

9 份甘蔗核心种质的初花期花粉活力

陈俊吕,常海龙,王勤南,张伟,邱永生,符成,胡后祥,周峰,吴其卫,刘壮,李奇伟*

(广州甘蔗糖业研究所海南甘蔗育种场,海南三亚 572025)

摘要 [目的]采用离体萌发法,测试9份甘蔗核心种质初花期的花粉成熟度及其花粉活力的特性。[方法]采集当天开放的雄性花粉,将花粉均匀撒播在液体培养基上,24℃暗培养2h,研究初花期的花粉活力。[结果]9份甘蔗核心种质初花期的花粉成熟度变化范围为58.5%~94.5%,花粉萌发率为13.9%~44.3%,花粉管生长速度为31.4~89.3μm,花粉粒大小为860.6~1879.1μm²,品种间存在明显的差异。花粉成熟度、花粉萌发率、花粉管长度、花粉粒大小4指标间极显著正相关。各项因子分别聚类分析,结果显示测试品种中花粉成熟度小、花粉萌发率低、花粉管生长速度慢且花粉粒大小的品种相对较多,占44.4%,这类品种在杂交育种应用上可选择作母本。[结论]花粉离体萌发技术可以被作为甘蔗育种人员在甘蔗品种改良方案进行双亲杂交测定所需花粉育性的1种工具。
关键词 甘蔗;初花期;花粉成熟度;花粉活力;聚类分析
中图分类号 S566.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)35-0045-03

Pollen Viability of Nine Cultivars of *Saccharum* germplasm at Flowering Stage
CHEN Jun-lü, CHANG Hai-long, WANG Qin-nan, LI Qi-wei* et al (Hainan Sugarcane Breeding Station of Guangzhou Sugarcane Industry Research Institute, Sanya, Hainan 572025)
Abstract [Objective] To detect the maturation and viability characteristics of *Saccharum* germplasm (9 cultivars) pollens at flowering stage by in vitro germination method. [Method] Male pollen opened on the day was collected. Then, spread the pollen evenly in the liquid medium. They were dark cultured at 24℃ for 2 h to study pollen maturation in early flowering stage. [Result] There were significant variations in the pollen maturation, germination rate, length of the pollen tubes and size of the pollens among the 9 cultivars. It was observed that pollen maturation ranged from 58.5% to 94.5%, germination rate range from 13.9% to 44.3%, length of the pollen tubes ranged from 31.4 to 89.3 μm, and size of pollen ranged from 860.6 to 1 879.1 μm². There was significant positive correlation in pollen maturation, germination rate, length of the pollen tubes and size of the pollen. Further cluster analysis were carried on individually based on the above data. The population of the cultivars with low maturation, low germination rate, short pollen tube length and small size pollen accounted for 44.4% of the total tested cultivars. These cultivars had the potential to be used as female parents for crossbreeding. [Conclusion] Pollen in vitro germination techniques can be used as a method for sugarcane breeders to carry out bacon hubridization in the sugarcane variety improvement program required for pollen fertility.
Key words *Saccharum*; Flowering stage; Pollen maturation; Pollen viability; Cluster analysis

甘蔗是甘蔗属(*Saccharum*)的总称。它不仅是我国制造蔗糖的糖料作物之一,而且可用来提炼乙醇作为能源替代品^[1]。海南甘蔗育种场是全国甘蔗杂交制种基地,其甘蔗杂交花穗生产和亲本利用情况是我国甘蔗品种改良状况的缩影^[2]。杂交育种是甘蔗新品种选育的一种重要方法^[3-6]。花粉在杂交制种中起关键作用,花粉成熟度和花粉活力是杂交成功的主要因素。因此,了解甘蔗花粉活力对杂交育种过程中亲本选配具有重要意义。目前,国内许多研究发现花粉活力在品种间有较大差异^[7-10],然而在甘蔗上尚鲜见报道。离体萌发法测定花粉活力较稳定可靠^[11],因此,笔者测定比较了海南甘蔗育种场常用选配的9份甘蔗核心种质初花期花粉成熟度及其花粉萌发率、花粉粒大小和花粉管长度,旨在为甘蔗杂交育种、生殖发育和生产应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为种植于广州甘蔗糖业研究所海南甘蔗源圃中的9个1年生,且株龄、长势一致的甘蔗栽培品种(表1)。

1.2 方法 采用离体培养法测定花粉萌发率。在晴天上午

基金项目 广东甘蔗种质资源库建设(2013B060400027);现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-20-1-6);广东省科技计划项目(2016A020210016)。
作者简介 陈俊吕(1990—),男,海南琼海人,助理农艺师,从事甘蔗杂交育种研究。*通讯作者,研究员,博士,从事甘蔗遗传育种研究。
收稿日期 2017-10-18

