

高丛蓝莓杂交育种及种子萌发研究

朱宏芬¹, 刘健¹, 徐兵兵² (1. 宁波市农业科学研究院, 浙江宁波 315040; 2. 宁波大学, 浙江宁波 315211)

摘要 [目的]创新蓝莓种质资源, 培育新品种。[方法]以6个高丛蓝莓品种为材料, 采用4种授粉方式进行人工杂交, 设5个赤霉素溶液浸种处理, 研究赤霉素对杂交种子发芽率的影响。[结果]选取即将开放的花蕾去雄授粉, 以去雄后直接授粉的结实率最低, 去雄后5 d授粉的结实率最高。参试6个高丛蓝莓品种具有较高的杂交亲和性, 不同杂交组合的结实率、坐果率不同且不呈正相关, 同一对亲本的正反交结实率有较大差异, 薄雾×夏普兰结实率、坐果率最高(分别为87.2%、62.8%), 莱格西×奥尼尔结实率最低(为65.4%), 布里吉塔×南金坐果率最低(为41.5%)。杂交果实的成熟期提前, 杂种果实性状受母本影响较大。不同浓度赤霉素处理的始发芽时间均显著缩短, 200 mg/L赤霉素是奥尼尔×南金发芽最佳处理, 大于600 mg/L赤霉素浸种不利于奥尼尔×夏普兰发芽。赤霉素处理不同组合的杂交种子发芽率在35.0%~75.0%, 始发芽时间在20~30 d。[结论]相同倍性蓝莓品种杂交亲和性较高, 授粉以去雄后3~5 d为宜, 赤霉素处理能显著缩短杂交种子的始发芽时间。

关键词 高丛蓝莓; 杂交; 种子萌发

中图分类号 S603 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)36-0055-03

Research on Hybrid Breeding and Seed Germination Technology of Highbush Blueberry

ZHU Hong-fen¹, LIU Jian¹, XU Bing-bing² (1. Ningbo Academy of Agricultural Sciences, Ningbo, Zhejiang 315040; 2. Ningbo University, Ningbo, Zhejiang 315211)

Abstract [Objective] In order to innovate the germplasm resources and cultivate new varieties of blueberry. [Method] Selecting 6 highbush blueberry cultivars, the effect of GA₃ on the germination rate of hybrid seed was studied using 4 pollination methods of artificial hybridization by setting 5 gibberellin solution soaking treatment. [Result] Selecting open bud pollinate after emasculation, the seed setting rate of direct pollination was the lowest, after 5 days emasculation rate was the highest. The 6 tested varieties had high cross compatibility. The seed setting rate, fruit setting rate was different and not positively correlated in different combinations. There was a big difference between the reciprocal cross of the same pair of parents in the seed setting rate. The seed setting rate, fruit setting rate of 'Misty × Sharpblue' was the highest, respectively 87.2%, 62.8%, the seed setting rate of 'legacy × O'neal' (65.4%) was the lowest, the fruit setting rate of 'Brigitta × Southgold' (41.5%) was the lowest. The mature period of hybrid fruit was ahead of time, and affected by the female parent. The germination time was significantly shortened at different concentrations of GA treatment, 200 mg/L GA₃ was the best treatment of OS germination, more than 600 mg/L GA₃ is not conducive to the germination of OX. The germination rate of hybrid seeds treated with different combinations of GA₃ ranged from 35.0% to 75.0%, and the germination time ranged from 20 to 30 d. [Conclusion] The hybrid affinity of the same ploidy blueberry cultivars was higher. The pollination treatment of 3-5 days after emasculation was appropriate. Gibberellin treatment can significantly shorten the initial germination time of hybrid seeds.

