

# 几个芒果品种的胚性及多胚苗遗传分析

莫 饶, 罗远华, 周世民, 刘进平

(华南热带农业大学农学院, 海南 儋州 571737)

**摘要:**通过目测,筛选出芒果多胚种子,观察其多胚形态;将多胚种子培育成多胚苗,观察其生长发育状况;取多胚苗和母树叶片进行体细胞染色体数目鉴定及同工酶的分析。结果表明,多胚类群的品种中有单胚现象出现,土芒、吕宋、象牙单胚出现的频率分别为1.04%、3.85%和5.44%;土芒和象牙胚数出现的范围分别为2-6和2-8。多胚种子子叶形态和胚轴的着生位置各异。种子多胚的萌发率、成活率及多胚苗的生长状况均与多胚种子的胚数、子叶发育大小等因素相关。多胚苗体细胞染色体数目是 $2n=40$ ,未发现染色体的数目变异。POD同工酶分析表明,同一种子的多胚苗间酶谱上存在着差异。

**关键词:**芒果;多胚现象;染色体;同工酶

中图分类号:S667.737

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2005)06-0475-05

## Polyembryony in Mango (*Mangifera indica* L.) and Genetic Analysis

MO Rao, LUO Yuan-hua, ZHOU Shi-min, LIU Jin-ping

(College of Agronomy, South China University of Tropical Agriculture, Danzhou 571737, China)

**Abstract:** Monoembryony was observed in polyembryonic mango cultivars Tu-mang, Carabao and Aroemanis, the frequencies of monoembryony being 1.04%, 3.85% and 5.44%, respectively. Two- to 6-embryonic cultivars appeared in Tu-mang, and 2- to 8-embryonic cultivars in Aroemanis. The morphology of cotyledons and the location of radicles in polyembryonic seeds varied with the cultivars. Germination rate and seedling survival rate of polyembryonic cultivars were negatively related with the increase of the number of embryos. Somatic chromosome number of polyembryonic seedlings was  $2n=40$ , and no change in chromosome number was observed. Peroxidase analysis showed that variation existed among polyembryonic seedlings from the same seed.

**Key words:** Mango; Polyembryony; Chromosome; Isozyme

芒果 (*Mangifera indica* L.) 是隶属于漆树科 (Anacardiaceae) 芒果属 (*Mangifera*) 的常绿大乔木, 根据种子特征可将芒果品种分为单胚和多胚两个类群<sup>[1,2]</sup>。在植物的一个胚珠中包含两个或两个以上种胚的现象称为多胚现象。芒果的多胚类型属于不定胚 (主要为珠心胚)<sup>[3,4]</sup>, 在被子植物的珠心内由胚囊以外的二倍细胞或珠被细胞产生。植物无融合生殖具有多种形式, 具有特定起源的多胚在其杂种优势固定中才具有比较大的实用价值<sup>[5]</sup>, 其中无

孢子生殖、二倍体孢子生殖和不定胚三种形式所产生的胚因能提供遗传上一致的后代而引起关注<sup>[5,6]</sup>。

芒果的多胚现象已有部分报道<sup>[2,7,8]</sup>, 但对芒果多胚的形态特征研究报道不多, 对芒果多胚苗的细胞学和同工酶研究还未见报道。本研究以不同类群芒果为材料, 观察芒果多胚种子的形态特征及多胚苗的生长情况; 鉴定多胚苗体细胞染色体数目; 进行同一种子多胚苗间的同工酶分析。旨在了解芒果多胚形态特征、多胚苗的生长情况及探讨其遗传基础。

## 1 材料和方法

供试材料包括芒果单胚和多胚两大类群。单胚类群有台农 1 号 (Tainong 1)、爱文 (Irwin)、椰香 (Dashehari); 多胚类群有土芒 (Tu-mang)、象牙 (Aroemanis)、吕宋 (Carabao)。材料采自海南东方华侨农场种植园, 所有种子均培育在华南热带农业大学农学院教学基地中。