表1 9份供试甘蔗种质及其来源
Table 1 Cultivars and origins of 9 saccharum used in the research

品种 Cultivar	来源 Origin	品种 Cultivar	来源 Origin
ROC26	中国台湾	科五 Kewu	中国台湾
崖城 12 号 Yacheng 12	中国海南	粤糖 93 - 159 Yuetang 93 - 159	中国广东
崖城 25 号 Yacheng 25	中国海南	云蔗 89 - 351 Yunzhe 89 - 351	中国云南
崖城 97 - 47 Yacheng 97 - 47	中国海南	云蔗 94 - 343 Yunzhe 94 - 343	中国云南
ROC22	中国台湾		

08:30—09:30(若阴天等气温偏低的状态时则晚一些时间)采集当天开放的雄性花粉,装于离心管中,将花粉均匀撒播在液体培养基 400 mg/L 硼酸 + 200 mg/L 硝酸钙 + 100 mg/L 硝酸钾 + 1 g/L 硫酸镁 + 1 g/L 琼脂 + 200 g/L 蔗糖(pH 6.0)上,置于水浴锅 24℃暗培养 2 h 后,进行观察和记录,并统计数据。

1.3 测定指标 用 Olympus PXS-1020 体视显微镜计数,每个甘蔗品种取 5 个固定的视野,统计花粉成熟度、花粉萌发率、花粉管长度、花粉粒大小。花粉萌发以花粉管长度大于花粉粒直径为标准。每视野花粉粒总数不低于 50 粒,且随机选取 20 个花粉粒测定花粉管长度、花粉萌发率和花粉粒大小。试验共 3 次重复。

单枝花穗花粉成熟度 = 已成熟的花粉粒数/花粉粒总数

×100% ;

花粉萌发率 = 已萌发的花粉粒数 / 花粉粒总数 × 100% 。

1.4 数据统计与分析 试验数据用平均值 ± 标准差表示,通过 SPSS 19.0 软件进行分析。采用 Duncan 多重比较法进行显著性比较;采用类平均距离法进行聚类分析;采用 Excel 2007、Word 2007 绘制图表。

2 结果与分析

2.1 9 份甘蔗种质的初花期花粉成熟度的比较 由表 2 可知,甘蔗花粉成熟度因品种而异,测试的 9 份甘蔗种质变幅为 58.5% ~ 94.5%。9 份甘蔗种质均可观测到成熟花粉粒,

整体平均值为 79.7%。高于品种平均值的有 5 个品种,占试验总数的 55.6%。以花粉成熟度为指标,采用类平均距离法进行聚类分析,当类间距离为 3.58 时,9 个甘蔗品种明显分为 4 个类群: I 类群包括 ROC26、崖城 25 号、崖城 97 - 47、科五、ROC22,共 5 个品种,占试验总数的 55.6%,花粉成熟度较大(84.5% ~ 94.5%); II 类群花粉成熟度小,为 65.1% ~ 69.1%,包括云蔗 89 - 351、云蔗 94 - 343,占总数的 22.2%; 粤糖 93 - 159 单独聚为 III 类,其花粉成熟度较小(58.5%); IV 类群包括崖城 12 号,其花粉成熟度居中,为 75.8%; 4 个类群间差异极显著。

表 2 9 份甘蔗种质初花期花粉成熟度、离体萌发率、花粉粒大小和花粉管生长长度的比较

品种 Cultivar	成熟度 Maturation rate / %	萌发率 Germination rate / %	花粉粒大小 Size of pollen / μm^2	花粉管长度 Length of pollen tubes / μm
崖城 25 号 Yacheng 25	94.3 ± 1.5 A	44.3 ± 3.9 A	1 879.1 ± 25.8 A	89.3 ± 1.1 A
ROC22	89.3 ± 1.0 B	31.2 ± 2.4 B	1 459.6 ± 8.3 C	85.1 ± 4.0 A
ROC26	94.5 ± 3.7 A	14.1 ± 2.1 F	1 001.7 ± 5.6 E	46.2 ± 6.4 C
崖城 97 - 47 Yacheng 97 - 47	86.3 ± 2.7 BC	26.9 ± 0.5 C	1 571.6 ± 127.3 B	72.7 ± 7.5 B
科五 Kewu	84.5 ± 4.1 C	23.9 ± 1.3 C	1 474.8 ± 16.6 C	49.1 ± 6.7 C
崖城 12 号 Yacheng 12	75.8 ± 1.2 D	19.7 ± 1.5 D	1 184.3 ± 94.9 D	47.5 ± 1.2 C
云蔗 89 - 351 Yunzhe 89 - 351	69.1 ± 1.6 E	17.2 ± 0.6 DE	1 445.7 ± 3.4 C	37.6 ± 1.7 D
云蔗 94 - 343 Yunzhe 94 - 343	65.1 ± 1.3 E	15.8 ± 0.7 EF	995.0 ± 4.6 E	33.1 ± 4.0 D
粤糖 93 - 159 Yuezhe 93 - 159	58.5 ± 2.1 F	13.9 ± 0.6 F	860.6 ± 46.8 F	31.4 ± 1.2 D

