

无融合生殖与柑橘多胚现象的研究进展

张斯淇, 徐强, 邓秀新*

(华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 植物无融合生殖是指植物的胚珠组织不经历正常的减数分裂和受精作用, 而直接进行胚发育形成种子的无性生殖方式。无融合生殖植物完全继承了母体的全部基因型, 因而具有独特研究与育种意义。芸香科柑橘属植物具有独特的多胚现象, 其珠心组织能够发育成不定胚(称为珠心胚)进行无融合生殖。文中介绍了柑橘类植物的珠心胚生殖现象、细胞学和遗传学研究进展。珠心胚现象虽然对柑橘杂交后代获得有较大影响, 但在生产上可产生性状整齐一致的后代, 可以培育无病毒苗木。

关键词: 不定胚生殖; 珠心胚; 孢子体无融合生殖; 柑橘

中图分类号: S666

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2014)01-0088-09

Advances in Apomixis and Polyembryony Research in *Citrus* Plants

ZHANG Si-Qi, XU Qiang, DENG Xiu-Xin*

(College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Wuhan 430070, China)

Abstract: In apomixis asexual reproduction, the ovule generates embryogenesis without meiosis or fertilization, leading to embryo development and seed formation. Apomicts inherit the mother's genotype entirely, and therefore have unique significance in research and breeding. Polyembryony, in which nucellar embryos develop from nucellar tissue to undergo apomixis, is a unique phenomenon of *Citrus* and other genera of Rutaceae. This review focused on the phenomenon of adventitious embryony in *Citrus* and recent progress in histocytology and genetics. Nucellar embryony hinders the formation of hybrid offspring in *Citrus*, but it can produce offspring with good unity and can also be used for generating virus-free seedlings.

Key words: Adventitious embryony; Nucellar embryo; Sporophytic apomixis; *Citrus*

早在 1719 年, Leeuwenhoek 就发现甜橙 [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] 中一颗种子可以萌发出两个幼苗, 这是柑橘多胚现象第一次被报道, 而这种现象是由于植物界中独特的无融合生殖方式 (apomixis) 导致的。植物界的繁殖模式, 通常是开花、受精并进行种子发育。但是, 有一些被子植物却不需要经过双受精作用就能直接发育产生种子, 这就是无融合生殖植物 (apomict)。

植物无融合生殖现象一直吸引着科学家, 因为它产生的后代中所含遗传信息与母本的完全一致, 可以固定杂种优势, 对育种工作、种子生产等具有重大的意义。自 20 世纪 80 年代, 我国育种家袁隆平提出了水稻杂种优势利用三步曲: “三系法”到“两系法”再到“一系法”, 其中“一系”即指利用无融合生殖来固定杂种优势^[1], 在国际上被誉为继“绿色革命”后更具有意义的“无性生殖革命”^[2]。

收稿日期: 2013-04-26, 修回日期: 2013-08-05。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30921002)。

作者简介: 张斯淇(1988-), 女, 博士研究生, 主要从事柑橘无融合生殖研究(E-mail: zhangsiqi@webmail.hzau.edu.cn)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: xxdeng@mail.hzau.edu.cn)。

1 无融合生殖概述

植物无融合生殖，是指植物的胚珠母体组织不经历正常的减数分裂和受精作用，而是直接进行胚发育形成种子的无性生殖方式^[3]。目前国际上将无融合生殖的概念限定为三种常见类型：二倍体孢子生殖 (displospory)、无孢子生殖 (apospory) 以及不定胚生殖 (adventitious embryony)^[4]。前两者均涉及未减数的胚囊形成，属于配子体无融合生殖，而后者直接起源于胚珠的体细胞，属于孢子体无融合生殖 (图 1)。

无融合生殖在植物界中虽不常见，但已发现被子植物中有 61 科 400 多种植物具有该特性，其中单子叶植物 16 科，双子叶植物 45 科，主要以草本植物为主^[5]。在经济作物中，无融合生殖现象并不多见，但在果树作物中，如苹果属 (*Malus* Mill.)、柑橘属 (*Citrus* Linn.)、芒果属 (*Mangifera* Linn.) 和核桃属 (*Juglans* Linn.) 植物，都有该现象出现^[6-8]。苹果属中约有 10 个种具有无融合生殖

能力，其机制大多属于无孢子生殖类型^[6]，其他三者则属于不定胚生殖。

在柑橘属与其近缘属枳属、金柑属中，除了柚、宜昌橙、枸橼一般为单胚，大部分物种都具有无融合生殖能力可以产生多胚。与柑橘属一样，芒果 (*Mangifera indica* Linn.) 也具有多胚现象，如红花芒果、象牙芒和吕宋芒等，而来源于印度的芒果多为单胚性品种^[7]。核桃属中的山核桃、核桃、黑核桃等，也具有不定胚现象^[8]。

1.1 孢子体无融合生殖

无融合生殖起始细胞直接发育形成胚的过程，称为不定胚生殖，也即孢子体无融合生殖^[9]。在此类植物的胚珠进行正常有性生殖的过程中，胚珠中的两层体细胞组织，即珠心组织或内珠被细胞中出现了一些具有浓厚的细胞质的细胞，这些细胞很快分裂成为数群细胞，最后入侵胚囊产生一个或多个胚，形成一个或多个同样具有胚芽、子叶、胚轴和胚根的胚^[9]。由珠心组织发育而来的胚，则称为珠心胚，柑橘属植物就属于此类。不定胚在柑橘

