

不同罗汉果杂交品系花粉数量和发芽率的比较研究

覃嘉明^{1,2}, 岑秀芬¹, 韦鹏霄^{1*}, 马小军^{3*}, 莫长明³

(1. 广西大学农学院, 南宁 530005; 2. 广西玉米研究所, 南宁 530227; 3. 广西壮族自治区药用植物园, 南宁 530023)

摘要: 检测和比较了源于3种杂交方式的26个罗汉果雄株品系及4个亲本对照品种的花粉量和花粉发芽率, 结果表明: 11个近交品系间的花粉量和花粉发芽率均存在着显著差异, 花粉量最高的是长滩果 T-24 品系 (3.76×10^4), 花粉发芽率最高的是青皮果 Q-11 品系 (90.3%); 12个单交品系及4个亲本对照品种之间在花粉量上有所不同, 而在花粉发芽率上差异较大, 大部分达显著或极显著水平; 3个双交品系与2个亲本对照品种在花粉量上有极显著的差异, K2-85 品系的花粉量明显高于两个亲本对照品种; 3种杂交方式所得品系的平均值比较, 花粉量高低顺序为双交 (3.45×10^4) > 单交 (3.12×10^4) > 近交 (2.75×10^4), 花粉发芽率高低顺序为单交 (58.2%) > 近交 (46.9%) > 双交 (34.5%)。因此不仅选择出较好的杂交雄株于生产上应用是可行的, 而且还有可能获得天然败育雄株用于培育无籽罗汉果。

关键词: 罗汉果; 杂交品系; 杂交方式; 花粉量; 花粉发芽率

中图分类号: Q945.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)06-0881-04

Study on the pollen amount and germinating capacity of different hybrid lines of *Siraitia grosvenorii*

QIN Jia-Ming^{1,2}, CEN Xiu-Fen¹, WEI Peng-Xiao^{1*},
MA Xiao-Jun^{3*}, MO Chang-Ming³

(1. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China; 2. Guangxi Maize Research Institute, Nanning 530227, China; 3. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, China)

Abstract: Pollen amount and germinating capacity of 4 parent varieties and related 26 *Siraitia grosvenorii* male lines which originated from 3 crossing methods were determined and compared. The results indicated that: there was significant difference on the pollen amount and germinating capacity of 11 self-cross lines, among which T-24 line had the most pollen amount (3.76×10^4) and Q-11 line showed the highest germinating capacity (90.3%); among the 12 single cross lines and the 4 parent varieties there existed some difference of the pollen amount and significant or very significant difference of the germinating capacity; and the 3 double cross lines showed significant difference comparing to the parent varieties on the pollen amount, that of K2-85 was higher than that of the 2 parent varieties. While comparing the average number of 3 hybrid methods, the order of the pollen amount was: double cross (3.45×10^4) > single cross (3.12×10^4) > self cross (2.75×10^4). The order of the germinating capacity was: single cross (58.2%) > self cross (46.9%) > double cross (34.5%). So it's not only available to select out better *S. grosvenorii* male plants for production application, but also it's possible to obtain naturally pollen-abortive male plants for the breeding of seedless *S. grosvenorii*.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; hybrid line; hybrid type; pollen amount; pollen germinating capacity

罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*) 是单性、雌雄异株的葫芦科多年生草质藤本植物, 系原产广西的特

有中药材之一。罗汉果用途广泛, 作为一种传统中药材, 有润肺止咳、凉血降压等功效。其果实含有的

收稿日期: 2008-12-11 修回日期: 2009-09-22

基金项目: 国家自然科学基金(30560183) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(30560183)]

作者简介: 覃嘉明(1980-), 男, 广西南宁人, 硕士研究生, 研究方向为植物遗传育种, (E-mail) savage131@163.com.

