

雄性不育板栗种质杂交结实特性研究

刘国彬, 曹 均, 周连第, 兰彦平, 兰卫宗

(北京市农林科学院 农业综合发展研究所, 北京 100097)

摘 要:对板栗雄花败育种质及其授粉结实特性进行了研究,分析了不同父本对雄性不育种质结实的影响,探讨了以雄性不育种质为母本,不同父本杂交,板栗坚果性状方面的变异情况,以揭示板栗雄性不育种质的育种价值,奠定板栗雄性不育育种及其理论研究的生物学基础。结果表明:雄性不育种质具有较强的授粉结实能力,坐苞率和结实率均在90%以上,空苞率4%,每苞含坚果2.6粒,坚果高宽厚表现稳定,单粒重变异幅度稍大,变异系数达到16.10%;父本不同,雄性不育种质结实特性存在差异,“燕平”、“河北短丰”与雄性不育种质亲和力最强,结实率和空苞率分别为95.35%、74.78%和4.65%、2.61%;雄性不育种质具有较强的接收远缘花粉的能力,与“锥栗”杂交结实率达到44%,远高于“怀黄”;杂交后代中,各组合间变异稳定,坚果平均单粒重8.50~9.50 g,且坚果高度、宽度、厚度以及单粒重等性状在各杂交组合间的变异系数均在5%以下;各组合内部,坚果单粒重变异较大,变异系数为8.64%~16.10%,坚果厚度变异次之,坚果高度和宽度变异较小,最为稳定。

关键词:板栗;杂交;雄性不育种质;结实;坚果性状

中图分类号:S 664.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)01-0004-04

板栗(*Castanea mollissima* Blume)是栗属中食用价值最高的一种,果实香甜可口、营养丰富、风味独特。中国是板栗原产国,板栗种质资源丰富,栽培类型多样,形成了六大品种群350多个品种^[1],栽培面积居世界之首。目前,中国板栗种植面积已超过133万hm²,年产量160万t以上,但是板栗生产中仍存在低产问题,严重影响了中国板栗的单产水平。究其原因,除了管理水平外,雄花分化时间早,雄花量大的生物学特性也是造成低产的主要原因之一。封志强等^[3]研究发现,1个幼雄花序(3~5 cm)长至成熟雄花序的过程中,消耗干物质0.23 g,消耗水分0.7 g,人工疏雄,可增产47%左右。因此,挖掘雄花败育的珍稀资源,培育多雌花少雄花的丰产品种,显得尤为重要。

板栗雄性不育种质的发现及其研究,在栗属植物中已有报道。国内主要集中于对其分子机理的研究^[4-5],中国板栗中也发现了一些雄性不育种质^[6-8],相关研究

也取得了一定成果,但都局限于生理学^[9]、分子遗传学领域^[10],而对雄性不育种质生产性能,育种价值方面研究欠缺。因此,在长期的育种工作中,课题组从北京山区栗园中搜集到数种雄花早期败育而雌花具有较强的授粉结实能力的新资源,以其为母本,通过自然授粉和人工授粉,结合远缘杂交,对其授粉结实特性进行研究,揭示其生产和育种价值,以期为进一步开展雄性不育种和雄性不育理论研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为实生变异雄性不育种质(MS),具有雄花自然败育特征,选择无生理病害、正常结实的板栗授粉母树5株,均为8a生无性系一代,株行距3 m×3 m,常规化栽培;周围人工栽培的品种除“燕红”、“燕昌”、“怀九”、“怀黄”4个品种外,无其它品种。授粉方式分为自然授粉/人工授粉,杂交分为种内杂交/远缘杂交;父本分别来自“河北短丰”、“垂栗”、“燕平”、“怀黄”、“锥栗”;远缘杂交对照为“怀黄”。种内杂交组合为雄性不育种质×“河北短丰”、雄性不育种质×“垂栗”、雄性不育种质×“怀黄”、雄性不育种质×“燕平”,远缘杂交组合为雄性不育种质×“锥栗”、“怀黄×锥栗”;自然授粉以周围分布品种“燕红”、“燕昌”、“怀九”、“怀黄”为父本,开放授粉。

1.2 试验方法

田间试验于2010年、2011年的6~7月在北京市农

第一作者简介:刘国彬(1984-),男,硕士,助理研究员,现主要从事果树种质资源和遗传育种研究工作。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);北京市农林科学院农业综合发展研究所青年基金资助项目(2012);北京市农林科学院科技创新能力建设项目(201101011)。