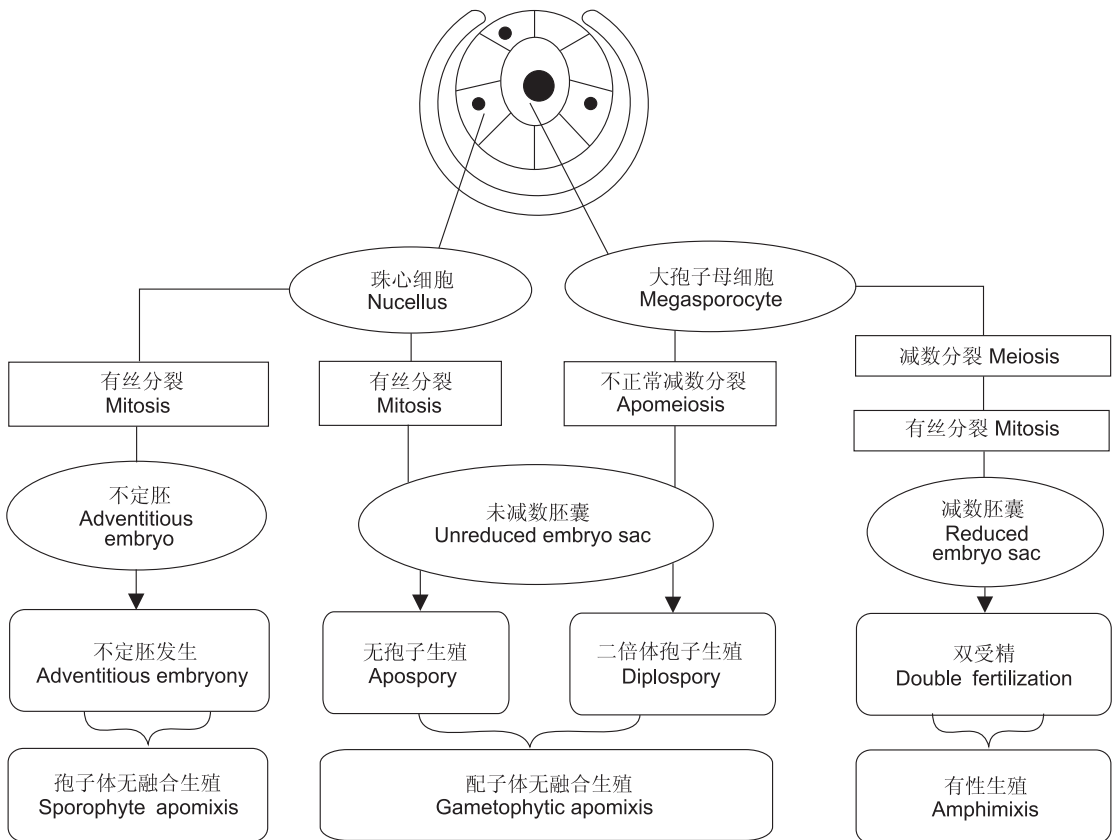


图 1 无融合生殖与有性生殖相关概念^[10]
Fig. 1 Related concepts of apomix and amphimixis

属、兰属(*Cymbidium* Sw.)、漆树科的腰果(*Anacardium occidentale* Linn.)和芒果、桃金娘科的蒲桃(*Syzygium jambos* Linn.)和莲雾(*Syzygium samarangense*(Blume) Merr. et Perry)、山竹子科的山竹子(*Garcinia mangostana* Linn.)等中都有珠心胚的发现^[11,12]。

1.2 配子体无融合生殖

配子体无融合生殖主要出现在禾本科(*Gramineae*)、菊科(*Compositae*)等草本植物中^[5],根据形成未减数胚囊的来源不同,配子体无融合生殖可以分为来源于胚囊的二倍体孢子生殖,以及来源于珠心细胞的无孢子生殖两种方式(图1)。

二倍体孢子生殖是指如果无融合生殖起始细胞起源于大孢子母细胞所占的位置,其胚囊发育经历了不正常的减数分裂模式^[9,13]。无孢子生殖是指在靠近大孢子母细胞的其他位置的细胞通过有丝分裂形成未减数胚囊的过程^[9]。这两种配子体无融合生殖方式与孢子体无融合生殖方式有着明显的不同。

2 柑橘多胚现象

2.1 柑橘多胚现象

一粒种子中具有一个以上的胚,称为多胚现象(*polyembryony*),这种现象在柑橘类植物中普遍存在^[14]。通常柑橘的一粒种子中可产生4~5个胚,其中除1个为合子胚外,其余均为不定胚,有时则全部为珠心胚。

由于大多数柑橘品种具有多胚性,导致柑橘杂交育种效率低下,杂柑品种的遗传背景比较狭窄^[15]。在杂交育种亲本选择中,单胚品种‘克里曼丁橘’和‘清见’、‘王柑’、‘坦普尔柑’为常用的亲本^[15]。