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: weipengxiao@163.com, xjma@public.cm.net.cn)

糖甙成份,甜度是蔗糖的 300 倍以上,是一种理想的低热量天然甜味剂(李峰等,2003)。花粉是种子植物的雄配子体,对授粉受精和果实形成有重要的影响。事实上授粉品种花粉数量的多少及质量的好坏直接影响着主栽品种的坐果率和产量(刘志虎等,2003)。罗汉果是一种异花授粉植物,从生产实践上看,由于大田栽培的罗汉果的雌株需要人工授粉才能正常结实,因此花粉量的多少和发芽率的高低是选择授粉品种的两个基本条件。尽管人们在生产上已选育出多个罗汉果雌性品系,但花粉的使用却不加选择、十分混乱和随意,对雄性优良品系的选育一直被忽视。马小军等(2008)对罗汉果花粉直感现象进行了研究,而在罗汉果花粉量和发芽率方面,前人的研究仅限于对有限几个品系进行观测(李峰等,2003),至今尚未见对罗汉果花粉量和发芽率进行系统研究的相关报道。为此,本文对不同罗汉果杂交品系及亲本对照品种的花粉量、生活力进行了系统研究,旨在为罗汉果雄性品系的选育、杂交育种以及授粉雄株的合理配置提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为广西药用植物园经杂交选育的 26 个罗汉果雄株品系,其中 11 个近交品系为:野红毛果 X-6,冬瓜果 U-8,青皮果 Q-11、Q-12、Q-13、Q-14、Q-15、Q-16,长滩果 T-24、T-25、T-26;12 个单交品系为长滩果×冬瓜果($\delta \times \text{♀}$,下同)C-5,野红毛果×长滩果 E-7、E-8,野红毛果×冬瓜果 F-76、F-77、F-78,青皮果×长滩果 G-16,青皮果×冬瓜果 N-70、N-71,冬瓜果×青皮果 O-26、O-27、O-28;3 个双交品系的有(野红毛果×长滩果)×(冬瓜果×白毛果) K_1 -99、 K_2 -85、 K_3 -85;以及 4 个父本雄株品种野红毛果、青皮果、冬瓜果、长滩果(作亲本对照品种)。以上试验材料均取自广西桂林兴安罗汉果种质资源保存种植基地。

1.2 花粉量的测定

早晨取 10 朵即将开的罗汉果雄花,每朵取其中 1 个花药浸入装有 9.8 mL 水+0.2 mL 吐温 20 的培养皿中,用竹签在培养皿内刮下花粉后取出花药,再振荡使花粉分布均匀。用移液枪取 50 μ L 花粉悬浮液分置在 4 个凹形载玻片内,在 40 倍(物镜为 4 倍)光学显微镜下统计花粉量,3 次重复。最后按“50 μ L 溶液中的花粉数 $\times$ 200/10”计算出不同品种

单个花药中的花粉粒数(张建英等,2006)。

1.3 花粉发芽率的测定

加数滴含 15%蔗糖+60 mg/L 赤霉素的液体培养基在凹形载玻片内,再用竹签刮落少量花粉于液体培养基上,并搅拌均匀,把载玻片放在装有湿润滤纸的培养皿中 7 h 后取出,在 motic100 倍光学显微镜连电脑显示屏前随机抽取 100 粒花粉测花粉萌发率,3 次重复(张子学等,2002)。

1.4 统计分析

使用 SPSS16.0 软件对试验结果进行方差分析及多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同近交品系的花粉量、花粉发芽率测定与分析

按照杂交方式的不同把 26 个罗汉果雄株品系及相应的对照亲本分成 3 大类进行比较分析。从表 1 看出,各近交品系间的花粉量和花粉发芽率均存在着显著差异。花粉量最少的两个品系红毛果 X-6 和长滩果 T-25,其花粉发芽率均也最低,分别为 4.3%和 1.3%。花粉发芽率最高的是青皮果 Q-11 品系(90.3%),但其花粉量却不是最多;而花粉量最多的长滩果 T-24 品系,其花粉发芽率反而偏低,仅为 27.3%。6 个青皮果近交品系的花粉量均少于其亲本品种,花粉发芽率除 Q-11 外也均低于亲本品种。而长滩果近交品系与其亲本品种相比,在花粉量、花粉发芽率上则有高有低。

