

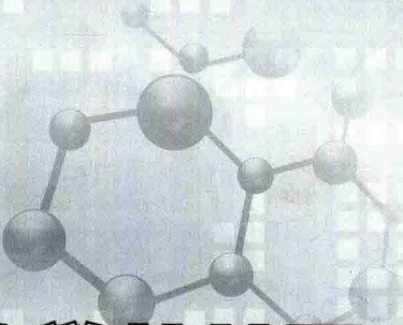


马蔺繁殖生物学特性及 遗传多样性研究

王育青 秦 艳 著

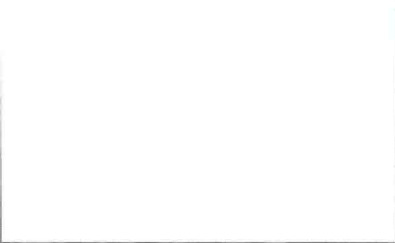
非 外 借

中国农业科学技术出版社



马蔺繁殖生物学特性及 遗传多样性研究

王育青 秦 艳 著



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

马蔺繁殖生物学特性及遗传多样性研究 / 王育青, 秦艳
著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2015. 12

ISBN 978 - 7 - 5116 - 2490 - 1

I. ①马… II. ①王…②秦… III. ①牧草 - 繁殖 - 研究
②牧草 - 遗传多样性 - 研究 IV. ①S540.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 315173 号

责任编辑 李冠桥 张敏洁

责任校对 马广洋

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82106632 (编辑室) (010)82109702 (发行部)
(010)82109709 (读者服务部)

传 真 (010)82106625

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 各地新华书店

印 刷 者 北京华正印刷有限公司

开 本 850mm × 1 168mm 1/32

印 张 4.75

字 数 123 千字

版 次 2015 年 12 月第 1 版 2015 年 12 月第 1 次印刷

定 价 36.00 元

— 版权所有 · 翻印必究 —

马蔺繁殖及遗传多样性研究项目得到以下国家研究项目的支持：

1. “十二五” 国家科技支撑计划
重点牧区草原“生产生态生活” 配套保障技术及适应性管理模式研究 (2012BAD13B07)
2. 国家牧草产业技术体系
鄂尔多斯综合试验站 (CARS -35 -29)
3. 国家自然科学基金项目
沙地生态系统中干旱胁迫对臭柏细根衰老的影响机理研究 (31200540)
4. 中国农业科学院科技创新工程
牧草栽培与加工利用 (CAAS - ASTIP-IGR2015 - 02)

《马蔺繁殖生物学特性及遗传多样性研究》

著 者 名 单

主 著：王育青 秦 艳

参著者：（按姓氏音序排列）

曹红芳 胡永宁 李金倬 马小春

秦 伟 孙启忠 王晓晶 闫伟红

闫志坚 尹 强 赵云华

内 容 提 要

马蔺 (*Iris Lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz), 被称做马莲, 兰花草, 是鸢尾科鸢尾属多年生草本植物, 主要分布于我国东北地区及河北、山东、山西、陕西、甘肃、青海、宁夏回族自治区、西藏自治区等 20 多个省区, 国外见于朝鲜、蒙古和俄罗斯等地。马蔺的观赏性强, 具有较强的吸尘、减噪、降温作用; 同时马蔺生命力强, 病虫害少、节水、养护管理简单, 可用于绿化和水土保持; 马蔺耐盐碱能力强, 是改良中度和重度盐碱地的植物之一, 对防止草地进一步退化也具有极其重要的作用; 马蔺营养丰富, 秋季霜打后成为牲畜喜食之干草, 可用做饲料; 马蔺的花、种子和根均可入药。

马蔺作为一种具有多种优良性状的牧草, 现在已经得到了较为广泛的研究和利用, 目前对马蔺的研究主要集中在植物学特性、生物学特性、抗旱性、耐盐碱性、打破种子休眠等方面, 而对于马蔺种子产量形成变化、马蔺种子发育过程中生理生化变化、不同成熟度对马蔺种子质量和产量的研究尚属空白, 对影响马蔺休眠因素和破除休眠技术方面以及遗传多样性的研究也缺乏进一步的探讨。因此, 本研究主要包括 3 个方面: ①通过对马蔺花芽分化、种子发育过程中生理生化变化规律、种子产量形成