多胚现象产生的原因极为复杂,除形成不定胚可以产生多胚现象外,也能从胚囊中卵细胞以外的细胞(常为助细胞)发育为胚。此外,还有裂生多胚现象,即1个受精卵分裂成2个或多个独立的胚,此现象在裸子植物中出现较多,而在柑橘倍性杂种中也有发现^[16,17];也有在胚珠中有2个以上的胚囊,形成多胚现象,如桃^[14]等。

珠心胚胚数多少与珠心胚原基细胞数相关,原基细胞数多,发育成的珠心胚也就多,大小不一的

胚充满胚囊,可多达数十个^[18]。影响柑橘胚数的因素较多,主要有:气候条件,温暖的地区柑橘胚数多;树体条件,树体北侧、树势强、树龄高的胚数多;土壤和肥料,施用磷酸钙的植株胚数多^[11]。

2.2 珠心胚的细胞学研究

柑橘珠心胚主要由珠心胚原基细胞或称珠心胚起始细胞发育而成,它们起源于珠心组织珠孔端的一两层细胞内,在珠孔到珠心的中间,胚囊边缘第一层及邻近珠被的珠心外表皮甚至合点端有时也偶尔存在珠心胚原基细胞,珠心胚原基细胞的细胞核大,细胞质浓厚,明显地区别于其它细胞,并形成厚细胞壁将其与周围珠心组织隔离开来^[19-21]。这种结构在柑橘愈伤组织体细胞胚胎发生时也能观察到^[22,23],柑橘的珠心组织容易诱导产生胚性愈伤组织,在山金柑等多胚性柑橘的种中,实生苗也具有直接产生胚性愈伤的能力^[24,25]。

随着珠心起始细胞增大,壁变薄且细胞变圆,形成更多空腔^[20]。随后珠心起始细胞进行分裂,珠心组织退化,珠心中重新建立与母体联系的维管组织^[20]。珠心胚细胞团继续分裂生长并直接发育成珠心胚,随后开始与合子胚进行竞争,甚至取代合子胚^[14,26]。Wakana和Uemoto发现胚珠中珠心胚在中央区域起始发育,在种子中合子胚和珠心胚的形成限制在珠孔端^[27]。Koltunow等则发现在受精的种子中,珠心胚主要在珠孔端起始发育,而未受精的胚珠中则在中间至合点端发育^[20]。

珠心胚的发生是否依赖受精,一直是个有争议的问题。早期研究认为珠心胚的发生需要受精,20世纪80年代起开始有实验证明,不管有无授粉,珠心胚都可以自动发生,并从退化的珠心组织中获得营养,授粉受精以及胚乳发育则可以进一步刺激珠心胚的发生,胚乳为后期的珠心胚发育提供营养,但未受精胚珠中珠心胚只能发育到球形胚阶段^[27,28]。未受精胚珠中珠心胚停止发育的原因,可能是胚乳未发育导致缺失营养,同时也缺少生长的空间,如果给予营养,球形胚期珠心胚也能继续发育形成植株^[11,20,29]。

归纳起来,柑橘珠心胚发育主要分为三个阶段:一是珠心胚起始细胞形成,起始细胞在开花前期能自主发生,不依赖授粉受精^[19,30];二是珠心

胚起始细胞分裂, 不依赖合子胚刺激^[20]; 三是珠心胚发育, 并且需要胚乳来提供营养^[20,30]。

2.3 珠心胚与合子胚的区别与竞争

不定胚原始细胞与合子的分化过程具有类似的特征。它们从珠心细胞分化并与之隔离, 胞间连丝消失, 具很高的代谢活动, 两者的差别在于合子是胚囊复杂系统的主要成员且是极性的, 而不定胚原始细胞表现出极极性化^[9]。不定胚原始细胞与周围珠心细胞的代谢情况有所不同。在柑橘的不定胚原始细胞中有淀粉合成, 极少观察到脂肪体, 但珠心的其它细胞中则显著存在脂肪的合成, 柑橘属中胚囊附近的不定胚原始细胞富含抗坏血酸^[31]。

在珠心胚与合子胚的竞争中, 通常是珠心胚占优势, 合子胚发育的速度较慢^[4], 推测其原因有下列两个方面: 第一, 珠心胚发育比合子胚早, 幼小的合子胚位于胚囊顶部, 在输导系统营养供应与在胚囊中占领空间上, 不如珠心胚有利; 第二, 珠心胚与母体遗传成分相同, 比异质的合子胚能更好地适应母体的生理环境^[11]。

2.4 多胚苗的多倍体化与裂生多胚现象

柑橘的多胚苗容易出现多倍体, 在对热带、亚热带、地中海不同地区的柑橘调查发现, 四倍体珠心苗经 SSR 分析基因型与母本二倍体一致, 出现了染色体加倍的现象, 并且受到基因型与环境的影响^[32]。在二倍体单胚克里曼丁橘(*Citrus clementina* cv. *Clemenules*) 与四倍体日本夏橙(*C. aurantium* cv. *Natsudaidai*) 的杂交后代三倍体种子中也出现了多胚现象, 但是这些多出的胚并不来源于珠心胚, 而是合子胚分裂而成的^[17], Aleza 等也在柑橘二倍体与四倍体杂交后代的未发育种子中发现了裂生多胚现象, 并用 SSR 标记证实了它们来源于相同的合子胚^[16]。在单胚‘清见’橘橙 Kiyomi(*C. unshiu* Marcow cv. *Miyagawa wase* × *C. sinensis*(L.) Osbeck. cv. *Trovita*) 和椪柑(*C. reticulata* Blanco.) 的杂交后代中, 也出现了合子胚的裂生多胚现象^[33]。可见, 合子胚的裂生多胚现象与珠心胚现象没有必然联系。

