 11)和绿色(66),矮化的叶片没有叶柄,部分植株出现了托叶(271)。叶片正面颜色有深绿(242)、浅绿(48)、黄绿(297)。叶片基部形状‘苏柳 795」为楔形,140 为圆形,299 为窄楔形。

2.2 自交子代表型性状统计

自交共获得存活的子代 478 个,生长正常。在植株的表型中,出现了枝条、叶片等的性状分离。干型有通直、弯曲、扭曲 3 种类型,经统计其中通直的占 10.46%,扭曲的为 18.41%,弯曲的为 71.13%。叶片宽圆形的占 13.81%,披针形的占 31.17%,线形的为 12.13%,叶片缩小的比例为 25.73%,且出现了皱缩的现象。有托叶的占 2.3%,矮化的占 11.72%(见表 1)。

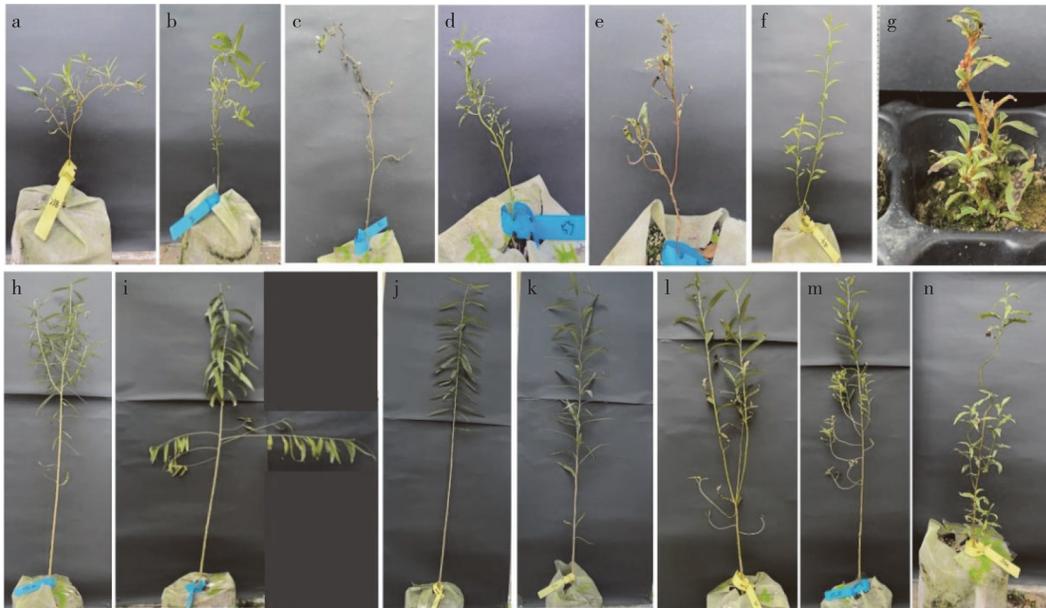
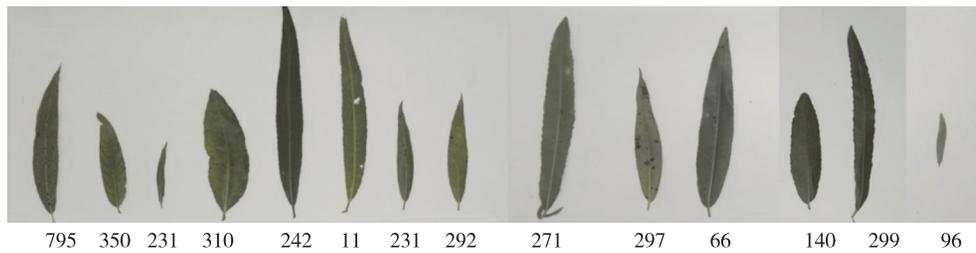


图2 自交 F1 代株型变异



注:叶片编号对应于子代个体编号

图3 自交子代叶片性状特征

表1 自交子代各性状比例

类型	分类	个体数	比例/%	类型	分类	个体数	比例/%
干型	通直	50	10.46	叶片	宽圆型	66	13.81
	弯曲	340	71.13		披针形	149	31.17
	扭曲	88	18.41		线性,长披针形	58	12.13
分枝类型	基部分枝	39	8.16		小	123	25.73
	中部分枝	121	25.31		皱缩	110	23.01
	上部分枝	62	12.97	株型	乔木	385	80.54
	无分枝	216	45.19		灌木	37	7.74
托叶	有托叶	11	2.3		矮化	56	11.72
	无托叶	467	97.7				