机理进行研究,为牧草种子发育生理研究提供理论依据,同时也为提高牧草种子生产技术奠定坚实的基础;②从形态学及分子水平上对马蔺的亲缘关系进行研究,为马蔺的遗传育种和开发利用等奠定基础;③通过对影响马蔺种子休眠因素的研究,寻找更为安全、简单、易行的打破马蔺种子休眠技术,对保护天然马蔺资源、进行马蔺规模化、产业化生产具有重要的意义。

本文主要是采用野外定位试验观测与室内实验相结合的试验方案,从生物学、生理学、细胞学、胚胎学、遗传学等方面,围绕马蔺各阶段不同繁殖特性展开研究,为马蔺种子生产、应用及其种质资源研究和开发提供科学依据。针对不同生态区马蔺,从种子萌发与休眠解除技术、开花生物学特性、传粉生物学特性,繁育系统研究、农艺性状分析和 ISSR 遗传分析等六方面对其进行了研究,进而揭示马蔺开花、传粉、繁殖等生理生化动态变化,探讨马蔺种子休眠原因,寻找打破马蔺种子休眠技术和确定适宜种子萌发的条件,同时明确不同种群材料的亲缘关系。主要研究结果如下。

(1) 马蔺种子生活力较高,胚发育不完全,具有形态后熟特性。种子自然萌发率较低,种皮较厚、革质、占种子总重量的 31.7%,种子特性对吸水无明显阻碍,对萌发有机械阻力,也是马蔺种子休眠的主要原因之一;种皮和胚乳浸提液中均不存在发芽抑制物,马蔺种子休眠为自发性综合休眠;在生产上,采用层积和 40% NaOH 处理 8h 等方法,可以提高种子发芽率。

(2) 生长多年的马蔺花朵数可达 15 ~ 55 朵,总体花期长达 35d 以上;马蔺始花日期、开花高峰日期、终花期、开花持续期在年度间无明显差异,且个体在年度间能够保持相近的开花物候进程(开花振幅曲线)。马蔺花的开放主要受温度、光照、湿度等气候因子影响,马蔺开花数和坐果数均与开花时间呈负相关性,开花数与坐果数呈极显著正相关。

(3) 9:00 ~ 10:00 马蔺花朵开放散粉后, 其花粉生活力最强, 之后逐渐降低, 到 18:30 花粉活力已降到 9.58%, 花粉的贮藏环境与花粉生活力密切相关; 马蔺具有自交不亲和性, 以昆虫为传粉媒介, 是异花授粉植物, 授粉中可以去垂瓣作为其有效隔离机制。

(4) 马蔺依靠花粉萌发形成花粉管传递, 进入胚囊释放内容物, 融合, 进而完成双受精; 胚乳发育类型为核型, 从开花到种子成熟需要 60d 左右, 马蔺每枝花序上具 1~4 个果, 蒴果先端具喙, 成熟的果实尖端 3 裂, 平均每蒴果内含种子为 50 粒, 马蔺种子的产量和产草量取决于分蘖芽的数量。

(5) 马蔺种群农艺性状表现出不同程度的变异性。千粒重、发芽率、吸水率、胚长、胚乳长、种子长、生殖枝、营养枝、叶宽、株高等 10 个主要性状是引起不同来源种群分化的主要因素。胚长、千粒重、吸水率等易受环境因子影响。聚类结果显示, 绝大多数种群材料表现出明显的地域性; 经、纬度相近的种群聚类分析在一起。

(6) 马蔺表现出丰富的遗传多样性。不同种源马蔺多态性带数比例为 91.1%。UPGMA 聚类将 20 个种群分为四大类群。种群间亲缘关系与纬度相关性显著, 与其所处生境存在一定的相关性, 与农艺性状研究结果吻合, 建立并优化了马蔺 ISSR-PCR 扩增反应体系。

