

应用柑橘异源四倍体杂种花粉 生产瘪籽沙田柚果实

刘可慧^{1,2}, 曾继吾¹, 于方明³, 张秋明⁴, 易干军^{1*}

(1. 广东省农业科学院 果树研究所, 广州 510640; 2. 桂林电子科技大学 应用科技学院, 桂林 541004;
3. 广西师范大学 资源与环境学院, 桂林 541004; 4. 湖南农业大学 园艺园林学院, 长沙 410128)

摘要: 以3个柑橘异源四倍体体细胞杂种(即四倍体粗柠檬与哈姆林甜橙体细胞杂种, 简称“HR”; 酸柚与粗柠檬体细胞杂种, 简称“SR”; 墨西哥来檬与伏令夏甜橙体细胞杂种, 简称“KV”)为父本, 分别与二倍体单胚性沙田柚进行有性杂交, 在生产上获得瘪籽沙田柚果实, 并对果实品质进行分析(以四季柚花粉亲本为对照)。结果表明: 授予柑橘异源四倍体杂种花粉的果实种子败育十分明显, 果实瘪籽率达41.4%~96.0%, 与对照间的差异极显著($P < 0.01$); 但果实单果重、果肉重、果皮重、果皮厚和果形指数与对照间无显著性差异($P > 0.05$); 果实可溶性固形物、全糖、Vc和可滴定酸含量与对照也无明显变化, 且较适合于瘪籽沙田柚果实生产的体细胞杂种是HR和SR。

关键词: 体细胞杂种; 瘪籽沙田柚果实; 品质

中图分类号: S666 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2010)04-0534-04

Seedless fruits producing with somatic hybrid as male parents

LIU Ke-Hui^{1,2}, ZENG Ji-Wu¹, YU Fang-Ming³,
ZHANG Qiu-Ming⁴, YI Gan-Jun^{1*}

(1. Pomology Institute of Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; 2. College of Applied Science and Technology, Guilin University of Electronic Technology, Guilin 541004, China;
3. College of Resource and Environment, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China;
4. College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Diploid Shatian pummelo was used as the female and crossed with the allotetraploid somatic hybrids (*Citrus jambhiri*+*C. sinensis*(HR); *C. grandis*+*Rough lemon*(SR); *C. aurantiifolia*+*C. sinensis*(KV)) to generate seedless Shatian pummelo, at the same time, the fruits' qualities were analyzed (using *Citrus grandis* pollen as the control). Results showed that the seed abortion phenomena were very clear. The rates of deflated fruit seeds of treatments were 41.1%—96.0%, the corresponding value of control was only 2%. There were no significant differences between treatments and control including average fruit weight, pulp weight, pericarp weight, pericarp thickness, fruit shape, percentage of edible and solubility of solid substance, as well as total sugar, Vc and titratable acid content, though some values were lower than those of control. Two suitable allotetraploid somatic hybrids (HR and SR) for seedless fruits producing were selected (the rates of seedless seeds were over 89.1%).

Key words: somatic hybrids; seedless Shatian pummelo fruit; qualities of fruits

收稿日期: 2008-06-18 修回日期: 2009-02-27

基金项目: 广东省科技攻关项目(2002A2080303); 桂林电子科技大学博士启动基金(Z20718)[Supported by the Scientific and Technological Project of Guangdong Province(2002A2080303); Dr. Initial Foundation of Guilin University of Electronic and Technology(Z20718)]

作者简介: 刘可慧(1976-), 女, 湖南邵阳人, 博士, 主要从事环境生态学和全球变化生态学研究, (E-mail) coffeeleave@126.com.

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: yiganjun@vip.163.com)

沙田柚(*Citrus grandis* cv. Shatian)是亚热带常绿果树。其果大形美,品质优良,有健胃、清热、润肺、化痰止咳等功效,是老百姓喜爱的优良果品之一。但沙田柚种子数量较多,在一定程度上影响了其可食率和商品性。因此,如何在生产上获得瘪籽沙田柚,使种子数量大幅度减少,更好地满足市场需求,是沙田柚生产者及科技工作者一直追求的目标。

随着生物技术的发展,特别是体细胞融合技术的成功应用,在柑橘上创造了一大批异源四倍体体细胞杂种,这为开展柑橘三倍体育种提供了优良的亲本,成为无核柑橘培育的新途径(Grosser 等, 2000; Grosser & Gmitter, 2005)。如邓秀新等(1996)以异源四倍体体细胞杂种为父本与单胚柚子品种和单多胚混合型品种本地早桔杂交,获得了一些具有三亲性状的柑桔三倍体植株。Guo 等(2004)对田间的异源四倍体杂种性状进行评价,检测出一些优良的组合,这为接穗改良及在多倍体育种提供了新的可能。然而,柑桔育种周期长,新品种在成为商业品种之前还需进行大量的品种比较试验和农艺性状的评价(邓秀新等, 1996; 伊华林等, 1998; 宋健坤等, 2005)。当这些三倍体柑橘在生产上还未推广之前,将异源四倍体体细胞杂种花粉授予二倍体柑桔