**多胚形态及其发育观察** 将成熟的芒果剥除果皮、果肉、种壳和种皮, 经沙床萌芽后移植在育苗杯中。观察多胚种子的形态、胚轴着生位置及多胚苗的生长情况, 统计多胚率、多胚萌发率和成活率。

**多胚苗体细胞染色体数目鉴定** 取长 1-2 cm 的幼嫩叶片, 参照李正理<sup>[9]</sup>的改良卡宝品红法进行体细胞染色体数目鉴定。

**同工酶分析** 参照赵永芳等<sup>[10]</sup>的方法并进行改进。母树取样选择树冠顶部、向阳、健壮及无病虫害的枝条, 取其第二蓬叶的叶片; 实生苗则取主杆第三蓬叶的健壮、无病虫害的叶片。POD(过氧化物酶 Peroxidase)同工酶分析的分离胶浓度为 11.3%。

## 2 结果和分析

### 2.1 芒果多胚种子形态发育

#### 2.1.1 多胚现象

通过观察种子的萌芽, 按类群将不同品种的

单、多胚出现的频率统计于表 1。单胚类中的椰香出现多胚现象, 多胚率为 5.88%; 台农、爱文两品种未见多胚; 多胚类品种都出现单胚和多胚, 单胚率在 1.04%-5.44% 之间, 其中象牙的单胚率最高, 为 5.44%(表 1)。多胚种子胚数有 2 胚、3 胚……乃至 8 胚, 依胚数可把芒果多胚种子分为双胚型、三胚型……八胚型。土芒、象牙胚数出现的范围分别为 2-6 胚、2-8 胚, 为典型的多胚品种; 土芒 3 胚、4 胚出现的频率较高, 6 胚出现的频率最低, 平均胚数为 3.4; 象牙 4 胚、5 胚出现的频率较高, 最低为 7 胚、8 胚, 平均胚数为 4.2(表 2)。可见, 多胚类群中不同品种的胚数不同; 同品种各胚型出现的频率也不同。

2.1.2 多胚种子形态

芒果种子由种壳、种皮和种仁构成。去除种壳和种皮后的种子(种仁)所看到的是子叶, 因胚轴夹在子叶之间而不能观察到。单胚种仁可见一对子叶, 其表面光滑, 无凹痕。而多胚种仁由多对子叶堆叠而成, 由于子叶堆叠, 种仁表面呈现凹痕, 这是多胚种子最显著的特点。根据多胚种仁子叶的大小和分布, 可以将种子划分为两种类型: (1) 大子叶堆叠型: 种仁由较大且大小较一致的子叶堆叠而成(图 1A); (2) 大小子叶堆叠型: 种仁由 1-2 对大子叶和若干小子叶组成, 小子叶密集堆叠于珠孔一端(图 1B)。

因芒果的胚轴夹在子叶之间, 所以胚轴的位置

表 1 不同类群芒果中单、多胚种子出现的频率

Table 1 Frequency of monoembryonic and polyembryonic seeds in mango cultivars

材料 Cultivars	单胚种子数 No. of monoembryonic seeds	单胚率 (%)	多胚种子数 No. of polyembryonic seeds	多胚率 (%)	总数 Total seeds	
						单胚类 Monoembryonic
	爱文 Irwin	27	100	0	0	27
	椰香 Dashehari	32	94.12	2	5.88	34
多胚类 Polyembryonic	象牙 Aroemanis	5	5.44	87	94.56	92
	土芒 Tu-mang	1	1.04	95	98.96	96
	吕宋 Carabao	1	3.85	25	96.15	26

表 2 土芒、象牙芒多胚种子各胚型出现的频率

Table 2 The number of seeds with polyembryos in cultivars Tu-mang and Aroemanis

材料 Cultivars	No. of embryos							平均胚数 Average	标准差 SD	总种子数 Total seeds
	2	3	4	5	6	7	8			
土芒 Tu-mang	11(20.4)	19(35.2)	17(31.5)	5(9.3)	2(3.7)	0(0)	0(0)	3.4	0.94	54
象牙 Aroemanis	8(17.0)	9(19.2)	10(21.3)	10(21.3)	8(17.0)	1(2.1)	1(2.1)	4.2	1.48	47

括号内数字为所占%。Numbers in parenthesis are the percentage.