收稿日期:2012-08-20

林科学院种质创新基地进行,室内试验于2010年、2011年的9~10月在北京市农林科学院综合所实验室进行。

1.2.1 花粉采集与贮藏 于开花盛期,采集成熟的板栗雄花序,带回室内,在阴凉地方摊在干净纸上晾干后,用花粉筛筛去花瓣和花丝,收集花粉和花药于棕色瓶中置于0~4℃冰箱备用,或存放于离心管或纸袋内,贮藏于盛有无水硅胶的容器内,-20℃保存。

1.2.2 人工授粉 先将雌花在开放之前套袋,避免外源花粉进入;待板栗雌花盛开期,选择晴朗天气进行授粉,授粉时用粘有父本花粉的毛笔轻轻涂于板栗柱头上,授粉完毕后即刻套袋;授粉15 d后,柱头变黄枯萎时,及时除去纸袋,利于子房发育。

1.2.3 自然授粉 在相同授粉树上,选择树冠外围发育正常的混合花枝,标记雌花位置,无去雄、无套袋的,以栗园内“燕红”、“燕昌”、“怀九”、“怀黄”4个品种为父本,风媒传粉;待末花期,再次标记自然授粉雌花位置,以便采收。

1.3 数据分析

授粉至采收后,统计授粉雌花数、坐苞数、结实苞数、空苞数;坚果形态测量方法参考《中国果树志·板栗·榛子卷》。所得数据利用DPS 8.01软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 雄性不育种质杂交结实特性

由表1可知,以雄性不育种质为母本进行杂交(包

表1 雄性不育种质种内杂交组合结实特性

Table 1 Fruiting characteristics of male sterility germplasm in intraspecific hybridization

杂交组合 Cross combination	授粉花数 Number of pollination	坐苞数 Number of fruitlet	结实苞数 Number of seed setting	空苞数 Number of empty bur	坐苞率 Fruitage rate/%	结实率 Seed setting rate/%	空苞率 Empty bur rate/%	粒/苞 Nuts per bur
雄性不育种质×“河北短丰”MS×“Hebeiduanfeng”	115	89	86	3	77.39	74.78	2.61	2.8
雄性不育种质×“垂栗”MS×“Chuilu”	135	75	69	6	55.46	51.11	4.44	2.6
雄性不育种质×“怀黄”MS×“Huaihuang”	158	152	123	29	96.20	77.85	18.35	1.9
雄性不育种质×“燕平”MS×“Yanping”	129	129	123	6	100.00	95.35	4.65	2.3
自然授粉 Natural pollination	150	144	138	6	96.00	92.00	4.00	2.6
变异系数 CV/%	—	—	—	—	21.97	22.42	95.45	14.37

2.2 雄性不育种质远缘杂交结实特性

以远缘种“锥栗”为父本,相比品种“怀黄”,雄性不育种质在远缘杂交中具有较强的异种花粉接收能力。相同的授粉雌花数,雄性不育种质与“怀黄”坐苞率差别不大,但结实率、空苞率差异显著。由表2可知,雄性不

表2 远缘杂交结实特性

Table 2 Fruiting characteristics of male sterility germplasm in distant hybridization

杂交组合 Cross combination	授粉花数 Number of pollination	坐苞数 Number of fruitlet	结实苞数 Number of seed setting	空苞数 Number of empty bur	坐苞率 Fruitage rate/%	结实率 Seed setting rate/%	空苞率 Empty bur rate/%	粒/苞 Nuts per bur
雄性不育种质×“锥栗”MS×“Castanea henryi”	250	220	110	110	88	44.0	44.0	1.4
“怀黄”×“锥栗”“Huaihuang”×“Castanea henryi”	248	186	33	153	75	13.3	61.7	1.6

括自然授粉),其坐苞率、结实率、空苞率平均值分别为87.01%、78.22%、6.81%;3项指标在各杂交组合间存在较大变异,变异系数均在20%以上,尤其空苞率变异程度最大,达95.45%,每苞含坚果数变异系数最低,只有14.37%。

包括自然授粉,5个杂交组合平均落苞率为14.97%,各组合间落苞率存在差异,雄性不育种质×“燕平”落苞率最低(0),坐苞率最高(100%),雄性不育种质×“垂栗”落苞率最高(44.54%),坐苞率最低(55.46%),自然授粉也存在4%的落苞率。板栗总苞的发育与授粉受精无关^[1]。因而,造成板栗落苞的因素,除母本自身生理落苞外,推测环境因素、授粉套袋引起的内部小气候也是造成板栗落苞的原因之一。