2.2 不同单交品系的花粉量、花粉发芽率测定与分析

12 个单交品系及 4 个对照亲本品种间在花粉量上有所不同,而在花粉发芽率上差异较大,大部分达显著或极显著水平(表 2)。不同亲本单交品系间比较,花粉量、花粉发芽率的表现也有不同。5 个野红毛果品系与亲本品种野红毛果(CK)相比,在花粉量、花粉发芽率上均表现为有高有低,花粉发芽率最高的品系是 E-8,达 78.7%。3 个青皮果品系的花粉量和花粉发芽率均低于其对照亲本品种(青皮果 CK),其中以品系 N-71 的花粉发芽率最低,仅为 39.7%。在 3 个冬瓜果品系中,花粉量高于其对照亲本品种(冬瓜果 CK)的只有品系 O-27,其他两个品系(O-26、O-28)均低于对照亲本品种,而 3 个品系的花粉发芽率均高于其亲本品种。

2.3 不同单双交品系的花粉量、花粉发芽率测定与分析

如表 3 所示,3 个双交品系与 2 个亲本品种在花粉量上有着极显著的差异, K_2 -85 品系的花粉量

表 1 不同近交品系花粉量、花粉发芽率的测定及多重比较
Table 1 The determination and multiple comparison on pollen amount and pollen germinating capacity of different lines by self cross

品系号 Line number	花粉量(粒) Pollen amount	$P\leq 0.05$	$P\leq 0.01$	花粉发芽率(%) Pollen germinating capacity	$P\leq 0.05$	$P\leq 0.01$
野生红毛果 X-6	1.50×10^3	a	A	4.3	a	A
冬瓜果 U-8	2.72×10^4	b	B	56.0	e	D
青皮果 Q-11	3.16×10^4	c	C	90.3	j	H
青皮果 Q-12	3.48×10^4	d	D	64.3	h	FG
青皮果 Q-13	3.04×10^4	c	C	63.0	gh	EF
青皮果 Q-14	3.12×10^4	c	C	61.3	gh	EF
青皮果 Q-15	3.60×10^4	d	D	45.7	d	C
青皮果 Q-16	3.62×10^4	d	D	44.0	d	C
长滩果 T-24	3.76×10^4	d	D	27.3	b	B
长滩果 T-25	1.90×10^3	a	A	1.3	a	A
长滩果 T-26	3.46×10^4	d	D	58.0	fg	DEF
野生红毛果(CK)	2.58×10^4	b	B	62.0	gh	EF
冬瓜果(CK)	3.72×10^4	d	D	39.3	c	C
青皮果(CK)	3.73×10^4	d	D	69.7	i	G
长滩果(CK)	3.55×10^4	d	D	52.0	ef	D

注：用 S-N-K(Student-Newman-Keuls)法进行多重比较检验 Note:Multiple comparison analysis by using S-N-K(Student-Newman-Keuls) method

表 2 不同单交品系花粉量、花粉发芽率的测定及多重比较
Table 2 The determination and multiple comparison on pollen amount and pollen germinating capacity of different lines by single cross

品系号 Line number	花粉量(粒) Pollen amount	$P\leq 0.05$	$P\leq 0.01$	花粉发芽率(%) Pollen germinating capacity	$P\leq 0.05$	$P\leq 0.01$
长滩冬瓜 C-5	3.92×10^4	fg	FG	45.0	a	AB
野红长滩 E-7	1.79×10^4	b	B	63.7	c	D
野红长滩 E-8	3.08×10^4	d	D	78.7	f	F
野红冬瓜 F-76	2.60×10^4	c	C	51.0	b	BC
野红冬瓜 F-77	4.44×10^4	h	H	54.7	b	C
野红冬瓜 F-78	3.28×10^4	de	DE	65.7	cd	DE
青皮长滩 G-16	3.57×10^4	ef	EFG	44.3	a	AB
青皮冬瓜 N-70	3.07×10^4	d	D	73.3	e	EF
青皮冬瓜 N-71	3.61×10^4	ef	EFG	39.7	a	A
冬瓜青皮 O-26	3.13×10^4	d	D	67.7	cde	DE
冬瓜青皮 O-27	4.04×10^4	g	G	51.3	b	BC
冬瓜青皮 O-28	9.50×10^3	a	A	63.3	cd	D
野生红毛果(CK)	2.58×10^4	c	C	62.0	c	D
冬瓜果(CK)	3.72×10^4	fg	EFG	39.3	a	A
青皮果(CK)	3.73×10^4	fg	EFG	69.7	de	DE
长滩果(CK)	3.55×10^4	ef	EF	52.0	b	BC

