

板栗和锥栗远缘杂交亲和性研究

刘国彬¹, 兰彦平¹, 曹 均¹, 兰卫宗¹, 周连第¹, 王金宝²

(1. 北京市农林科学院 农业综合发展研究所, 北京 100097; 2. 北京市怀柔板栗试验站, 北京 102206)

摘 要:以 3 个板栗品种“燕红”、“怀黄”、“怀九”为母本, 以锥栗为父本, 进行了远缘杂交亲和性及杂种表型特性研究, 旨在为栗属植物的远缘杂交育种提供参考。结果表明: 通过连续 3 a 杂交试验, 远缘杂交平均结实率仅 23.6%, 最低结实率只有 6.5%, 且空苞率较高, 平均空苞率 50.1%, 最高 77.5%; 杂交结实特性在不同杂交组合、不同年份间存在差异, 结实率在不同杂交组合间差异不显著, 而在不同年份间表现差异显著, 空苞率与坐苞率在不同杂交组合间差异显著或极显著, 在不同年份间差异不显著; 母本对结实率有较大影响, 以“怀黄”、“怀九”为母本远缘杂交结实率较高且杂种优势明显, 亲和性好, 而“燕红”与锥栗杂交无论在结实率还是杂种特性上表现较差, 说明合理选择亲本对于克服板栗与锥栗间远缘杂交不亲和性及提高结实率具有重要意义。

关键词:板栗; 锥栗; 远缘杂交; 亲和性

中图分类号:S 664.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)15-0001-04

远缘杂交是创造植物新种类和新品种的重要途径, 通过远缘杂交, 可以打破种属间的隔离, 把 2 个或多个物种经过自然界长期进化积累的有益特性, 在试验条件下进行重新组合, 形成具有近缘杂交所不能获得的优良特性的新类型或新种^[1]。我国是许多果树的原生地, 种、属间类型丰富, 利用亲缘关系较远的种、属进行杂交, 较种内杂交可以产生更丰富的遗传变异, 更有利于促进物种新类型的形成和选择, 是丰富物种和遗传多样性的有效途径之一, 更是果树种质创新的有效途径之一。果树远缘杂交育种已有数十年的研究历史, 在梨、苹果等仁果类果树以及桃、李、杏等核果类果树新种质创制方面取得了一系列成就, 日益受到果树育种者和科研人员的重视。

栗属(*Castanea*)植物世界上约有 12 余种^[1], 学术上正式命名有 7 种^[2], 分别是分布于欧洲大陆的欧洲栗(*Castanea sativa* Mill.)、分布于北美的美洲栗[*C. dentata* (Marsh.) Brokh.]和美洲榛果栗(*C. pumila* Mill.)、分布于朝鲜半岛和日本的日本栗(*C. crenata* Sieb. & Zucc.), 以及分布于我国的板栗(*C. mollissima* Blume)、锥栗(*C. henryi* (Skan) Reld. et Wils.)和茅栗(*C. sequinii* Dode)。

板栗、锥栗、茅栗为我国特有栗属植物, 系统学研究推断茅栗和锥栗起源于中国板栗^[3]。板栗和锥栗是我国食用栽培的 2 个本土栗种, 板栗分布于我国大部分地区, 为广分布种, 其植株抗逆性强, 坚果香甜可口, 营养丰富, 涩皮易剥离, 是栗属植物中食用价值最高的一种; 锥栗主要分布于我国长江流域及其以南地区, 是浙江、福建等地主栽栗种, 其果实富含淀粉、糖、蛋白质、抗坏血酸和胡萝卜素, 营养丰富, 味甜、生食和熟食风味甚佳, 果实风味优于板栗。

板栗、锥栗各自遗传性比较稳定, 种间自然杂交产生的后代不多见, 板栗与锥栗间人工杂交的研究还很少, 该试验以北京地区生产稳定、综合性状优良的 3 个主栽板栗品种“燕红”^[4]、“怀黄”、“怀九”^[5]为母本, 以浙江地区坚果性状优良的锥栗为父本, 首次在北京地区开展远缘杂交试验, 探讨板栗、锥栗远缘杂交亲和性及其杂种表型特性, 旨在为栗属植物远缘杂交育种奠定理论基础, 同时获得一批板栗与锥栗的杂交材料, 为种质创制筹备资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试杂交母本为“怀黄”、“怀九”、“燕红”, 3 个母本树势健壮, 15 a 生, 处于结果盛期, 生长发育良好; 杂交父本为锥栗(“优系 7 号”大果), 20 a 生, 来自浙江省庆元县。

1.2 试验方法

试验于 2010 年 6 月至 2012 年 6 月在北京怀柔区板栗试验站进行, 该园为山地栗园, 实行周年常规化管理, 株行距 4 m×4 m。

第一作者简介:刘国彬(1984-), 男, 河南安阳人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为果树种质资源及遗传育种。E-mail: liuguobin_1009@163.com.

