

红心柚‘橘湘红’无核原因初探

屈汉金¹, 龙立长³, 张凤¹, 郝晨星¹, 李娜^{1,2}, 邓子牛^{1,2}, 龙桂友^{1,2*}

(1.湖南农业大学园艺园林学院, 湖南 长沙 410128; 2.国家柑橘改良中心长沙分中心, 湖南 长沙 410128; 3.洪江市农业局, 湖南 洪江 418116)

摘 要:以红心柚‘橘湘红’为材料, 安江香柚为对照, 通过物候期和花器特征的观察、花粉活力的测定、自交和异交花粉管在柱头中的生长及果实种子差异分析, 探讨‘橘湘红’无核的原因。结果表明:‘橘湘红’的物候期与对照仅相差 2~3 d, 花器发育均正常;‘橘湘红’、安江香柚花粉在柱头上的萌发率分别为 98.81%、97.96%, 花粉活力分别为 96.75%、94.61%, 可育性高;自交与异交授粉 96 h 后, 花粉管生长开始出现差异, 自交花粉管生长速度减缓, 异交花粉管生长正常, 授粉 120 h 后, 自交的花粉管停滞生长, 异交的花粉管生长到达花柱基部;‘橘湘红’异花授粉平均每个果实有正常种子 103.8 粒, 自花授粉果实无正常发育的种子。综合分析认为自交不亲和性可能是‘橘湘红’无核的主要原因。

关 键 词:柚; 橘湘红; 无核; 花粉管; 自交不亲和性

中图分类号: S666.3

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2017)03-0270-04

Preliminary investigation on the seedless red pulp pomelo of ‘Juxianghong’

QU Hanjin¹, LONG Lichang³, ZHANG Feng¹, HAO Chenxing¹, LI Na^{1,2}, DENG Ziniu^{1,2}, LONG Guiyou^{1,2*}

(1.College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2.National Center of Citrus Improvement, Changsha Subcenter, Changsha 410128, China; 3.Hongjiang Agricultural Bureau, Hongjiang, Hunan 418116, China)

Abstract: The seedless red pulp pomelo of ‘Juxianghong’ was used as material and Anjiangxiangyou as control, to study the reason of seedlessness of ‘Juxianghong’ by observing the phenophase and floral characters, measuring the pollen activity and analyzing the variance of the growth of pollen tube of self-pollination and cross-pollination in the stigma with fruit seeds. The results showed that the phenophase of ‘Juxianghong’ was similar to the Anjiangxiangyou and was only two to three days difference; the developments of their floral organ were normal; the pollen germination rates of ‘Juxianghong’ and Anjiangxiangyou in stigma were 98.81% and 97.96% and their pollens had high activities (96.75% and 94.61%) and high fertility; the growth of pollen tube with cross-pollination was normal and reached the base of style after 120 h of pollination, while the growth of pollen tube with self-pollination began to decrease at 96 h and stopped at 120 h after pollination; there were no normal seeds in the fruits by self-pollination, while 103.8 normal seeds were found in the fruits by cross-pollination. Comprehensive analysis shows that self-incompatibility might be the main reason for the seedlessness of ‘Juxianghong’ pomelo.

Keywords: pomelo; Juxianghong; seedlessness; pollen tube; self-incompatibility

安江香柚是湖南省洪江市的地方特色良种。近年来, 从安江香柚品种中发现了红肉和芽变类型(‘橘湘红’), 其果肉呈艳红色, 晶莹透亮, 肉质脆嫩, 部分果实少核或无核。导致果实少或无核的原因较多, 如花粉败育、胚囊育性下降、自交不亲和、胚

中途败育等^[1-3]。为探明‘橘湘红’无核的原因, 本研究中, 从‘橘湘红’的物候期、花器特征、花粉活力、自交与异交授粉后花粉粒在柱头的萌发和生长等方面进行了观察和研究, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为湖南省洪江市安江镇一个果园的红心柚‘橘湘红’,以安江香柚为对照,均为 12 年生。

1.2 方法

1.2.1 物候期及花器形态观察

2014—2015 年观察红心柚‘橘湘红’和安江香柚的物候期。依据《柑橘种质资源描述规范和数据标准》^[4]划分时期,记录萌芽期、现蕾期、初花期、盛花期、末花期、第 1 次生理落果期、第 2 次生理落果期和果实成熟期。

