

‘塔 1’ 芦柑无核机理探讨^{*}

陈大成 李志勇 胡桂兵

(华南农业大学园艺系, 广州 510642)

摘要 胚乳退化继而诱发胚胎中途败育是导致‘塔 1’无核芦柑突变体形成的主要原因。‘塔 1’芦柑雌配子体初期发育正常,并能顺利完成授粉受精过程,胚胎能发育到球形胚、早心形胚。大约盛花期后 21~24 d,‘塔 1’芦柑的胚乳退化,诱发胚胎中途败育,而后胚胎逐渐消失或发育成瘪粒种子。‘塔 1’芦柑雄配子体有某些异常。花粉生活力及发芽率偏低,扫描电镜观察到花粉变大且畸形花粉粒较多。授粉试验显示‘塔 1’芦柑自交不亲和性较弱,授粉座果率介于 8.33%~62.5%。

关键词 ‘塔 1’芦柑; 无核机理; 胚胎败育

中图分类号 S 666.202

以在广东省博罗县杨村华侨柑桔场新发现的‘塔 1’无核芦柑自然突变体与亲本品种为研究对象,通过授粉试验、雌雄配子体及胚发育观察等对二者进行了比较研究,旨在探索‘塔 1’无核芦柑自然突变体的形成机理。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为广东省博罗县杨村华侨柑桔场塔下分场一队的‘塔 1’无核芦柑及同果园普通芦柑(亲本品种)作对照(CK)。

1.2 方法

‘塔 1’芦柑与 CK 雄配子体对比:花粉生活力测定采用苯胺蓝染色法。花粉发芽率测定:在 10 g/L 琼脂+0.1 g/L 硼酸+100 g/L 蔗糖的培养基上播粉,待花粉萌发后,镜检花粉发芽情况。每个样品 5 个重复,每重复观察 10~20 个视野。花粉母细胞减数分裂染色体行为观察:采用醋酸苏木精染色,压片法观察。花粉形态观察:取已开裂的花药用冰乙酸固定,用额尔特曼(G. Erdtman)醋酸酞分解法(宋之琛,1965)分解花粉,扫描电子显微镜(JSM-25S 型,工作电压 15 kV)下观察花粉萌发沟孔特征和外壁纹饰特征,光学显微镜下观察花粉粒大小、形态,测量花粉极轴长(P)和赤道轴长(E),统计花粉畸形率(10 个视野)。花粉粒大小为 20 个的统计值并计算其极轴与赤道轴的比值(P/E)。

‘塔 1’芦柑与 CK 授粉试验:(1)‘塔 1’芦柑花蕾含苞待放时,分别套袋(不去雄)。(2)以‘塔 1’芦柑为母本,用芦柑 CK 和改良橙花粉进行人工授粉。改良橙花粉取自塔下分场场部改良橙园。(3)以芦柑 CK 为母本,人工授以‘塔 1’芦柑花粉。授粉 7~8 d 后统计座果率。果实成熟后再统计授粉组合的座果率,分析授粉果实种子数。

‘塔 1’芦柑与 CK 雌配子体及胚胎发育比较:从授粉起 1 个月内每隔 3 d 取花或幼

果,材料投入卡诺固定液带回,用医用注射器进行抽气后,固定 12 h 左右,置于体积分数为 70% 的酒精保存于冰箱(4℃左右)备用.用旋转式切片机进行石蜡包埋切片(切片厚度 8~12 μm),染色后制成永久片在光学显微镜下镜检.

2 结果与分析

2.1 ‘塔 1’ 芦柑与 CK 雄配子体对比

花粉生活力及发芽率比较:统计结果表明,‘塔 1’ 芦柑的花粉生活力为 42.97%,CK 为 81.86%;‘塔 1’ 芦柑的发芽率为 18.07%,CK 为 26.23%,差异均达极显著水平.总的来看,‘塔 1’ 芦柑的花粉具有一定的生活力和发芽率,但同亲本品种相比,仍属较低.

花粉母细胞减数分裂染色体行为比较:‘塔 1’ 芦柑的花粉母细胞在其减数分裂中存在两种异常.一种是染色体异常,包括中期 I 染色体离开赤道板(图版—1),染色体桥(图版—2);另一种是小孢子的数目异常,‘塔 1’ 芦柑的四分体时期出现大量不正常的分体,有三分体、不等分四分体、五分体、六分体,甚至更多的分体(图版—3).观察结果表明,‘塔 1’ 芦柑雄配子发育存在一定异常.

