

DOI:10.11937/bfyy.201518003

九十二个柑桔品种(资源)花粉量与花粉直径的测定与分析

刘冰浩, 丁 萍, 牛 英, 邓崇岭, 邓光宙, 陈传武

(广西柑橘生物学重点实验室, 广西特色作物研究院, 广西 桂林 541004)

摘 要:以 92 份柑桔品种资源花粉为试材, 观察和分析了不同品种资源的花粉量和花粉粒大小的基本情况, 以期在生产上授粉树的配置以及杂交育种和相关领域研究提供理论支持。结果表明: 不同资源花粉量和花粉粒大小存在差异, 花粉量的聚类分析将所有供试样品分为 3 类, 并且有 6 份资源存在 $2n$ 花粉。

关键词:柑桔; 品种资源; 花粉量; 花粉直径

中图分类号:S 666.02.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)18-0008-05

果树花粉数量和花粉粒大小主要是由树种与品种的遗传特性所决定的^[1], 在柑桔长期演变和进化过程

第一作者简介:刘冰浩(1982-), 男, 硕士, 助理研究员, 现主要从事果树种质资源与遗传育种等研究工作。E-mail: liubh-311@126.com

责任作者:邓崇岭(1962-), 男, 推广研究员, 现主要从事果树种质资源与遗传育种等研究工作。E-mail: cldeng88168@126.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31160388); 广西自然科学基金重点资助项目(2013GXNSFDA019014); 广西自然科学基金资助项目(2013GXNSFBA019112); 广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科合 1347004-11); 国家现代农业(柑桔)产业技术体系建设专项资助项目(CARS-27-04B); 广西柑橘生物学重点实验室资助项目(桂柑科 201301X004, 桂柑科 201202K001); 国家产业技术体系广西创新团队资助项目; 广西柑桔工程技术研究中心培育资助项目(2013CXJHA08)。

收稿日期:2015-05-25

中, 品种间亲缘关系十分复杂, 花粉形态和花粉量存在着明显的差异。有些柑桔品种具有无融合生殖现象, 生产上希望其没有花粉而产生无籽果实, 但有些品种不具有无融合生殖特性, 同时还需异花授粉, 如沙田柚具有明显的自交不亲和性, 在生产上必须配置合适的授粉树才能提高坐果率^[2]。在杂交育种、花药培养等种质创新及相关领域研究中也需要了解不同资源、品种的花粉生物学状况。该试验中以采自广西特色作物研究院柑桔资源圃等的 92 个柑桔品种(或资源)花粉为试材, 通过测定、分析其花粉量和花粉粒大小, 了解不同柑桔品种花粉的基本情况, 以期在生产上授粉树的配置以及杂交育种和相关领域研究提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 92 个柑桔品种的花粉采自广西特色作物研究

Substances Diversity of Germplasm Resources on Walnut in Qinghai

LIU Baoyao^{1,2}, LIU Xiaoli²

(1. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016; 2. Qinghai Forestry Research Institute, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: Taking 112 walnut local varieties kernel from different eco-geographical regions as research materials, protein content, crude fat content and main fatty acid content and composition were determined by the method of Kieldahl, Soxhlet extraction and gas chromatography respectively, substance diversity and content variation of walnut in different region were analyzed. The results showed that the average content of protein were 15.97%, crude fat were 64.26%, the average content of main fatty acid were linoleic 55.49%, oleic 24.70%, linolenic 11.66%, palmitic 6.05%, stearic 1.98% respectively. The unsaturated fatty acid content reached to 91.85%, the correlation analysis showed significant differences ($P < 0.05$) in the fatty acid content.

Keywords: Qinghai local walnut; protein content; crude fat content; fatty acid composition

