

DOI:CNKI:61-1390/S.20110810.1102.027

网络出版时间:2011-08-10 11:02:00

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20110810.1102.027.html>

红富士苹果异花授粉花柱的荧光显微观察 与亲和性分析

薛志霞,赵政阳,党志国,刘振中,景淑娟

(西北农林科技大学 园艺学院,陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】分析渭北黄土高原主栽苹果品种与“富士”的亲和性,为提高“富士”苹果品质,特别是改善其果形偏斜提供科学依据。【方法】以“红富士”苹果为试材,选择“秦冠”、“粉红女士”、“嘎拉”、“新红星”的花粉进行人工授粉,调查坐果率、果实种子数及有种子的心室数,并进行荧光显微压片,观察花粉萌发及生长动态。【结果】不同授粉品种对“红富士”苹果坐果率、果实平均种子数、有种子的心室数均有不同影响。其中“秦冠”、“嘎拉”授粉后坐果率较高,“粉红女士”授粉后坐果率最低;“秦冠”、“嘎拉”、“新红星”授粉的果实平均种子数和有种子的心室数均较高,分别为 8.23,8.49,8.18 个和 4.84,4.77,4.72 个,但彼此间差异不显著,“粉红女士”授粉平均种子数和有种子的心室数最少。荧光显微观察发现,4 个品种的花粉均在授粉 8 h 开始萌发,24 h 萌发量达到最大,48 h 花粉管伸入花柱 1/2 处,72 h 到达 3/4 处,但花粉管数量存在显著差异。授粉 96 h 时,“秦冠”、“新红星”花粉管穿过花柱的基部进入子房室,而“粉红女士”、“嘎拉”在授粉 120 h 时仅有极少数花粉管进入子房室。【结论】“秦冠”与“富士”的亲和性较强,“粉红女士”与“富士”的亲和性较弱。

【关键词】 红富士;授粉品种;荧光显微观察;亲和性

【中图分类号】 S661.101

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2011)09-0118-05

Observation on the cross pollinated styles of Red Fuji apple by fluorescence microscopy and the compatibility analysis

XUE Zhi-xia,ZHAO Zheng-yang,DANG Zhi-guo,

LIU Zhen-zhong,JING Shu-juan

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This study was to find the compatibility between the Fuji and the main cultivars in the Loess Plateau in order to provide a scientific basis to improve the quality of Fuji apples. 【Method】 The cross pollinated styles of Red Fuji apple cultivar were used as materials to observe the fruit setting rate, the mean seed numbers and the seed distribution in fruits; the pollen germination and pollen tube growth under fluorescence microscopy observation were also studied. 【Result】 The results showed that the differences in the fruit setting rate, the mean seed numbers and distribution of four pollination varieties by the artificial pollination, such as the fruit setting of Qinguan and Gala pollination were higher, the Pink Lady was the lowest among four varieties; the mean seed numbers and ventricular numbers of Qinguan, Gala and Starkrimson pollination were higher, which were 8.23, 8.49, 8.18 and 4.84, 4.77, 4.72, but there were

* [收稿日期] 2011-02-28

[基金项目] 国家现代农业技术体系项目(nycytx-08-01-03);陕西省科技攻关项目(2010K01-04-1)

[作者简介] 薛志霞(1983—),女,内蒙古集宁县人,在读硕士,主要从事果树生理与品质改良研究。E-mail: xzx_xia@163.com

[通信作者] 赵政阳(1964—),男,陕西富平人,教授,博士生导师,主要从事常规育种、分子生物学育种、果树生理与品质改良、无公害果品生产等研究。E-mail: zhaozy@nwsuaf.edu.cn

no obvious differences. Pink Lady pollination was also the least among all. By fluorescence microscopy, the pollen began to germinate 8 h after pollination, the pollen germination reached the maximum at 24 h; the pollen tube extended into 1/2 of style at 48 h, and reached the 3/4 style at 72 h, but obvious difference existed in the number of pollen tubes of four pollination varieties. The pollen tube of Qinguan and Starkrimson passed through to the base of style at 96 h and entered the ovary; but Pink Lady and Gala only had a few pollen tubes which could enter the ovary at 120 h. 【Conclusion】 This study proved that better compatibility between Qinguan and Fuji, but weaker compatibility between Pink Lady and Fuji.