不易观察,经萌发伸出胚根后,胚轴的着生位置就十分清楚,主要位于种子底部的珠孔一端(正常胚轴位)。对胚数为2-6胚的多胚种仁的胚轴着生位置进行观察,发现除正常胚轴位外,种仁的其它部位也有着生胚轴的情况(图2)。据胚轴在种仁内的着生位置,可以把多胚种仁胚轴的着生位置分为两种类型:(1)正常型:胚轴均位于种仁底部正常胚轴位(图2A);(2)游离型:胚轴除位于正常胚轴位外,一个或少数几个小子叶胚轴游离在种仁的中上部,远离正常胚轴位(图2B)。

另外还发现,虽然芒果种子的多胚中绝大多数胚是正常的1胚双子叶,但个别品种如象牙也出现极少数1胚3子叶,1胚2胚芽等异常胚类型。

### 2.1.3 多胚种子生长发育

芒果种子多胚萌发的多胚苗大小及生长与种子类型有关。经观察,大子叶堆叠型种子萌发的多胚苗大小相对一致(图1C),生长发育良好;大小子叶堆叠型种子萌发的多胚苗往往有大小苗之分(图1D),大苗生长发育良好,小苗则缓慢,甚至夭亡。

从表3可见芒果种子多胚的萌发率、多胚幼苗成活率及其平均株高随胚数的增加而降低。种子的胚数与萌发率、成活率、平均株高的相关系数分别为-0.89、-0.94和-0.86(其决定系数分别为0.79、0.88和0.74)。可见芒果多胚的萌发及其幼苗的生长与胚数呈负相关。这可能是由于胚数的增多造成子叶变小,从而使得多胚的适应能力以及子叶提供营养的能力变弱所至。

## 2.2 多胚苗遗传分析

### 2.2.1 多胚苗体细胞染色体数目鉴定结果

对土芒的母树、单胚苗、多胚苗和象牙的单胚苗、多胚苗以及吕宋的多胚苗共37个样品进行体细胞染色体数目鉴定,每个样品都观察了30个以

上的中期分裂相细胞。结果每个样品85%以上的细胞其染色体数目为 $2n=40$ ,未发现染色体数目异常的情况,故芒果多胚苗染色体数为 $2n=40$ (图3),是二倍性多胚苗。一般认为芒果多胚是由一个有性胚和一个或多个珠心胚(二倍性)组成的<sup>[1]</sup>,本实验也未发现二倍性以外的其他倍性的多胚苗。

### 2.2.2 多胚苗POD同工酶分析

对土芒五胚型种子的1组5胚苗(即1粒种子长成的5株苗,下同)、四胚型种子的3组4胚苗(共12苗)、三胚型种子的1组3胚苗和象牙五胚型种子的1组5胚苗、三胚型种子的2组3胚苗(共6苗)以及吕宋三胚型种子的4组3胚苗(共12苗)总共12组43棵苗进行POD同工酶分析(部分图谱见图4)。从图4中可以看出,依酶谱可将同组的多胚苗分成两类:一类如土芒五胚型种子5株多胚苗中的Tu51、Tu53,四胚型种子4株多胚苗中的Tu41;象牙五胚型种子5株多胚苗中的X51,三胚型种子3株多胚苗中的X31、X32;吕宋三胚型种子3株多胚苗中的L31。这类多胚苗占同组苗中的少数(1-2苗)且是小苗,其酶谱彼此相似,酶带数丰富且活性强。另一类(如Tu52、Tu54、Tu55, Tu42-Tu44, X52-X55, X33, L32、L33)占同组苗中的多数(2-4株),含有大苗和小苗,其酶谱也彼此相似,但酶带数一般较少且活性较弱。这两类苗间的酶谱差异说明了其可能存在遗传上的差异。

## 3 讨论

根据种子特征把芒果品种划分为单胚和多胚两大类群,出现多胚的,该品种应归为多胚类群;本研究中发现单胚类材料椰香芒<sup>[2]</sup>出现多胚现象,频率为5.88%,故应将椰香芒归为多胚类群。