院柑桔资源圃(桂林)和中国柑桔研究所柑桔资源圃(重庆)果园,具体见表 1。

表 1 试验材料

Table 1			The test materials		
编号	品种/资源	类型	编号	品种/资源	类型
No.	Variety/Resource	Type	No.	Variety/Resource	Type
1	“大种橙”	野生资源,宜昌橙类	47	“立花桔”	野生资源,桔类
2	“万生柚”	栽培品种,柚类	48	“北碚 447”	栽培品种,橙类
3	“沙田柚”	栽培品种,柚类	49	“春甜桔”	栽培品种,桔类
4	“丹娜香橙”	香橙类	50	“南川佛手”	佛手类
5	“文旦”	栽培品种,柚类	51	“黎檬”	黎檬类
6	“泰国柚”	栽培品种,柚类	52	“兰花橙”	栽培品种,橙类
7	“强德勒柚”	栽培品种,葡萄柚类	53	“少核默科特”	杂交柑类
8	“西施柚”	栽培品种,柚类	54	“北京柠檬”	柠檬类
9	“车柚”	栽培品种,柚类	55	“冰糖橙”	栽培品种,橙类
10	“琯溪蜜柚”	栽培品种,柚类	56	“摩洛哥脐橙”	栽培品种,橙类
11	“早熟酸柚”	地方资源,柚类	57	“莱檬”	黎檬类
12	“宜昌橙”	野生资源,宜昌橙类	58	“朱桔”	栽培品种,桔类
13	“高斑柚”	柚类	59	“伏令夏橙”	栽培品种,橙类
14	“皇家葡萄柚”	栽培品种,葡萄柚类	60	“早津”	宽皮柑桔
15	“奥兰柚”	栽培品种,葡萄柚类	61	“红肉柠檬”	柠檬类
16	“红心蜜柚”	栽培品种,柚类	62	“宫川”	宽皮柑桔
17	“HB 柚”	栽培品种,柚类	63	“德乐塔橙”	栽培品种,橙类
18	“枳柚”	资源,体细胞杂种	64	“茂谷柑”	杂交柑类
19	“明尼奥拉”	栽培品种,橙类	65	“琦久保”	宽皮柑桔
20	“太田椪柑”	栽培品种,柑类	66	“阿尔及利亚夏橙”	栽培品种,橙类
21	“胜山野”	宽皮柑桔	67	“广西沙柑”	栽培品种,柑类
22	“新会橙”	栽培品种,橙类	68	“桂橙 1 号”	栽培品种,橙类
23	“扁柑”	地方资源,柑类	69	“无核蜜橙”	栽培品种,橙类
24	“广西土柠檬”	野生资源,黎檬类	70	“星路比”	栽培品种,葡萄柚类
25	“东 13 椪柑”	栽培品种,柑类	71	“蜜耐夏橙”	栽培品种,橙类
26	“津之香”	桔橙	72	“日本香橙”	香橙
27	“默科特柑”	栽培品种,杂柑类	73	“椪柑”	栽培品种,柑类
28	“南丰蜜桔”	栽培品种,桔类	74	“克力曼丁桔”	栽培品种,桔类
29	“道县野桔”	野生资源,桔类	75	“纽荷尔”	栽培品种,橙类
30	“鹅蛋红桔”	地方资源,柑类	76	“明娜脐橙”	栽培品种,橙类
31	“摩洛哥酸桔”	宽皮柑桔	77	“大三岛”	栽培品种,橙类
32	“秋辉”	栽培品种,桔柚	78	“丰脐”	栽培品种,橙类
33	“尤力克柠檬”	栽培品种,柠檬类	79	“铃木脐橙”	栽培品种,橙类
34	“广西红皮酸桔”	地方资源,桔类	80	“华盛顿脐橙”	栽培品种,橙类
35	“中国红”	宽皮柑桔	81	“Spring”	栽培品种,橙类
36	“长寿 2 号柚”	栽培品种,柚类	82	“森田脐橙”	栽培品种,橙类
37	“砂糖桔”	栽培品种,桔类	83	“清家”	栽培品种,橙类
38	“迎新桔”	栽培品种,桔类	84	“卡拉卡拉”	栽培品种,橙类
39	“锦橙脐橙 26 号”	地方资源,橙类	85	“伦晚”	栽培品种,橙类
40	“莽山野桔”	野生资源,桔类	86	“鲍威尔”	栽培品种,橙类
41	“富川臭皮柑”	地方资源,宽皮柑桔	87	“耐湿芽变”	变异单株,橙类
42	“八月桔”	栽培品种,桔类	88	“梦脐”	栽培品种,橙类
43	“兰普莱檬”	栽培品种,黎檬类	89	“红肉脐橙”	栽培品种,橙类
44	“清见”	栽培品种,橙类	90	“斑菲”	栽培品种,橙类
45	“红江橙”	栽培品种,橙类	91	“无核扁柑”	地方资源,柑类
46	“菠萝橙”	栽培品种,橙类	92	“福本”	栽培品种,橙类