Key words: Red Fuji Apple; pollination variety; fluorescence microscopy; compatibility

我国是世界上最大的“红富士”苹果生产国。根据 FAO 统计,2008 年中国苹果栽培面积达 200.05 万 hm^2 , 其中“富士”系占 65% 以上^[1]。高桩端正是高档“红富士”苹果的重要品质指标,但果农(尤其在渭北黄土高原地区)生产的“富士”苹果偏斜度非常大,果形不正使其逐渐丧失了在国际市场上的竞争力,严重制约了我国苹果的出口。关于“富士”苹果的品质,国内外已作了大量研究,其中果形不正问题也早有报道。Luckwill^[2] 研究指出,苹果果实发育的不对称,主要是由于果实 5 个心皮中 1 个或几个种子发育不良所致;张宗坤^[3] 研究认为,导致“红富士”苹果果形偏斜的主要原因是种子的不对称发育;孙建设等^[4] 研究指出,“红富士”苹果果形偏斜的主要原因并非因种子发育不良所致,而是受控于果实内源激素的分布。关于“富士”果形不正的问题,以上研究虽未达成共识,但从中可以得出,“富士”果形与授粉受精密切相关,授粉品种可能对“富士”苹果的果实发育产生重要影响,明确授粉品种与“富士”的亲合性,对优质“富士”苹果的生产具有一定的指导意义。为此,本试验以“红富士”苹果为试材,选择渭北黄土高原主栽苹果品种“秦冠”、“嘎拉”、“粉红女士”和“新红星”为授粉品种,利用异花授粉后的花柱进行压片,观察花粉萌发和花粉管的生长状况,并结合授粉后的坐果率、果实种子数、有种子心室数的调查结果,研究目前渭北黄土高原主栽苹果品种与“富士”的亲合性,以期为提高“富士”苹果的品质提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

试验于 2010-04 在西北农林科技大学白水苹果试验站进行,“红富士”苹果(长富-2)乔砧栽培,砧木为新疆野苹果,树龄 17 年,常规生产管理。04-15 在白水县城西固镇采集“秦冠”、“粉红女士”、“嘎拉”、“新红星”的大蕾花,室内自然阴干散粉后,收集于玻璃

小瓶,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

1.2 授粉处理及坐果率、种子数、种子的心室分布调查

选择树势、枝量、花芽量基本一致的标准样树,对大小相近的花序挂牌标记,单株处理,每株分 4 部分,每部分选择 1 个品种进行授粉,重复 5 次。大蕾期时(04-18),每个花序仅选留中心花,边花摘除,中心花去雄,然后套袋;次日,进行人工授粉,再套袋(试验期间平均气温 $9.1\sim 24.2\text{ }^{\circ}\text{C}$)。授粉 15 d 后,调查各处理果实坐果率;果实成熟后,每个重复随机选取 15 个果实,解剖调查种子数,观察记录有种子的心室数。

1.3 荧光显微观察

参照 Hiratsuka 等^[5] 的方法并作了部分修改。授粉后 2,4,8,12,24,48,72,96,120,144 h,分别采集 4 个授粉组合各 15 朵花,用 FAA(5 mL 福尔马林、5 mL 冰醋酸、90 mL 体积分数 70% 乙醇)固定。待样品全部取完后,将固定的花柱从基部切下复水,然后将花柱置于 2 mol/L NaOH 溶液中, $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 2 h,蒸馏水冲洗 3 次(约 2 h),放入预先配制好的水溶性苯胺蓝溶液(1 g/L 苯胺蓝 + 0.1 mol/L 磷酸钾)中染色约 12 h。花柱压片参照 Knox^[6] 的方法,在载玻片上滴一滴甘油,花柱整体压片,在 Olympus BHF 荧光显微镜下观察花粉萌发及花粉管在花柱内的生长情况并照相(放大倍数为 $400\times$)。