简要说明:

马蔺繁殖及遗传多样性研究项目被列为我国“十二五”科技支撑计划项目内容之一, 受到内蒙古自治区、国家牧草产业体系鄂尔多斯综合试验站的大力支持, 也是国家自然科学基金项目有关研究内容。本研究列为中国农业科学院重要创新工程, 并得到中国农业科学院科研经费的支持。本项目组在项目执行中收集了大量国内外有关马蔺的研究论文。项目组制订了详细的研究计



马蔺繁殖生物学特性及遗传多样性研究

划，开展了深入细致的试验研究和分析，取得一批研究成果，对推动马蔺生产和普及和繁育有一定指导意义和参考价值。

本书共分 9 章，分述国内外研究进展、种子休眠和解除、开花生物学，解析生物学、繁殖、农艺性状和遗传变异、遗传多样性及研究总结与展望。

笔者衷心感谢各部门、各单位的支持，感谢领导和专家的鼓励，感谢协助本书出版的诸位同仁，并对书中提及的文献作者致谢。对书中疏漏和差错之处，恳请读者批评指正。

著 者

2015 年 12 月

目 录

第一章 文献综述	(1)
一、开花生物学	(1)
二、传粉生物学	(3)
三、胚胎学	(6)
第二章 马蔺国内外研究进展和项目创新	(10)
一、马蔺的形态学特性	(10)
二、马蔺的繁殖特性	(11)
三、马蔺的种子休眠特性	(13)
四、马蔺的细胞学和分子学	(14)
五、马蔺的化感作用、渗透作用及抗性研究	(15)
六、马蔺组织培养和无性系建立	(16)
七、马蔺的分布	(17)
八、马蔺的用途	(19)
九、项目创新	(19)
第三章 马蔺种子萌发特性及休眠解除技术	(22)
第一节 材料与方法	(23)
一、材料	(23)
二、种子萌发特性的试验方法	(23)



三、不同处理对马蔺种子发芽率影响的测定	(25)
四、数据处理	(26)
第二节 研究与分析	(27)
一、种子萌发特性	(27)
二、马蔺种子休眠解除技术	(31)
三、讨论	(38)
四、小结	(41)
第四章 马蔺的开花生物学特性	(43)
第一节 材料与方法	(44)
一、材料	(44)
二、方法	(44)
第二节 研究与分析	(46)
一、开花物候	(46)
二、花部形态结构特征	(50)
三、花开放动态及影响开花的相关因子	(51)
四、讨论	(54)
五、小结	(55)
第五章 马蔺的传粉生物学特性	(58)
第一节 方法	(59)
一、花粉生活力及寿命测定	(59)
二、柱头的可授性测定	(60)
三、花粉大小及形状的观察	(60)
四、传粉机制研究	(60)
五、传粉媒介及其访花行为观察	(61)
第二节 研究与分析	(61)
一、花粉生活力	(61)
二、柱头可授性	(64)
三、花粉大小及形态	(65)

四、传粉机制	(65)
五、传粉媒介及其访花行为	(66)
六、讨论	(69)
七、小结	(72)
第六章 马蔺的繁殖	(74)
第一节 方法	(75)
一、受精过程	(75)
二、结实特性及种子产量构成因子	(75)
第二节 研究与分析	(76)
一、受精作用	(76)
二、结实特性	(79)
三、种子产量构成因子分析	(80)
四、营养繁殖特性	(81)
五、讨论	(84)
六、小结	(86)
第七章 马蔺农艺性状遗传变异分析	(87)
第一节 材料与方法	(87)
一、材料	(87)
二、方法	(90)
第二节 统计与分析	(91)
一、农艺性状基本统计分析	(91)
二、农艺性状主成分分析	(92)
三、农艺性状聚类分析	(94)
四、农艺性状间及其与环境因子的相关性	(94)
五、讨论	(98)
六、小结	(102)
第八章 马蔺 ISSR 标记遗传多样性分析	(103)
第一节 材料与方法	(103)