基金项目:国家林业局公益行业专项资助项目(201104025); 北京市农林科学院科技创新能力建设专项资助项目(KJCX201101011); 北京市农林科学院农业综合发展研究所青年基金资助项目(2012)。

收稿日期:2013-04-10

1.2.1 花粉采集与贮藏 分别于2010、2011、2012年5月中下旬,锥栗开花盛期,采集盛开的锥栗雄花序,带回室内,室温晾干后,收集花粉于离心管或纸袋内,贮藏于盛有无水硅胶的容器内, -20℃保存备用。

1.2.2 人工去雄 选择生长良好,具有正常结实能力的“燕红”、“怀黄”和“怀九”品种各2株作为杂交母本,根据《中国果树志·板栗卷》描述,在雌花簇针状柱头刚显露但不具备授粉能力时对母本树进行人工去雄处理,将除雌花外的所有雄花序全部清除,然后将雌花套袋,扎实袋口,避免外源花粉进入。

1.2.3 授粉 以锥栗“优系7号”为父本,分别以“燕红”、“怀黄”、“怀九”为母本,在板栗雌花心花和边花针状柱头出齐并呈30°~45°分叉或略有反曲状态时,进行授粉。授粉在晴天、无风时进行,授粉时用粘有锥栗花粉的毛笔轻轻涂于板栗柱头上,授粉完毕后即刻套袋。为保证授粉充分,3~5 d后重复进行1次。为利于子房发育,授粉2周后,在雌花柱头变黄枯萎时,要及时去除纸袋。3 a的3次授粉的时间都在6月上旬进行。

1.3 数据分析

授粉后,及时统计授粉雌花数量。9月下旬板栗采

表1 不同杂交组合对结实率的影响

Table 1 Effects of different cross combination on seed setting rate

杂交组合 Cross combination	年份 Years	授粉花数 Number of pollination/个	授粉与结实情况 Pollination and fruit setting		
			结实苞数 Number of seed setting/个	结实率 Seed setting rate/% 95%置信区间	差异显著性
“怀黄”×锥栗 ‘Huaihuang’× <i>Castanea henryi</i>	2010	248	33	13.3	27.7a
	2011	305	49	16.1	
	2012	132	71	53.8	
	平均	228.33±88.16	51.00±19.08	-28.45~83.92	
“怀九”×锥栗 ‘Huajiu’× <i>Castanea henryi</i>	2010	275	36	13.1	26.9a
	2011	284	68	23.9	
	2012	121	53	43.8	
	平均	226.67±91.62	52.33±16.01	-11.75~65.62	
“燕红”×锥栗 ‘Yanhong’× <i>Castanea henryi</i>	2010	278	18	6.5	16.1a
	2011	291	60	20.6	
	2012	122	26	21.3	
	平均	230.33±94.04	34.67±22.30	-4.61~36.88	

2.2 远缘杂交对杂种果实大小的影响

由表2可知,经连续3 a对“燕红”、“怀黄”、“怀九”3个板栗品种自然授粉坚果与远缘杂交杂种坚果表型指标测定结果比较表明,在3个杂交组合中,坚果高度、宽度、厚度和坚果单粒重4项表型指标与母本自然授粉差异较大,方差分析显示远缘杂交杂种性状指标与自然授粉坚果差异达到显著或极显著水平;3个组合间杂种性状差异也较大,以“怀黄”、“怀九”为母本,远缘杂交所得杂种坚果平均高度、宽度、厚度与单粒重远高于自花授粉坚果,而以“燕红”为母本,远缘杂交后代坚果性状指标则低于自然授粉坚果。说明远缘杂交花粉直感效应及杂交优势现象在以“怀黄”、“怀九”为母本的杂交组合