父本不同,雄性不育种质结实率与空苞率以及每结实苞坚果含数存在明显差异。由表1可知,雄性不育种质×“燕平”结实率最高(95.35%),自然授粉次之(92.00%),雄性不育种质×“垂栗”最低(51.11%),相差44.24个百分点;以雄性不育种质×“怀黄”的空苞率最高(18.35%),雄性不育种质×“河北短丰”的空苞率最低(2.61%);各组合间每结实苞坚果数变异较稳定,变异幅度在1.9~2.8粒之间,平均2.5粒,变异系数为14.37%,雄性不育种质×“河北短丰”每苞含坚果最多,雄性不育种质×“怀黄”最低。由此可知,“燕平”、“河北短丰”与雄性不育种质间亲和力较强,“怀黄”中等,“垂栗”最弱,自然授粉综合性状表现优良。

育种质×“锥栗”结实率高于“怀黄”×“锥栗”30.7个百分点,空苞率低于17.7个百分点。二者在远缘杂交过程中存在不同程度的不亲和性,相比“怀黄”,雄性不育种质与“锥栗”具有较强的亲和力。

2.3 雄性不育种质杂交坚果表型变异

对雄性不育种质×“河北短丰”、雄性不育种质×“垂栗”、雄性不育种质×“怀黄”、雄性不育种质×“燕平”以及自然授粉获得的杂交坚果形态性状进行测定。由表3结果可知,自然授粉和人工杂交授粉组合间坚果高度、宽度、厚度以及单粒重变异幅度小,分别为24.74~26.03 mm、28.63~30.33 mm、18.98~20.37 mm、8.50~9.50 g,总变异系数均在5%以下,表现出较大的稳定性。

表3 杂交后代坚果表型性状变异

Table 3 Variations in nut traits in hybrids of *Castanea mollissima*

杂交组合	性状	平均值	变异幅度	变异系数
Cross combination	Traits	Average	Variance range	CV/%
雄性不育种质 ×“河北短丰” MS×‘Hebeiduanfeng’	高 Height/mm	24.74±1.00	21.84~26.69	4.94
	宽 Width/mm	29.15±1.67	24.98~32.93	6.92
	厚 Thickness/mm	19.74±0.93	17.51~22.89	6.18
	单粒重 Nut weight/g	8.90±1.20	6.50~11.00	15.38
雄性不育种质×“垂栗” MS×‘Chuli’	高 Height/mm	26.03±0.71	24.71~27.69	3.20
	宽 Width/mm	29.30±1.10	26.65~31.92	4.63
	厚 Thickness/mm	20.37±1.04	17.90~25.44	7.09
	单粒重 Nut weight/g	9.10±1.00	6.80~11.60	13.98
雄性不育种质×“怀黄” MS×‘Huaihuang’	高 Height/mm	25.21±0.82	23.44~27.21	3.86
	宽 Width/mm	28.63±1.34	25.83~32.75	5.88
	厚 Thickness/mm	19.15±1.09	17.04~23.23	7.32
	单粒重 Nut weight/g	9.30±1.10	7.10~12.40	14.30
雄性不育种质×“燕平” MS×‘Yanping’	高 Height/mm	25.57±0.69	24.23~27.25	3.22
	宽 Width/mm	29.03±0.68	27.27~30.77	2.88
	厚 Thickness/mm	18.98±0.76	17.14~21.39	5.07
	单粒重 Nut weight/g	8.52±0.61	7.20~10.00	8.64
自然授粉 Natural pollination	高 Height/mm	24.88±0.89	22.35~27.89	4.67
	宽 Width/mm	30.33±1.37	27.36~33.76	5.51
	厚 Thickness/mm	20.05±1.45	17.30~23.66	8.58
	单粒重 Nut weight/g	9.40±1.20	6.76~12.98	16.10
总体 Overall level	高 Height/mm	25.29±0.41	24.74~26.03	2.08
	宽 Width/mm	29.29±0.42	28.63~30.33	2.16
	厚 Thickness/mm	19.66±0.47	18.98~20.37	2.99
	单粒重 Nut weight/g	9.10±0.30	8.50~9.50	4.04

雄性不育种质具有较强的授粉结实能力,自然授粉坐苞率和结实率均在90%以上(表1)。对自然授粉结实坚果表型性状进行变异分析,发现所获杂交果在坚果高、宽、厚度以及单粒重方面存在不同程度的遗传变异,坚果高、宽、厚度3个指标变异幅度较小,分别为22.35~27.89 mm、27.36~33.76 mm、17.30~23.66 mm,变异系数均在10%以下,性状稳定;坚果单粒重变异幅度较大,在6.76~12.98 g,相差6.22 g,变异系数16.10%,也较为稳定。