1.4 数据的统计分析

使用 Microsoft Office Excel 2003 和 SAS 统计软件对试验数据进行多重比较与分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种授粉对“红富士”苹果坐果率和果实种子数的影响

4 个品种授粉对“红富士”苹果坐果和果实种子发育情况的影响见表 1。由表 1 可知,各品种间花朵坐果率存在差异,“秦冠”、“嘎拉”授粉后“红富士”坐

果率较高,分别为 82.67%和 83.00%，“粉红女士”授粉后坐果率较低,仅为 57.33%。对果实种子数的调查发现,不同品种授粉后,“红富士”果实的种子数为 2~11 个,不同品种授粉后果实种子数存在一定差异,“秦冠”、“嘎拉”、“新红星”授粉的果实平均种子数较接近,分别为 8.23,8.49 和 8.18 个,而“粉红女士”授

粉的果实平均种子数较低,仅为 5.58 个。从对有种子的心室数的调查结果来看,也以“粉红女士”较低,仅为 3.73 个,而其他 3 个品种均较高,且差异不明显,基本上每个心室都有种子分布。总体来看,“粉红女士”授粉后的“红富士”苹果坐果率、果实种子数均较低,种子在心室的分布也不均匀。

表 1 不同品种授粉对“红富士”苹果坐果率和果实种子数的影响

Table 1 Fruit setting rate and seed numbers of different pollinated-varieties in Red Fuji

授粉品种 Pollinated variety	坐果率/% Fruit setting	平均种子数 Mean seed number	平均心室数 Mean ventricular number
秦冠 Qinguan	82.67±5.60 A	8.23±0.31 A	4.84±0.12 A
粉红女士 Pink Lady	57.33±7.23 C	5.58±1.08 B	3.73±0.70 B
嘎拉 Gala	83.00±6.17 A	8.49±0.92 A	4.77±0.18 A
新红星 Starkrimson	73.33±3.59 B	8.18±0.91 A	4.72±0.21 A

注:邓肯氏多重比较测验,同列数据后标不同大写字母表示差异达显著水平($P<0.05$)。
Note: P value of significance was estimated by Duncan's. The different capital letters express significant difference at ($P<0.05$).

2.2 柱头上花粉萌发的荧光显微观察

取授粉后不同时间段的花柱压片,荧光显微观察发现,授粉 2~4 h,花粉在柱头上未萌发(图 1-A-B),8 h 开始萌发(图 1-C-F),24 h 萌发量达到

最大(图 1-G-J)。不同品种花粉在授粉后相同时间花粉萌发存在差异,授粉 8 和 24 h 时,“新红星”的花粉萌发量均最大(图 1-F,J),“粉红女士”的最小(图 1-D,H)。