中表现明显。

2 结果与分析

2.1 远缘杂交不同组合对结实率的影响

由表1可知,远缘杂交虽然存在一定的亲和性,但亲和性较小,结实率低,平均只有23.6%;不同杂交组合间,结实率最高为27.7% (“怀黄”×锥栗),最低16.1% (“燕红”×锥栗),差异不显著($P=0.6527$);不同年份间,平均结实率最高的为39.6%(2012年),平均结实率最低为11.0%(2010年),差异较显著($P=0.0339$);3个杂交组合中以“怀黄”、“怀九”2个品种为母本结实率较高,3 a结实率分别为13.3%、16.1%、53.8%和13.1%、23.9%、43.8%,以“燕红”为母本结实率最低,3 a结实率分别为6.5%、20.6%和21.3%。说明锥栗与“怀黄”、“怀九”2个品种的亲和性较好。方差分析进一步表明,结实率在不同杂交组合间表现为差异不显著($P=0.6527$, $F=0.4590$),而在不同年份间表现为差异显著($P=0.0339$, $F=6.2690$)。

中表现明显。

2.3 远缘杂交对坐苞率和空苞率的影响

由表3可以看出,板栗、锥栗间远缘杂交3 a平均坐苞率73.7%，“怀九”×锥栗的坐苞率最高(91.63%)，“燕红”×锥栗的最低(40.43%)，差异极显著($P=0.0002$, $F=48.5220$);远缘杂交空苞率高(3 a平均空苞率达50.1%)，“怀九”×锥栗的空苞率最高(64.70%)，“燕红”×锥栗的最低(24.33%)，差异显著($P=0.0123$, $F=10.0070$);3个母本不同年份间远缘杂交平均坐苞率分别为69.90%、70.40%、80.70%，平均空苞率分别为59.00%、50.17%、41.07%，差异不显著(坐苞率 $P=0.8788$, $F=0.1320$;空苞率 $P=0.6729$, $F=0.4230$)。

表 2 自然授粉与远缘杂交坚果大小比较

母本	杂交组合	坚果平均高	坚果平均宽	坚果平均厚	平均单粒重
Female parent	Cross combination	Average height/mm	Average width/mm	Average thickness/mm	Single grain weight/g
“怀黄”	自然授粉 Natural pollination	23.57±0.95A	28.34±1.62A	20.02±3.63a	8.3±1.82A
“Huaihuang”	“怀黄”×锥栗 ‘Huaihuang’× <i>Castanea henryi</i>	25.72±1.36B	30.90±1.82B	22.36±3.05b	10.9±1.63B
“怀九”	自然授粉 Natural pollination	23.26±1.16A	28.18±1.84A	18.58±2.74A	7.9±1.49A
“Huajiu”	“怀九”×锥栗 ‘Huajiu’× <i>Castanea henryi</i>	25.66±1.03B	31.31±1.89B	22.25±2.81B	11.3±1.47B
“燕红”	自然授粉 Natural pollination	25.84±1.41a	29.48±1.76a	19.60±1.94A	9.4±1.55A
“Yanhong”	“燕红”×锥栗 ‘Yanhong’× <i>Castanea henryi</i>	24.67±1.79b	27.52±1.99b	19.69±3.04B	7.5±1.65B

注:大写字母不同表示差异达极显著水平($P<0.01$);小写字母不同表示差异达显著水平($P<0.05$)。
Note: Different capital letters mean significant differences at 1% level; and different lowercase letters mean significant differences at 5%.

表 3 不同杂交组合间坐苞率和空苞率比较

Table 3		Comparison of fruitage rate and empty bur rate among different cross combination							
		授粉与结实情况 Pollination and fruit setting							
杂交组合	年份	授粉花数	座苞数	结实苞数	空苞数	坐苞率		空苞率	
Cross combination	Years	Number of pollination/个	Number of fruitlet/个	Number of seed setting/个	Number of empty bur/个	Fruitage rate/%		Empty bur rate/%	
						95%置信区间	差异显著性	95%置信区间	差异显著性
“怀黄”×锥栗 ‘Huaihuang’× <i>Castanea henryi</i>	2010	248	219	33	186	88.3		75.0	
	2011	305	251	49	202	82.3		66.2	
	2012	132	127	71	56	96.2	88.93A	42.4	61.20a
	平均	228.33±88.16	199.00±64.37	51.00±19.08	148.00±80.07	71.61~106.25		19.30~103.10	
“怀九”×锥栗 ‘Huajiu’× <i>Castanea henryi</i>	2010	275	249	36	213	90.5		77.5	
	2011	284	249	68	181	87.7		63.7	
	2012	121	117	53	64	96.7	91.63A	52.9	64.70a
	平均	226.67±91.62	205.00±76.21	52.33±16.01	152.67±78.44	80.19~103.07		34.07~95.33	
“燕红”×锥栗 ‘Yanhong’× <i>Castanea henryi</i>	2010	278	86	18	68	30.9		24.5	
	2011	291	120	60	60	41.2		20.6	
	2012	122	60	26	34	49.2	40.43B	27.9	24.33b
	平均	230.33±94.04	88.67±30.09	34.67±22.30	54.00±17.78	17.64~63.22		15.26~33.41	