注：用 S-N-K(Student-Newman-Keuls)法进行多重比较检验。
Note:Multiple comparison analysis by using S-N-K(Student-Newman-Keuls)method

明显多于两个亲本品种，而 K₁-99 和 K₃-85 两个品系间的花粉量差别不大，均是介于两个亲本品种之间。在花粉发芽率上，K₁-99 品系高于高花粉发芽率的野红毛果亲本品种，而 K₂-85 和 K₃-85 两个品系则明显低于低花粉发芽率的冬瓜果亲本品种。

3 讨论

(1)罗汉果各杂交品系在花粉量、花粉发芽率上分化明显，因此选择较好的杂交雄株是提高坐果率和产量行之有效的措施之一。在与亲本对照品种比

较试验的 26 个罗汉果杂交品系中，青皮果 Q-11 品系的花粉发芽率最高(达 90.3%)，花粉量也比较多；其次是 E-8 和 N-70 两个品系，它们的花粉发芽率也在 70%以上。从提高授粉效果考虑，在生产上可优先选用这些花粉发芽率高的雄株材料作为授粉品种。而品系 X-6、T-25、T-24 的花粉发芽率太低，不宜选作授粉雄株使用。(2)3 种杂交方式间在罗汉果花粉量、花粉发芽率上存在一定的差异。

果树花药内花粉量的多寡取决于花药发育是否正常。马之胜(1992)认为花粉量为—多基因控制的数量性状。而朱更瑞等(1998)则认为花粉量被一对

质量因子所控制,花粉量正常和不正常为一对质量性状,同时它们各自又受数量因子的修饰。总的来看,由于罗汉果不同杂交组合后代花粉性状基因的分离,各品系间在花粉量、花粉发芽率上存在很大的差异。而从杂交方式的角度看,以平均数比较,花粉量是双交(3.45×10^4)>单交(3.12×10^4)>近交(2.75×10^4),花粉发芽率是单交(58.2%)>近交

(46.9%)>双交(34.5%)。近交退化是自然界的普遍现象,一般认为近交会使得子代繁殖能力和生理效率降低(郭平仲,1993),本研究的结果也表明,单交品系在花粉量、发芽率上比近交品系要好一些。(3)利用雄性败育品系可以培育无籽罗汉果。植物的无籽果实可通过单性结实、三倍体和败育基因等三种途径获得(祝海燕等,2005)。天然单性结实的品种

表 3 不同双交品系花粉量、花粉发芽率的多重比较

Table 3 The determination and multiple comparison on pollen amount and pollen germinating capacity of different lines by double cross

品系号 Line number	花粉量(粒) Pollen amount	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$	花粉发芽率(%) Pollen germinating capacity	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
K ₁ -99	3.13×10^4	b	B	65.7	d	D
K ₂ -85	4.16×10^4	d	D	13.7	a	A
K ₃ -85	3.07×10^4	b	B	24.0	b	B
野生红毛果(CK)	2.58×10^4	a	A	62.0	d	D
冬瓜果(CK)	3.72×10^4	c	C	39.3	c	C

注:用 S-N-K(Student-Newman-Keuls)法进行多重比较检验 Multiple comparison analysis by using S-N-K(Student-Newman-Keuls)method