开花期,随机选取‘橘湘红’和安江香柚的花器各 20 朵,测量花瓣长、花瓣宽、雄蕊长度、雌蕊长度、花柱长度,记录雄蕊数。

1.2.2 花粉活力的测定

参照靳瑞霞^[5]的方法测定花粉活力。具体操作如下:于盛花期取即将开放的新鲜花蕾,将花药置于干燥器内让其自然散粉,取 2 滴 1%的醋酸洋红溶液,将花粉染色,室温下静置 5 min,于显微镜下观察花粉粒的染色情况。花粉活力即为染成红色花粉粒数占全部花粉粒数的百分数。

1.2.3 花粉在柱头原位萌发及花粉管在花柱中的生长行为观察

于盛花期分别收集‘橘湘红’和安江香柚的花粉进行去雄、授粉。授粉组合分为自花授粉(‘橘湘红’×‘橘湘红’)和异花授粉(‘橘湘红’×安江香柚)。具

体操作参照高超等^[6]的方法进行:分别于授粉 6、24、48、72、96、120 h 后采下雌蕊,置于卡诺氏液中,固定 12 h,转入 70%乙醇中,于 4℃冰箱中保存,备用;将花柱切下后复水,用 8 mol/L NaOH 软化 5 h,冲洗干净,加入 0.1%苯胺蓝溶液,染色 6 h,压片。采用荧光显微镜(Olympus BX-51)观察并拍照。

1.2.4 果实品质分析及种子数考察

于花蕾期用孔径为 0.3 mm 的防虫网将‘橘湘红’多个主枝罩住,让其自花授粉,未用防虫网罩住的为自然异花授粉。于成熟期分别取自花和异花授粉的果实,分析可溶性固形物含量(采用手持测糖仪测定^[7])、V-C 含量(采用碘量法^[8]测定)、可滴定酸含量(采用中和法^[9]测定)、种子数等。

1.3 数据处理

采用 Excel 2013 进行数据整理;运用 DPS 7.05 进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 物候期及花器形态特征的观测结果

由表 1 可知,‘橘湘红’和安江香柚的物候期基本一致,仅相差 2~3 d。3 月中旬为萌芽期;经历约 20 d 的生长,出现花蕾,初花期为 4 月中旬;谢花期为 5 月上旬,花期持续约 17 d;第 1 次生理落果和第 2 次生理落果分别在 5 月中旬和 6 月中旬;11 月下旬果实成熟。

表 1 ‘橘湘红’和安江香柚的物候期

Table 1 Phenological phase of ‘Juxianghong’ and Anjiangxiangyou pomelo								
供试材料	萌芽期	现蕾期	初花期	盛花期	谢花期	第 1 次生理落果期	第 2 次生理落果期	果实成熟期
‘橘湘红’	03-15	04-07	04-15	04-22	05-02	05-16	06-13	11-25
安江香柚	03-17	04-10	04-18	04-24	05-05	05-14	06-11	11-23

‘橘湘红’和安江香柚的花器发育正常,均为完全花。开花时雌、雄蕊已成熟。花瓣均呈乳白色,两者在花瓣长、花瓣宽、雄蕊数量、雄蕊长度、雌蕊长度等指标上均无显著差异(表 2)。