3 结论与讨论

通过连续 3 a 杂交育种研究发现,在板栗与锥栗的远缘杂交中,相比种内杂交^[6],结实率很低、空苞率高;杂交结实特性在不同杂交组合、不同杂交年份间存在差异。3 个杂交组合平均结实率仅 23.6%,最低结实率只有 6.5%;母本对结实率有重要影响,以“怀黄”、“怀九”为母本远缘杂交结实率高出以“燕红”为母本 10 个百分点,杂种优势现象明显,说明二者与锥栗的亲和能力较强,方差分析表明结实率在不同杂交组合间差异不显著,而在不同年份间表现差异显著,说明环境条件影响着板栗结实率的高低;空苞率与坐苞率在不同杂交组合间差异显著或极显著,在不同年份间差异不显著,说明亲本的选择对于提高板栗坐苞率和杂种品质具有重要意义。

植物远缘杂交是种质创新的有效途径之一,但杂交的不亲和性是远缘杂交育种遇到的一大障碍。果树远缘杂交育种以梨、苹果以及核果类果树研究较多,但杂交坐果率很低,梨与苹果间杂交,坐果率只有 8.17%或 13.6%^[7];孙亮等^[8]以“富士”为苹果母本,以“金二十世纪”梨花授粉,坐果率只有 4.83%,以“京白梨”为父本则杂交坐果率为 0;王善广等^[9]研究了李与杏杂交的亲和

性,并发现李与杏杂交亲和性很高,3 a 平均坐果率分别为 21.2%、16.3%和 20.94%,并认为远缘杂交中母本的选择对于提高坐果率较为重要;桃与杏杂交有一定的亲和性,但亲和力较小,坐果率最高只有 13.6%,并且认为亲和力的大小主要取决于母本^[10]。栗属植物远缘杂交,前人曾做过相关杂交试验。据《中国果树志·板栗·榛子卷》^[4]记载,以锥栗为母本,板栗为父本杂交,结实率为 10.7%,反之,以板栗为母本,以锥栗为父本杂交结实率只有 9.6%。而在该研究中,以板栗为母本,以锥栗为亲本,杂交结实率为 23.6%,究其原因认为,一方面与研究的连续性有关,不同年份间,因受气候、自身生理变化等影响,对远缘杂交结实率也产生较大影响,如该试验中 2010 年 3 个品种间杂交结实率只有 11.0%,最低结实率仅 6.5%,而 2011 年和 2012 年则分别为 20.2%和 39.6%,相比较;另一方面,杂交亲本的选择同样也是影响板栗远缘杂交结实率的因素,该试验中 3 个杂交组合间结实率存在差异,“燕红”与锥栗杂交结实率最低(16.1%),“怀黄”、“怀九”较高(26.9%、27.7%)。

影响远缘杂交结实率的因素主要有 4 个,一是种、属间的柱头分泌物差异太大,致使花粉在异种植物的柱头上不能发芽^[1,11-12];二是花粉管生长发育异常,不能进

入子房到达胚囊^[13];三是花粉管虽然能进入子房,到达胚囊,但不能受精,或只有卵核或极核发生单受精^[1];四是授粉受精后,胚发育中途败育^[14]。夏仁学等^[15]曾对板栗空苞原因进行研究,认为总苞的发育是独立于内部坚果发育的,但总苞的存在是坚果生长发育的物质基础。该研究发现,板栗远缘杂交结实率在不同杂交组合间差异不显著,而坐苞率和空苞率差异达极显著或显著水平,进一步证明了板栗总苞的发育与坚果的发育是相互独立的。此外,该研究发现远缘杂交结实率的高低,在不同年份间差异达显著水平,推测适宜的气候条件利于板栗授粉受精,表明环境条件的变化也是影响板栗远缘杂交结实率的因素之一。此外,观察发现,授粉后6周,杂交总苞与自然授粉总苞大小尚无明显差异;授粉后第8周开始,部分杂交总苞停止发育,直至成熟无膨大;发育期和成熟期采集板栗总苞解剖发现,部分杂交总苞内部坚果干瘪,而自然授粉总苞内部坚果白色、饱满,推测杂交果在胚发育过程中发生了败育,从而降低了结实率。

