

砂梨种质资源花粉量及花粉萌发率的遗传多样性分析

范 净 陈启亮 杨晓平 张靖国 田 瑞 胡红菊

湖北省农业科学院果树茶叶研究所/湖北省农业科技创新中心果树茶叶研究分中心, 武汉 430264

摘要 为明确砂梨种质资源花粉的遗传多样性, 离体条件下对 455 份砂梨种质资源的花粉量及花粉萌发率进行检测和分析。结果表明: 砂梨不同种质资源的花粉量和花粉萌发率有较大差异, 单个花药花粉量变幅为 0~41 875 粒, 花粉萌发率变幅为 0~96.11%。砂梨花粉特性的平均变异系数为 66.37, 平均遗传多样性指数为 1.95。不同砂梨种质资源的平均变异系数为国内选育品种(67.12) > 地方品种(64.58) > 国外引进(61.08), 平均遗传多样性指数为地方品种(1.95) > 国内选育品种(1.89) > 国外引进品种(1.81)。不同省(区)地方品种的平均变异系数变幅为 53.51~95.90, 以广西壮族自治区较高, 福建省最低; 平均遗传多样性指数在 1.55~1.88 之间, 以湖北省较高, 江西省最低。

关键词 砂梨; 种质资源; 遗传多样性; 花粉量; 花粉萌发率

中图分类号 S 661.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)04-0020-05

梨(*Pyrus*)是配子体型自交不亲和果树, 自然条件下多数梨品种自花不结实或结实率低, 栽培时要配置授粉品种或采用人工辅助授粉, 以促进坐果提高产量。花粉量少或花粉萌发率低会影响杂交果实的坐果率, 从而影响杂交群体的培育。李大志等^[1]、扈惠灵等^[2]、刘志虎等^[3]、姜雪婷等^[4]、杨晓平等^[5]、赵纪伟等^[6]和李芳芳等^[7]先后测定了部分梨品种的花粉量和花粉萌发率, 但对砂梨种质资源花粉量和花粉萌发率数量性状进行遗传多样性的系统性研究较少。明确国内外不同来源的砂梨种质的花粉数量性状多样性分布特点, 对于充分挖掘和利用砂梨特异种质, 合理选配杂交育种亲本有重要的研究意义。本研究拟通过研究 455 份砂梨种质在同一年份花粉量及花粉萌发率的遗传多样性, 了解不同来源的砂梨种质资源遗传多样性特点, 以期对花粉性状特异种质的挖掘、栽培种上合理配置授粉品种和杂交群体构建提供材料和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

455 份砂梨种质资源的花粉于 2014 年取自国

家果树种质武昌砂梨资源圃。每份资源随机采摘盛花期内(50%花开放) 100 朵即将开放的大花蕾(气球花), 花蕾采集后放入硫酸纸袋, 在 24 h 内剥下花药进行后续研究。

1.2 花粉量测定

参照杨晓平等^[5]及李芳芳等^[7]的方法, 并略有改动。将盛花期大花蕾的花药剥下, 每份资源选取未开裂的 100 粒饱满花药放入 10 mL 离心管中, 3 次重复。离心管放入 35 °C 烘箱中烘干至花粉完全散出, 加入 5 mL 50 g/L 六偏磷酸钠溶液, 漩涡振荡器上充分振荡成悬浮液。吸取数滴振荡悬浮液至血球计数板中, 于显微镜下统计花粉粒数, 重复 3 次。 $N = n_{25} \times 50\ 000 / 100$, 式中, N 为每枚花药的花粉量, n 为 25 个大格总花粉粒数, 50 000 为稀释倍数, 100 为每个样品花药总数。

1.3 花粉萌发率测定

参照姜雪婷等^[4]及杨晓平等^[5]的方法, 将盛花期大花蕾的花药置于纸盒中 25 °C 烘干散粉。准备 100~200 mL 固体培养基(0.1 g/L 硼酸, 100 g/L 蔗糖, 10 g/L 琼脂), 培养基加热融化后用滴管将培养基滴于凹玻片中。用棉球轻轻蘸取花粉并均匀涂