是获得无核果实的一条可行的途径。因此,本研究通过大田实验,将不同来源的异源四倍体体细胞杂种花粉授到二倍体单胚性沙田柚柱头上,以期获得瘪籽沙田柚果实,并对果实进行品质分析,旨在初步筛选出适合无籽沙田柚果实生产的体细胞杂种。

1 材料与方 法

试验于 2003 年在广东省梅州市兴宁市龙威农业发展有限公司果园内进行。试验地为红壤丘陵山地,土层深厚。年均气温 21.2 °C, ≥10 °C 的年积温 7 762 °C(李鸿海等, 2000)。

1.1 试验材料

在试验地选取 8 株生长与结果正常的、株龄 10 年的沙田柚树为供试母本。供试父本分别为四倍体粗柠檬(*Citrus jambhiri*)与哈姆林甜橙(*C. sinensis*)体细胞杂种,简称“HR”;酸柚(*C. grandis*)与粗柠檬(*Rough lemon*)体细胞杂种,简称“SR”;墨西哥来檬(*C. aurantifolia*)与伏令夏甜橙(*C. sinensis*)体细胞杂种,简称“KV”。同时,以四季柚(*C. grandis*)花粉亲本为对照。异源四倍体体细胞花粉由华中农业大学邓秀新教授课题组提供。

表 1 授粉对沙田柚种子发育的影响

Table 1 Effects of pollination on seed development of Shatian pummelo

处理 Treatment	种子数 No. of seeds	饱满种子数 No. of normal seeds	瘪籽数 No. of seedless seeds	种子重(g) Weight of seeds	瘪籽率(%) Rate of seedless seeds
H	104	4	100	8.0C	96.0A
S	159	17	142	11.6C	89.3A
K	145	85	60	52.3B	41.4B
CK	153	150	3	65.0A	2.0C

注:表中同列的不同字母表示 Tukey's HSD 法在 1%水平的差异显著($n=10$)。

Note: Different letters indicate significant differences at 0.01 level according to Tukey's HSD($n=10$).

1.2 试验方 法

1.2.1 授粉时期与方法 授粉试验于 2003 年 3 月 20~22 日进行。选取供试母本上的铃铛型花,将花瓣轻轻掰开,露出柱头,用毛笔沾上待授花粉,轻点在柱头上,并挂牌。每种花粉授 2 棵树,将未授粉的花和小幼果去除,授粉树管理与生产园其它树相同。2003 年 6 月 20 日对果实进行套袋。其中沙田柚×HR 组合简称“H”;沙田柚×SR 组合简称“S”;沙田柚×KV 组合简称“K”;沙田柚×四季柚组合简称“CK”。

1.2.2 果实品质分析 果实成熟后,于 2003 年 10 月 29 日随机选取各处理的成熟果实 10 个,测定单果重、种子数(分败育和发育完全的种子)、果形指

数、可食率(%)、总糖、可滴定酸和维生素 C(Vc)含量。其中:可食率(%)=(单果总重量-种子重-外果皮重-中果皮重-囊皮重量)/单果总重)×100;总糖采用蒽酮法;可滴定酸采用中和滴定法;Vc 含量采用碘量法(中国农业标准汇编, 2002)。

1.2.3 数据处理 采用 SPSS for windows 10.0 软件进行数据处理。

2 结果与分 析

2.1 授粉对果实种子败育的影响

由表 1 可知,处理间种子总数量差别不大,但

H、S、K 处理的饱满种子数量明显低于对照。H 处理平均每果饱满种子数仅 4 颗,种子重量和瘪籽率与对照之间的差异达到极显著水平 ($n=10, P<0.01$)。三个处理之间, H 和 S 处理的瘪籽率极显著的高于 K 处理 ($n=10, P<0.01$)。表明, 授予异源四倍体花粉后, 沙田柚的种子发育受到明显影响, 种子发育异常。同时, 杂交父本的选择对瘪籽率有着极重要的影响。

2.2 授粉对果实内质的影响

对果实中可溶性固形物、含酸量、Vc 含量分析如表 2 所示, 除 K 处理的个别指标外, 三个处理的可溶性固形物, 全糖含量略低于对照; 而可滴定酸和 Vc 含量略高于对照, 但均无显著性差异 ($n=10, P>0.05$)。H、S 和 K 处理的糖酸比分别为 36.6、38.5 和 41.36 与对照的糖酸比(41.44)也没有显著