马蔺繁殖生物学特性及遗传多样性研究

一、材料	(103)
二、方法	(104)
第二节 研究与分析	(107)
一、DNA 的提取	(107)
二、ISSR 反应体系的优化	(108)
三、引物的筛选	(112)
四、相似系数分析	(113)
五、聚类图分析	(113)
六、讨论	(115)
七、小结	(117)
第九章 研究总结与展望	(119)
第一节 研究总结	(119)
第二节 展望	(121)
参考文献	(124)

第一章

文献综述

鸢尾属是鸢尾科中最进化的属，也是最大属。鸢尾属植物不仅色彩丰富，花姿奇特，品种繁多，而且具有很高的观赏价值，适应性较强，在园林界久负胜名，深受人们喜爱（王俊，2008）。

鸢尾属植物在全世界约有 300 种，其分布十分广泛，除极地外，几乎都有其生长的可能。主要分布于欧洲、亚洲及北美洲等北温带。我国约有 60 种，主要分布于西南、西北及东北各地（郭翎，2000）。在我国，该属有些种常用作中药，《神农本草经》将马蔺列为中品，其种子中含马蔺子甲素可入药，性平、味甘，具消肿解毒、清热利湿、止血之功效（李宁，2003）。

生物延续种族及繁衍后代的过程和行为就是繁殖，它不仅仅是种群形成、发生和进化的核心问题之一，也是生态演替和生物群落形成的基石。研究植物生长发育规律和繁殖过程，可为育种实践提供理论依据。

一、开花生物学

所谓某生物物候期是长期观测该生物的季节变化所表现出不同生命活动周期规律的总结（郭永强，2004），是生物气候期的简称。开花的植物物候所强调的是相对于群落内其他物种或居群



内其他个体的特定时间开花的适应意义(夏光成, 1985)。开花物候常和传粉联系, 是植物生活史中重要特征之一, 是植物繁殖生物学研究中最基本的研究环节。开花物候在一定程度上影响其生殖成功, 也是一个重要的适合度因子。开花物候是植物生活史的一个重要组成部分, 它不仅与植物类群的系统发生及遗传特性有关, 而且还与环境条件有密切联系。

研究开花物候是林木、作物、果树等生殖生物学研究的基础, 在作物栽培研究中, 是掌握制种的关键, 也是利用各类植物生长调节剂(如赤霉素、生长素、乙烯利等)对花期进行人工调节的前提。在园艺上, 研究开花物候关系到品种之间的受粉、雌雄株配比, 以及有关栽培措施, 如疏花、疏果等的实施(张华新, 1999)。

目前, 在开花生物学范围内, 对鸢尾属植物的研究并不深入, 研究主要集中在花结构的特征、花开放动态以及诱导花芽分化和影响开花因子等方面。张萍等对玉蝉花和德国鸢尾整个开花过程中的光照与温度进行了对比分析, 结果表明, 两者的开花物候期与平均日照长度关系不大, 而与平均气温、平均最高最低气温、活动积温和累计日照时数有关(张萍等, 2001)。对于开花同步性及开花数与坐果数的相关性等并无详尽研究与论述, 这在以后的工作中应予以重视。

分布在哈密地区巴里坤县伊吾军马场附近草原的中亚鸢尾(*Iris bloudowii*), 单花花期 1d, 单株花期 1~7d, 整体花期可维持 15~20d(李宁, 2003); 野鸢尾多年生植株其群体 7 月上旬始花, 8 月中旬终花; 单株花期约 15d, 单花花期仅 5~6h(刘强, 2005); 多年生长白鸢尾于 5 月中旬始花, 花期一直延续到 6 月初, 总体开放时间约 15d(穆丹, 2006); 玉蝉花和德国鸢尾单花花期分别为 7~8d 和 3~4d; 单个花序花期玉蝉花平均为 25~28d, 德国鸢尾为 20~21d; 其群体开花物候水平为: 玉蝉

