

沙田柚的物理诱变少核育种研究

刘成明¹ 李 涛² 梁元冈¹

(1 华南农业大学园艺系, 广州, 510642; 2 广西容县水果办)

摘要 通过连续 4 年对射线诱变的 74 株沙田柚 938 个单位枝的花粉预选及果实鉴定, 初选出 12 个少核枝和 8 个较少核枝, 其中综合性状突出的有 7 个。研究结果表明, 激光和 ^{60}Co 的诱变效果优于快中子, 都得到了较多的少 (较少) 核枝和较高的花粉败育型频率 (6.48% 和 6.12%)。以醋酸洋红染色法对 1 个少核枝进行的花粉育性检测表明, 绝大多数少核枝的花粉败育率都高于 45% (对照为 12.20% ~ 13.46%), 故初步确定将败育率 $\geq 45\%$ 作为少核沙田柚花粉预选的主要参考指标。

关键词 沙田柚; 少核育种; 射线诱变; 花粉预选

中图分类号 S 666.3

沙田柚是我国柚中名种, 具有肉爽、味甜、香浓和极耐贮运等优点, 深受消费者欢迎, 但由于种子太多, 商品价值受到很大影响。因此, 选育少核乃至无核的新品系是沙田柚育种的一个主要目标。

在柑桔无核果实的成因中, 雄性败育无疑是一个极重要的因子。从前人的研究可知 (吴绍彝等, 1985; 张镜崑, 1987; 周绎香等, 1986; 胡运权等, 1989; 李玉堂, 1987), 射线诱变引起的花粉败育与果实无 (少) 核之间存在密切的关系, 根据花粉生活力高低来预测果实的无 (少) 核性, 在较大程度上是可行的 (Liang et al, 1991a)。对于果实硕大的柚类而言, 花粉预选工作更具有特别重要的意义。通过预选, 淘汰大量的非变异材料, 避免了大量解剖果实所造成的巨大浪费, 不但可降低选育的成本, 还可大大提高工作效率。

基于上述考虑, 作者对经过几种照射处理后的部分沙田柚植株进行了连续 4 年的花粉预选及果实解剖鉴定, 旨在研究各种照射处理对产生雄性败育及无 (少) 核性状的诱变效果, 探索花期预选的可行性, 选择和培育具有经济价值的少核或无核新类型, 为今后的育种工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试材沙田柚 (*Citrus grandis* Osbeck cv. Shatian) 取自广西容县沙田柚研究所。该所自 1981 年以来, 通过采用不同的处理手段和剂量 (^{60}Co 43.29~72.15Gy; 快中子 $(3\sim 26)\times 10^{10}\text{ n/cm}^2$; 激光) 分别处理沙田柚优选株的枝条和芽, 培育了 1 万多株诱变苗和高接树, 于 1990~1992 年春选取其中 74 株共 938 个单位枝 (指正常情况下结 2~3 个果的分枝) 进行花粉检测, 并对有关枝条的果实进行了解剖。

1.2 试验方法

花粉发芽率的测定于 1990 年进行, 将各处理树按“株-枝”两级编号, 采集新鲜花粉置于固体培养基 (蔗糖 10% + 硼酸 0.01% + 琼脂 0.3%) 上发芽, 统计花粉发芽率。花粉败育

率的测定于 1991 和 1992 年进行,为进一步了解各处理枝条嵌合体的分离情况,改为按“株-大枝-单位枝”三级编号进行取样,为工作效率,将“发芽法”改为染色法,经过对各种染色方法的摸索比较,最后采用醋酸洋红染色和碘-碘化钾染色两种方法。

1.3 少核标准的划分

考虑到目前尚无一个很恰当的对柚类的划分标准,暂作如下粗略划分:平均单果种子数 ≤ 3 粒为无核,3.1-20 粒为少核,20.1-40 粒为较少核。经诱变处理的沙田柚,其种子有 3 种类型,即饱满、大瘰和小瘰,其中小瘰种子已退化成辣椒籽样,口尝很难感觉到,故统计时只计饱满和大瘰两类,以二者之和作为该果实的种子数目。