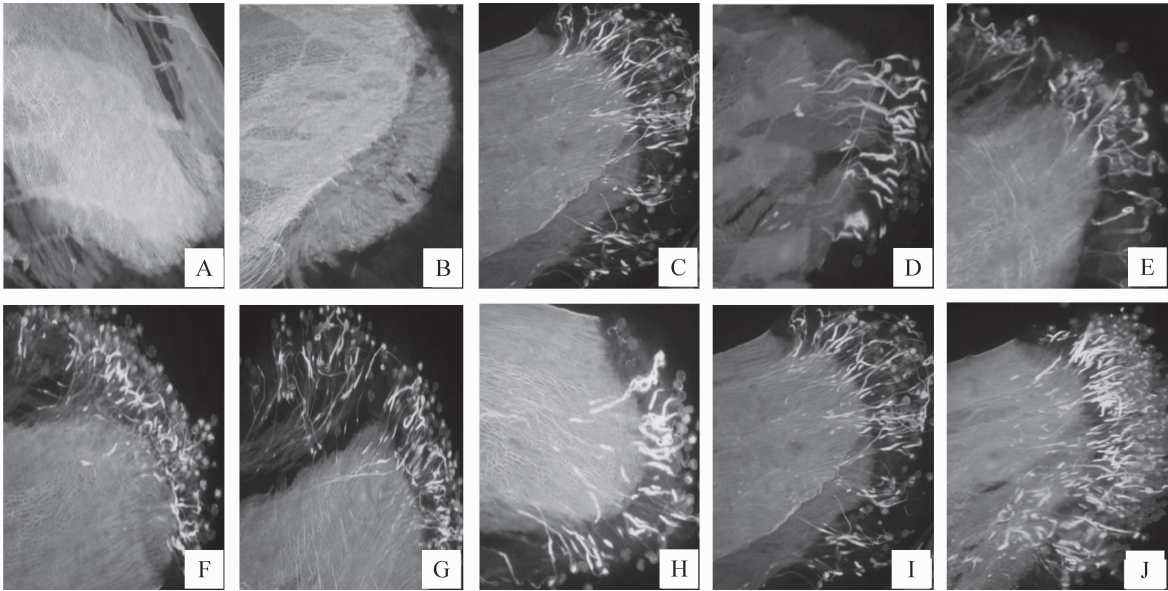


图 1 “红富士”苹果异花授粉后花柱上花粉萌发的荧光显微观察
A. “新红星”授粉后 2 h;B. “新红星”授粉后 4 h;C. “秦冠”授粉后 8 h;D. “粉红女士”授粉后 8 h;E. “嘎拉”授粉后 8 h;F. “新红星”授粉后 8 h;
G. “秦冠”授粉后 24 h;H. “粉红女士”授粉后 24 h;I. “嘎拉”授粉后 24 h;J. “新红星”授粉后 24 h

Fig. 1 Observation of pollen germination on the cross pollinated styles of Red Fuji apple by fluorescence microscopy
A. 2 h after Starkrimson pollination;B. 4 h after Starkrimson pollination;C. 8 h after Qinguan pollination;
D. 8 h after Pink Lady pollination;E. 8 h after Gala pollination;F. 8 h after Starkrimson pollination;G. 24 h after Qinguan pollination;
H. 24 h after Pink Lady pollination;I. 24 h after Gala pollination;J. 24 h after Starkrimson pollination

2.3 花柱内花粉管生长动态的荧光显微观察

荧光显微观察发现,花粉管穿过柱头延伸到子房室一般需要 96~120 h(4~5 d),但不同品种花粉管的生长动态存在差异。4 个品种的花粉管在授粉 48 h 后,均伸入花柱的 1/2 处(图 2-A-D),花粉管

数量差异不明显,但“粉红女士”(图 2-B)、“嘎拉”(图 2-C)花粉管中存在间断出现的胼胝质。72 h 后,花粉管均伸入花柱的 3/4 处(图 2-E-H),但花粉管数量较 48 h 时明显减少,且不同品种授粉时差异显著,其中“粉红女士”授粉时的花粉管数量最少,

此时 4 个品种的花粉管中均存在大量间断出现的胼胝质。96 h 后,“秦冠”(图 2-I)、“新红星”(图 2-M)花粉管穿过花柱的基部并进入子房室,“新红星”的