杂交授粉中,同自然授粉变异趋势类似,坚果表型性状在各组合内存在不同程度的差异。其中,坚果高度、宽度、厚度3个指标变异幅度小,变异系数均在10%以下,较为稳定,以坚果单粒重变异幅度和变异系数稍大。例如,雄性不育种质×“河北短丰”与雄性不育种质×“怀黄”,坚果单粒重变异范围分别为6.50~11.00 g和7.10~12.40 g,最高值与最低值相差4.50和5.30 g,

变异系数分别为15.38%、14.30%;4个杂交组合中,杂交组合雄性不育种质×“燕平”坚果表型性状表型最为稳定,坚果高、宽、厚3个指标变异幅度和变异系数最小,单粒重变异幅度在7.20~10.00 g,变异系数仅8.64%。与自然授粉相比,杂交授粉在坚果厚度与单粒重方面稳定性较好,反映出混合花粉与单一花粉在坚果表型性状上直感效应的差异。

3 结论与讨论

3.1 结论

雄性不育种质具有较强的自然授粉结实能力,因其花粉来源多样,受不同父本效应影响,导致坚果个体间差异较大;在定向杂交中,父本不同,各组合间结实率、空苞率、坐苞率等指标存在较大差异,“燕平”、“河北短丰”与雄性不育种质结实率和空苞率最高,反映彼此间具有较强的受精结实能力;板栗杂交坚果高度、宽度、厚度3项指标最为稳定,单水平坚果单粒重变异程度较大,但各组合间平均单粒重变异程度极低;“燕平”×雄性不育种质后代坚果变异程度较小,整齐度高,在生产中可作最佳授粉树;雄性不育种质具有雄花败育、雌花授粉受精正常的特点,是杂交育种的优良资源;雄性不育种质具有较强的接收远缘花粉能力,可能与其雄花败育的特殊变异有关,也是板栗远缘杂交育种最理想的材料。

3.2 讨论

3.2.1 雄性不育种质的结实特性 板栗具有异花授粉结实的生物学特性,雌花柱头对花粉具有选择性,不同父母本间亲和力存在差异,导致不同的杂交结果。刘庆香等^[12]通过对主栽板栗品种授粉结实特性进行研究,发现母本相同父本不同,或父本相同母本不同,亲和性强弱差异显著,导致结实率、空苞率、坚果数/结实苞等变化较大。该研究中,雄性不育种质在自然授粉与人工授粉、种内杂交与远缘杂交不同授粉方式中,其结实特性存在不同程度的变异。自然授粉由于母本对父本具有广泛的可选择性,杂交后代表现出高坐苞率、高结实率、低空苞率,坚果单粒重丰富的变异;种内杂交,不同父本与雄性不育种质在亲和性方面存在显著差异,“燕平”、“河北短丰”与雄性不育种质间亲和力最强。在远缘杂交中,雄性不育种质表现出优良的授粉结实特性,结实率达到了44%,显著高于“怀黄”。江苏植物研究所曾以板栗为母本,以“锥栗”为父本进行杂交,结实率为9.6%,相比前人结果,该研究远缘杂交结实率较高,分析其原因,可能与雄性不育种质的花器官变异有关,推测雄性不育种质因其花发育基因变异,有可能在一定程度上改变了其雌花对远缘花粉的接收能力,从而使该雄性不育种质更易于接收“锥栗”花粉,进而产生较高的结实率。

3.2.2 杂交后代表型性状变异 一般研究认为果实纵径、横径等形态性状的变异系数小于 15%，是相对稳定的植物学性状，并将此作为果实表型性状变异程度的界限^[13-15]。该研究中同样得出相似结论，无论自然授粉还是人工杂交，所有后代中，坚果高、宽、厚 3 项指标变异幅度较小，变异系数均低于 10%，植物学性状稳定；坚果单粒重变异系数较大，略低于或大于 15%。相比野生板栗与实生板栗，杂交后代坚果性状表现不尽相同^[16-17]，马玉敏等^[16]曾对野板栗表型变异进行分析，发现野板栗坚果果形指数的变异系数低于 6%，而平均单粒重的变异系数在 15%以上，与该研究结果基本一致。雄性不育种质具有稳定的遗传特性，母本生物学性状在一定程度上影响后代表型。