2 结果与分析

2.1 经诱变处理产生的少(较少)核单位枝

表 1 沙田柚少(较少)核枝的果实性状(1990-1992 年平均)¹⁾

处理类别	单位枝号	单果重 /g	种 子 数 目			可溶性固形物 /(%)
			饱满	大瘰	级别	
⁶⁰ Co	12- 1- 1	500	16.5	1.5	少核	17.25
	12- 2- 1	597	14.7	2.3	少核	17.33
	12- 3- 2	600	11.5	2.5	少核	17.00
	12- 3- 5	640	6.0	6.5	少核	17.25
	12- 3- 8	575	12.0	0.5	少核	17.50
	12- 4- 5	595	6.0	7.0	少核	14.00
	12- 4- 3	490	11.5	0	少核	17.25
	12- 4- 6	550	8.3	3.7	少核	15.33
	12- 4- 7	528	6.7	4.7	少核	15.50
	12- 2- 4	565	7.0	11.5	少核	15.00
	12- 3- 1	560	12.5	5.0	少核	17.25
	12- 4- 2	590	19.5	3.5	较少核	17.50
	12- 8	540	6.5	15.5	较少核	17.50
	12- 10	643	18.3	3.3	较少核	15.67
	12- 23	540	12.0	3.0	少核	17.25
	12- 24	590	16.0	5.5	较少核	16.00
	平 均	569	11.6	4.8	少核	16.54
激光	12- 3- B	823	12.0	3.3	少核	13.67
	31- 6- 1	830	16.3	2.3	少核	13.67
	33- 8- 1	805	15.0	3.0	少核	12.25
	33- 23- 1	810	16.3	4.7	少核	14.17
	平 均	817	14.9	0.5	少核	13.44
CK		1000	107.7	6.0	多核	13.33

1) 果实解剖日期: 1990-12-18(⁶⁰Co 处理); 1990-10-20(激光处理和 CK); 1991-11-27; 1992-12-05

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

通过花粉预选和果实鉴定,初选出少核和较少核单位枝 20个(表 1) 从解剖结果看,诱变产生的少(较少)核枝,除果实略有偏小外,其它性状如可溶性固形物含量,果实形状及风味等都保持正常甚至有所改善,但不同的处理效果有所不同 从 3 年的平均值看,⁶⁰Co处理的果实略小一些(果重 490~ 643 g),但可溶性固形物相当高(16.54%);激光处理的果实较大,都超过了 800 g,已接近正常,固形物含量也比较高,综合看来,激光和⁶⁰Co处理的诱变效果都较好。

2.2 少核枝的花粉育性检查

对 15个少核枝所作的花粉检测结果表明(表 2),少核枝与花粉败育有着密切的关系,所有少核枝的花粉败育率都远高于对照,且绝大多数枝条的败育率都超过 45%,该结果与前人的研究(胡运权,1989;周育彬,1988)相当一致,看来,败育率 $\geq 45\%$ 应可作少核沙田柚花粉预选的一个重要参考指标

表 2 沙田柚少(无)核枝的花粉检测结果

处理类别	单位枝号	花粉败育率(洋红法) / (%)		种子数目级别
		1992年	1993年	
⁶⁰ Co	12- 1- 1	57.72		少核
	12- 2- 1	60.39	73.50	少核
	12- 2- 4	61.96		较少核
	12- 3- 1	56.97		较少核
	12- 3- 2	46.68	66.30	少核
	12- 3- 5	81.25	77.60	少核
	12- 4- 2	30.00	30.20	较少核
	12- 4- 3	25.23		少核
	12- 4- 5	66.24	64.00	少核
	12- 4- 6	60.67	57.80	少核
	12- 4- 7	88.03	82.40	少核
激光	JG 12- 3- B	66.67		少核
	JG 31- 6- 1	80.67		较少核
	JG 33- 8- 1	49.41		少核
	JG 33- 23- 1	60.51		少核
CK		13.46	12.20	多核

另一个典型的现象,就是花粉败育率高的枝条,其花粉量也较少,只及对照的 1/3或更少,而且大小很不均匀,说明其孢子在形成与发育过程中受到了阻碍

2.3 不同照射处理对花粉败育的影响

对 3种处理的 666个单位枝进行了花粉育性检测 为便于统计,将败育程度分成 A B C 级,各级处理花粉败育情况见表 3

从表 3看出,3种照射处理都产生了一定的败育频率,若以败育率 $\geq 45\%$ 者作为“败育型”的话,整个照射处理的“败育型”频率达 5.26%,可见诱变的效果很明显