Key words Highbush blueberry; Hybridization; Seed germination

蓝莓(Blueberry)为杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium* Spp.)多年生落叶或常绿灌木或小灌木树种。我国有91个种28个变种, 主要分布于东北和西南地区^[1]。蓝莓是一种经济价值较高的新兴果树, 果实可食用, 在营养、保健、医药等方面也有重要价值^[2-3]。我国于20世纪80年代初开始引进美国、加拿大等地优良品种, 并已开启蓝莓育种研究, 推动了我国蓝莓产业发展。蓝莓栽培品种主要通过野生选种、实生选种、杂交育种和倍性育种获得, 其中, 杂交育种是最重要方式^[4]。

目前我国蓝莓种植品种基本为国外品种, 培育新品种对蓝莓产业的健康发展意义重大。笔者以6个高丛蓝莓品种为试验材料进行人工杂交, 对杂种结实率、坐果率、果实性状、杂交种子数量及不同浓度赤霉素对杂交种子发芽率的影响进行研究, 以期对蓝莓杂交育种提供理论依据。

1 材料与方

1.1 试验地概况 试验地位于宁波市高新农业园区内, 属亚热带季风性湿润气候, 四季分明, 年均日照时数2 070 h, 年均太阳能辐射量110.2 kJ/cm², 全年无霜期238 d, 年平均气

温16.2℃, 年均降水量1 538.8 mm, 年均雨日174 d, 年均相对湿度82.4%。

1.2 试验材料 供试6个高丛蓝莓品种为奥尼尔(O)、薄雾(M)、夏普兰(X)、南金(S)、莱格西(L)、布里吉塔(B)。所用花粉采自温室内。

1.3 试验方法

1.3.1 杂交组合设置。奥尼尔、薄雾, 奥尼尔、莱格西为亲本分别进行正反交(OM、MO、OL、LO), 奥尼尔、薄雾为母本, 夏普兰为父本(OX、MX), 奥尼尔、薄雾、夏普兰、布里吉塔为母本, 南金为父本(OS、MS、XS、BS), 共10个杂交组合。

1.3.2 花粉采集与处理。在温室蓝莓花序未开放前, 选所需品种花序, 用透明塑料袋套袋, 防止串粉, 在盛花期, 选花序中已开放的花朵, 用镊子轻触碰花朵, 将花粉散落在玻璃瓶内, 标记品种名称及采集时间, 4℃低温密封保存, 授粉前2 h将花粉取出。

1.3.3 杂交授粉处理。选取母本树上即将开放的花序, 去除花序中已开放和过小的花蕾, 选取即将开放的花蕾, 用镊子去掉花瓣和雄蕊, 将花序套袋隔离。晴天10:00前进行人工授粉, 用毛笔蘸取已采集的花粉, 在柱头上轻轻涂抹, 使花粉均匀地粘在柱头上, 授粉后用育种袋将花序套袋隔离, 并挂牌标记授粉日期及亲本品种。授粉10 d后调查母本的杂

基金项目 宁波市科技局农业科技重大专项(2014C11004)。

作者简介 朱宏芬(1974-), 女, 浙江宁波人, 高级农艺师, 从事蓝莓育种、栽培技术和植物组培研究。

收稿日期 2016-10-28

交结实率,30 d后调查结果情况。授粉方法设4个处理:①去雄后直接授粉,②去雄后1 d授粉,③去雄后3 d授粉,④去雄后5 d授粉。所用花粉于4℃低温密封保存14 d,每个处理授粉100朵左右的花。

杂交结实率 = 果实膨大个数 / 授粉花蕾总数 × 100%

坐果率 = 发育正常果实数 / 授粉花蕾总数 × 100%

1.3.4 种子的采集与保存。采收各个组合的成熟果实,做好标记。果实纵切,用镊子取出种子,平铺在面巾纸上,自然晾干,装入密闭玻璃瓶,置于4℃冰箱保存20 d。

1.3.5 杂交种子萌发。①播种前种子用不同浓度赤霉素溶液浸种24 h,设5个浓度处理,分别为0、200、400、600、800 mg/L,每处理3次重复,基质选用纯泥炭,含水量60%左右,装入带盖塑料罐内,每罐播种30粒,上面撒一薄层干泥炭,盖上盖子,置于温室苗床上。从种子发芽时开始,每隔7 d记录,连续7 d不发芽视为发芽结束。②各杂交组合种