花的开花日期从5月17日至6月24日，全过程约39d，德国鸢尾的开花日期从4月12日至5月23日，约42d（张萍，2001）。

玉蝉花可通过临界日照长度14h来诱导开花（张萍，2001）；研究发现，短日照加速了德国鸢尾（*Iris germanica*）“Royal touch”花芽分化的进程，而长日照促进了单花序的花芽数目增加（裴海霞，2006）；野鸢尾一年生植株开花结实过程中叶片绝大多数为7片，多年生植株为8片，一般认为通过观察植物的叶片数可判断其开始花芽分化的大致时间，这对于深入细致地研究植物的花芽分化等生物学特性很有帮助（刘强，2005）；对鸢尾和野鸢尾开花习性的研究，发现其花序的开花顺序为上部分枝顶端的花先开，之后是邻近分枝上的花再开，其他花则由底部逐次向上开放（郭冰冰，2007）。

二、传粉生物学

传粉生物学是涉及动物学、植物学、物理和化学的一门交叉学科，主要研究与传粉有关的各种生物学特性及其规律，是植物进化生物学和生殖生态学共同关注的焦点（黄双全，2000）。

1. 抱粉学

我国学者借助扫描电镜和光学显微镜，对国内32种鸢尾属植物的花粉形态进行研究。研究发现，鸢尾属植物的花粉多为近球形或舟状。花粉两侧辐射对称或对称，赤道面观为近圆形或舟形，极面观为近圆形或椭圆形。花粉大小差异显著，长梗鸢尾（*I. delavari* Maic）的花粉最大，矮鸢尾（*I. koba. vashll kitag*）的花粉最小。依据萌发孔的特点并结合外壁纹饰把本属花粉分为以下4个类型：远极单沟、远极单沟-拟沟、二合沟及无萌发孔。其中远极单沟类型被认为是本属较原始的萌发孔类型。而其他类型的萌发孔则是由远极单沟所衍生的，马蔺是属于该类型的一种



(齐耀斌, 1987)。

近年来, 对于花粉的寿命及生活力在遗传育种方面提出了更高的要求, 因此, 人们在花粉及花粉活力的贮藏条件等方面做了深入研究。

植物的寿命与花粉活力一方面由遗传基因决定, 另一方面也因环境不同而有所差异。茄属花粉在夏季只能存活 1d, 冬季能维持 3d, 海枣的花粉生活力可维持数月甚至 1 年是花粉寿命最长的例子, 棉属的花粉在采后 24h 保持活力的有 65%, 超过 24h 没有 1 粒存活 (胡适宜, 1982)。对锦带花来说, 花粉活力在开花之初就较高, 且能持续约 3d 时间, 之后明显下降, 但至花朵枯萎时, 仍有少量花粉具有活力 (刘林德, 2004)。刺五加植株的花粉活力在开花之初较高, 但 3d 后迅速下降, 4d 后大部分失去活力 (刘林德, 2001)。在董玉芝等报道中亚鸢尾花粉生活力最强为早晨刚开放不久的花粉, 随着时间的延长, 花粉生活力下降, 最佳授粉时间为 12:00 左右 (董玉芝, 2003); 余小芳等用醋酸洋红法测定了马蔺的花粉活力, 用联苯胺-过氧化氢法测定其柱头可授性, 同时观测了花药颜色变化和柱头颜色变化。研究得出: 马蔺开花后 4h 花粉活力最高, 8h 后花粉无活力 (余小芳, 2009)。

2. 花部特征和传粉者的相互作用

对花部功能与特征的认识, 一直是研究花进化的主题 (黄双全, 2007)。花部特征能反映出与传粉者的相互适应。花部诱物和报酬与传粉者的觅食行为之间关系的研究成为植物与动物协同进化研究的重要内容。

植物与昆虫之间的相互选择, 是由昆虫的行为反应和花的理化特征决定, 因此植物的传粉昆虫可以间接反映植物的花部特征和化学成分上的特点, 而虫媒植物的花部结构特征对访花者行为和花粉传递机制的影响又可反作用于植物, 影响雌性 (花粉受