根据无融合生殖植物具有高度杂合性和多倍体化的现象, Savidan 等提出了基因组冲撞的观点, 认为无融合生殖是两种繁殖性状不同的相关物种或

生态型之间杂交的结果^[34], 两个基因组的基因异步表达, 导致无融合生殖的发生^[35]。柑橘属植物容易进行种间杂交、近缘属间杂交^[26], 多数种具有高度杂合性, 且多胚物种易发生多倍体化事件^[26], 这些现象一定程度能支持该理论, 但在二倍体柑橘植物中, 也有多胚现象出现, 说明该理论并不能完全解释柑橘的多胚现象。

2.5 柑橘珠心胚的遗传学研究

柑橘属是研究孢子体无融合生殖遗传学机制的主要模式植物, 较早文献推测柑橘属孢子体无融合生殖的遗传受到一对显性基因的控制^[36]。单胚母本与单胚父本杂交, 后代常是单胚; 单胚母本与多胚父本杂交, 其后代既有单胚又有多胚, 比例约为 1:1; 多胚亲本间进行杂交, 也有可能产生单胚后代^[26], 例如单胚品种‘清见’就是以‘宫川’早熟温州蜜柑(*C. unshiu* Marcow. cv. *Miyagawa wase*) 为母本、‘特罗维塔’甜橙(*C. sinensis* [L.] Osbeck cv. *Trovita*) 为父本杂交得到的^[37]。萧顺元等对华农本地早(*C. reticulata* Blanco. cv. *Huanongbendizao*) 与宜昌橙(*C. ichangensis* Swingle) 杂种后代的遗传分析也认为, 多胚性受显性基因控制^[38]。

Garcia 等则认为单多胚性状受多基因控制, 他们对单胚的柠檬(*C. volkameriana* Ten. & Pasq.) 和多胚的枳壳(*Poncirus trifoliata* L.) 的种间杂种群体进行了遗传作图, 出现了无融合生殖与有性生殖近似 3:1 的分离, 同时鉴定出了 6 个兼有正负效应的 QTL, 表明孢子体无融合生殖的遗传控制复杂^[39]。

洪棋斌等分别以单胚的克里曼丁橘和韦尔金橘(*C. reticulata* Blanco. cv. *Wiking*) 为母本、分别以多胚的甜橙品种锦橙(*C. sinensis*(L.) Osbeck. cv. *Jincheng*)、新会橙(*C. sinensis*(L.) Osbeck. cv. *Xinhui*)、桃叶橙(*C. sinensis*(L.) Osbeck. cv. *Taoye*) 和哈姆林(*C. sinensis*(L.) Osbeck. cv. *Hamlin*) 为父本, 获得 8 个杂交组合的 F1 代群体, 发现 F1 代性状出现分离; 其分离比例在韦尔金后代中接近 1:2, 而在克里曼丁后代中接近 1:1; 结合前人研究资料, 他们提出在柑橘类植物中, 无融合生殖受到位于细胞核的两对

互补的显性基因 A1 和 A2 的调控, 且当基因型中 A1A1 表现则出现显性纯合致死效应, 该假说能解释目前部分遗传学数据^[40]。

Kepiro 和 Roose 利用 AFLP 标记对单胚柚子和多胚枳壳的杂交后代进行遗传图谱分析, 得到 5 个分子标记可能与一个多胚基因相关, 同时在枳壳的自交后代中也得到类似的结果, 同时发现杂种后代中多胚种子的比例变化差异大, 可能与其他基因有关^[41]。

Nakano 等利用多种分子标记对温州蜜柑不同杂交组合的分离群体进行遗传作图, 已经建立多胚性状位点附近的遗传图谱、物理图谱、单倍型特异物理图谱, 并对单倍型图谱多胚位点附近的 3 个 BAC 进行克隆末端测序, 将多胚性状定位到一个 380 kb、含有 70 个预测 ORF 的区域, 并通过 53 个品种的单多胚性状进行关联分析, 鉴定出 79 个相关 SNP^[42-44]。近期研究还表明多胚性状与两个分子标记共分离^[45]。

为了进一步对多胚现象的分子遗传机理进行研究, Nakano 等利用抑制性消减杂交技术 (SSH) 对

单胚柑橘品种和多胚柑橘品种的胚珠组织进行了转录水平研究, 筛选出了 2 个多胚特异基因和 3 个单胚特异基因, 其中单胚特异基因 *msg-2* 在体细胞胚胎发生后期也特异表达, 暗示其有可能对体细胞胚或不定胚的起始细胞形成有抑制作用, 所有的差异表达基因在序列上与 380 kb 的多胚基因候选区域并无相似性^[46]。