2.3 数量性状变异分析

对自交子代 478 个个体数量性状株高、叶长、叶宽、托叶等进行统计分析。当年杂交苗秋季最高的株高为 120 cm, 最矮的为 1 cm, 平均株高为 31.89 cm。杂交后第 2 年春季对株高再次测量, 最高株高为 205 cm, 最矮的为 2 cm, 平均株高为

52.76 cm。叶最长为 15.1 cm, 最短为 0.2 cm, 叶宽最长为 1.7 cm, 最小为 0.1 cm, 叶片长宽比最大比为 15, 最小为 2; 托叶最长为 1.7 cm, 最小为 0.2 cm, 托叶宽为 0.1—0.2 cm, 托叶长宽比为 0—12。其中变异最大的为株高, 当年株高变异系数为 66%, 第 2 年株高变异系数达 77% (见表 2)。

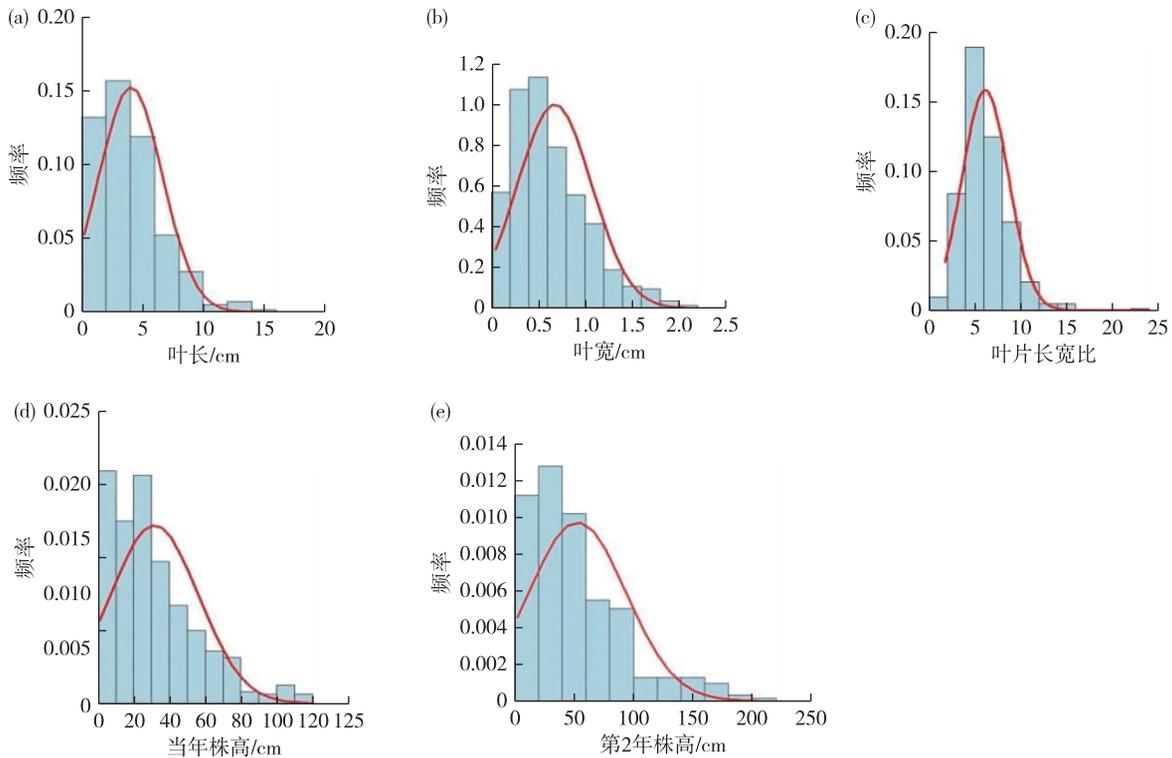
表2 柳树自交子代数量性状变异分析

性状	最大值	最小值	极差	标准差	变异系数/%	平均值
当年秋季株高/cm	120	1	119	18.38	66	31.89
第2年春季株高/cm	205	2	203	41.00	77	52.76
叶长/cm	15.1	0.2	14.9	1.58	39	4.05
叶宽/cm	1.7	0.1	1.6	0.29	42	0.68
叶柄长/cm	1.1	0	1.1	0.13	41	0.31
叶片长宽比	15	2	13	2.2	36	6.16
托叶长/cm	1.7	0.2	1.5	0.48	58	0.83
托叶宽/cm	0.2	0.1	0.1	0.05	36	0.13
托叶长宽比	12	0	12	3.72	57	6.55

2.4 自交子代数量性状频率分布

在对478个自交子代的3个数量性状变异情况统计分析的基础上,绘制了数量性状的分布频次图

(见图4)。图4显示叶长、叶宽、株高、叶片长宽比均未呈现正态分布,均呈偏态分布。



注:a—e分别为叶长、叶宽、叶片长宽比、当年株高、第2年株高分布曲线

图4 数量性状分布图

3 结论与讨论

植物表型性状的鉴定与描述是研究种质资源的最简单、易行的基本方法,也是检测遗传变异最传统、最直观的方法^[11-12]。柳树在种质资源评价方面已进行了耐盐^[13]、耐热^[14]、观赏^[15]等方面的评价。柳树作为雌雄异株植物,利用自交子代进行数量性状和质量性状的变异分析和评价还是首次。种质资源的遗传变异系数越大,其遗传多样性程度