1.2 试验方法

样品的采集、测量及数据处理参考文献[3]~[6]的

方法,略有改动。晴天上午采集即将开放的花蕾,在室温(25℃左右)下阴干 0.5 d,剥取花药后室温自然干燥 20 h,然后收集花粉置相对湿度 50%、-20℃贮藏备用。

1.3 项目测定

1.3.1 花药花粉量测定 取即将开放的大花蕾带回实验室及时剥取花药,随机取 15 粒饱满、未开裂的花药放入 2 mL 离心管中,重复 3 次。在 28℃ 条件下干燥散粉,等花粉完全散出后,加入 1 mL 蒸馏水,再滴入 1 滴吐温,在漩涡振荡器上振荡成悬浮液。取 400 μ L 悬浮液于 2 mL 离心管中,再加蒸馏水 600 μ L,摇匀后吸取 5 μ L 滴在载玻片上,于倒置生物显微镜下观察,统计花粉粒数,重复 3 次。

1.3.2 花粉直径测量 取少量花粉置于载玻片上,利用 OLYMPUS 万能荧光显微镜观察、拍照,用测量软件测定各品种 100 个以上花粉粒的直径(花粉粒的大小,近圆形的以其每个花粉粒的最大直径与最小直径乘积的平方根值来表示,圆形的以其直径表示)。

1.4 数据分析

每枚花药的花粉量(花粉粒/花药)=每个载玻片上总花粉粒数/(0.4×0.005×15)。利用 DPS 软件进行系统聚类分析并作图。

花粉粒直径:1)利用 DPS 和 Excel 计算花粉粒直径平均值和变异系数;2)以所有花粉粒直径为对象,将花粉粒直径按大小划分为 10 组,按品种统计每个组中所分布的花粉粒个数百分率。

2 结果与分析

2.1 花粉数量观察及其系统聚类分析

由表 2 可知,相对来说柚类单花药花粉粒数最多,橙类单花药花粉粒数最少,而柑类、桔类处于二者之间。其中单花药花粉粒数最多的是“万生柚”,有 60 333.33 粒;最少的单花药花粉数为 0 粒,共有 14 份资源,包括 13 份甜橙资源和 1 份葡萄柚资源(“星路比”)。图 1 聚类分析结果表明,全部样本可分成 3 类:第 1 类包含 30 个样本(1、10、21、4、17、5、19、16、40、3、55、68、45、7、22、39、20、37、38、36、46、51、18、29、48、60、44、58、69、74),这一类型单花药花粉量在 7 000~30 000 粒;第 2 类包含 57 个样本(8、28、33、57、54、15、42、65、12、47、63、49、14、34、43、66、52、53、24、73、25、30、31、23、35、27、26、71、56、72、59、62、32、61、70、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、41、50、64、67),这一类型单花药花粉量在 7 000 粒以下;第 3 类包含 5 个样本(2、6、9、11、13),这一类型花药花粉数量在 30 000 粒以上。