不同的处理,其诱变花粉败育的效果也不相同,激光与⁶⁰Co处理的“败育型”频率较高,

分别为 6.48% 和 6.12% ,快中子处理的则很低,仅 0.80% ,说明本试验中激光和⁶⁰Co 处理的效果均优于快中子,这与果实解剖的结果是一致的。关于快中子辐照诱变的剂量,周育彬等(1988)通过对血橙的研究之后认为,应以 $\times 10^{12} \sim \times 10^{13}$ n/cm² 为宜,而本研究采用的剂量为 $(3 \sim 26) \times 10^{10}$ n/cm²,明显偏低,造成诱变效果不理想,这一结果间接地证明了快中子的适宜剂量范围。

表 3 不同照射处理对花粉败育的诱变效果(碘-碘化钾)¹⁾

处理手段	处理剂量	鉴定总枝数	A级		B级		C级		BC之和	
			枝数	%	枝数	%	枝数	%	枝数	%
⁶⁰ Co	43.29~72.15Gy	294	276	93.88	17	5.78	1	0.34	18	6.12
快中子	(3~26) $\times 10^{10}$ n cm ⁻²	125	124	99.20	1	0.80	0	0	1	0.80
激光	-	247	231	93.52	13	5.26	3	1.22	16	6.48
总计	-	666	631	94.74	31	4.66	4	0.60	35	5.26

1) A级败育率 0%~45%; B级败育率 45%~85%; C败育率 85%~100%; CK败育率 6.17%

2.4 优选少核枝果实品质性状

表 4 少核突变枝果实品质表现(1990~1992年)

枝号	年份	果形	果重 /g	果皮厚 /cm	可溶性固形物 /(%)	种子数 /粒	风味
12-2-1	1990	正常	450	1.0	18.0	14	甜
	1991	正常	620	1.1	17.0	20	甜
	1992	正常	720	1.1	17.0	17	特甜
12-4-6	1990	正常	430	1.2	18.0	18	甜
	1991	正常	500	1.1	15.0	12	甜
	1992	正常	720	1.1	13.0	6	甜
12-4-7	1990	正常	350	0.8	18.0	9	甜
	1991	正常	550	1.2	15.5	12	甜
	1992	正常	685	1.3	13.5	13	甜
12-10	1990	正常	550	1.2	17.0	35	甜
	1991	正常	730	1.3	16.0	11	甜
	1992	正常	650	1.1	14.0	19	甜
12-3-B	1990	正常	800	1.2	13.5	19	甜
	1991	正常	820	1.3	13.0	9	甜
	1992	较高颈	850	1.5	14.5	17	甜
31-6-1	1990	正常	850	1.3	12.5	27	甜
	1991	正常	850	1.3	12.5	13	稍淡
	1992	正常	790	1.4	16.0	16	甜
33-23-1	1990	正常	750	1.2	13.5	20	甜
	1991	正常	780	1.4	14.0	19	甜
	1992	正常	900	1.4	15.0	24	甜
CK	1990	正常	1070	1.8	12.5	116.6	甜
	1991	正常	980	1.6	14.5	112.0	甜
	1992	较高颈	950	1.4	13.0	114.0	甜

表 4 中的 7 个单位枝,综合品质较佳且连续 3 年都表现少核或较少核特性,说明其少核变

异性状已经稳定。特别有意思的是,几乎所有变异枝的果实大小都表现随年份而增加的变化规律,并以 ^{60}Co 处理的更明显:4个突变枝的平均果重1990年为445 g,1991年为600 g,1992年为694 g,1990~1992年增幅为55.90%,而12-4-单位枝的则高达95.71%,说明少核突变枝对树体的生理状况有一个逐步适应的过程,少核果实对营养和激素的夺取能力也是逐渐提高的,如能对其分离纯化并提高管理水平,将能进一步增大果实体积。至于风味品质方面,各突变枝都已优于对照,特别是12-2-1,不但果重增长幅度较大,而且固形物含量也一直保持高的水平,可能是多基因变异的结果,值得进一步研究。

3 讨论

3.1 射线处理对果实种子数及品质的影响

射线处理对减少果实种子数的效果很显著。对照植株每果种子数达100多粒,绝大多数饱满,射线处理的果实种子数减少80%以上,并表现出3种类型,其中以大瘪种子最为特殊,其产生的原因、变化趋势以及能否人为控制等问题都很值得研究。如果能使这类种子进一步退化为小瘪种子,将很有意义。

诱变所得的绝大多数少核果,其可溶性固形物含量和风味都能保持甚至超过原有水平,这一现象与其它柑桔品种不太一样(Liang et al, 1991b)。至于果实大小方面,激光处理的单果已达750~850 g, ^{60}Co 处理的1992年最小也有650 g,最大的达到780 g,都已接近正常并具有较高商品价值。还应该指出的是,在以大果型为主要目标的同时,选育出一些品质优良、生产性能良好的小果型无(少)核沙田柚亦有其意义。