越高。自交子代的性状分离是研究等位基因的重要材料,具有较丰富的遗传变异,变异系数达36%—66%,最高的为株高(达66%),说明自交子代在株高、叶长、叶宽等方面存在丰富的遗传多样性,是种质资源多样性的重要遗传基础,对柳树育种生长迅速、干型好的育种选择具有重要的指导价值。

生物连续性或间断性变量大多遵从正态分布^[16]。本研究发现,柳树自交群体中株高、叶长、叶宽未较好地遵从正态分布,可见在柳树的自交试验

中,偏态分布可能也是柳树表型性状中重要的分布形式之一。偏态分布的性状与环境与遗传因素有关。本研究中所有子代为同一批杂交子代,栽培环境一致,来源一致,所以偏态分布和环境因素没有一定的关系。一方面主要和遗传相关,自交使基因发生了纯合,导致了植株的矮化,出现了矮化株高<5 cm的植株,当年杂交苗株高<10 cm的频次大大增加,和平均株高相同;另一方面可能是由于人为选择方向所致^[17],即在乔木柳选育工作中,生长快、植株高一直是选择的方向和目标,因为这种选择压力,使得柳树自交群体向此特定方向进化,相应性状的个体增加,形成拖尾现象。

乔木柳的自交群体中出现了株高、叶片、托叶、枝条、皮色等重要性状分离,扭曲的枝条占18.41%,矮化的占11.72%,有托叶的为2.30%。龙爪柳 [*Salix matsudana* var. *matsudana* f. *tortuosa* (Vilm.) Rehd.] 为旱柳的变种,但是对于枝条扭曲的成因尚不清楚,在自交群体中,扭曲的占近20%,为枝条扭曲的柳树提供了另外一种解释。植株的矮化一般由单一基因控制,水稻中 OsDWL1^[18]、高粱矮化基因 Dw3^[19]等多种作物中的矮化基因被鉴定,同时矮化突变体降低了茎秆的同化作用,能将更多的光合产物转移到穗部,显著增加产量。柳树自交群体中的矮化植株占11.72%,为矮化机理的研究和矮化基因的鉴定提供了理想的研究材料。皮色、叶片大小、托叶均为数量性状,为多基因联合调控。柳树 *SxMAX* 基因能显著增加分枝数^[20],而在自交群体中基部分枝的占8%,可以通过克隆自交材料的 *SxMAX* 基因,找到功能区和突变位点,为基因编辑技术提供基础。枝条颜色是林木冬季重要的观赏性状。目前在西葫芦皮色、南瓜果皮等果蔬中已鉴定到控制皮色的基因^[21-22],但林木枝条颜色的基因还未见报道。在自交子代中,出现了皮色金色、红色、紫色、绿色等的分离,可为枝条颜色的变异规律和基因克隆提供重要的基础。