子用400 mg/L赤霉素溶液浸种24 h,每组合播种100粒,其余同上。

发芽率 = 发芽数 / 播种数 × 100%

2 结果与分析

2.1 授粉方式对杂交结实率的影响 由表1可知,在杂交组合奥尼尔×南金、奥尼尔×薄雾中,采用4种授粉方法对母本进行授粉,结果发现,2个组合都以直接授粉的结实率最低,去雄后5 d授粉的结实率最高。该试验选取的为即将开放的花蕾,可能在操作过程中有些花蕾过小,导致去雄后直接授粉的结实率较低,5 d后的结实率最高,因此,去雄花蕾的花龄发育和相应授粉时间的选择是提高蓝莓杂交结实率的关键因素。杨琴等^[5]研究了花龄对蓝莓柱头可授性的影响,指出蓝雨蓝莓的花在气球花期,部分花蕾的柱头已具可授性并可以持续6 d左右,花后第2天柱头具有很强的可授性。

表1 授粉方式对杂交结实率的影响

Table 1 Effects of pollination methods on the seed setting rate of hybrid

组合 Combination	处理 Treatment	授粉花朵数 Number of pollination flowers	果实膨大数 Number of fruit enlargement	结实率 Seed setting rate %	发育正常果实数 Number of developing normal fruit	坐果率 Fruit setting rate %
OS	①	93	62	66.7	41	44.1
	②	88	75	85.2	50	56.8
	③	95	78	82.1	58	61.1
	④	102	96	94.1	64	62.7
OM	①	115	84	73.0	59	51.3
	②	104	92	88.5	64	63.4
	③	91	78	85.7	56	61.5
	④	98	90	91.8	61	62.2

2.2 不同杂交组合的结实率 由表2可知,各个杂交组合均获得杂交果实,不同杂交组合的结实率、坐果率不同。同一对亲本的正反交结实率差异较大,2组均以奥尼尔为父本时的结实率较低。而其他组合的结实率都在80%以上,表明参试6个南高和北高品种具有较高的杂交亲和性。布里吉

塔为母本的杂交组合结实率较高,但坐果率最低,说明结实率与坐果率不呈正相关,果实的正常发育因亲本组合不同而异。以薄雾×夏普兰结实率、坐果率最高,分别为87.2%和62.8%。莱格西×奥尼尔结实率最低,为65.4%,布里吉塔×南金坐果率最低,为41.5%。

表2 不同杂交组合的结实率

Table 2 Seed setting rate of different hybrid combinations

组合 Combination	授粉花朵数 Number of pollination flowers	果实膨大数 Number of fruit enlargement	结实率 Seed setting rate // %	发育正常果实数 Number of developing normal fruit	坐果率 Fruit setting rate // %
OM	91	78	85.7	56	61.5
MO	75	54	72.0	37	49.3
OL	65	55	84.6	38	58.4
LO	84	55	65.4	40	47.6
OX	69	60	86.9	36	52.2
MX	78	68	87.2	49	62.8
OS	95	78	82.1	58	61.1
XS	86	74	86.0	50	58.1
MS	62	53	85.5	37	59.7
BS	53	44	83.0	22	41.5

2.3 杂交果实性状 由表3可知,各组合杂交果实的成熟期明显早于非杂交果实7 d左右。多数果实大小、单果重优于亲本,不同母本相同父本组合在果实大小、重量、果型指数方面与母本相近,可能杂种果实特性受母本影响较大,除布

里吉塔为母本的组合外,其他组合获得种子数均多于亲本自然授粉果实中所含种子数。奥尼尔、薄雾和奥尼尔、莱格西2组正反交都表现为奥尼尔为母本时果个小、单果轻。

表 3 不同杂交组合果实性状
Table 3 Characters of hybrid fruit

组合 Combination	横径 Transverse diameter mm	纵径 Longitudinal diameter mm	果型指数 Fruit type index	种子数 Seed number	平均单果重 The average weight of fruit//g	最大单果重 The maximum weight of fruit//g
OM	14.47	11.48	0.79	37	1.42	1.60
MO	16.41	13.02	0.79	39	2.23	3.17
OL	14.53	12.32	0.84	43	1.65	2.33
LO	17.41	12.58	0.72	38	2.12	2.38
OX	16.73	12.33	0.74	37	1.94	2.97
MX	16.47	13.13	0.80	38	1.93	2.30
OS	17.94	13.48	0.75	50	2.15	3.70
XS	16.65	13.26	0.80	59	1.93	3.20
MS	17.33	13.32	0.77	42	2.19	2.90
BS	16.39	11.92	0.73	13	1.97	2.16