性差异 ($n=10, P>0.05$)。表明授异源四倍体花粉后不会显著影响沙田柚果实内质。

表 2 授粉对沙田柚果实内质分析
Table 2 Effects of pollination on fruit qualities of Shatian pummelo

处理 Treatment	可溶性固形物 Solubility of solid substance (%)	全糖 Total sugar content (g/100mL)	可滴定酸 Source content (g/100mL)	维生素 C Vc content (mg/100mL)
H	11.80a	9.87a	0.27a	60.12a
S	11.90a	10.02a	0.26a	57.32a
K	12.01a	10.34a	0.25a	56.25a
CK	12.00a	10.36a	0.25a	56.17a

注: 表中同列的相同字母表示 Tukey's HSD 法在 5% 水平的差异不显著 ($n=10$)。下同。

Note: Same letter indicates no significant differences at 0.05 level according to Tukey's HSD ($n=10$). The same below.

表 3 授粉对沙田柚果实外观的影响

Table 3 Effects of pollination on fruit appearances of Shatian pummelo fruit ($n=10$)

处理 Treatment	单果平均重 (g) Average fruit weight	果肉重地 (g) Pulp weight	皮重 (g) Pericarp weight	果皮厚 (cm) Pericarp thickness	果形指数 Index of fruit shape	可食率 (%) Percentage of edible
H	1328.2a	785a	585a	1.49a	1.21a	59.1a
S	1431.1a	810a	609a	1.49a	1.23a	56.6a
K	1541.3a	846a	645a	1.58a	1.23a	54.9a
CK	1538.6a	826a	647a	1.60a	1.26a	53.7a

2.3 授粉对果实外观的影响

对果实的外观进行观察, 授异源四倍体花粉的果形大小和果皮光滑度与对照间无明显差别, 且果实单果重、果肉重、果皮重、果皮厚、果形指数以及可食率与对照间均无显著性差异 ($n=10, P>0.05$) (表 3)。表明授异源四倍体花粉后, 对果实外观影响不明显。

3 讨论

无核柑桔育种的目标是获得无核、少核的优良性状而不改变其他有利性状或再引入更优性状。本研究以 3 个柑橘异源四倍体体细胞杂种为父本, 与二倍体单胚性沙田柚进行有性杂交, 在生产上获得瘪籽沙田柚果实, 且果实外观和内质与对照相比均没有明显改变, 并以 HR 和 SR 处理的效果较好。这表明, 利用四倍体与二倍体杂交是培育无核果实的有效途径, 且杂交亲本不同, 其杂交效果有所不同, 这与邓秀新等 (1996), 伊华林等 (1998), 宋健坤等 (2005) 的研究结果相似。但沙田柚属于自交不亲和品种, 在生产上要靠其它树作为授粉树 (如酸柚, 四季柚)。因此, 当三倍体柑橘在生产上没有推广之

前, 通过培养四倍体杂种作为授粉树生产瘪籽沙田柚没有增加授粉的成本, 值得推广。

本研究结果表明, 虽然处理后的果实在外观和内质上与对照没有明显差异, 但果实瘪籽率 (41.4%~96%) 和种子重 (8.0%~52.3%) 差别较大。因此, 在进行该项技术推广时还需要进一步筛选适合于无籽沙田柚生产的体细胞杂种, 并在无籽的前提下提高果实的品质。同时, 异源四倍体由原生质体融合而来, 材料较少, 在进行瘪籽沙田柚大面积生产时, 花粉量可能供应不足, 仅靠异地提供花粉将会增加授粉的成本, 故可在生产基地高接枝条, 或配置授粉树以解决上述问题。另外, 异源四倍体杂种花期可能与沙田柚的花期不遇, 故需要进一步探讨花粉的贮藏条件和贮藏方法。

致谢 感谢广东省果树研究所周碧蓉研究员和吴元立老师对本研究的指导和辛勤付出; 感谢广东省梅州市兴宁市龙威农业发展有限公司为本实验提供了良好的实验场地。

参考文献:

中国标准出版社第一编辑室. 2002. 中国农业标准汇编. 果蔬

- 卷[M]. 北京:中国标准出版社;199—200
- Deng XX(邓秀新), Yi HL(伊华林), Li F(李锋), *et al.* 1996. Triploid citrus plants obtained from crossing the diploids with allotetraploid somatic hybrids(以异源四倍体体细胞杂种为父本杂交培育三倍体柑桔植株的研究)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **138**(8):631—636
- Grosser JW, Gmitter Jr FG. 2005. Applications of somatic hybridization and cybrization in crop improvement with citrus as a model[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, **41**:220—225
- Grosser JW, Ollitrault P, Olivares-Fuster O. 2000. Somatic hybridization in citrus: An effective tool to facilitate variety improvement. *In vitro* cellular and developmental biology [J]. *Plant*, **36**:434—449
- Guo WW, Prasad D, Serrano P, *et al.* 2004. Citrus somatic hybridization with potential for direct tetraploid scion cultivar development[J]. *The J Hort Sci Biotechn*, **79**:400—405
- Li HH(李鸿海), Wu ZW(吴志伟). 2000. The study of Shantian pummelo adaptability to climate of Meizhou city(梅州沙田柚气候适应性研究)[J]. *Guangdong Weather*(广东气象), Suppl(增刊):65—68
- Song JK(宋健坤), Guo WW(郭文武), Yi HL(伊华林), *et al.* 2005. Creation of triploid citrus plants by crossing elite allotetraploid somatic hybrid pollen parents with diploid cultivars(以异源四倍体体细胞杂种为父本与二倍体杂交创造柑橘三倍体的研究)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), **32**(4):594—598
- Wu FG(伍福国). 1991. A briefing report on seedless orange 'Xuannan 1'(核红桔'宣南一号'选育初报)[J]. *China Citrus*(中国柑桔), **20**(4):18
- Yi HL(伊华林), Deng XX(邓秀新). 1998. A study of culture of citrus triploid plantlets(培养三倍体柑桔植株的研究)[J]. *J Fruit Sci*(果树科学), **15**(3):212—216
- Zhou YB(周育彬), Peng DX(彭定秀), Cao L(曹立), *et al.* 1999. A briefing study of seedless Citrus culture(无核雪柑选育研究简报)[J]. *J Southern China Fruit*(中国南方果树), **28**(4):8

(上接第 450 页 Continue from page 450)

致谢 室内标本鉴定得到广西植物研究所韦发南研究员的帮助;中国科学院华南植物园邓云飞博士和广西植物标本馆蒲高忠硕士参加了野外工作;广西师范大学生命科学学院韦玉梅硕士提供标本;在此谨表谢意。

参考文献:

- 方文培, 胡文光. 1990. 中国植物志(第 56 卷)[M]. 北京:科学出版社:214
- 李振宇, 王印政. 2004. 中国苦苣苔科植物[M]. 郑州:河南科学技术出版社:10—439
- 李锡文. 1982. 中国植物志(第 31 卷)[M]. 北京:科学出版社:38—40
- 李光照. 2004. 蜘蛛抱蛋属植物[M]. 南宁:广西科学技术出版社:88—89
- 谷粹芝. 1999. 中国植物志(第 52 卷第 1 分册)[M]. 北京:科学出版社:117—119
- 陈心启. 1999. 中国植物志(第 18 卷)[M]. 北京:科学出版社:184
- 林尤兴. 2000. 中国植物志(第 6 卷第 2 分册)[M]. 北京:科学出版社:18
- 郎楷永. 1999. 中国植物志(第 17 卷)[M]. 北京:科学出版社:199—200
- 程用谦. 1996. 中国植物志(第 79 卷)[M]. 北京:科学出版社:46—48
- Chen SC, Liang SY, Xu JM, *et al.* 2000. Liliaceae[M]//Wu CY, Raven PH(eds). *Flora of China*(24). Beijing: Science Press; St. Louis; Missouri Botanical Garden Press; 245
- Fu LG, Li N, Mill RR. 1999. Taxaceae[M]//Wu CY, Raven PH(eds). *Flora of China*(4). Beijing: Science Press; St. Louis; Missouri Botanical Garden Press; 92—93
- Ho TN, Pringle JS. 1995. Gentianaceae[M]//Wu CY, Raven PH(eds). *Flora of China*(16). Beijing: Science Press; St. Louis; Missouri Botanical Garden Press; 3
- Wang WT(王文采). 1983. Revisio *Lysionoti* Sinici(Gesneriaceae)(中国吊石苣苔属修订)[J]. *Guihaia*(广西植物), **3**(4):249—284
- Wang WT, Pan KY, Li ZY, *et al.* 1998. Gesneriaceae[M]//Wu CY, Raven PH(eds), *Flora of China*(18). Beijing: Science Press; St. Louis; Missouri Botanical Garden Press; 244—401
- Wang YZ, Krosnick SE, Jorgensen PM, *et al.* 2007. Passifloraceae[M]//Wu CY, Raven PH(eds). *Flora of China*(13)[M]. Beijing: Science Press; St. Louis; Missouri Botanical Garden Press; 148