收稿日期: 2015-10-08

基金项目: 国家现代农业(梨)技术体系(CARS-29); 湖北省农业科技创新中心项目(2011-620-005-003-01)

范 净, 博士, 助理研究员. 研究方向: 梨种质资源. E-mail: fanjing2013pear@163.com

通信作者: 胡红菊, 研究员. 研究方向: 梨种质资源. E-mail: hongjuhu@sina.com

布在凹玻片的固体培养基上,20℃下暗培养3h,显微镜下观察并统计花粉萌发情况,以花粉管长度大于花粉粒直径视为萌发^[5]。每份砂梨种质资源观察3个视野,每个视野观察计数的花粉粒在30个以上。

1.4 数据分析

根据花粉量和花粉萌发率平均值(M)和标准差(s)分为10级,1级 $<M-2s$,10级 $\geq M+2s$,中间每级相差0.5 s 。采用Shannon's指数(H')对砂梨种质资源的花粉量和花粉萌发率的遗传多样性进行评价分析。 $H' = -\sum P_i \ln P_i$, P_i 表示第 i 种变异类型出现的频率,以相应性状 H' 的平均值表示某组砂梨种质资源的遗传多样性程度。花粉各性状的数据采用Excel软件分析统计,并计算花粉量和花粉萌发率的变异系数。

表1 花粉萌发率和花粉量不同变化区间的砂梨种质资源数

Table 1 No. of sand pear germplasm resources in different change interval with pollens germinationrate and pollens quantity

花粉萌发率/% Change interval of pollens germination rate(PGR)	种质资源数 No. of germplasm resources	花粉量变化区间 Change interval of pollens quantity(PQ)	种质资源数 No. of germplasm resources
0	23	0	6
0.5 \leq PGR $<$ 10	29	125 \leq PQ $<$ 3 000	41
10 \leq PGR $<$ 20	24	3 000 \leq PQ $<$ 5 000	78
20 \leq PGR $<$ 30	25	5 000 \leq PQ $<$ 7 500	116
30 \leq PGR $<$ 40	40	7 500 \leq PQ $<$ 10 000	82
40 \leq PGR $<$ 50	40	10 000 \leq PQ $<$ 15 000	89
50 \leq PGR $<$ 60	55	15 000 \leq PQ $<$ 20 000	26
60 \leq PGR $<$ 70	40	20 000 \leq PQ $<$ 41 875	17
70 \leq PGR $<$ 80	63		
80 \leq PGR $<$ 90	77		
90 \leq PGR $<$ 96	39		

455份砂梨种质间的花粉量差异较大,平均单个花药花粉量为8 527粒,变幅为0~41 875粒;80.22%的砂梨种质资源(365个)平均单个花药花粉量分布在3 000~15 000粒(表1)。^{‘湄潭木瓜’、‘石井早生’、‘瑞福’、‘黄金’、‘甘甜’和‘融安青雪梨’等品种检测不到花粉。花粉量少于1 000粒的有20个,‘老秤砣梨’、‘丽江黄皮梨’和‘桂花梨’3个砂梨种质的平均单个花药花粉量超过30 000粒。}

2.2 花粉萌发率、花粉量和萌发量在不同砂梨种质类型间的遗传多样性

455份砂梨种质资源按不同种质类型分类后,分析其花粉萌发率、花粉量和平均萌发量的多样性(表2),结果表明:在变异系数变化上国内选育品种

2 结果与分析

2.1 不同砂梨种质资源的花粉萌发率和花粉量差异

不同砂梨种质花粉平均萌发率差异较大,变幅为0~96%,所有样品花粉平均萌发率为55.12%;274个花粉品种(系)平均花粉萌发率在50%以上,占总样品数的60.21%(表1)。花粉萌发率为0的品种有23个,分别为^{‘真香梨’、‘魁星麻壳’、‘青皮早’、‘湄潭木瓜’、‘六月雪’、‘八月酥’、‘金秋梨’、‘石井早生’、‘瑞福’、‘长把梨’、‘林金梨’、‘兴矮二号’、‘黄金’、‘爱宕’、‘融安青雪梨’、‘62-5-6’、‘新高’、‘兴山25号’、‘鞍月’、‘甘甜’、‘长阳大香梨’、‘巴东桐子梨’和‘29-8-19’},占总样品数的5%。