表 4 亲本果实性状
Table 4 Characters of parent fruit

亲本 Parent fruit	横径 Transverse diameter mm	纵径 Longitudinal diameter mm	果型指数 Fruit type index	种子数 Seed number	平均单果重 The average weight of fruit//g	最大单果重 The maximum weight of fruit//g
奥尼尔 O' Neal	16.39	12.94	0.79	35	1.87	2.76
薄雾 Misty	15.72	12.11	0.77	18	1.75	2.99
夏普蓝 Sharpblue	15.82	12.88	0.81	18	1.61	2.44
南金 Southgold	13.89	12.92	0.93	33	1.37	1.75
莱格西 Legacy	16.86	13.08	0.77	34	1.78	2.92
布里吉塔 Brigitta	19.98	15.84	0.79	14	2.48	3.28

2.4 赤霉素溶液浸种对杂交种子萌发的影响 由表 5 可知,不同浓度赤霉素处理对杂交组合 OS 种子萌发率均起到一定作用,随着赤霉素浓度升高,发芽率先升高后降低,在 200 mg/L 赤霉素处理下,发芽率最高达 68.9%,差异达显著水平,800mg/L 赤霉素处理对发芽起抑制作用。而对 OX 组合,各浓度赤霉素处理与空白对照处理间均未达显著差异,200 mg/L 赤霉素处理发芽率显著高于 600 mg/L 以上赤霉素处理,说明赤霉素处理并不能显著提高 OX 种子发芽率,大于 600 mg/L 赤霉素浸种不利于发芽。2 个组合经赤霉素处理的始发芽时间均显著缩短,差异均达显著水平。

由表 6 可知,400 mg/L 赤霉素处理各杂交组合的发芽率在 35.0% ~ 75.0%,差异较大,始发芽时间在 20 ~ 30 d。表明杂交种子经赤霉素处理后,能提早萌发,但对发芽率的影响不同。

表 5 不同浓度赤霉素溶液浸种对杂交种子萌发的影响

Table 5 Effects of different concentrations of GA₃ on germination of hybrid seeds

组合 Combination	赤霉素 GA ₃ //mg/L	始发芽时间 Time of initial germination//d	发芽率 Germination rate//%
OS	0	52.3 ± 2.5 a	52.2 ± 5.1 bc
	200	24.7 ± 1.5 b	68.9 ± 7.0 a
	400	18.7 ± 1.2 c	62.2 ± 5.0 ab
	600	25.0 ± 1.7 b	58.9 ± 5.1 ac
	800	25.3 ± 0.6 b	48.9 ± 3.8 c
OX	0	49.0 ± 3.6 a	72.2 ± 6.9 ab
	200	34.7 ± 1.5 b	76.7 ± 3.4 a
	400	27.7 ± 2.5 c	72.2 ± 5.1 ac
	600	27.0 ± 1.7 c	62.2 ± 3.9 bc
	800	25.7 ± 0.6 c	61.1 ± 5.1 bc

注:同列数据后不同小写字母表示同一组合不同浓度间差异显著(P < 0.05)。

Note: Different small letters in the same column indicate significant difference between different concentrations in the same combination at 0.05 level.