3 具有单多胚性状的中国柑橘种质资源

中国农业科学院柑橘研究所对柑橘单胚类型的调查中指出, 柑橘类果树 3 属, 即: 柑橘属、金柑属 (*Fortunella*)、枳属 (*Poncirus*) 中成熟种子的胚数可以分为 3 个类型: (1) 单胚型, 一粒种子含有一个胚, 如柚。偶见有多胚者, 不超过总种子数的 6% 亦可认为是单胚^[47]; (2) 多胚型, 种子为多胚, 如椪柑、早橘等, 胚数从 2 到 40 个胚不等; (3) 单多胚混合型, 有些品种单、多胚的种子各占一定的比例, 如香橙 (*C. junos*)^[47]。在此我们对目前柑橘类植物单多胚胚性的研究进行归纳, 并以柑橘“三属八大类”方法分类列表 (见表 1)。

表 1 柑橘类植物单多胚胚性的相关报道
Table 1 Traits for mono-and poly-embryony in *Citrus* fruits

| 属名 Genus | 分类 Classification | 种名 Species | 胚性 Embryony | 单胚品种 Cultivars of monoembryony |
|--------------------------|----------------------|-------------------------------------|--|---|
| 枳属 <i>Poncirus</i> | 枳类 Poncirus | 枳壳 <i>Poncirus trifoliata</i> | 单多胚混合型 ^[47] , 多胚为主 ^[47,48] Mixture of mono- and polyembryony, polyembryony mostly | 灌云枳 (四倍体) ^[48] Guanyunzhi (4x) |
| | | 枳的杂种 Hybrid of <i>P. trifoliata</i> | | 长阳枳橙 ^[48] Changyangzhicheng |
| 金柑属 <i>Fortunella</i> | 金柑类 Fortunella | 山金柑 <i>Fortunella hindsii</i> | 多胚型 ^[48] , 偶见单胚 Polyembryony, monoembryony occasionally | |
| | | 金弹 <i>F. crassifolia</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | |
| | | 罗浮 <i>F. margarita</i> | 单胚型 ^[47,48] Monoembryony | 罗浮 Luofu |
| | | 罗纹 <i>F. japonica</i> | 单胚型 ^[47,48] Monoembryony | 罗纹 Luowen |
| 柑橘属 <i>Citrus</i> | 宜昌橙 Papado-citrus | 宜昌橙 <i>C. ichangensis</i> | 单胚型 ^[47,48] Monoembryony | 华盖宜昌橙, 怀化宜昌橙, 南台宜昌橙, 宁强宜昌橙, 皮家山宜昌橙, 漾濞宜昌橙 Huagaiyichangcheng, Huaihuayichangcheng, Nantaiyichangcheng, Ningqiangyichangcheng, Pijiaashanyichangcheng, Yangbiyichangcheng |
| | | 大种橙 <i>C. macrosperma</i> | 单胚, 偶见 2 胚 ^[48] Monoembryony, 2-embryo occasionally | |
| | | 香橙 <i>C. junos</i> | 单多胚混合型 ^[47,48] Mixture | |
| 大翼橙 Papada | | 红河橙 <i>C. hongheensis</i> | 单胚型 ^[48] Monoembryony | 云南红河橙 Yunnanhonghecheng |
| | | 大翼厚皮橙 <i>C. kereii</i> | 单胚型 ^[48] Monoembryony | |
| | | 马蜂柑 <i>C. hystrix</i> | 单胚或二胚 ^[48] Monoembryony or 2-embryo occasionally | |