花粉粒形态观察:花粉极轴长‘塔 1’ 芦柑为(36.8±2.6) μm,CK 为(31.2±1.8) μm;赤道轴长‘塔 1’ 芦柑为(35.2±1.8) μm,CK 为(28.6±1.4) μm,无论是极轴还是赤道轴长度,二者之间差异均极显著.

扫描电镜观察到 CK 花粉粒大小均一,赤道面观为四裂圆形,沟孔相交呈十字形,极面观为椭圆形至圆形($P/E=1.04$),花粉表面平坦,畸形花粉粒很少(图版—4);而观察‘塔 1’ 芦柑花粉粒时可见有五裂沟、六裂沟、萌发沟深陷、花粉表面凹凸不平等较多的畸形花粉粒(图版—5).随机统计 10 个视野,‘塔 1’ 芦柑花粉畸形率达 21.33%,而 CK 畸形率为 4.7%,二者之间具有极显著差异.

‘塔 1’ 芦柑花粉形态显著变大,花粉畸形率显著偏高,这与其花粉发芽率较低的结果是一致的.

2.2 ‘塔 1’ 芦柑与 CK 授粉试验

1995 年 4 月 11~12 日授粉后,4 月 19 日去袋统计座果率.所有授粉组合都能有较高的座果率,而且经过当年多次台风雨的恶劣气候,在果实采收时仍能基本上座住果(见表 1).由此看来,‘塔 1’ 芦柑自交不亲和性不明显,花粉的亲合力较好.

表 1 ‘塔 1’ 芦柑与 CK 授粉试验座果率比较¹⁾

试验项目	A×B	A×C	A×A	B×A
授粉花朵数	12	8	30	18
座果率(%) ²⁾	33.3	76.6	80.8	61.7
座果率(%) ³⁾	8.33	62.5	16.7	22.2

1) A 为‘塔 1’ 芦柑, B 为芦柑 CK, C 为改良橙; 2) 授粉后一周统计; 3) 果实采收时统计

另外,根据笔者对授粉果实的性状分析,以‘塔 1’ 芦柑为母本的授粉果实,果实种子数少(3 粒以下/果),这说明给其以正常花粉授粉仍可保持无核性状,另外从座果正常及能产生少量种子可推断这些授粉组合均能较好完成授粉受精过程,果实无核发生的时间当在此之后,‘塔 1’ 芦柑自花授粉的果实大果、高身、少核,从此可推测其花粉仍具相当的育性;以 CK

为母本,授以‘塔1’芦柑花粉,授粉果实种子数仍较少(3.3粒/果),据此可推断‘塔1’芦柑的花粉育性仍比CK低,这与花粉的生活力与发芽率试验结果基本相符。

2.3 ‘塔1’芦柑与CK雌配子体及胚胎发育比较

二者的雌配子及胚胎发育石蜡切片观察显示,‘塔1’芦柑的雌配子体基本上是正常的,雌配子体子房上位,通常9~10室,每室1至多个胚珠,胚珠倒生,胚囊发育属蓼型。胚胎早期发育正常,可见球形胚、早心形胚(图版—6,7),游离型胚乳包围胚胎。大约盛花期后21~24 d,‘塔1’芦柑的胚乳开始退化(图版—8),退化开始时胚囊周缘游离型粘稠状胚乳渐呈浅黄—鹅黄—淡绿色,接着液体化稀释,渐变透明,而后消失(图版—9)。与此同时,胚胎也逐渐退化,以后消失(图版—10)或发育成瘪粒种子(图版—11)。而CK的胚乳仍保持粘稠状,胚胎仍继续发育。盛花后30 d统计‘塔1’芦柑的胚胎败育率约为80%~85%。由此可见,胚乳退化继而诱发胚胎中途败育最终导致了‘塔1’无核芦柑突变体的形成。

3 讨论

3.1 关于‘塔1’芦柑的雄配子体

‘塔1’芦柑的花粉具有一定的生活力和发芽率,但其育性较CK低,这必然对正常授粉受精产生或多或少的影 响。但这种花粉低育是否是导致形成无核性的主要原因呢?答案是否定的。首先可以看到,‘塔1’芦柑花粉的生活力和发芽率分别为42.97%和18.07%,花粉仍具有相当的育性。另外,扫描电镜观察到的无核突变体的畸形花粉率不太高(最高为 $21.33\% \pm 0.06\%$),而芦柑花粉量较多,每个花药含6 000~10 000粒花粉粒(张谷雄,1986),故仍能在一定程度上满足正常授粉受精的需求。因此,只能说雄性低育是导致形成无核性的原因之一,但不是主要原因。至于‘塔1’芦柑的染色体倍数,经观察计数,未发现染色体倍数异常,属正常的二倍体($2n=18$)。