雄性不育种质因其雄花败育、雌花发育正常而一直是育种学上珍贵的种质资源，在生产、育种、理论研究上具有重要价值。该研究中发现雄性不育种质，具有遗传性状稳定、授粉结实能力强，杂交结实后代坚果表型性状稳定，尤其在远缘杂交中表现出较高的结实率（一般而言，栗属植物间远缘杂交结实率仅 10%左右），在板栗育种及板栗雄性不育基础理论研究中具有重要意义。该研究揭示了雄性不育种质的授粉结实特性，为板栗雄性不育育种的开展奠定了基础，将有利于板栗育种新途径、新方法的开展与创新。

参考文献

- [1] 张宇和,柳奎,梁维坚.中国果树志·板栗·榛子卷[M].北京:中国林业出版社,2005:62-68.
- [2] 蔡荣,魏佳花,祁春节.板栗产业发展现状、存在问题与对策分析[J].

中国果树,2007(1):52-53.

- [3] 封志强,焦志耕,张东升.板栗疏雄增产原因的研究[J].中国果树,1995(1):14-15,23.
- [4] Bolvansky M,Mendel L. Inheritance of some fruit and flower characteristics in full sib progenies of chestnut[J]. Acta Hort,1999,494:339-344.
- [5] Soylu A. Heredity of male sterility in some chestnut cultivars (*Castanea sativa* Mill.)[J]. Acta Hort,1992,317:181-185.
- [6] 王云尊,马元考,陈维峰.珍惜板栗新品种浮来无花的性状及栽培技术[J].林业科技开发,2001,15(5):31-32.
- [7] 冯永庆,秦岭,杨东升,等.板栗短雄花序芽变的主要特征特性研究[J].北京农学院学报,2005,20(3):1-5.
- [8] 于丽霞,齐永顺,马宏峰,等.雄花败育板栗形态特征调查与分析[J].北方园艺,2010(16):12-14.
- [9] 于丽霞,齐永顺,张京政,等.板栗雄花败育部分生理生化特性[J].中国农学通报,2010,26(12):178-181.
- [10] 徐月,曹庆芹,冯永庆,等.短雄花序板栗芽变的 AFLP 分析[J].园艺学报,2006,33(6):1321-1324.
- [11] 夏仁学,马梦亭.板栗空苞形成因子的研究[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.
- [12] 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.
- [13] 冯涛,张红,陈学森,等.新疆野苹果果实形态与矿质元素含量多样性以及特性状单株[J].植物遗传资源学报,2006,7(3):270-276.
- [14] 张艳敏,王琦,苑兆和,等.矮生樱桃组 3 个野生种果实性状的变异[J].果树学报,2007,24(3):369-382.
- [15] 张小燕,陈学森,彭勇,等.新疆野苹果矿质元素与糖酸组分的遗传多样性[J].园艺学报,2008(2):35.
- [16] 马玉敏,陈学森,何天明,等.中国板栗 3 个野生居群部分表型性状的异常多样性[J].园艺学报,2008,35(12):1717-1726.
- [17] 刘国彬,兰彦平,姚砚武,等.板栗杂交后代坚果表型性状的遗传变异[J].华北农学报,2011,26(5):59-63.

Study on Pollinated Fruit-setting Characteristics of Male Sterility Germplasm in Chestnut

LIU Guo-bin, CAO Jun, ZHOU Lian-di, LAN Yan-ping, LAN Wei-zong

(Institute of Agricultural Integrated Development, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097)

Abstract: The pollination and fruiting characteristics of male sterility germplasm in *Castanea mollissima* were studied in this paper. Effects of male parent on the setting and variation of nut characteristic in hybrids were analyzed, in order to reveal the breeding values of male sterility in chestnut and establish the biological basis for breeding and theoretical research. The results showed that the pollination ability in male sterility germplasm was strong, fruitage rate and seed setting rate were over 90%, empty-bur rate was 4% and the nuts in the bur was 2.6; characters of height, width and thicken were stable, average nut weight had variation in some extent, the variation coefficient (CV) was 16.10%; Different male parent had different fruiting characteristics, compatibility between 'Yanping', 'Hebeiduanfeng' and male sterility germplasm were stronger, the seed setting rate and empty-bur rate were 95.35%, 74.78% and 4.65%, 2.61%, respectively; compared with 'Huaihuang', male sterility germplasm had stronger compatibility to accept distant pollen, the seed setting rate in distant crossing was 44%; characters between 5 crossings were relatively stable, average nut weight varied from 8.5 to 9.5 g, and CV of 4 characters were below 5%; but in every crossing, variation range among average nut weight was bigger, the CV was 8.64%~16.10%; other characters were stable.

Key words: chestnut; crossing; male sterility germplasm; fruiting; nut characteristic