2.2 不同品种或资源花粉直径观察及其花粉直径分布分析

由表 3 可以看出,所观察到的柑桔花粉直径最大的是“大种橙”,其直径为 40.538 4 μ m;最小的是“克力

表 2 不同品种(资源)单花药花粉数

Table 2 Pollen grains per anther of 92 *Citrus* varieties

编号 No.	单花药花粉数 Pollen grains per anther/粒	编号 No.	单花药花粉数 Pollen grains per anther/粒	编号 No.	单花药花粉数 Pollen grains per anther/粒	编号 No.	单花药花粉数 Pollen grains per anther/粒
1	18 777.78	24	4 611.11	47	2 509.26	70	0.00
2	60 333.33	25	5 129.63	48	8 444.44	71	1 546.30
3	12 305.56	26	1 611.11	49	2 564.81	72	620.37
4	16 138.89	27	1 268.52	50	212.96	73	4 287.04
5	15 666.67	28	3 537.04	51	11 509.26	74	7 333.33
6	40 722.22	29	8 638.89	52	6 398.15	75	0
7	10 287.04	30	5 148.15	53	6 666.67	76	0
8	3 601.85	31	5 185.19	54	3 953.70	77	0
9	39 972.22	32	64.81	55	12 925.93	78	0
10	18 138.89	33	3 768.52	56	500.00	79	0
11	36 916.67	34	6 009.26	57	3 703.70	80	0
12	2 111.11	35	1 092.59	58	8 138.89	81	0
13	30 111.11	36	11 166.67	59	851.85	82	0
14	5 898.15	37	9 787.04	60	8 500.00	83	0
15	3 259.26	38	9 861.11	61	83.33	84	0
16	20 694.44	39	10 712.96	62	796.30	85	0
17	16 194.44	40	21 277.78	63	2 481.48	86	0
18	8 731.48	41	166.67	64	268.52	87	0
19	15 722.22	42	3 305.56	65	3 175.93	88	9.26
20	9 370.37	43	5 787.04	66	5 777.78	89	9.26
21	17 157.41	44	7 953.70	67	370.37	90	27.78
22	10 268.52	45	13 888.89	68	12 925.93	91	27.78
23	1 027.78	46	11 361.11	69	8 055.56	92	37.04

表 3 不同品种(资源)花粉粒直径

Table 3 Pollen diameter of 74 *Citrus* varieties

编号 No.	花粉直径 Pollen diameter /μm	变异系数 Coefficient of variation	编号 No.	花粉直径 Pollen diameter /μm	变异系数 Coefficient of variation	编号 No.	花粉直径 Pollen diameter /μm	变异系数 Coefficient of variation
1	40.538 4	0.145 9	26	30.574 9	0.170 8	51	26.485 9	0.179 4
2	39.836 1	0.128 4	27	30.458 2	0.187 3	52	26.353 4	0.224 1
3	38.620 0	0.105 1	28	29.655 9	0.144 4	53	26.175 6	0.171 2
4	37.749 2	0.144 8	29	29.363 7	0.178 7	54	26.145 1	0.124 5
5	37.684 2	0.110 6	30	29.279 5	0.139 9	55	26.140 5	0.164 6
6	37.359 1	0.115 7	31	29.147 6	0.199 6	56	25.925 9	0.151 6
7	37.000 8	0.133 6	32	28.978 4	0.161 6	57	25.615 5	0.178 4
8	36.720 7	0.113 3	33	28.540 6	0.315 9	58	25.171 2	0.175 7
9	36.661 3	0.119 0	34	28.390 4	0.161 5	59	25.148 2	0.282 2
10	36.512 4	0.119 2	35	28.348 0	0.146 6	60	24.248 6	0.165 0
11	35.677 1	0.122 7	36	28.327 1	0.125 3	61	23.865 0	0.197 0
12	35.648 4	0.169 7	37	28.060 6	0.199 5	62	23.528 9	0.145 1
13	35.439 0	0.109 5	38	27.936 9	0.170 0	63	23.022 3	0.139 6
14	34.939 8	0.207 7	39	27.877 8	0.172 6	64	22.302 1	0.133 4
15	34.554 7	0.207 4	40	27.511 9	0.183 9	65	22.107 1	0.170 4
16	34.252 0	0.133 5	41	27.482 9	0.196 6	66	21.953 8	0.178 8
17	34.230 5	0.134 3	42	27.434 5	0.195 2	67	21.854 9	0.088 4
18	33.034 1	0.147 5	43	27.292 5	0.214 0	68	21.777 6	0.120 4
19	32.281 3	0.130 0	44	27.156 9	0.207 2	69	21.753 9	0.112 3
20	32.038 6	0.144 8	45	27.102 0	0.191 3	70	20.821 8	0.176 2
21	32.024 6	0.181 5	46	26.985 3	0.102 5	71	20.189 2	0.174 2
22	31.742 1	0.169 8	47	26.885 7	0.175 5	72	19.143 5	0.120 0
23	31.405 9	0.184 0	48	26.882 5	0.229 4	73	18.966 5	0.114 8
24	31.315 4	0.226 2	49	26.758 7	0.168 3	74	18.665 4	0.091 3
25	30.676 4	0.225 3	50	26.613 7	0.196 5			

