

花粉萌发特性对扁桃不亲和强度差异的影响

徐 崇 志

(塔里木大学 植物科学学院, 新疆 阿拉尔 843300)

摘 要: 以新疆主栽扁桃 8 个品种和 10 个杂交组合为对象, 研究其自交以及杂交组合的花柱离体培养花粉管的生长情况, 花柱蛋白浓度对不同品种花粉的萌发生长抑制作用的影响, 并分析其对扁桃自交不亲和性影响的强度差异。结果表明: 在花柱 1/3 处的花粉管数量差别较小, 而在花柱 1/2 处花粉管数量显著不同。花柱蛋白在低浓度下对花粉萌发和伸长没有抑制作用, 蛋白浓度超过 2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时才发生轻微的抑制作用, 并且随蛋白浓度的升高抑制作用增强, 表明高浓度的花柱蛋白比低浓度的花柱蛋白更能诱导不亲和的发生。

关键词: 扁桃; 离体培养; 花柱蛋白; 自交不亲和
中图分类号: S 662.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)09-0145-04

扁 桃 (*Amygdalus communis* L.) 属桃 李 亚 科

(*Drupaceae Prunoideae*) 桃 李 属 (*prunes* Lien) 扁 桃 亚 属 植物^[1], 原产于西亚地区^[1]。新疆是其起源地之一, 目前我国扁桃栽培主要在新疆喀什莎车县、英吉沙县, 阿克苏、和田地区也有少量的分布。虽然扁桃被普遍认为是一自交不亲和树种, 但是这一性状是相对的, 其自交不亲和性在表现上存在强度差异^[2-3], 因此选育自交亲和品种一直是育种的重要目标之一。现通过对扁桃自交以及杂交组合的花柱离体培养, 花粉管的生长情况和花

作者简介: 徐崇志(1969-), 男, 硕士, 副教授, 现主要从事植物遗传育种与特色果树种质资源研究工作。E-mail: xcz-1999@163.com.
基金项目: 新疆生产建设兵团应用基础研究计划资助项目(2006JC04)。
收稿日期: 2010-01-26

参考文献

[1] 吴林森, 冯福娟, 张宇, 等. 西兰花离体快繁外植体消毒技术初探[J]. 农业与技术, 2006, 26(3): 96-98.
[2] 许端祥, 方淑桂, 陈文辉. 花椰菜自交不亲和系组培快繁技术研究[J]. 福建农业科技, 2006(5): 32-34.

[3] 黄俊轩, 李双跃, 李建科, 等. 花椰菜叶片离体再生技术的研究[J]. 天津农学院学报, 2006, 13(4): 21-23.
[4] 夏小娣, 李素文, 张宝珍, 等. 花椰菜组织培养获得再生植株[J]. 天津农业科学, 1995(2): 22.

Study on Regeneration System of 2 Cauliflowers (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)

ZHU Hui-xia HU Li-min TAO Xing-lin
(Vegetable Research Institute Gansu Academy of Agricultural Sciences Lanzhou Gansu 730070)

Abstract: Basal MS medium supplemented with different hormones was filtrated and optimized. The regeneration system of 2 cauliflowers(*Brassica oleracea* var. *botrytis*) were established by using the cotyledon and epicotyl as explants. The results showed that the adventitious bud differentiation rate from cotyledon explants was very low and most of them were yellowing. But the adventitious bud differentiation rate of epicotyl explants reached 100% on the suitable medium. The best medium for epicotyl explants of ‘Qi Lian Bai Xue’ was MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L, that of ‘Xin Dong Hai Ming Zhu 80 d’ was MS+6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L. The suitable medium was MS+6-BA 0.5 mg/L during the stage of bud stretching. On the medium MS+IAA 0.5 mg/L. The elongated shoots rooted at the rate of 100%. The 95% rooted shoots survived in the greenhouse.
Key words: *Brassica oleracea* var. *botrytis*; cotyledon; epicotyl; regeneration system

柱蛋白对不同品种花粉的萌发生长抑制作用的影响,分析扁桃自交不亲和的生理机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2007年在莎车县依吾斯塘乡进行试验,以‘莎车1号’、‘莎车9号’、‘莎车11号’、‘莎车12号’、‘莎车14号’、‘莎车18号’为试材。树龄12a生,园土为沙壤土,管理较粗放,树势较强,行间小麦间作。