的花粉萌发率变异系数较高,地方品种的花粉量变异系数较高,国外引进品种的平均萌发量的变异系数较高;在多样性指数变化上国外引进品种的花粉萌发率多样性指数较大,地方品种的花粉量和平均萌发量多样性指数较大。不同种质类型花粉特性的平均变异系数由高到低依次为:国内选育品种、地方品种、国外引进品种;平均遗传多样性指数由高到低依次为:地方品种、国内选育品种、国外引进品种。地方品种的平均花粉萌发率高于国内选育品种和国外引进品种,且高于455份种质的平均花粉萌发率(55.12%)。地方品种和国内选育品种的平均花粉量高于国外引进品种,略高于455份种质的平均花粉量(8 527粒)。

表 2 不同种质类型砂梨花粉萌发率、花粉量和萌发量的多样性

Table 2 Diversity of sand pear pollens germination rate, quantity and germination amount in different germplasm types

项目 Items	地方品种 Landraces	国内选育品种 China improved lines	国外引进品种 Foreign breeding cultivars
种质资源数 No. of germplasm resources	268	96	91
花粉萌发率/% Pollens germination rate	57.62	52.92	49.51
花粉萌发率变异系数 Coefficient variation of pollens germination rate	50.24	53.97	30.97
花粉萌发率多样性指数 H' Genetic diversity index H' of pollens germination rate	1.93	1.83	1.94
花粉量(粒) Pollens quantity(grains)	8 947	8 953	6 740
花粉量变异系数 Coefficient variation of pollens quantity	64.65	60.27	63.93
花粉量多样性指数 H' Genetic diversity index H' of pollens quantity	1.91	1.88	1.71
萌发量(粒) Germination amount(grains)	5 694	5 436	3 883
萌发量变异系数 Coefficient variation of germination amount	78.85	87.13	88.34
萌发量多样性指数 H' Genetic diversity index H' of germination amount	2.01	1.96	1.77
平均变异系数 Average coefficient variation	64.58	67.12	61.08
平均多样性指数 H' Average genetic diversity index H'	1.95	1.89	1.81

2.3 地方品种的花粉萌发率和花粉量在分布地区间的遗传多样性比较

从表 3 可知:云南省的地方品种花粉萌发率和花粉量最高,四川、贵州、福建、湖南和湖北的平均花粉萌发率高于 455 份种质的平均花粉萌发率,广西、浙江及江西的平均花粉萌发率低于 455 份种质的平均花粉萌发率。广西、贵州、湖南、湖北和四川的平均花粉量高于 455 份种质的平均花粉量,福建、江西和浙江的平均花粉量低于 455 份种质的平均花粉量。江西地方品种的花粉萌发率变异系数最大,广西地方品种花粉量和平均萌发量的变异系数最大。湖北和浙江地方品种的花粉萌发率的多样性指数最大,云南地方品种花粉量多样性指数最大,湖南地方品种平均萌发量的多样性指数最大。不同分布地区的地方品种花粉特性的平均变异系数由高到低依次为:广西、贵州、江西、浙江、湖北、湖南、云南、四川、福建;平均遗传多样性指数由高到低依次为:湖北、湖南、四川、贵州、广西、云南、浙江、福建、江西。

3 讨论

前人研究发现果树不同品种间花粉量及花粉萌发率有较大差异^[8-10]。姜雪婷等^[4]对 43 个不同梨品种的花粉萌发率进行了测定,杨晓平等^[5]对 23 个砂梨品种花粉量和花粉萌发率进行了检测,李芳芳等^[7]对 142 个不同梨品种花粉量和花粉萌发率进行了检测,袁德义等^[11]对新高系列砂梨品种的花粉萌发率进行了检测,都表明梨花粉量和花粉萌发率在不同品种间差异显著,本研究同样发现不同砂梨种质资源花粉量和花粉萌发率因基因型不同而各异。本研究对 455 份砂梨品种花粉量和花粉萌发率的相