表 6 不同组合杂交种子萌发率

Table 6 Germination rate of different combinations of hybrid seeds

组合 Combination	赤霉素 GA ₃ //mg/L	播种数 Number of seeding	始发芽时间 Time of initial germination//d	发芽数 Number of germination	发芽率 Germination rate//%
OM	400	100	20	73	73.0
MO	400	100	28	59	59.0
OL	400	100	28	75	75.0
LO	400	100	28	71	71.0
OX	400	100	26	70	70.0
MX	400	100	26	35	35.0
OS	400	100	20	64	64.0
XS	400	100	30	51	51.0
MS	400	100	20	40	40.0
BS	400	100	22	58	58.0

2.2 树冠结构基本特点 据调查,株行距 $4.36\text{ m}\times 5.62\text{ m}$,果园单株树冠形状为圆头形,树高 $3.50\sim 5.40\text{ m}$,平均株高 4.76 m ,树冠高 3.14 m ,株行向冠幅 $6.82\text{ m}\times 6.03\text{ m}$,株行间枝条交叉,株间平均交叉长度为 2.46 m ,行间平均交叉长度为 0.41 m 。同一行植株的绿叶层连成一体,形成“树篱形”结构。主干1条,离地面 10 cm 处主干平均周径为 72.4 cm ,主枝 $2\sim 4$ 条,主枝平均周径为 65.4 cm ;分枝级数平均 13.2 级。绿叶层体积 15.77 m^3 ,内膛光秃体积 7.84 m^3 ,内膛相对光强 12.7% ,株间相对光强 18.6% 。

2.3 树冠结构参数

2.3.1 叶幕覆盖率。果园的叶幕覆盖率为 73.96% ,说明梯面有效利用面积较大^[5]。因为果园处于丘陵山地,行间因坡度大生长相对受到限制,有利的是直接交叉较少,不如株间交叉大,光照条件行间比株间稍好。

2.3.2 叶平面密度、叶面积系数和冠高率。果园的叶面积密度和叶面积系数都较大,分别为 13.31 和 11.60 ,但冠高率处于较低水平,为 40.87% ,说明在山地丘陵栽植密度不大,且疏于修剪时,整体有利于枝叶生长。但随着树冠增大,株间交叉而株间和内膛光照差,导致喜光植株绿叶层上移,内膛光秃体积增大,冠高减少^[6]。

2.3.3 生产容积系数。果园的单株树冠体积为 23.61 m^3 ,生产容积系数 66.79% ,参照甜橙丰产园的指标,密闭龙眼园的生产容积系数较低,与绿叶层上移、内膛光秃密切相关。可见,成年树只有通过树冠外围枝条进行适当疏剪,使冠内通风透光,减少无效容积,才能形成立体结果。

2.3.4 树冠内光照。石硖龙眼株间和内膛中心的相对光强均未达 20% ,内膛中心的相对光强仅为 12.78% ,与株间交叉长度 2.46 m 、冠高 3.14 m 、内膛光秃体积 7.84 m^3 相一致,既不利于喜光植物龙眼生长,也与栽培上不注意修剪外围枝、打开内膛光路有关。

3 结论与讨论

(1) 龙眼密闭果园树型高大,株间交叉严重,调查结果表

(上接第 57 页)

3 结论与讨论

该试验 6 个品种为相同倍性品种,10 个杂交组合均获得杂交果实,果实熟期提前,多数果实大小、单果重优于亲本,与刘肖等^[6]研究结果一致。该试验采用 4 种授粉方法,结果表明,去雄后 5 d 授粉的结实率最高,结实率和坐果率不呈正相关。越橘属有 12 条基本染色体,可分为 3 种类型: $2\times(2n=24)$, $4\times(2n=48)$ 和 $6\times(2n=72)$ ^[7]。蓝莓育种要充分利用种间杂交和野生资源获取新材料,这是该试验的欠缺。

杨春玉等^[8]研究表明,7 个兔眼蓝莓品种种子未经任何催芽、打破休眠等处理,采摘后即进行发芽试验,在设定的人工气候箱环境下 10 d 内都能正常发芽。该试验将种子放置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存 20 d,用 $0\sim 800\text{ mg/L}$ 赤霉素处理 2 个杂交组合的种子,结果发现,各组合经赤霉素处理的始发芽时间均显著缩短,但均未能能在 10 d 内发芽, 200 mg/L 赤霉素是