花粉管数量明显多于“秦冠”。“粉红女士”(图 2-J)、“嘎拉”(图 2-L)在授粉 120 h 后,才有极少数花粉管进入子房室。

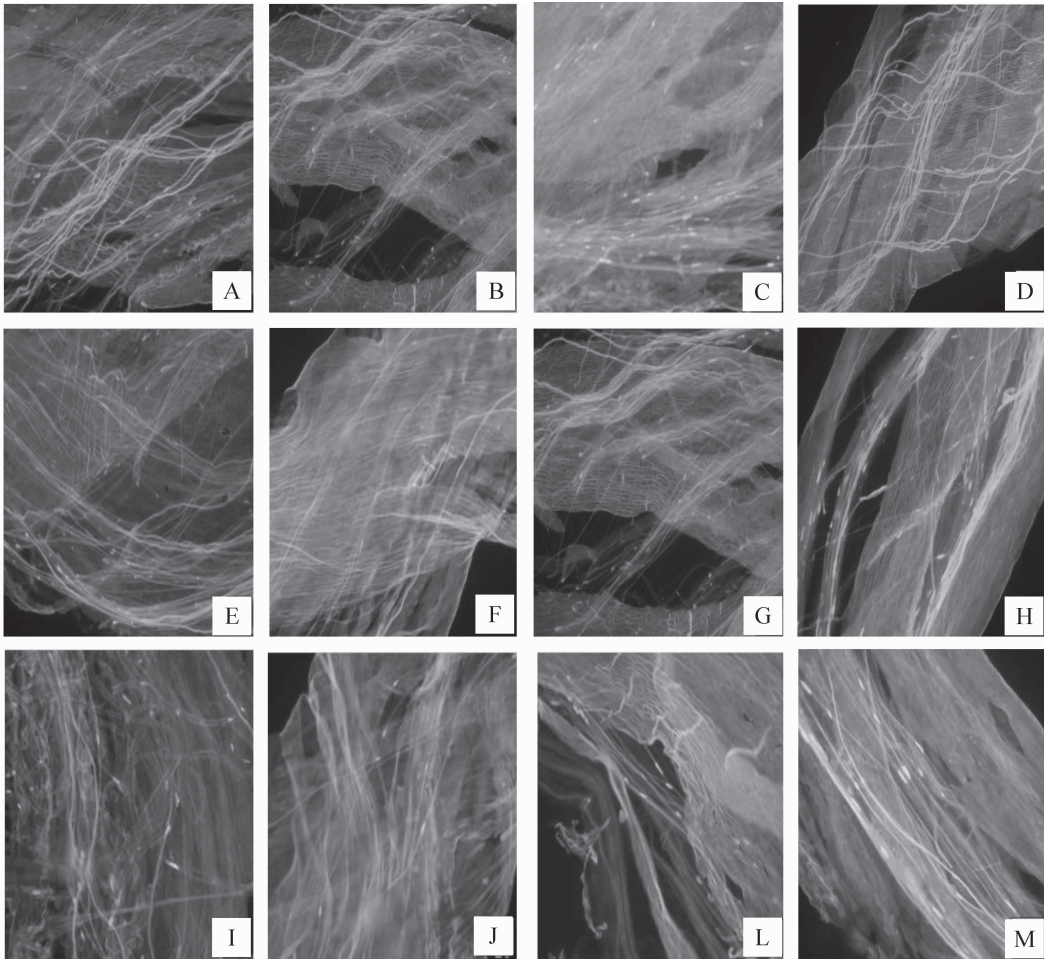


图 2 “红富士”苹果异花授粉花柱内花粉管生长的荧光显微观察

A. “秦冠”授粉后 48 h(1/2 处);B. “粉红女士”授粉后 48 h(1/2 处);C. “嘎拉”授粉后 48 h(1/2 处);D. “新红星”授粉后 48 h(1/2 处);
E. “秦冠”授粉后 72 h(3/4 处);F. “粉红女士”授粉后 72 h(3/4 处);G. “嘎拉”授粉后 72 h(3/4 处);H. “新红星”授粉后 72 h(3/4 处);
I. “秦冠”授粉后 96 h(基部);J. “粉红女士”授粉后 120 h(基部);L. “嘎拉”授粉后 120 h(基部);M. “新红星”授粉后 96 h(基部)