1.2 试验方法

1.2.1 人工自交及杂交组合 每株选取3个花枝于花前1周套袋,盛花期人工自花授粉。异花授粉2~3次,去除败育花,统计花朵数。花后1周去除套袋,花后20d统计坐果率^[4]。杂交组合配制:组合1=‘莎车14号’×‘莎车1号’、组合2=‘莎车14号’×‘莎车18号’、组合3=‘莎车1号’×‘莎车18号’、组合4=‘莎车18号’×‘莎车14号’、组合5=‘莎车12号’×‘莎车14号’、组合6=‘莎车9号’×‘莎车14号’、组合7=‘莎车1号’×‘莎车14号’、组合8=‘莎车18号’×‘莎车9号’、组合9=‘M1’×‘莎车12号’、组合10=‘M1’×‘莎车1号’。

1.2.2 花柱离体培养 于气球期田间取回花柱,除去花瓣和雄蕊后分别自花和异花授粉,自柱头至花柱基部的1/3、1/2及花柱基部切下,置于培养基上培养,48h后在花柱切口附近滴入0.1%苯胺兰溶液固定和染色,观察各自交、杂交组合的花粉管伸长情况,调查从花柱切口处出现的花粉管数^[5]。每一处理20个花柱,3次重复。花柱蛋白浓度设4个处理,分别为1、2、4 $\mu\text{g/L}$ 和对照。

1.2.3 花粉管生长试验 任意选取1花枝,花期分别人工自花授粉2~3次。分别于授粉后24、48、72h,每株系取15~20支花柱于FAA固定液中固定并保存。冲洗后用0.1%苯胺兰染色24h,压片后紫外光显微镜上镜检观察、照相^[6]。

2 结果与分析

2.1 自交后离体培养花粉管的生长

如图1所示,从5个品种自交后花柱离体培养的花粉管生长情况可以看出,在花柱上1/3处长出的花粉管数均较多,其中最多的是‘莎车9号’,长出的花粉管个数是12条;其次是‘莎车14号’,长出的花粉管的个数是8条;‘莎车18号’7条;最少的是‘莎车12号’和‘莎车1号’,萌发的花粉管数分别是2条和1条。在花柱1/2处,花粉管数量明显减少,范围在0~4之间,其中‘莎车9号’的花粉管个数为最多达到4条。‘莎车1号’和‘莎车14号’没有花粉管长出。至花柱基部,5个品种均没有花粉管长出。不同扁桃品种自交后基部均没有发现花

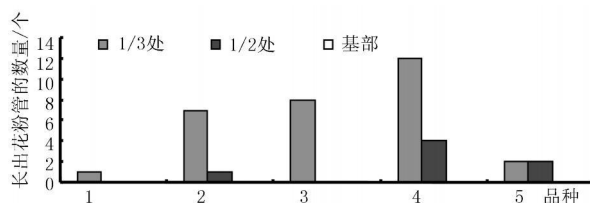


图1 不同扁桃品种自交后在花柱的1/3、

1/2处及基部长出花粉管的数量

注:1=莎车1号,2=莎车18号,3=莎车14号,4=莎车9号,5=莎车12号。

粉管,表明供试的品种都有较强的自交不亲和性。在花柱1/3和1/2处长出花粉管的数量上存在较大差异,品种之间存在着自交不亲和性的强度差异。‘莎车9号’自交后在花柱1/2处长出的花粉管数量明显高于其它品种的花粉管数量,其次为‘莎车12号’。‘莎车12号’与‘莎车18号’相比在花柱1/3处长出的花粉管数量‘莎车18号’明显高于‘莎车12号’,但在花柱1/2处长出花粉管的数量‘莎车18号’又明显低于‘莎车12号’,表明在花柱1/2处‘莎车18号’受到花柱蛋白的抑制比‘莎车12号’强,而‘莎车18号’的自交不亲和性要强于‘莎车12号’。其余的品种在花柱1/3处就明显受到了花柱蛋白的抑制,而‘莎车14号’与‘莎车1号’在花柱1/3处长出的花粉管的数量相比较,‘莎车14号’明显高于‘莎车1号’,说明‘莎车14号’的自交亲和性较‘莎车1号’强。