芒果的有性胚往往退化,无性胚生长发育占优

表3 象牙芒多胚种子生长发育情况

Table 3 The development of polyembryonic seeds of cultivar Aroemanis

种子胚数 No. of embryos in seed	种子数 No. of seeds	总胚数 Total embryos	萌发数 No. of germination	萌发率 Germination rate (%)	成活苗数 No. of survival seedlings	成活率 Survival rate (%)	平均株高 Average stem height (cm)	标准差 SD	变异系数 Variation coefficient
2	11	22	21	95.5	20	95.2	31.8	11.81	0.37
3	21	63	53	92.1	49	93.1	24.4	10.83	0.44
4	15	60	53	88.3	49	92.5	22.3	11.26	0.50
5	15	75	59	78.7	50	84.8	22.8	12.70	0.57
6	8	48	40	83.3	31	77.5	20.9	10.95	0.52

热带亚热带植物学报 2005, 13(6): 480-484

Journal of Tropical and Subtropical Botany

## 巴西橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 微管相关蛋白 全长 cDNA 克隆及表达分析

邓柳红<sup>1</sup>, 肖苏生<sup>1</sup>, 罗明武<sup>2</sup>, 张春发<sup>1\*</sup>

(1. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所热带作物国家重点实验室, 海口 571101;

2. 华南热带农业大学, 海南 儋州 571737)

**摘要:** 从巴西橡胶树 *Hevea brasiliensis* 差减 cDNA 文库中分离到微管相关蛋白(Microtubule-associated protein, MAPs) 基因片段, 根据该基因片段序列信息, 设计特异引物, 采用 cDNA 末端快速扩增技术 RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) 进行差异片段的 5' 和 3' 端的扩增, 获得了长度为 788 bp 的全长 cDNA, 该基因在 GenBank 中的登录号为 AY461412。序列分析表明该基因包含完整的开放阅读框, 编码 144 个氨基酸, 与微管相关蛋白基因家族具有很高的同源性, 推测该基因是微管相关蛋白基因。半定量 RT-PCR 检测证实它在胶乳中的表达强于叶中, 胁迫处理(伤害及乙烯处理)使其表达上调。

**关键词:** 巴西橡胶树; 微管相关蛋白; cDNA 末端快速扩增技术; RT-PCR

中图分类号: Q785

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2005)06-0480-05

## Cloning and Identification of a cDNA Encoding Putative Microtubule-associated Proteins from *Hevea brasiliensis*

DENG Liu-hong<sup>1</sup>, XIAO Su-sheng<sup>1</sup>, LUO Ming-wu<sup>2</sup>, ZHANG Chun-fa<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China;

2. South China University of Tropical Agriculture, Danzhou, 571737, China)

**Abstract:** The cell skeleton of laticiferous cell might play a very important role in latex production and latex flow, and in wound healing and laticifer blocking of tapped *Hevea brasiliensis*. In order to understand the relationship between cell skeleton of laticiferous cells and latex exploitation and laticifer blocking, a clone R329 was isolated from the subtracted cDNA library of *Hevea brasiliensis*, which showed high homology with microtubule-associated proteins. The complete cDNA of R329 was obtained by using 3'-and 5'-RACE strategies. It was 788 bp long containing an 435 bp ORF, flanked by a 173 bp 5'-UTR and a 179 bp 5'-UTR including a poly(A) tail of 28 bp. The DNA sequence of R329 is available from the GenBank databases under the accession number AY461412. The transcripts of R329 were observed by RT-PCR, no signal was detected in leaves of *Hevea brasiliensis*, whereas significant signals of transcripts were clearly shown in latex isolated from virgin rubber trees, regularly tapped trees and ethylene-treated rubber trees. These results indicate that the expression of the gene is strongly induced by stress (wound and ethylene) treatments.