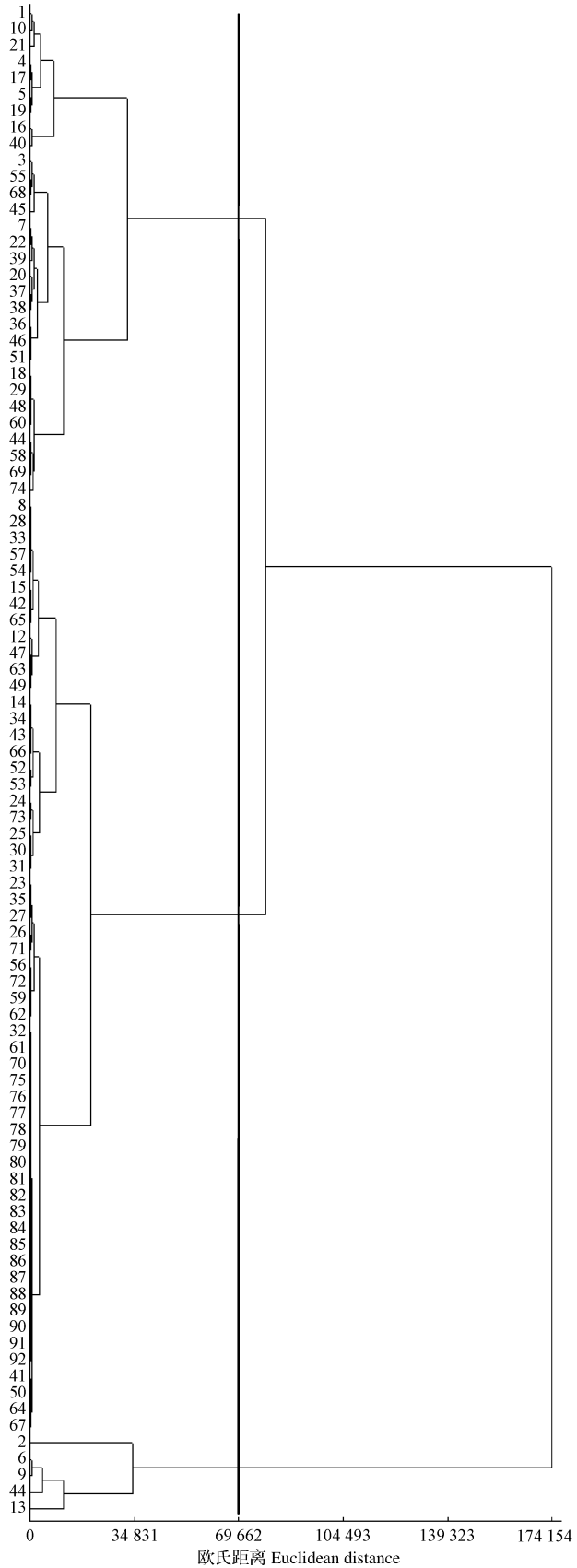


图 1 花粉数量的系统聚类图

Fig. 1 Diagram of system clustering of pollen quantity

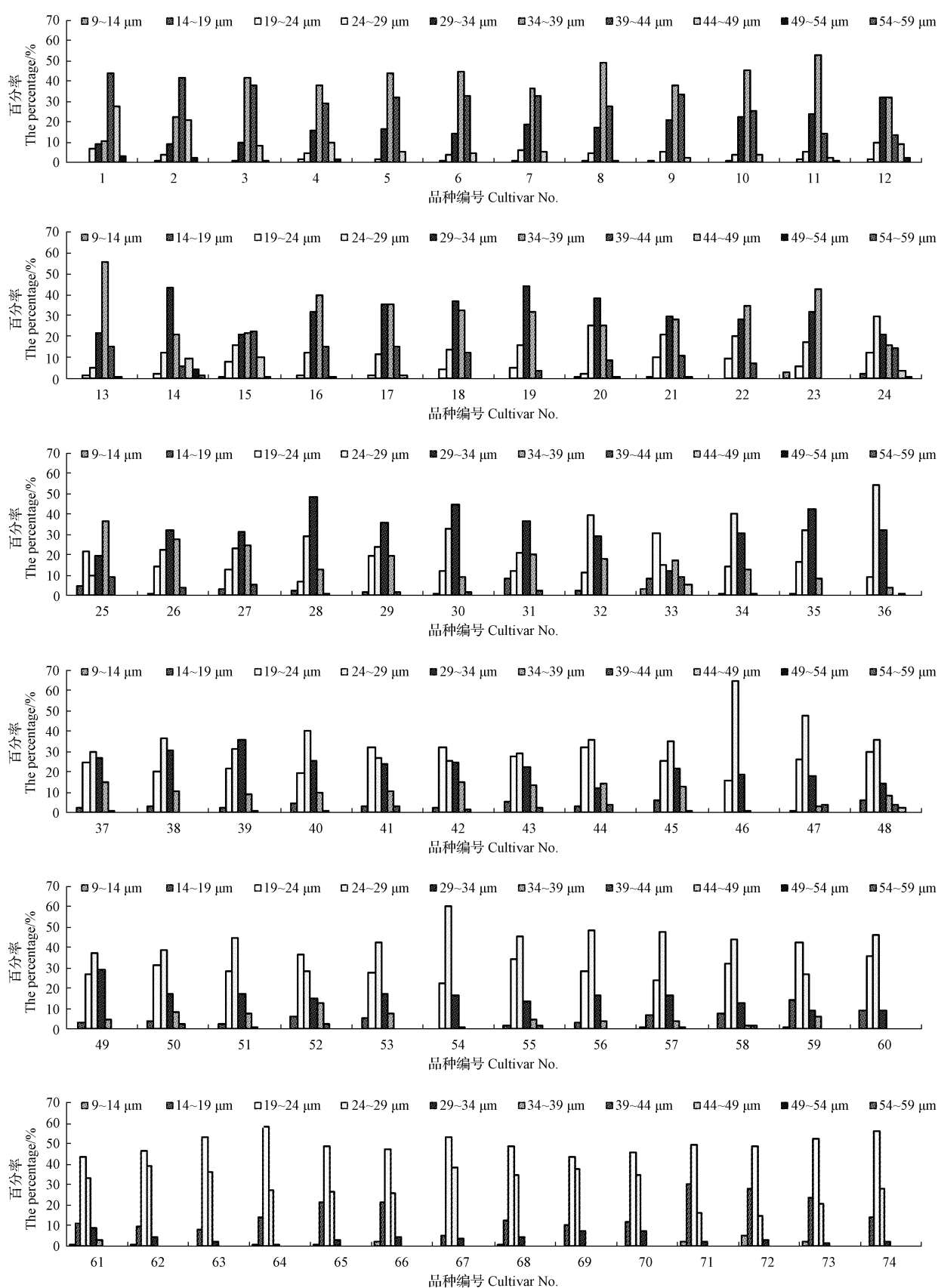


图 2 74 个柑桔品种花粉粒直径大小的分布

Fig. 2 Pollen diameter of 74 citrus cultivars

曼丁桔”,其直径为 $18.6654\ \mu\text{m}$ 。“尤力克柠檬”的变异系数最大为 0.315 9,“广西沙柑”变异系数最小为 0.088 4。由于“纽荷尔”脐橙等没有或很少花粉,因此没有测量其花粉直径。

根据所测量的单个花粉直径,以 $5\ \mu\text{m}$ 为组距划分为 10 组,统计各品种花粉直径的分布百分率。图 2 表明,不同品种的花粉直径的分布存在一定的差异。