2.2 杂交组合离体花柱培养花粉管的生长

10个杂交组合授粉后离体培养的结果表明(图2)。其中组合2、4、7、9在花柱1/3、1/2处生长出的花粉管数量差异较小,花柱1/3处长出的花粉管数量在3~5条之间,花柱1/2处长出的花粉管数量在2~3条之间,表明‘莎车14号’、‘莎车18号’、‘莎车1号’、‘M1’的花粉管的伸长生长受S-糖蛋白的抑制作用不显著,花粉可以正常的伸长生长至花柱1/2处。组合3、5、6、10在花柱1/3处长出的花粉管数量较大,均在6~8条,但是在花柱1/2处长出的花粉管数量出现了较大幅度的减少。减幅由小到大排列为:组合3<组合6<组合5<组合10。表明花粉管在伸长过程中到1/2处受到了不同程度的抑制,抑制程度较大的是‘M1’和‘莎车9号’,较小的是‘莎车12号’和‘莎车1号’。

组合8在1/3处花粉管长出数量较少,只在2~4条之间,到1/2处没有观察到花粉的长出,而组合1在1/3处和1/2处均长出较多的花粉管,并且其在1/2处没有出现花粉管的减少,表明:组合1受到抑制的程度最小,而组合8受到的抑制最为强烈。因此可以看出,

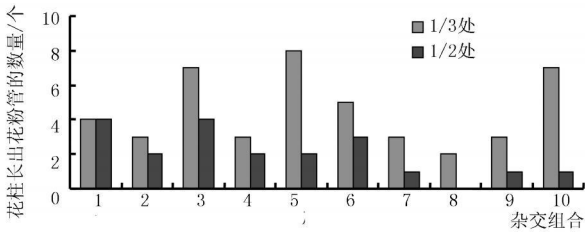
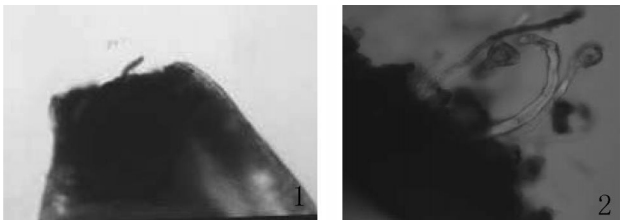


图2 不同扁桃杂交组合 1/3 和 1/2 处长出花粉管的数量

‘莎车 14 号’×‘莎车 1 号’这一杂交组合的不亲和性强度最弱,其次是‘莎车 1 号’×‘莎车 18 号’和‘莎车 9 号’×‘莎车 14 号’,它们在花柱 1/2 处受到的抑制较轻,其余的组合在花柱 1/2 处明显受到很大的抑制,‘莎车 18 号’×‘莎车 9 号’这一杂交组合在花柱 1/3 处就已经受到了抑制,由此可知这一杂交组合杂交不亲和性最强。



花柱 1/2 处长出的花粉管 花柱 1/3 处长出的花粉管

图3 扁桃花粉管长出花柱情况

杂交组合的花柱离体培养与自交不亲和的花柱离体培养的趋势大致相同,1/3 花柱长出的花粉管的数量的范围在 2~8 条之间,1/2 处花柱长出的花粉管的数量在 0~4 条之间,这说明花粉管在花柱中的生长受抑制作用明显,但不同品种和不同杂交组合之间其存在较大差异。由此也可以表明不同扁桃品种杂交不亲和性也存在着强度差异。