明,叶面积密度和叶面积系数均较大,叶幕覆盖率仍处于较高水平,说明果园密闭、枝繁叶茂;但光照条件差,有利于绿叶层上移、冠高率低下,内膛光秃体积加大,这些指标都不利于高产优质管理,导致生产容积系数处于较低水平,产量和品质均严重下降,这些指标与产量指征高度吻合。

(2) 果园的梯面覆盖率为 73.96% ,说明梯面有效利用面积较大,作为丘陵山地果园,梯面覆盖率仍有提高的余地,使单产得到一定保障。可以采用适当疏花穗(保留 60%)的方法实行枝梢上下年交替挂果,既有利于稳产又适当增加部分枝梢生长量,提高梯面覆盖率,同时减少果实直晒面积。

(3) 密闭果园株间和内膛中心的相对光强均较低,对于龙眼枝梢生长、挂果能力、果实品质和树冠结构发展均不利。密闭果园改善树冠光照条件可以采用“开天窗”的方法,修剪位于树冠中部、生长较为直立的大枝,以修剪后树冠内膛光照得到明显改善、内膛枝条有充足的生长空间为度,并把外围枝适当回缩,降低树冠高度,以创造较好的光照条件,使绿叶层保持一定厚度,实现立体结果,保持稳产、丰产。

(4) 生产上应培育单株树形为扁形树冠,且外缘要有一定的凹凸面和层次,在山地丘陵条件下,株间可以有一定的交叉,但不应过大。株间交叉过大,树冠过高,绿叶层分布不合理,不利于生产管理,也不利于实现丰产。

参考文献

- [1] 杨祖艳.荔枝龙眼整形修剪技术研究[D].南宁:广西大学,2013.
- [2] 黄永敬,卢美英,何全光.重回缩修剪对龙眼叶片内源激素含量的影响[J].果树学报,2006,23(2):237-241.
- [3] 马志航,薛进军,丁政程,等.龙眼树形对生长结果及机理影响初探[J].广西植物,2015(6):880-884.
- [4] 刘琦,凌淦昌,叶志伟.龙眼高产栽培技术要点[J].广东科技,2012(7):147,149.
- [5] 覃国清,彭宏祥,潘业华,等.甜橙连年丰产园树冠结构的调查研究[J].浙江柑桔,1984(3):12-17.
- [6] 刘银章,朱建华,苏春伟,等.红江橙密植园树冠结构调查研究[J].广西热带农业,2005(3):12-17.

OS 发芽最佳处理,大于 600 mg/L 赤霉素浸种不利于 OX 发芽。赤霉素处理对不同组合杂交种子发芽率影响不同,发芽率在 $35.0\%\sim 75.0\%$,始发芽时间在 $20\sim 30\text{ d}$ 。

参考文献

- [1] 方仲相,胡君艳,江波,等.蓝莓研究进展[J].浙江农林大学学报,2013,30(4):599-606.
- [2] 葛翠莲,黄春辉,夏思进,等.10 个蓝莓品种主要营养成分与色素含量分析[J].中国南方果树,2012,41(4):33-35.
- [3] 李根柱,李贺新,骆国华.广东河源地区蓝莓优良品种引进及栽培研究初报[J].中国南方果树,2013,42(4):94-96.
- [4] 孙海悦,李亚东.世界蓝莓育种概述[J].东北农业大学学报,2014,45(9):116-122.
- [5] 杨岑,任永权,廖优江,等.花龄对蓝莓柱头可授性及花粉活力的影响[J].中国南方果树,2012,41(5):25-27.
- [6] 刘肖,苏淑颖,侯智霞,等.蓝莓人工杂交及幼苗培育技术研究[J].中国农学通报,2012,28(34):263-267.
- [7] LONGLEY A E. Chromosomes in Vaccinium [J]. Science, 1927, 66(1719):566-568.
- [8] 杨春玉,李瑞军,李芳念,等.贵州麻江不同蓝莓品种种子萌发研究[J].中国林副特产,2014(5):15-16.