柳树观赏性状的评价在于枝条的颜色、枝条的形态,直立和扭曲枝条的性状分离是观赏柳树新的研究性状特性,所以矮化、皮色等性状的鉴定和分枝数、托叶、叶片长、叶片宽、株高等数量性状的鉴定有利于为柳树重要基因的鉴定提供理论基础,自交材料的建立和性状的评价为今后培育柳树高生物量、枝条颜色艳丽、形态各异的柳树提供重要的物质基础。

参考文献:

- [1] 王保松,施士争,等.中国柳树种质资源[M].北京:中国林业出版社,2019.
- [2] 施士争,王红玲,周洁.观赏柳树资源多样性及应用展望[J].林业科技开发,2015,29(2):1-6.
- [3] 冯天杰,黄金祥,孙立元.柳属中两性花及雌雄同序的发现[J].河北林学院学报,1991,6(2):158-159.
- [4] 石桃雄,黎瑞源,梁龙兵,等.苦莽重组自交系群体农艺性状分析[J].华南农业大学学报,2018,39(1):20-26.
- [5] 郑孙元,朱弘,金思雨,等.桂花表型变化的环境依赖特征[J].南京林业大学学报(自然科学版),2019,43(2):38-46.
- [6] 李春花,王艳青,卢文洁,等.云南薏苡种质资源农艺性状的主成分和聚类分析[J].植物遗传资源学报,2015,16(2):277-281.
- [7] 刘鑫铭.葡萄种质表型遗传多样性分析及初级核心种质构建[D].洛阳:河南科技大学,2010.
- [8] 唐东芹,杨学军,许东.新原料植物景观评价方法及应用[J].浙江林学院学报,2001,18(4):394-397.
- [9] 黄建,王碧琴.多种评价方法在景观评价中的综合应用[J].江西科学,2006,24(4):151-153.
- [10] 严华兵,叶剑秋,李开绵.中国木薯育种研究进展[J].中国农学,2015,31(15):63-70.
- [11] 周熠玮,玉云祎,王红,等.切花向日葵的资源评价和自交系的表型分析[C]//张启翔.中国观赏园艺研究进展.北京:中国林业出版社,2016:178-183.
- [12] 王沛琦,胡学礼,李雪蓉,等.红花种质资源表型多样性分析[J].热带作物学报,2019,40(6):1102-1107.
- [13] 李佳迪,刘铎,李子英,等.5个柳树无性系苗期耐盐性综合评价及鉴定指标的筛选[J].西北林学院学报,2020,35(3):114-120.
- [14] 宋阳.柳树对高温胁迫的生理生化响应及种质资源耐热性评价[D].北京:中国林业科学研究院,2016.
- [15] 李敏,张健,王莹,等.不同柳树品种的观赏性评价[J].江西农业学报,2012,24(11):28-29.
- [16] 刘孟军.枣树数量性状的概率分级研究[J].园艺学报,1996,23(2):105-109.
- [17] 杜庆鑫,刘攀峰,庆军,等.杜仲种质资源雄花主要数量性状变异及概率分级[J].北京林业大学学报,2016,38(11):42-49.
- [18] 黄妍,贺焕焕,谢之耀,等.水稻矮化宽叶突变体 *osdwl1* 的生理特性和基因定位[J].作物学报,2021,47(1):50-60.
- [19] 王平,丛玲,朱振兴,等.高粱矮化基因 *Dw3/dw3* 对株高及其它农艺性状的影响[J].辽宁农业科学,2019(5):12-15.
- [20] JEMMA S, SALLY P W, STEVEN J H, et al. Functional screening of willow alleles in Arabidopsis combined with QTL mapping in willow (*Salix*) identifies *SxMAX4* as a coppicing response gene[J].Plant Biotechnology Journal, 2014, 12(4): 480-491.
- [21] 欧点点,赵光伟,贺玉花,等.甜瓜果皮颜色遗传分析及基因定位[J].中国农学通报,2019,35(13):64-69.
- [22] 金丹.黄皮西葫芦皮色遗传规律及生理生化研究[D].北京:中国农业科学院,2000.