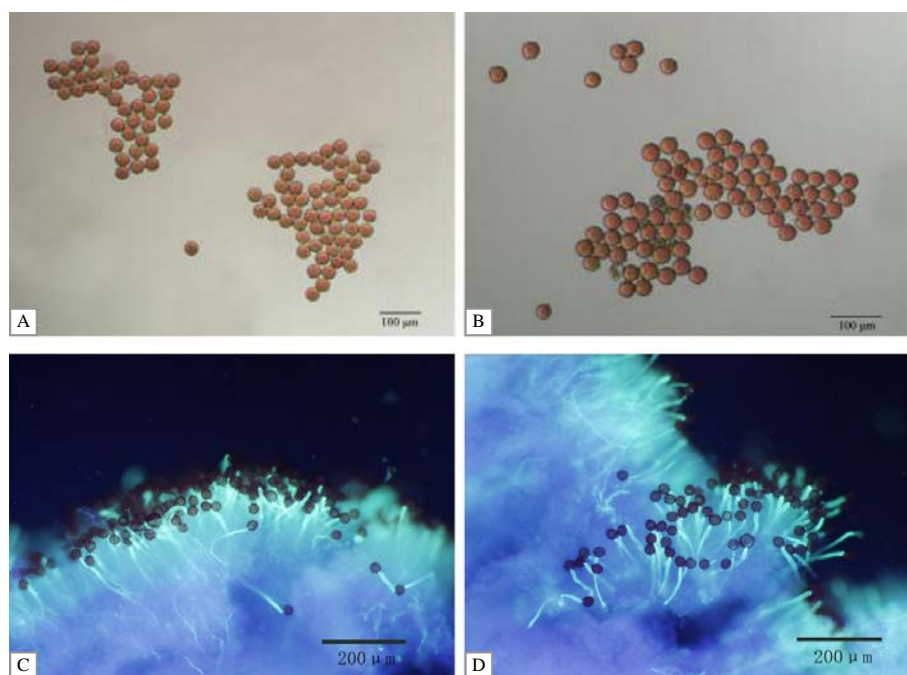
表 2 ‘橘湘红’和安江香柚的花器形态特征

Table 2 The floral morphological characteristics of ‘Juxianghong’ and Anjiangxiangyou pomelo					
供试材料	花瓣长/mm	花瓣宽/mm	雄蕊数	雄蕊长度/mm	雌蕊长度/mm
‘橘湘红’	31.76±1.86	15.16±1.14	31.26±2.38	13.98±0.54	21.33±0.68
安江香柚	34.24±0.74	15.75±1.62	32.65±1.87	13.46±0.69	20.67±0.72

2.2 花粉活力的测定结果

‘橘湘红’和安江香柚的花粉活力分别为 96.75% 和 94.61%，柱状上花粉原位萌发的萌发率分别为

98.81%和 97.96%。花粉染色及原位萌发的观察结果见图 1。



A ‘橘湘红’; B 安江香柚; C ‘橘湘红’自交 6 h; D 安江香柚自交 6 h。

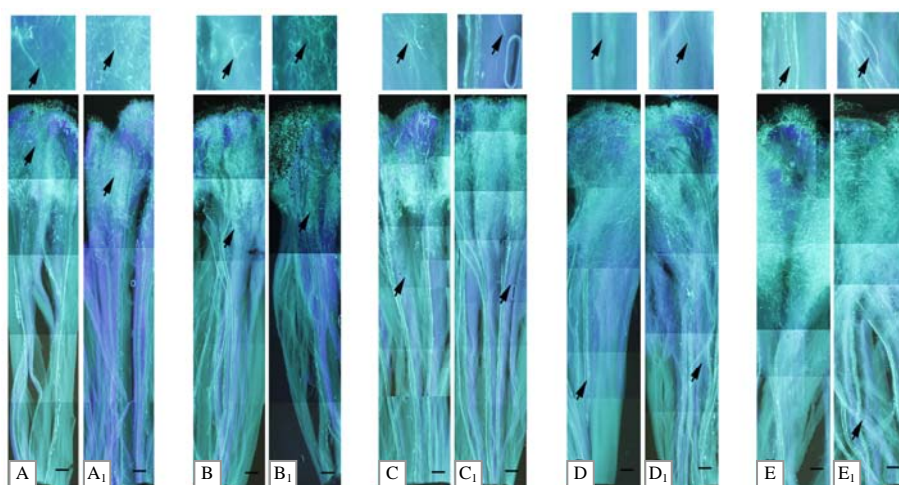
图 1 花粉染色及花粉原位萌发的显微观察结果

Fig.1 The observation of pollen dyeing and in situ pollen germination

2.3 花粉管在花柱中生长行为的观察结果

授粉 24 h 后, ‘橘湘红’异交与自交的花粉管均生长到柱头下部(图 2-A、A₁)；授粉 48 h 后, 异交与自交的花粉管继续向下生长至花柱 1/3 的部位(图 2-B、B₁)；授粉 72 h 后, 异交与自交花粉管生长到花柱 1/2 的部位(图 2-C、C₁)；授粉 96 h 后, 异交

与自交的花粉管均到达花柱 2/3 的部位, 异交花粉管生长正常(图 2-D), 而自交花粉管生长速度减缓, 花粉管末端出现膨大、卷曲、异常明亮等不亲和性反应特征(图 2-D₁)；授粉 120 h 后, 异交花粉管生长到花柱基部(图 2-E), 自交花粉管在花柱 2/3 的部位停滞生长(图 2-E₁)。



A 异交 24 h; A₁ 自交 24 h; B 异交 48 h; B₁ 自交 48 h; C 异交 72 h; C₁ 自交 72 h; D 异交 96 h; D₁ 自交 96 h; E 异交 120 h; E₁ 自交 120 h。

图 2 ‘橘湘红’异交和自交花粉原位萌发后花粉管在花柱中生长的情况

Fig.2 Pollen tube growth of self-pollination and cross-pollination of ‘Juxianghong’ in the style

2.4 果实品质及种子数的分析结果

由表 3 可知, ‘橘湘红’自花授粉的果实表现无核, 可滴定酸、可溶性固形物及维生素 C 含量与异

花授粉果实的无明显差异($P < 0.05$)。自花授粉与异花授粉的种子数差异明显, 自花授粉的果实无正常发育的种子。

表 3 ‘橘湘红’果实种子数及果实品质
Table 3 Fruit quality and seed number of ‘Juxianghong’