该研究结果表明,板栗与锥栗间能够进行远缘杂交,有的杂交组合具有较高的结实率,如“怀黄”×锥栗、“怀九”×锥栗,目前已经获得了较多的杂交种,并且所得杂交种表现出明显的优于亲本的杂种优势现象,其中部分杂种已经成苗,为板栗种质创制储备了一批后续资源,对进一步开展板栗的远缘杂交育种奠定了坚实的基础。

参考文献

- [1] 沈德绪. 果树育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 98-100.
- [2] 黄宏文. 从世界栗属植物研究的现状看中国栗属资源保护的重要性[J]. 武汉植物学研究, 1998, 16(2): 171-176.
- [3] 郎萍, 黄宏文. 栗属中国特有种群群的遗传多样性及地域差异[J]. 植物学报, 1999, 41(6): 651-657.
- [4] 张宇和, 柳奎, 梁维坚, 等. 中国果树志·板栗·榛子卷[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005, 22-25, 74.
- [5] 李凤立, 于乃京, 王金宝, 等. 板栗新品种“怀黄”、“怀九”[J]. 园艺学报, 2004, 31(1): 131.
- [6] 刘庆香, 王广鹏, 孔德军. 河北省主栽板栗品种(系)授粉结实特性研究[J]. 河北农业科学, 2009, 13(8): 11-12, 18.
- [7] 曹来钧, 张修仁. 苹果、梨远缘杂交育种十年研究[J]. 甘肃农业科技, 1982(5): 2-4.
- [8] 孙亮, 冷平. 苹果和梨属间杂交及其幼胚挽救技术[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(2): 25-29.
- [9] 王善广, 邓继光, 高俊满. 李杏杂交亲和性研究初报[J]. 北方果树, 1991(2): 25-27.
- [10] 马峰旺, 康俊生. 桃和杏杂交亲和性试验[J]. 果树学报, 1996, 13(4): 251-252.
- [11] 李守丽, 石雷, 张金政. 大百合与百合属间授粉后花粉管生长发育的观察[J]. 园艺学报, 2006, 33(6): 1259-1262.
- [12] 蔡明, 王晓玉, 张启翔, 等. 紫薇品种与尾叶紫薇种间杂交亲和性研究[J]. 西北植物学报, 2010, 30(4): 645-651.
- [13] 马瑞娟, 杜平, 胡金良, 等. 桃、李种间远缘杂交亲和性研究[J]. 果树学报, 2005, 22(3): 283-285.
- [14] 尚霄丽, 朱更瑞, 李靖, 等. 李属种间杂交亲和性及胚培养研究[J]. 果树学报, 2009, 26(6): 826-829.
- [15] 夏仁学, 马梦婷. 板栗空苞形成因子的研究(I)授粉受精对板栗空苞形成的影响[J]. 华中农业大学学报, 1989, 8(3): 242-247.

(该文作者还有刘建玲, 单位为北京市怀柔板栗试验站。)

Study on the Distant Hybridization Compatibility Between *Castanea mollissima* and *C. henryi*

LIU Guo-bin¹, LAN Yan-ping¹, CAO Jun¹, LAN Wei-zong¹, ZHOU Lian-di¹, WANG Jin-bao², LIU Jian-ling²

(1. Institute of Agricultural Integrated Development, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097; 2. Beijing Huairou Chestnut Experiment Station, Beijing 102206)

Abstract: Taking three varieties of *C. Mollissima* (‘Yanhong’, ‘Huaihuang’, ‘Huajiu’) as female parent, *C. henryi* as male parent, the distant hybridization compatibility between *C. mollissima* and *C. henryi* were studied in this paper. The results showed that, through three years test, the average seed setting rate between *C. mollissima* and *C. henryi* was only 23.6%, the lowest was 6.5%, and the empty bur rate was high (50.1%), the highest was 77.5%; pollinations and seed setting characteristics among different hybrid combination and different years was different, difference of seed setting rate among different years was significant and there was no obvious difference among different hybrid combinations, but the fruitage rate and empty bur rate had the different results; the female parent played an important role in regulating the seed setting rate between *C. mollissima* and *C. henryi*. In our experiment, seed setting rate of ‘Huaihuang’ × *C. henryi* and ‘Huajiu’ × *C. henryi* were higher than that of ‘Yanhong’ × *C. henryi*, and the heterosis of interspecific was also obviously, this showed that choosing appropriate parent had very important significance in improving the distant hybridization compatibility between *C. mollissima* and *C. henryi*.

Key words: *C. mollissima*; *C. henryi*; distant hybridization; compatibility