3.2 花粉预选的效果及方法

作者对沙田柚的诱变育种工作,早在1984年就已开始,但由于缺乏切实可行的方法,多年来进展甚微,自从1990年春采取了花粉预选之后,短短两年多就取得了较大进展,已获得少(较少)核枝20个和花粉败育枝百余个。采用花粉检测预选无(少)核果实,只在西瓜上取得过成功的经验,在沙田柚上花粉预选的成功,将促进果树射线诱变选种的工作。

要进行花粉预选,就必须找到一种理想的测定方法。作者对发芽法、K-KI染色法、醋酸洋红染色法、过氧化物酶染色法以及形态鉴别法的比较表明,碘染色法和洋红染色法较为可行,碘染色法反应速度快,但稳定性稍差,容易出现较多的过渡类型,适用于田间快速粗选;洋红染色法的最大优点是染色效果很稳定,药品浓度或材料发育的差异对检测结果都没有什么影响,但由于显色较慢(一般要5 min以上),适用于作较深入的复选。

3.3 优选少(较少)核枝的利用

通过照射诱变获得的少核枝,都具有较高的利用价值,除进行高接验证和繁殖试种外,还应考虑进行进一步的辐照诱变。从我们的调查和前人的研究(郑启发,1995)来看,沙田柚也具有一定的单性结果潜能,通过辐照→选择→再辐照→再选择的方式,逐步诱导提高其单性结果的能力(或种胚败育后的座果能力),继续减少果实种子数,将是培育沙田柚无核新类型的可行途径。

参 考 文 献

李玉堂. 1987. 辐射诱变少核红毛橙的初步研究. 四川农业大学学报, 5(4): 285~290

吴绍彝, 梁 军, 林润才, 等. 1985. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线诱发柑桔无籽突变类型的研究. 原子能农业应用, (增

刊): 161~ 166

张镜崑. 1987. 极少核“雪柑”的辐射育种初探. 园艺学报, 14(3): 65~ 68

周绛香, 周育彬, 周开隆, 等. 1986. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线处理柑桔种子诱发无核突变. 中国柑桔, 15(2): 2~ 4

郑启发, 杨淑兮, 杨锦华. 1995. 沙田柚经生长调节剂诱导可单性结实. 福建果树, (4): 6~ 8

周育彬, 彭定秀, 戴增国. 1988. 快中子辐照血橙芽条的诱变效应研究. 中国柑桔, 17(1): 9~ 10

胡运权, 陈力耕, 陈克玲. 1989. 路比雪橙少核株系 2216 的选育及少核原因的初步研究. 中国柑桔, 18(1): 8~ 10

Liang Yuangang, Liu Chengming, Ye Zixing, et al. 1991a. The study on the inducing effects of 3 physical factors to pollen abortion in *Citrus grandis* cv. Shatian. In Huang Bangyan, Yang Qian, eds. Proceedings of International Citrus Symposium. Beijing International Academic Publisher, 297~ 299

Liang Yuangang, Ye Zixing, Liu Chengming, et al. 1991b. Studies on the occurrence frequencies of seedless mutants of irradiation breeding in Citrus. In Huang Bangyan, Yang Qian, eds. Proceedings of International Citrus Symposium. Beijing International Academic Publisher, 287~ 291

PAUCI- SEED BREEDING AND POLLEN PRE- SELECTION OF PHYSICAL MUTAGENIC SHATIAN SHADDOCK

Liu Chengming¹ Li Tao² Liang Yuangang¹

(1 Dept. of Hort., South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642; 2 The Fruit Office of Rongxian)

Abstract

The pollen viability and fruit seed number of 938 unit branches in 74 trees of Shatian shaddock treated respectively with ^{60}Co γ ., fast neutrons and lasers were investigated. Eight few-seed branches (seed No. between 20. 1~ 40. 0 per fruit) and twelve fewer-seed branches (seed No. less than 20 per fruit) were obtained. Results show that laser and ^{60}Co can induce much more few(er) seed branches and higher occurrence frequency of pollen abortion patterns (abortion rate above 45%) than neutrons. It may be concluded that acetocarmine test can be a practical method for pollen pre-selection and it seems that the abortion rate above 45% is a suitable index.

Key words Shatian shaddock; pauci-seed breeding; irradiation induction; pollen pre-selection