授粉方式	可滴定酸含量/%	可溶性固形物含量/%	V-C 含量/(mg·(100 mL) ⁻¹)	种子数
自花授粉	(0.543±0.077)ab	8.800±0.509	65.740±1.547	(0.000±0.000)b
异花授粉	(0.585±0.031)a	9.000±0.560	65.279±3.711	(103.800±5.759)a

3 结论与讨论

‘橘湘红’和安江香柚的物候期基本一致, 发育进程仅相差 2~3 d, 物候期不是导致 ‘橘湘红’无核的原因, 这与已有报道^[10-12]中物候期差异不是导致柚类果实无核的结果一致。‘橘湘红’的花器官发育正常, 花粉活力为 96.75%, 在柱头上的萌发率为 98.81%, 可育性高, 这与其他柑橘的芽变株系的萌芽率相近^[13-14], 据此推断花粉育性与 ‘橘湘红’的果实无核没有关系。‘橘湘红’自交与异交授粉 96 h 后, 自交花粉管在花柱中生长减缓, 而异交花粉管生长正常; 授粉 120 h 后, 自交的花粉管生长停滞, 异交的花粉管生长到达花柱基部, 异花授粉所结果实有正常种子 103.8 粒, 自花授粉果实无正常发育的种子, 据此推测自交不亲和导致 ‘橘湘红’自交时花粉管在花柱中生长异常, 难以到达子房完成正常授精, 这可能是果实无正常发育种子的主要原因。沙田柚存在自交不亲和, 当花粉管伸长到花柱 1/4~1/2 时, 自交、异交的花粉管生长速度和管壁胼胝质积累出现差异, 自交花粉管在花柱的 1/2 处停止生长, 异交花粉管正常进入胚囊授精^[15]。另外, 研究^[16]发现自交不亲和的奥兰多橘柚自花授粉后, 花粉管在花柱中的生长速度比自交亲和的花粉管的生长速度慢, 而且一直未能进入子房。其他类型的柑橘, 如南靖 14 号无核椪柑和眉山无核锦橙^[17]等品种也存在自交不亲和导致果实无核的情况。综合本研究结果, ‘橘湘红’自交不亲和可能是无(少)核的重要原因。

参考文献:

[1] 曹庆芹, 伊华林, 邓秀新. 果树雄性不育研究进展[J]. 果树学报, 2005, 22(6): 678-681.

[2] 肖祥希, 李明, 邱栋梁. 果实无核机理研究进展[J]. 经济林研究, 2009(2): 104-110.

[3] 王向东, 秦朝, 苏静, 等. 柑桔无核机理研究进展[J]. 中国南方果树, 2012(3): 60-63.

[4] 江东, 龚桂芝. 柑橘种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.

[5] 靳瑞霞. 马家柚不同授粉组合果实品质研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.

[6] 高超, 袁德义, 杨亚, 等. 油茶自交不亲和性的解剖特征[J]. 林业科学, 2015, 51(2): 60-68.

[7] 陈文涛, 袁德义, 张日清, 等. 鲜食枣品质的综合评价[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2014, 40(1): 32-36.

[8] 张志良, 瞿伟菁, 李小芳. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2011.

[9] 程运江. 园艺产品贮藏运销学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.

[10] 蒋文君, 杨文学, 匡晓东, 等. 安农无核蜜香柚无核机理的研究[J]. 浙江柑桔, 2000(2): 47-48.

[11] 余智城. 蜜柚芽变新株系 ‘迷你红柚’ 的若干生物学性状研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2016.

[12] 王平. 琯溪蜜柚和度尾蜜柚自交不亲和性观察及相关基因克隆[D]. 福州: 福建农林大学, 2006.

[13] 余杨, 王微, 杨晓伶, 等. 南丰蜜橘无核成因的研究[J]. 园艺学报, 2011(4): 631-636.

[14] 胡志勇. ‘无核瓯柑’、温州蜜柑无核的细胞及分子机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.

[15] 覃屏生, 张瑜, 侯丽霞, 等. 沙田柚花柱蛋白对其花粉萌发及生长的影响[J]. 北方园艺, 2014(3): 88-91.

[16] 薛妙男, 陈腾士, 杨继华. 沙田柚自交和异交亲和性观察[J]. 园艺学报, 1995, 22(2): 127-132.

[17] 杨水芝, 谭育莲, 石雪晖. 无核椪柑育种研究进展[J]. 湖南农业科学, 2012(17): 120-122.

责任编辑: 尹小红
英文编辑: 梁 和