2.3 不同花柱蛋白浓度对花粉萌发的影响

图 4 表明,扁桃不同品种花粉萌发率随着扁桃蛋白浓度的增加呈现明显下降趋势,即扁桃不同品种花粉在清水中的萌发率均明显高于加入扁桃花柱蛋白的扁桃花粉萌发率,与扁桃受花柱蛋白抑制的变化趋势一致,但下降的幅度因品种差异而存在明显的不同。所有供试品种在花柱蛋白浓度为 4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时花粉粒萌发率都已经下降到非常低的水平。‘莎车 9 号’花粉粒在花柱蛋白浓度为 4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时的萌发率为 0.51%,比对照下降了 4.48%,而‘莎车 18 号’花粉粒在花柱蛋白浓度为 4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时的萌发率比对照下降了 2.21%,其它品种的下降幅度也各不相同。但是在同一浓度水平下花粉萌发率也出现了较大差异,变幅为 2%~5.5%。但是受花柱蛋白影响较小的品种是‘莎车 11 号’和‘莎车 18 号’,

萌发率较低的‘莎车 18 号’其随着花柱蛋白浓度增加呈现缓慢下降的趋势,萌发率较高的‘莎车 11 号’在花柱蛋白浓度增加到 2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时其对萌发的影响较小,但是当花柱蛋白浓度超过 2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 上时就出现了急骤下降。其它莎车 9 号、1 号、14 号表现基本一致,其中‘莎车 9 号’的萌发率下降最快。

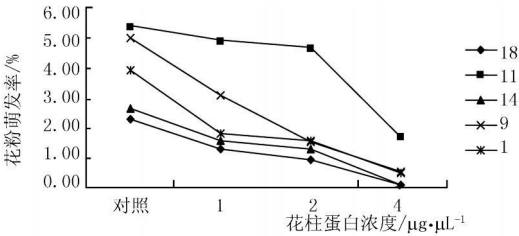


图 4 花柱蛋白对扁桃花粉粒萌发的影响

注:1=莎车 1 号,9=莎车 9 号,12=莎车 12 号,14=莎车 14 号,18=莎车 18 号。

扁桃花柱蛋白对扁桃花粉粒的萌发有抑制作用,而花柱蛋白对花粉粒萌发的抑制随品种不同而抑制的强度也有所不同。扁桃花柱蛋白对不同扁桃品种花粉粒萌发的抑制强度明显不同,从而证明了扁桃品种间不亲和性存在强度的差异。亲和性强的品种花粉粒萌发受花柱蛋白抑制较轻微,从而萌发率高,反之则受花柱蛋白的抑制较大,萌发率低。

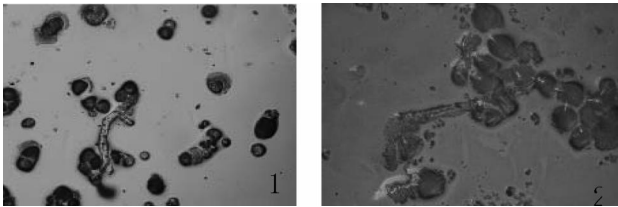


图 5 在花柱蛋白浓度为 4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时花粉粒萌发情况

注:1 莎车 9 号花粉粒的花粉管 2 莎车 14 号花粉粒的花粉管。

3 结论与讨论

3.1 花粉管生长速度及受精时间

花粉管生长情况表明,在授粉后 12~24 h,自交不亲和和自交亲和二类花粉管生长速度没明显的差异,基本上达到花柱上、中部,表明花柱上部对抑制不亲和花粉管的效果不明显;二类花粉管生长表现出明显区别是在授粉后 48~72 h,亲和花粉管开始进入子房,不亲和花粉管则进入花柱中部,少数顶端膨大、破裂后不再向前延伸,没破裂的花粉管仍继续生长,在花柱下部停止生长。因此可以认为,生长抑制的部位主要是花柱的中、下部。虽然花柱上部曾被认为是抑制花粉管生长的部位,苹果上报道花柱中原位检测 S-RNase,是分布于整个花柱中^[7];烟草上报道不亲和花粉管在整个花柱内能缓慢生长。但是,该研究认为扁桃自交不亲和所表现出的花粉管的生长抑制现象,在花柱上部看不到或不明显