3.2 关于‘塔1’芦柑无核性的主要成因

有关柑桔胚胎学的研究,前人已有不少报道(白志川,1989;傅文吾等,1981)。芦柑的胚胎学观察,则仅见Chen等(1995)有报道,但他们并没有观察胚胎的发育情况。大部分的研究者发现在雌性不育方面主要是胚囊败育(Brooks,1948;Rallo et al,1981)。Chen等(1995)研究了桂林梁丰无核芦柑的无核原因,结果发现也是由于其胚囊在形成前后大量败育退化导致无核。胚胎中途败育导致无核亦有过报道(王近卫等,1992;李淑久等,1987;中川昌一,1982;Martin et al,1985),笔者的研究结果表明,‘塔1’芦柑的雌配子体基本正常,胚及胚乳早期发育亦正常,可见球形胚、早心形胚及粘稠状的游离胚乳,但随后(大约盛花后21~24 d)发生胚乳退化现象,几乎是同时,胚也发生中途败育,最终消失或形成瘪粒。胚乳退化继而诱发胚胎中途败育导致了‘塔1’无核芦柑突变体的最终形成。胚胎的败育率为80%~85%,仅有极少量胚珠能继续发育,这与笔者采果后分析的种子数相当吻合。

3.3 关于自交不亲和性与‘塔1’芦柑无核的关系

授粉试验的结果显示,以‘塔1’芦柑为母本,无论自交或杂交都能正常座果,但所结果实也均为无核(3粒以下/果),说明自交不亲和性不是形成‘塔1’芦柑无核的主要原因。另外,笔者也对‘塔1’芦柑树体营养变化进行了测试,发现树体营养与‘塔1’芦柑无核性状的形成关系不大。

综合上述试验结果可以知道,胚乳退化继而诱发胚胎中途败育是导致‘塔1’无核芦柑突

变体形成的主要原因. 有关诱发胚乳退化的机制, 仍待进一步的研究.

参 考 文 献

- 王近卫, 岷内昭作, 林伯年, 等. 1992. 无核白葡萄的无核果形成的组织形态学研究. 园艺学报, 19(1): 1~6
- 白志川. 1989. 梁平柚的胚胎学研究. 西南农业大学学报, 11: 288~291
- 宋之琛. 1965. 孢子花粉分析. 北京: 科学出版社, 39~47
- 李淑久, 胡适宜. 1987. 刺梨胚及胚乳的发育. 植物学报, 20(4): 347~353
- 张谷雄, 周兆球, 杨家泓, 等. 1986. 柑桔若干开花特性的研究. 浙江柑桔, (4): 7~11
- 傅文吾, 姚秀缙. 1981. 柑桔的胚胎发育与果实生长的形态解剖观察. 华中农学院学报, 3(1): 35~48
- 中川昌一. 1982. 果树园艺原论. 曾 骧, 孟昭清, 傅玉瑚, 等译. 北京: 农业出版社, 182~390
- Brooks R M. 1948. Seasonal incidence of perfect and staminate olive flowers. Proc Amer Soc Hort Sci, 52: 213~218
- Chen L S, Wan S Y. 1995. Studies on cytology and embryology of guilin-liangfeng seedless ponkan(*Citrus reticulata* Blanco). Acta Horticulturae, 403: 16~25
- Martin J B, Retamales J B, Xu Shaoying et al. 1985. Induction of parthenocarpic fruit growth in sour cherry with N-substituted Phthalimide and NAA. Hortscience 20(6): 1 083~1 085
- Rallo L, Martin G C, Lavee S. 1981. Relationship between abnormal embryo sac development and fruitfulness in olive. J Amer Soc Hort Sci, 106(6): 813~817

STUDIES ON SEEDLESS MECHANISM IN ‘TAYI’ SEEDLESS PONKAN (*Citrus reticulata*)