关性分析发现相关系数($r=0.33$)很小。且部分样品花粉量少,但花粉萌发率反而高,如‘三花’、‘奥萨二十世纪’、‘梨园鸡蛋梨’等;有些样品的花粉量较大,但萌发率却相对较低,如‘浙 25-7’、‘兴山 2 号’等,该结果说明砂梨种质资源花粉量多少对花粉萌发率没有直接影响,与李芳芳等^[7]研究结果相似。本研究同一品种花粉量数据与杨晓平等^[5]研究的花粉量数据基本相似,但与李芳芳等^[7]分析数据相比明显较高;同一品种花粉萌发率也有不同。这可能是因为供试样品种植于不同地区,温度、光线、生长状态都有差别,最终导致花粉量和花粉萌发率上的地域差异。

平均花粉萌发率地方品种>国内选育品种>国外引进品种,可能与地方品种对环境需要有较强的适应性有关,相对高的花粉量与花粉萌发率有利于后代的繁育。地方品种中云南省和贵州省的地方品种平均花粉萌发率和平均花粉量相对较高,而此两省地处中国西南,为梨属植物的起源地之一。以上结果说明可能越靠近梨属植物的起源地,梨的平均花粉萌发率和平均花粉量越高,而随着传播距离向中国中部湖南和湖北至沿海、国外,平均花粉萌发率和平均花粉量呈逐渐减低的趋势。

不同种质类型花粉特性的平均变异系数和平均遗传多样性指数分析表明国内选育品种平均变异系数高,说明国内选育品种花粉特性的选择潜力比国外引进品种大。地方品种的平均多样性指数较高,说明地方品种具有广泛的遗传多样性。且地方品种花粉量的变异系数和多样性指数都相对较高,说明地方品种花粉量选择潜力较大,遗传多样性丰富度较高。不同地区的地方品种平均变异系数和平均遗

表 3 地方品种不同分布地区的砂梨花粉萌发率、花粉量和萌发量的多样性
Table 3 Diversity of sand pear pollens germination rate, quantity and germination amount of landraces in different regions

省份 Regions	种质资源数 No. of germplasm resources	花粉萌发率/% Pollens germination rate		花粉量(粒) Pollens quantity (grains)		花粉量多样性 Genetic diversity index H'		萌发量多样性 Genetic diversity index H'		平均变异系数/% Average coefficient variation		平均多样性指数 Average genetic diversity index H'	
		变异系数 Coefficient of variation	多样性指数 Genetic diversity index H'	变异系数 Coefficient of variation	多样性指数 Genetic diversity index H'	变异系数 Coefficient of variation	多样性指数 Genetic diversity index H'	变异系数 Coefficient of variation	多样性指数 Genetic diversity index H'	变异系数 Coefficient of variation	多样性指数 Genetic diversity index H'	变异系数 Coefficient of variation	多样性指数 Genetic diversity index H'
福建 Fujian	16	57.33	41.80	8 195	48.45	1.46	4 774	70.28	1.51	53.51	1.57		
广西 Guangxi	19	45.88	66.06	9 743	95.42	1.73	5 049	126.22	1.78	95.90	1.80		
贵州 Guizhou	13	59.06	59.25	9 558	78.38	1.84	6 573	74.85	1.92	70.83	1.81		
湖北 Hubei	68	53.57	55.30	9 401	57.02	1.82	5 445	80.29	1.84	64.20	1.88		
湖南 Hunan	13	54.92	51.83	9 402	54.17	1.73	6 115	70.57	1.95	58.86	1.84		
江西 Jiangxi	16	49.06	75.62	7 187	42.6	1.28	4 113	88.93	1.63	69.05	1.55		
四川 Sichuan	64	67.78	37.43	9 195	54.63	1.91	6 885	70.52	1.93	54.19	1.83		
云南 Yunnan	24	68.36	28.09	12 125	67.49	1.97	9 027	74.23	1.86	56.60	1.78		
浙江 Zhejiang	21	47.75	63.24	5 262	53.64	1.39	2 960	84.37	1.48	67.08	1.62		
其他 Others	14	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		