续表 1

| 属名 Genus | 分类 Classification | 种名 Species | 胚性 Embryony | 单胚品种 Cultivars of Monoembryony |
|----------------------|--|---------------------------------|---|--|
| 枸橼类 Citrophorum | | 来檬 <i>C. auratifolia</i> | 多胚型 ^[47,48] Polyembryony | 芒市来檬 ^[48] Mangshilaimeng |
| | | 黎檬 <i>C. limonia</i> | 单多胚混合型 ^[47] Mixture | 北京柠檬 ^[48] , 红黎檬实生变异 E-4-123 Meyer Lemon, Honglimeng E-4-123 |
| | | 柠檬 <i>C. limon</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | |
| | | 柠檬杂种 Hybrid of <i>C. limon</i> | | 大柠檬, 马柑柠檬 ^[48] Daningmeng, Maganningmeng |
| | | 枸橼 <i>C. medica</i> | 单胚型 ^[47,48] Monoembryony | 宾川香橼, 沧源野香橼, 大香橼, 红皮大果香橼, 小香橼, 皱皮枸橼, 云南香橼 Binchuanxiangyuan, CangYuanyexiangyuan, Daxiangyuan, Hongpidaguoxiangyuan, Xiaoxiangyuan, Zhoupixiangyuan, Yunnanxiangyuan |
| | 枸橼杂种 Hybrid of <i>C. medica</i> | | 巴柑檬 ^[48] Bergamot | |
| 柚类 Cephalo-citrus | | 柚 <i>C. grandis</i> | 单胚型 ^[47,48] Monoembryony | 一般为单胚品种 Monoembryony generally |
| | | 葡萄柚 <i>C. paradisi</i> | 多胚型 ^[47,48] Polyembryony | |
| | | 香圆 <i>C. wilsonii</i> | 多胚, 偶见单胚 ^[48] Polyembryony, monoembryony occasionally | |
| | | 柚杂种 Hybrid of <i>C. grandis</i> | | 八朔, 橙柑, 日向夏, 三宝柑 ^[48] Hassaku, Chenggan, Hyuga Natsu, Sanboukan |
| 柑橘属 Citrus | 橙类 Aurantium | 酸橙 <i>C. aurantium</i> | 多胚型 ^[47,48] , 单多胚混合型 ^[47] Polyembryony, Mixture | |
| | | 甜橙 <i>C. sinensis</i> | 多胚型 ^[47,48] Polyembryony | |
| | | 莽山野柑 <i>C. mangshanensis</i> | 单胚型 ^[48] Monoembryony | 莽山野柑 ^[48] Mangshanyegan |
| | | 沙柑 <i>C. nobilis</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | |
| | | 黄柑 <i>C. speciosa</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | 人头柑 ^[48] Rentougan |
| | | 韩橘 <i>C. haniana</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | 大金橘, 潮早柑 ^[48] Dajinju, Chaozaogan |
| | | 椴柑 <i>C. reticulata</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | |
| | | 屈橘 <i>C. chuana</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | 有棱本地早, 大果南丰蜜橘, 东华蜜橘, 南丰蜜橘, 鸳鸯橘 ^[48] Youlengbendizao, Daguonanfengmiju, Donghuamiju, Nanfengmiju, Yuan-yangju |
| | 宽皮柑橘类 Sinocitrus | 道县野橘 <i>C. dao-xianensis</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | |
| | | 山橘 <i>C. tachibana</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | |
| | | 丹橘 <i>C. flamea</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | |
| | | 红橘 <i>C. tangerina</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | 江安单胚红橘 ^[48] Jiangan danpei hongju |
| | | 朱橘 <i>C. erythrosa</i> | 多胚型 ^[48] Polyembryony | 单胚化红, 七钱红 ^[48] Danpei huahong, Qiqianhong |
| | 橘橙、橘柚及其他 Tangor, tangelo and others | 单多胚混合型 ^[48] Mixture | 宫内伊予柑, 橘橙 1-1232, 凯旋柑, 克里曼丁红橘, 椴橘, 清见橘橙, 苏红, 晚蜜 2 号, 韦尔金橘, 细皮椴橘 ^[48] Miyauchi Iyokan, Jucheng 1-1232, Kaixuangan, Clementine Tangerine, Manju, Kiyomi Tangor, Suhong, Wanmi No. 2, Wilking Mandarin, Xipimanju | |

金柑属植物罗浮 (*Fortunella margarita* Swingle) 在不同报道中有关胚性的记录有所差异, 书籍中普遍认为罗浮是单胚^[26,47,48], 但也有文献报道罗浮金柑 (*F. margarita*) 为多胚, 多胚率达 97%^[18]。为确证该种的胚性, 我们对大果罗浮和小果罗浮的胚性进行了鉴定, 所检视大果罗浮种子 34 颗、小果罗浮 15 颗全部为单胚, 其中 3 颗大果罗浮种子出现了 3 片子叶, 但仍为单胚, 这与前人报道的高多胚性明显不同。推测原因可能为前人对金柑属植物分类不熟悉而导致学名误用, 罗浮应为单胚型。

4 无融合生殖在农业生产中的意义

无融合生殖技术在农业生产中的运用大概有以下几个方面: (1) 无融合生殖可以固定杂种优势, 不需年年制种, 极大节省了杂交育种的成本, 扩大杂种优势利用领域^[3]; (2) 可以作为砧木利用, 产生整齐一致的性状, 或用种子繁殖进行品种复壮^[26]; (3) 大多数病毒病不能通过种子传毒, 柑橘珠心胚可以培养出无病毒苗木, 有提纯复壮的作用, 可以作为接穗利用^[10]。

5 小结与展望

无融合生殖遗传特性复杂, 不同物种中可能存在不同的发生机制与遗传规律。对无融合生殖和有性生殖植物的比较, 有性生殖植物与其无融合生殖突变体的比较, 相关标记基因的表达模式的研究, 逐步揭示了无融合生殖并不是一种异常或者新型生殖方式, 而是有性生殖过程的一种改良结果, 或许是有性生殖因某种原因导致受阻后, 植物本身为了繁衍后代而产生的一种替代生殖方式^[9,49]。

在柑橘珠心胚的发育过程中, 珠心细胞偏离了原本为胚囊发育提供营养的“使命”, 而启动了类似体细胞胚胎发生的发育程序, 这其中显然涉及多个基因的协同调控。近期对柑橘无融合生殖的遗传学研究逐步深入, 已经发现了一个主效区域^[44], 利用图位克隆的方法继续定位多胚基因仍然是探寻多胚遗传机理的有效手段以及今后的研究热点。在转录水平上, 目前已经鉴定出了一些单胚与多胚胚珠差异表达基因^[46], 虽然受到技术的限制并无突