**Key words:** *Hevea brasiliensis*; Microtubule-associated protein; Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE); RT-PCR

势<sup>[1]</sup>。本研究依 POD 同工酶酶谱将同组的多胚苗分成两类,其中一类多胚苗占同组苗中的少数(1-2 苗)且是小苗,而另一类却是占同组苗中的多数(2-4 株),并含有大苗和小苗,故前者可能是由有性胚生长发育而来的有性后代,后者则可能是无性后代。另外,那些远离正常胚位(胚轴游离型)的胚通常生长发育成小苗,这类小苗也是今后在鉴定芒果无融合生殖后代时应加以关注的。

Andrew 等<sup>[12]</sup>用柑橘叶的葡萄糖磷酸异构酶同工酶和葡萄糖磷酸变位酶同工酶鉴定 5 个月的柑橘苗,可以将有性生殖和珠心胚正确区分开来。Assienan 等<sup>[13]</sup>用 9 种同工酶研究 *P. maximum*(黍属)有性与无融合种的遗传多样性,结果得到了 16 个位点的多态性。刘捍中等<sup>[14]</sup>报道,锡金海棠(*Malus sikkimensis*)等植物中的无融合生殖植株除生长发育整齐一致和能单性结实外,过氧化物同工酶酶谱整齐度也比较高。本研究采用 POD 同工酶分析芒果多胚苗,结果发现依酶谱可将同组的多胚苗分成两类,这也许能为鉴定芒果多胚苗中的有性和无性后代提供参考。从上述前人的研究以及本实验结果来看,仅用一种同工酶是难于鉴定植物无融合生殖后代的,今后可考虑采用多种同工酶来进行芒果材料的分析和鉴定。

### 参考文献

- [1] Yang Y X (杨一雪). High-yielding Cultural Techniques of Mango [M]. Nanning: Press of Guangxi Science and Technology, 1988. 5-6. (in Chinese)
- [2] Cheng D C (陈大成). Modern Applied-techniques of Mango Cultivation, Storage and Processing [M]. Beijing: Agriculture Press, 1993, 5-20. (in Chinese)
- [3] Zhang M Y (张美勇), Xu Y (徐颖). Application of apomixis in fruit tree breeding [J]. Shandong Agri Sci (山东农业科学), 1999, 22:54-55. (in Chinese)
- [4] Huang Q C (黄群策), Sun J S (孙敬三). Advance in polyembryonic seedling in angiosperms [J]. Chin Bull Bot (植物学通报), 1998, 15 (2):1-7. (in Chinese)
- [5] Bashaw E C, Hanna W W. Apomictic reproduction [A]. In: Champman G P. Reproductive Versatility in the Grasses [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 101-103.
- [6] Yuan L P, Li Y C, Deng Y D. Progress of studies on rice twin Seedlings [A]. In: Guo X X (郭学兴). Advance in Rice Apomixis Reserch in China [M]. Chengdu: Shichuan Press of Science and Technology, 1991. 176-138. (in Chinese)
- [7] Sachar R C, Chopra R N. A study of the endosperm and embryo in *Mangifera* L [J]. Indian J Agri Sci, 1957, XXVII:219-228.
- [8] Aron Y, Czonsnek H, Gazit S, et al. Polyembryony in mango (*Mangifera indica* L.) is controlled by a single dominant gene [J]. Hortscience: A Pub Amer Soc Hort Sci, 1998, 33(7): 1241-1242.
- [9] Li Z L (李正理). Microscope-Slide Preparation of Plant, 2nd ed [M]. Beijing: Science and Technology Press, 1987. 106-112. (in Chinese)
- [10] Zhao Y F (赵永芳). Biochemistry Techniques: Principle and Application, 3rd ed [M]. Beijing: Science and Technology Press, 2002. 358-382. (in Chinese)
- [11] Luo S L (罗素兰), Zhangshun D T (长孙东亭). Development of mango biotechnique reserches [J]. Biotech Infor (生物技术通报), 2001, 3:19. (in Chinese)
- [12] Andrew M T, Robert K S, Terry M L. Citrus isozymes [J]. J Hered, 1982, 73:335-339
- [13] Assienan B, M. Noirot, et al. Inheritance and genetic diversity of some enzymes in the sexual and diploid pool of the agamic complex of Maximae (*Panicum maximum* Jacq, *P. infestum* Anders. and *P. trichocladum* K.Schum.) [J]. Euphytica, 1993, 68:231-239.
- [14] Liu H Z (刘捍中), Pu F S (蒲富慎), Ren Q M (任庆棉), et al. Some characters of apomictic *Malus* [J]. Acta Hort Sin (园艺学报), 1989, 16(1):1-4. (in Chinese)