注：其他 14 个种质来源于安徽省(4)、河北省(3)、河南省(2)、广东省(2)、陕西省(1)和江苏省(2)。其他省份样品因样品数均小于 10 个，未纳入分析。Note: Other 14 germplasm, 4 from Anhui, 3 from Hebei, 2 from Henan, 2 from Guangdong, 1 from Shanxi and 2 from Jiangsu. Germplasm from other province were not analyzed because of sample from each province less than 10.

传多样性指数分析表明:广西地方品种的平均变异系数最大,可能与广西省地方品种‘桂花梨’的花粉量最多有关;湖北省的平均遗传多样性最高,多样性丰富度较高。

参 考 文 献

- [1] 李大志,谢深喜.湖南主要梨品种花粉生活力的研究[J].湖南农业大学学报(自然科学版),1999,25(3):184-187.
- [2] 扈惠灵,李祎,高启明.十三个梨品种花粉量及花粉发芽率的研究[J].中国南方果树,2002,31(6):57-59.
- [3] 刘志虎,何天明,钟芳.梨花粉量的测定与分析[J].甘肃林业科技,2003,28(1):34-35.
- [4] 姜雪婷,杜玉虎,张绍铃,等.梨 43 个品种花粉生活力及 4 种测定方法的比较[J].果树学报,2006,23(2):178-181.
- [5] 杨晓平,胡红菊,田瑞,等.23 个砂梨栽培品种的花粉量与花粉生活力测定[J].长江大学学报(自然科学版:农学卷),2012,9(1):8-10.
- [6] 赵纪伟,李莉,彭建营,等.梨不同品种花粉生活力测定与授粉特性研究[J].植物遗传资源学报,2012,13(1):152-156.
- [7] 李芳芳,张绍铃,张虎平,等.不同梨品种花粉量及花粉萌发率差异研究[J].南京农业大学学报,2013,36(5):27-32.
- [8] 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.
- [9] 叶正文,杜纪红,苏明申,等.桃 92 个品种的花粉量及其萌发特性的差异[J].园艺学报,2012,37(4):525-531.
- [10] 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.
- [11] 袁德义,谭晓风,张琳,等.新高系梨雄性不育的鉴定[J].园艺学报,2007,34(2):289-294.

Genetic diversity of pollen quantity and pollen germinating of sand pear germplasm

FAN Jing CHEN Qiliang YANG Xiaoping ZHANG Jingguo TIAN Rui HU Hongju

Institute of Fruit and Tea, Hubei Academy of Agricultural Sciences/

Fruit and Tea Subcenter of Hubei Innovation Center of Agricultural Science and Technology, Wuhan 430264, China

Abstract To study the genetic diversity of pollens of sand pear germplasm, pollens quantity and pollens germination of 455 sand pear germplasm were investigated *in vitro*. The results showed that there were significant variations on the quantity of the total pollens and germination rate among the sand pear germplasm, ranging from 0 to 41 875 grains per anther and from 0 to 96.11%, respectively. The average coefficient variation and genetic diversity index was 66.37 and 1.95 of pollen characteristics. The average variation coefficient of different sand pear germplasm was in the order of China improved lines (67.12) > landraces (64.58) > foreign breeding cultivars (61.08). The average genetic diversity index was in the order of landraces (1.95) > China improved lines (1.89) > foreign breeding cultivars (1.81). The average coefficient variation of landraces in different provinces (regions) ranged from 53.51 to 95.90, with the highest in Guangxi and the lowest in Fujian. The genetic diversity index was between 1.55 and 1.88, with the highest in Hubei and the lowest in Jiangxi.

Keywords sand pear; germplasm; genetic diversity; pollen quantity; pollen germination rate

(责任编辑:张志钰)