破性发现, 但也为进一步解析多胚现象的分子机理奠定了基础。

在所有多胚性植物中, 柑橘的多胚性或许是最具特点, 而且表现最为稳定的。对这一性状的深入研究, 不仅在科学层面可以理解这一特殊的植株生殖现象, 而且可以利用它, 为种业发展提供一些创新的思路。也可能是这一潜力, 100 多年来, 每当有新的研究手段出现, 人们总要对柑橘多胚性进行研究。进入 21 世纪, 生物学研究进入组学时代, 各种新的研究手段不断出现; 柑橘基因组测序业已完成^[50], 在这样一个科学发展的大背景下, 加强柑橘这一特殊生物学现象研究就成为了必然。可以预见, 揭开柑橘无融合生殖的谜团, 将无融合生殖基因真正运用到农业领域的梦想在不久的将来会成为现实。

参考文献:

- [1] 袁隆平. 杂交水稻的育种战略设想[J]. 杂交水稻, 1987(1): 1-3.
- [2] Calzada JPV, Crane CF, Stelly DM. Apomixis—the asexual revolution [J]. *Science*, 1996, 274 (5291): 1322.
- [3] Bicknell RA, Koltunow AMG. Understanding apomixis: Recent advances and remaining conundrums [J]. *Plant Cell*, 2004, 16 (suppl. 1): S228-S245.
- [4] Koltunow AM. Apomixis: Embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules [J]. *Plant Cell*, 1993, 5(10): 1425-1437.
- [5] Ozias-Akins P. Apomixis: Developmental characteristics and genetics [J]. *Crit Rev Plant Sci*, 2006, 25(2): 199-214.
- [6] 吴曼, 王蓓, 董彦, 沈向, 毛志泉. 苹果属植物无融合生殖研究进展[J]. 山东农业科学, 2010(7): 24-28.
- [7] 莫饶, 罗远华, 周世民, 刘进平. 几个芒果品种的胚性及多胚苗遗传分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2005(6): 23-27.
- [8] Zhang B, Wang Z, Jin S, Xia G, Huang Y, Huang J. A pattern of unique embryogenesis occurring via apomixis in *Carya cathayensis* [J]. *Biol Plantarum*, 2012: 1-8.
- [9] Koltunow AM, Grossniklaus U. APOMIXIS: A de-

- velopmental perspective[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54(1): 547-574.
- [10] Spielman M, Vinkenoog R, Scott RJ. Genetic mechanisms of apomixis[J]. *Philos T R Soc B*, 2003, 358(1434): 1095-1103.
- [11] 吕柳新, 林顺权. 果树生殖学导论[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [12] 胡适宜. 植物学: 被子植物生殖生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005.
- [13] Asker SE, Jerling L. Apomixis in Plants[M]. Boca Raton: CRC Press, 1992: 298.
- [14] Webber J. Polyembryony[J]. *Bot Rev*, 1940, 6(11): 575-598.
- [15] 邓秀新. 世界柑橘品种改良的进展[J]. 园艺学报, 2005, 32(6): 1140-1146.
- [16] Aleza P, Juarez J, Ollitrault P, Navarro L. Polyembryony in non-apomictic citrus genotypes[J]. *Ann Bot-London*, 2010, 106(4): 533-545.
- [17] Oiyama I, Kobayashi S. Polyembryony in undeveloped monoembryonic diploid seeds crossed with a citrus tetraploid[J]. *Hortscience*, 1990, 25(10): 1276-1277.
- [18] 蔡雪, 黄燕红. 几种具有无融合生殖特性的植物多胚和多苗现象的观察[J]. 植物学报: 英文版, 1997, 39(7): 590-595.
- [19] Wakana A, Uemoto S. Adventive embryogenesis in *Citrus*. I. The occurrence of adventive embryos without pollination or fertilization[J]. *Am J Bot*, 1987: 517-530.
- [20] Koltunow AM, Soltys K, Nito N, McClure S. Anther, ovule, seed, and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia[J]. *Can J Bot*, 1995, 73(10): 1567-1582.
- [21] Esen A, Soost RK. Adventive embryogenesis in *Citrus* and its relation to pollination and fertilization[J]. *Am J Bot*, 1977: 607-614.
- [22] Ge XX, Chai LJ, Liu Z, Wu XM, Deng XX, Guo WW. Transcriptional profiling of genes involved in embryogenic, non-embryogenic calluses and somatic embryogenesis of *Valencia* sweet orange by SSH-based microarray[J]. *Planta*, 2012: 1-18.
- [23] 邓占鳌, 章文才, 万蜀渊. 诱发柑桔“适应型”珠心愈伤组织体细胞胚胎发生的研究[J]. 果树学报, 1991, 4: 193-200.
- [24] 邓秀新, 章文才. 从山金柑试管实生苗直接诱导胚性愈伤组织的研究[J]. 中国南方果树, 1988, 4: 7-9.
- [25] 邓秀新, 邓占鳌, 章文才, 锦橙及山金柑胚性愈伤组织的诱导和原生质体再生植株[J]. 中国农学通报, 1989, 3: 13-15.
- [26] 何天富. 柑橘学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [27] Wakana A, Uemoto S. Adventive embryogenesis in *Citrus*(Rutaceae). II. Postfertilization development[J]. *Am J Bot*, 1988: 1033-1047.
- [28] 郑志亮, 陈力耕. 柑桔的胚胎发生[J]. 果树科学, 1994, 11(1): 48-52.
- [29] 黄碧光, 吕柳新, 叶明志. 蕉柑少籽(无籽)的授粉生理[J]. 福建农业大学学报, 1997, 3: 283-286.
- [30] Kobayashi S, Ikeda I, Nakatani M. Studies on nucellar embryogenesis in citrus, 2: Formation of the primordium cell of the nucellar embryo in the ovule of the flower bud, and its meristematic activity[J]. *J Jpn Soc Hortic Sci*, 1979, 48(2): 179-185.
- [31] 孙敬三, 刘永胜, 被子植物的无融合生殖[J]. 植物学通报, 1996, 13(1): 1-8.
- [32] Aleza P, Froelicher Y, Schwarz S, Agustí M, Hernández M, Juárez J, Luro F, Morillon R, Navarro L, Ollitrault P. Tetraploidization events by chromosome doubling of nucellar cells are frequent in apomictic citrus and are dependent on genotype and environment[J]. *Ann Bot-London*, 2011, 108(1): 37-50.
- [33] 洪棋斌, 李喜庆, 江东, 陈竹生, 向素琼, 龚桂芝, 叶庆亮. 单胚清见橘橙 × 椪柑产生高比例多胚种子及多胚有性的分子检测[J]. 中国农业科学, 2003, 36(7): 829-833.
- [34] Savidan Y, Carman JG, Dresselhaus T. The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering[M]. D F: CIMMYT, 2001.
- [35] Carman JG. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority, and polyembryony[J]. *Biol J Linn Soc*, 1997, 61(1): 51-94.
- [36] Iwamasa M, Ueno I, Nishiura M. Inheritance of nucellar embryony in citrus[J]. *Bull Fruit Tree Res Stn E*. 1967, 7: 1-8.