柑桔在自然状态下可以产生一定的 $2n$ 配子体,出现一定比例的 $2n$ 花粉粒,参考向素琼等^[7] $2n$ 花粉粒直径约为正常花粉 1.3 倍的标准,该研究所观察的花粉有 6 个样品存在 $2n$ 花粉,其中“皇家葡萄柚”为 1.666 667%,“广西土柠檬”为 0.840 336%,“长寿 2 号柚”为 0.543 478%,“早津”为 0.335 570%,“无核蜜城”为 0.217 291%,“日本香橙”为 0.611 620%。

3 讨论

柑桔遗传多样性十分丰富,既有自花可育资源,又有自交不亲和品种,还有品种具有单性结实能力,相应的不同品种资源的花粉数量也有较大差异。总的来看野生资源和相对原始的资源(如柚类)花粉数量较多,而栽培品种(尤其是橙类)经过人工选择其花粉数量较少。由于柑桔的单性结实特性,很多柑桔单品种种植时为无籽,而与有花粉品种混栽时则有籽,因此在果园品种配置尤其是大果园多品种建园时了解品种花粉数量非常重要;而像种植沙田柚等异花授粉品种时选择配置花期相遇、花粉量大、萌发率高的品种作为授粉树是提高坐果率和产量的有效措施之一。柑桔杂交育种是种质资源创新的有效途径之一,在设计杂交组合时,花粉数量也是一个必须要考虑的因素。该研究为以上生产和育种工作的进行提供一定的参考。