少,激素诱导单性结实时,激素的浓度难以掌握且生产成本增高;利用三倍体培育无籽果实则面临着四倍体品种不易获得以及部分三倍体不结果或果实太小等问题。利用败育基因杂交培育二倍体无籽果实主要依赖天然败育突变株系的发现,虽然这种突变十分罕见,发生概率极低。但在 2007 年本课题组就偶然发现了表 1 中的一个近交品系野生红毛果 X-6 是雄性败育野生突变单株,其花朵硕大、花粉严重败育,花粉量 7.5×10^4 粒/朵,花粉萌发率 4.33%,用此雄株花粉与农院 B6 杂交,再对得到的 F1 单株品系群体进行杂交试验,发现雄性后代全部败育,雌性后代授予正常花粉果实均为无籽果实,因此初步确定已成功选育出遗传稳定的无籽罗汉果,推测其可能为“二倍体”无籽罗汉果。(4)罗汉果雄株的选择要同时兼顾花粉直感效应和花粉量、花粉发芽率的高低。花粉量和花粉发芽率检测仅是罗汉果雄株选育的参考因素之一。罗汉果有明显的花粉直感效应,花粉来源对果实的甜甙、总糖等品质因子有显著影响。因此在雄株配置上,首先要选择有正向的花粉直感效应的株系,花粉量、花粉发芽率是其次才要考虑的指标。如青皮近交株系 Q-12 的花粉发芽率并不是最高的,但是其作为授粉雄株与母本大叶青皮配组所得的果实的甜甙含量是最高的(马小军等,2008)。(5)罗汉果雄株的花粉量和花粉发芽率检测应连续多代进行。本试验仅为一个年份的检测结果,花粉量、花粉发芽率不仅因品种而异,而且受年份气候、管理水平及杂交后代遗传稳定性等影响。

因此,连续多代进行罗汉果杂交品系的花粉量和花粉发芽率检测很有必要。

参考文献:

- 李峰,李典鹏,蒋永元,等. 2003. 罗汉果栽培与开发利用[M]. 北京:中国林业出版社,1-2
- 郭平仲. 1993. 数量遗传学[M]. 北京:首都师范大学出版社,70-71
- Liu ZH(刘志虎),He TM(何天明),Zhong F(钟芳). 2003. The determination and analysis of pear pollen amount(梨花粉量的测定与分析)[J]. *J Gansu Fore Sci Tech* (甘肃林业科技), (3): 34-35
- Ma XJ(马小军),Shi L(石磊),Mo CM(莫长明),et al. 2008. The *Siraitia grosvenorii* Xenia effect of main quality characters (罗汉果主要品质性状的花粉直感效应)[J]. *Acta Hort Sin* (园艺学报),35(11):1 695-1 700
- Ma ZS(马之胜). 1992. A preliminary report on the study of some apple varieties(某些苹果品种花粉量的研究初报)[J]. *Northern Fruits* (北方果树),15(4):14-15
- Zhang JY(张建英),Zhu YW(朱亚伟),Chen YD(陈运娣). 2006. The determination on pollen amount and germinating capacity of plum(李品种花粉量及花粉发芽率的测定)[J]. *J Hebei Fore Sci Tech* (河北林业科技), (1):9-10
- Zhang ZX(张子学),Sun F(孙峰). 2002. The selection for the best determination method of pepper pollen viability(辣椒花粉活力最佳测定方法的筛选)[J]. *Seed* (种子), (1):32-33
- Zhu GR(朱更瑞),Gong FC(龚方成),Zuo QY(左覃元),et al. 1998. The determination and analysis of peach pollen(桃花粉量的测定与分析)[J]. *J Fruit Sci* (果树科学),15(4):360-363
- Zhu HY(祝海燕),Lang DS(郎德山),Mo SX(默书霞),et al. 2005. The research summary of plant seedless mechanism(植物无籽果实发生机理研究综述)[J]. *Hebei J Fore Orchard Res* (河北林果研究),22(3):259-261