显,而主要发生于花柱中、下部,使不亲和花粉管不能进入子房完成授粉受精的过程。

3.2 花粉在花柱中生长受抑制部位及可能的原因

大多数果树品种都存在自交不亲和现象,如苹果、梨、樱桃等。它们受单一位点复等位基因控制,柱头分泌液体使花粉粒能够在柱头上萌发,并且花粉管在花柱宽的缝隙和细胞之间生长,不亲和花粉管就是在这中间的一些点上受到抑制而停长^[7]。从自交、杂交的花柱离体培养花粉管生长情况来看,自交亲和与杂交亲和的组合花粉管能伸长穿透整个花柱到达子房完成受精,并有很高的坐果率;而自交不亲和与杂交不亲和的组合(自交不亲和组合如‘莎车1号’×‘莎车1号’、‘莎车18号’×‘莎车18号’;杂交不亲和组合如‘莎车18号’×‘莎车9号’、‘莎车1号’×‘莎车14号’等)离体培养时花粉管在花柱1/2处受阻,长出花柱横切面的花粉管数量明显减少(均值在2个左右),说明花粉管的生长在此处受到了明显的抑制。

花柱离体培养结果看出,无论自交亲和的品种还是自交不亲和的品种,花柱1/3处都有许多花粉管长出,并且亲和的与不亲和的品种间花粉管数量差别不大,但花柱1/2处长出的花粉管数量就有明显不同,不亲和品种在花柱1/2处的花粉管的数量明显减少,这种组合的田间坐果率达不到1%,而自交亲和品种在此处的花粉管数量变化不明显,自花结实率超过10%。这一结果与田间坐果率调查结果一致,田间坐果情况为花柱离体培

养的可靠程度提供了有力的佐证,花柱离体培养的方法可在室内进行品种间亲和性的鉴定,避免了早春晚霜等外界因素的影响。

虽然花粉管在花柱1/2处受到强烈的抑制,但1/2处花粉管数量在杂交亲和与杂交不亲和之间有重叠现象,不易区分,这就出现了杂交组合的亲性和在花柱离体培养中与授粉试验中的结果不同,因此在用花柱离体法鉴定亲和性时应该以长出整个花柱的情况作为判断的一个指标,当花粉管整个花柱横切面的平均数量达到3个以上时,就可以认为是亲和的,花粉管数量在0.1~1个的范围内就可以认为是不亲和的,1~3个之间可认为是部分亲和。

参考文献

- [1] 马艳,董超华.扁桃种质资源研究进展[J].河北科技师范学院学报,2004,18(2):31.
- [2] 王爱华,戴洪义.果树自交不亲和性的研究进展[J].莱阳农学院学报,2002,19(3):206.
- [3] 吴斌.巴旦杏自花不亲和性生理机制的研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2003.
- [4] 成健红,李文胜,麻木提等.扁桃授粉试验研究[J].新疆林业,1999(6):18.
- [5] 齐洁.杏自交不亲和相关基因的克隆及表达分析[D].泰安:山东农业大学,2002.
- [6] 成健红,谭敦炎,李疆等.扁桃授粉试验及花粉管生长的荧光显微观察[J].西北植物学报,2001,21(5):894-899.
- [7] 陈超,李保国,齐国辉等.果树自交不亲和机理及应用研究进展[J].河北林果研究,2005,20(1):86-89.

Effect on Self-fertilize Un-appetency Intensity Difference in Almond About Pollen Bourgeon Characteristic

XU Chong-zhi

(College of Plant Science Tarim university, Alae, Xinjiang 843300)

Abstract: Study on 8 breed and 10 cross-fertilize composes in almond. The growth situation of pollen tube by style isolated culture of self-fertilize and cross-fertilize composes. The results showed that the difference of pollen tube number in 1/3 of style between appetency and un-appetency varieties composes was insignificant, but the difference in 1/2 of style was evident. However the number of pollen tube number in 1/2 of style could not distinguish appetency and un-appetency composes strictly. So number of pollen tube growing from the base of style can be the index to appraise the compatibility among almond varieties in style isolated culture. The inhibition extent that stylus protein to the grown of pollen tube of different varieties was obviously different. However, the exhibition of inhibition stylus protein to almond was identical; there was no inhibition stylus protein in low density which was $1.0 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ to the germination and elongation of almond pollen. The slight inhibition happens when the density of stylus protein was more than $2.0 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ and strengthens with density of stylus protein rising. It indicated that high density stylus protein can induce the emergence compatibility easier than low density stylus protein.

Key words: almond; self-fertilize; un-appetency; stylus protein