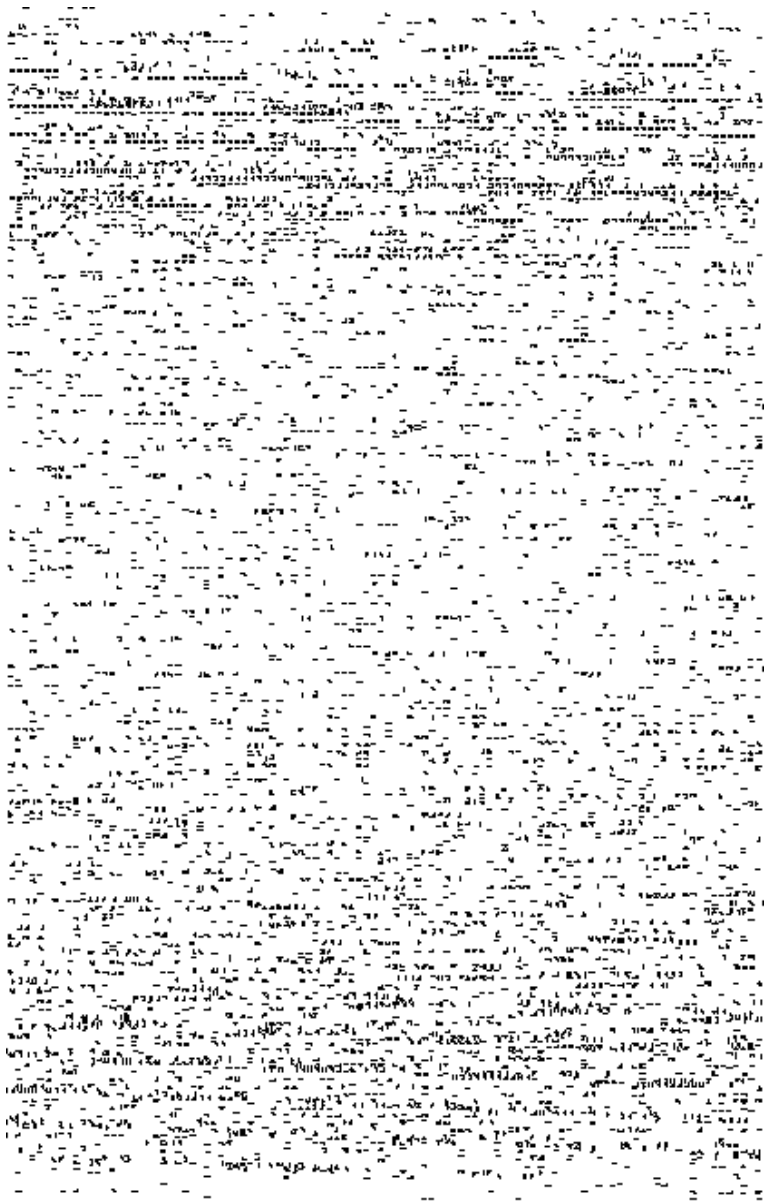
Chen Dacheng Li Zhiyong Hu Guibing

(Dept. of Hortic., South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Endosperm degenerated and then caused midway embryo abortion was the main reason which led to spontaneous mutation of ‘Tayi’ ponkan. Female gamete of seedless mutant grew normally in early period and pollinated successfully, the embryo was able to grow to spherical or early cordate embryo. Endosperm of seedless mutant began to degenerate about 21~24 days after full-bloom period and induced the embryo abortion, then the embryo disappeared gradually or grew to be rudimentary seeds. Male gamete of seedless mutant was abnormal to some extent. The pollen viability and germinating percentage of the pollen were inclined to lower. Under the scanning electronic microscope, the pollen grains were bigger with more teratism ones. Pollination test showed that the self-incompatibility of seedless mutant was lower and the percentage of setting fruit was between 8.33% and 62.5%.

Key words ‘Tayi’ ponkan; seedless mechanism; embryo abortion



图版 ‘塔 1’ 芦柑花粉母细胞减数分裂染色体行为、花粉扫描电镜和胚胎发育观察

1 ‘塔 1’ 芦柑中期 染色体离开赤道板; 2 塔 1’ 芦柑后期 染色体桥; 3 ‘塔 1’ 芦柑五分体; 4 普通芦柑极面观 $\times 3\ 000$; 5 塔 1’ 芦柑极面观, 示六裂沟及畸形花粉 $\times 1\ 500$; 6 ‘塔 1’ 芦柑球状胚; 7 塔 1’ 芦柑早心型胚; 8 ‘塔 1’ 芦柑胚珠内容物开始液体化(受精后 21 d 左右); 9 ‘塔 1’ 芦柑胚囊, 胚已基本不可见(受精后 24 d 左右); 10 ‘塔 1’ 芦柑胚珠内容物消失(受精后 24 d 左右); 11 ‘塔 1’ 芦柑子房横切, 仅见少量胚珠(受精后 30 d 左右)