Fig. 2 Observation of pollen tube growth in the cross pollinated styles of Red Fuji apple by fluorescence microscopy
A. 48 h after Qinguan pollination (1/2 style);B. 48 h after Pink Lady pollination (1/2 style);C. 48 h after Gala pollination (1/2 style);
D. 48 h after Starkrimson pollination (1/2 style);E. 72 h after Qinguan pollination (3/4 style);F. 72 h after Pink Lady pollination (3/4 style);
G. 72 h after Gala pollination (3/4 style);H. 72 h after Starkrimson pollination (3/4 style);I. 96 h after Qinguan pollination (base style);
J. 120 h after Pink Lady pollination (base style);L. 120 h after Gala pollination (base style);M. 96 h after Starkrimson pollination (base style)

3 讨 论

“富士”苹果自花授粉结实率低,生产上必须配置适宜的授粉树。不同品种花粉与柱头的亲和性强弱,反映了完成受精、种子发育及果实品质形成的情况^[7]。从本试验可以看出,4 个授粉品种对“红富士”苹果花粉萌发、花粉管延伸及坐果率、种子数和有种子心室数的影响存在一定差异,反映出其与“富士”亲和性的不同。因此,深入研究授粉品种与“富

士”的亲和性,有助于了解“富士”苹果果实品质形成的影响因素,从而防止“富士”偏斜果的发生。

花粉落到柱头后,需经历萌发、花粉管在花柱内的生长及穿过珠孔等过程,才能实现受精^[8-10]。苹果常温下完成授粉受精作用需 1~2 d^[11],而本试验 4 个品种花粉在授粉 120 h 花粉管才穿过花柱基部进入子房室,这可能与渭北黄土高原特殊的气候条件有关。有关花粉与柱头的相互作用,Knox^[6]在杨属(*Populus*)种间杂交的研究中指出,柱头识别出不

亲和的花粉壁蛋白后,在乳突细胞内迅速产生胼胝质,以阻止花粉管的继续侵入。本试验通过荧光显微镜观察不同品种与“红富士”的亲性和,发现 4 个品种的花粉管中均存在间断出现的胼胝质,但“秦冠”、“新红星”出现时间较晚,数量也较少。

授粉后花粉萌发量、花粉管数量及其生长速度因授粉时间、授粉品种的不同而异。陈迪新^[12]对梨花粉萌发的观察表明,活体柱头上的花粉萌发率随授粉时间的延长而增加,通常在授粉后 48~72 h 达到最大值。而本试验 4 个品种花粉在授粉 24 h 时萌发量达到最大。张雪梅等^[13]研究指出,大部分苹果花粉粒在授粉 2 h 后萌发,“金冠”×“富士”授粉 12~48 h 后花粉管穿过花柱 1/2 继续向下生长,授粉 48~72 h 时花粉管继续生长并穿过花柱基部。而本试验 4 个授粉品种的花粉在授粉 8 h 开始萌发,24~48 h 穿过花柱 1/2,48~120 h 花粉管继续生长并穿过花柱基部,这与王唯薇等^[14]对刺梨授粉后花粉萌发和花粉管生长的观察结果相一致。因此,深入研究不同气候条件下不同品种的花粉萌发、花粉管生长特点,便于确定种子的形成和种子的发育状况,进而为选择最佳的授粉品种及提高果实的产量和品质奠定基础。

4 结 论

“红富士”异花授粉坐果率、种子发育调查试验和荧光显微观察结果表明:利用“粉红女士”授粉时,花粉萌发量小,花粉管数量少且生长速度慢,坐果率低、种子少,与“富士”的亲性和较弱;用“秦冠”授粉时,花粉萌发量大,花粉管数量多且生长速度快,坐果率高,种子较多且每个心室均有种子分布,与“富士”的亲性和较好。值得一提的是,“新红星”的花粉萌发量、花粉管数量均高于“秦冠”,但其田间坐果率和种子数均低于“秦冠”,这可能是“新红星”授粉受精后产生了某些物质导致胚败育所致,其具体原因尚有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 高 华,赵政阳,梁 俊,等.陕西苹果品种发展历史、现状及育种进展 [J]. 西北林学院学报,2008,23(1):130-133.
Gao H,Zhao Z Y,Liang J,et al. Advances in the researches of apple breeding and development in Shaanxi province [J]. Journal of Northwest Forestry University,2008,23(1):130-133. (in Chinese)