花粉大小是花粉形态的又一重要指标,不同的品种资源花粉大小差异明显,该研究中花粉直径在 $9.07\sim 56.25\ \mu\text{m}$,总的来看柚类和“宜昌橙”花粉最大,桔类花

粉最小,可能与果实大小具有一定的相关性。在某些高等植物中,正常的减数分裂能产生 n 配子的同时,也能产生一定比例的 $2n$ 配子,目前已经报道有 13 个科 100 多个种(或杂种、变种)可以产生一定比例的 $2n$ 配子^[8-10]。向素琼等^[7]对这 11 个柑桔品种的自然花粉连续 2 年的观察表明,除“汤姆逊葡萄柚”、“哈姆林”、“锦橙”3 个品种未发现 $2n$ 花粉,其它品种的 $2n$ 花粉发生率为 0.05%~2.95%,不同年份间不稳定。其中“长寿”沙田柚 $2n$ 花粉发生率为 2.04%和 1.05%,该研究共观察到了 6 个样品存在 $2n$ 花粉,其中“长寿 2 号柚” $2n$ 花粉发生率为 0.543 478%。再次说明了自然状态下柑桔可以产生 $2n$ 配子体,并且同一品种(系)该性状具有一定遗传稳定性。

(该文作者还有范七君、刘萍,单位同第一作者。)

参考文献

- [1] 王苏珂,杨健,王龙,等. 255 个梨品种花粉量的测定与分析[J]. 园艺学报,2011,38(增刊):24.
- [2] 区善汉,蔡龙德,陈贵峰,等. 沙田柚低产果园综合治理技术研究[J]. 广西农业科学,2006,37(4):426-429.
- [3] 张绍铃,谢文暖,陈迪新,等. 8 种果树花粉量及花粉萌发与生长的差异[J]. 上海农业学报,2003,19(3):67-69.
- [4] 朱梅玲,乔进春. 扁桃花粉数量及花粉质量的检测[J]. 河北果树,2004(6):8,11.
- [5] 覃嘉明,岑秀芬,韦鹏霄,等. 不同罗汉果杂交品系花粉数量和发芽率的比较研究[J]. 广西植物,2009(6):881-884.
- [6] 刘玲,王玖瑞,刘孟军,等. 枣不同品种花粉量和花粉萌发率的研究[J]. 植物遗传资源学报,2006,7(3):338-341.
- [7] 向素琼,龚桂枝,郭启高,等. 柑桔属 $2n$ 花粉自然发生与沙田柚 $2n$ 花粉诱导研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版),2005,27(5):616-620.
- [8] 张新忠,刘国俭,闰立英,等. 热激或低温诱导辣椒产生 $2n$ 花粉的细胞遗传学机理[J]. 河北农业科学,2003,7(3):7-12.
- [9] 谷晓峰,罗正荣. ‘禅寺丸’甜柿 $2n$ 花粉形成机制的研究[J]. 园艺学报,2003,30(2):135-140.
- [10] 刘福平. 融安滑皮金柑 $2n$ 雌配子诱导研究[D]. 南宁:广西大学,2010.

Study on the Pollen Amount and Pollen Diameter of 92 *Citrus* Resources

LIU Binghao, DING Ping, NIU Ying, DENG Chongling, DENG Guangzhou, CHEN Chuanwu, FAN Qijun, LIU Ping
(Guangxi Key Laboratory of Citrus Biology, Guangxi Academy of Specialty Crops, Guilin, Guangxi 541004)

Abstract: With 92 *Citrus* resources as materials, the pollen amount and pollen diameter of different varieties were investigated, to provide theoretical support for pollination tree configuration and crossbreeding. The results showed that there were differences of pollen contents and pollen grain size with different species. All the samples could be divided into 3 groups by clustering analysis. $2n$ pollen was observed in six copies of resources.

Keywords: *Citrus*; variety resource; pollen amount; pollen diameter