- [37] 翁法令, 徐建国, 柯甫志. 清见桔橙及其在柑桔育种中的利用[J]. 中国南方果树, 2004, 33(5): 8-9.
- [38] 萧顺元, 章文才. 华农本地早×宜昌橙杂交后代几个性状的遗传分离研究[J]. 中国柑桔, 1994, 23(4): 3-6.
- [39] Garcia R, Asins M, Forner J, Carbonell E. Genetic analysis of apomixis in *Citrus* and *Poncirus* by molecular markers [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99(3): 511-518.
- [40] 洪棋斌, 向素琼, 陈克玲, 陈力耕. 两对互补的显性基因控制着柑桔属和枳属的无融合生殖[J]. 遗传学报, 2001, 28(11): 1062-1067.
- [41] Kapiro JL, Roose ML. AFLP markers closely linked to a major gene essential for nucellar embryony (apomixis) in *Citrus maxima* × *Poncirus trifoliata* [J]. *Tree Genet Genomes*, 2009, 6(1): 1-11.
- [42] Nakano M, Shimizu T, Kuniga T, Nesumi H, Omura M. Mapping and haplotyping of the flanking region of the polyembryony locus in *Citrus unshiu* Marcow [J]. *J Jpn Soc Hortic Sci*, 2008, 77(2): 109-114.
- [43] Nakano M, Shimizu T, Fujii H, Shimada T, Endo T, Nesumi H, Kuniga T, Omura M. Marker enrichment and construction of haplotype-specific BAC contigs for the polyembryony genomic region in *Citrus* [J]. *Breeding Sci*, 2008, 58(4): 375-383.
- [44] Nakano M, Shimada T, Endo T, Fujii H, Nesumi H, Kita M, Ebina M, Shimizu T, Omura M. Characterization of genomic sequence showing strong association with polyembryony among diverse *Citrus* species and cultivars, and its synteny with *Vitis* and *Populus* [J]. *Plant Sci*, 2011.
- [45] Raga V, Bernet G, Carbonell E, Asins M. Segregation and linkage analyses in two complex populations derived from the citrus rootstock Cleopatra mandarin. Inheritance of seed reproductive traits [J]. *Tree Genet Genomes*, 2012; 1-11.
- [46] Nakano M, Kigoshi K, Shimizu T, Endo T, Shimada T, Fujii H, Omura M. Characterization of genes associated with polyembryony and *in vitro* somatic embryogenesis in *Citrus* [J]. *Tree Genet Genomes*, 2013, 9(3): 795-803.
- [47] 中国农业科学院柑橘研究所. 柑桔单胚类型的调查 [J]. 柑桔科技通讯, 1975(4): 1-5.
- [48] 周开隆, 叶荫民. 中国果树志: 柑橘卷 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2010.
- [49] Ozias-Akins P, van Dik PJ. Mendelian genetics of apomixis in plants [J]. *Annu Rev Genet*, 2007, 41: 509-537.
- [50] Xu Q, Chen L, Ruan X, Chen D, Zhu A, Chen C, Bertrand D, Jiao W, Hao B, Lyon MP. The draft genome of sweet orange (*Citrus sinensis*) [J]. *Nat Genet*, 2012.

(责任编辑: 王豫鄂)