[2] Luckwill L C. 控制果实生长和形状的因素 [J]. 任锡畴,译. 植物生理学译丛,1965(3):61-65.
Luckwill L C. The factor of control in fruit growth and shape

[J]. Ren X C, translate. Plant Physiology Translated Texts, 1965(3):61-65. (in Chinese)

[3] 张宗坤. 改善长富 2 果形偏斜的研究 [J]. 果树科学,1984(4): 30-32.
Zhang Z K. The study in improving the fruit shape of Changfu [J]. Fruit Science,1984(4):30-32. (in Chinese)

[4] 孙建设,马宝焜,章文才.“红富士”苹果果形偏斜的机理研究 [J]. 河北农业大学学报,1999,22(4):38-41.
Sun J S, Ma B K, Zhang W C. A Study on mechanism of fruit shape in Red Fuji apples [J]. Journal of Agricultural University of Hebei,1999,22(4): 38-41. (in Chinese)

[5] Hiratsuka S,Zhang S L,Nakagawa E,et al. Selective inhibition of the growth or incompatible pollen tubes by S-protein in the Japanese Pear [J]. Sex Plant Reprod,2000,13:209-215.

[6] Knox R B. Role of pollen-wall proteins as recognition substances in inter specific incompatibility in poplars [J]. Nature, 1972,237:381-383.

[7] 徐义流,张绍铃. 花粉-雌蕊相互作用的分子基础 [J]. 西北植物学报,2003,23(10):1800-1809.
Xu Y L,Zhang S L. Molecular basis of pollen-pistil interaction [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia,2003,23(10):1800-1809. (in Chinese)

[8] Mayer E,Gottsberger G. Pollen viability in the Genus Silene (Caryophyllaceae) and its evaluation by means of different test procedures [J]. Flora, 2000,195:349-353.

[9] Graaf B H J,Derksen J W M,Mariani C. Pollen and pistil in the progamic phase [J]. Sex Plant Reprod,2001,14:41-45.

[10] 孟金陵,刘定富,蔡得田,等. 植物生殖遗传学 [M]. 北京:科学出版社,1997:300-305.
Meng J L,Liu D F,Cai D T,et al. Plant reproductive genetics [M]. Beijing: Science Press,1997:300-305. (in Chinese)

[11] 张玉星. 果树栽培学各论 [M]. 北京:中国农业出版社,2003.
Zhang Y X. Fruit growing for individual tree [M]. Beijing: China Agriculture Press,2003. (in Chinese)

[12] 陈迪新. 梨花粉萌发、生长及花柱 S 基因表达特性 [D]. 南京:南京农业大学,2005.
Chen D X. Characteristics of pollen germination,tube growth and the expression of styles gene in pyrus pyrifolia [D]. Nanjing:Nanjing Agricultural University,2005. (in Chinese)

[13] 张雪梅,李保国,赵志磊,等. 苹果自花授粉花粉管生长和花柱保护酶活性与内源激素含量的关系 [J]. 林业科学,2009,45(11):20-25.
Zhang X M,Li B G,Zhao Z L,et al. Relationship between compatibility of self-pollination and changes in protecting enzyme and hormone in different apple cultivars [J]. Scientia Silvae Sinicae,2009,45(11):20-25. (in Chinese)

[14] 王唯薇,赵德刚. 刺梨花粉管萌发的荧光显微观察 [J]. 基因组学与应用生物学,2010,29(2):322-326.
Wang W W,Zhao D G. Microexamination on pollen tube of Rosa roxburghii tratt by fluoresent technique [J]. Genomics and Applied Biology,2010,29(2):322-326. (in Chinese)