注:同列不同大写字母表示差异达 0.01 显著水平
Note: Different capital letters in the same coloumn indicated significant differences at 0.01 level

2.2 9 份甘蔗种质初花期花粉活力的比较

2.2.1 花粉萌发率的比较。由表 2 可知,9 份甘蔗种质的初花期花粉均具有活力,其萌发率平均值为 23.0%,萌发率最低为 13.9% (粤糖 93 - 159),最高为 44.3% (崖城 25 号),品种间萌发率差异较大。采用类平均距离法进行聚类分析表明,取类间距离为 5.07,则 9 份甘蔗种质聚为 3 类: ROC26、粤糖 93 - 159、云蔗 89 - 351、云蔗 94 - 343、崖城 12 号聚为 I 类,萌发率为 13.9% ~ 19.7%,是花粉萌发率较低的品种;崖城 97 - 47、科五、ROC22 聚为 II 类,萌发率为 23.9% ~ 31.2%,其花粉萌发率居中;崖城 25 单独聚为 III 类,萌发率为 44.3%,是萌发率较高的品种。III 类群占总品种的 11.1%,与其他 2 个类群间存在极显著差异。

2.2.2 花粉粒大小的比较。由表 2 可知,9 份甘蔗种质的初花期花粉粒大小平均值为 1 319.2 μm^2 ,花粉粒最大是崖城 25 号,为 1 879.1 μm^2 ,最小是粤糖 93 - 159,为 860.6 μm^2 。以花粉粒大小为指标,系统聚类分析结果表明,当距离为 4.37 时,9 个甘蔗品种明显聚为 4 类: ROC26、云蔗 94 - 343、粤糖 93 - 159 聚为 I 类群,花粉粒为 860.6 ~ 1 001.7 μm^2 ,是花粉粒较小的品种, I 类群占试验品种的 33.3%;崖城 12 号单独聚为 II 类,花粉粒为 1 184.3 μm^2 ; ROC22、云蔗 89 - 351、科五、崖城 97 - 47 共 4 个品种聚为 III 类群, III 类群的花粉粒大小居中,平均值为 1 487.9 μm^2 ;崖城 25 号单独聚为 IV 类,其花粉粒为 1 879.1 μm^2 ,是花粉粒较大的品种。其中, IV 类占总品种的 11.1%,与其他 3 个类群间存在极显著差异。

2.2.3 花粉管生长长度的比较。由表 2 可知,不同甘蔗品

种花粉管长度有明显差异,测试材料的花粉管长度平均生长量为 54.7 μm ,最小值为 31.4 μm (粤糖 93 - 159),最大值为 89.3 μm (崖城 25 号)。试验中测得的花粉管长度均为 2 h 的生长量,所以该数据可反映花粉管的生长速度。以花粉管长度为指标,系统聚类分析表明,取类间距离为 2.96 时,9 个测试品种可分为 4 个类群: I 类群包括 ROC26、崖城 12 号、科五 3 个品种,生长量为 46.2 ~ 49.1 μm ,是花粉管生长较慢的品种,与其他类群差异极显著; II 类群包括粤糖 93 - 159、云蔗 94 - 343、云蔗 89 - 351 共 3 个品种,为生长慢的品种,平均生长长度为 34.0 μm ; III 类群包括崖城 25 号、ROC22 共 2 个品种,长度 85.1 ~ 89.3 μm ,为花粉管生长较快的品种。其中, III 类群占总品种 22.2%,其花粉管长度显著高于其他 3 个类群;崖城 97 - 47 单独聚为 IV 类,是生长快的品种,生长量为 72.7 μm 。

2.3 9 份甘蔗种质的初花期花粉成熟度与花粉活力的相关性及聚类分析 采用 SPSS 19.0 软件进行相关分析,结果表明花粉成熟度与花粉管长度、花粉萌发率与花粉管长度、花粉管长度与花粉粒大小相关系数分别为 0.77、0.92、0.75,指标间均存在极显著正相关。以花粉萌发率、花粉成熟度、花粉粒大小和花粉管长度为指标,采用类平均距离法进行系统聚类,取类间距离为 4.58 时,9 份甘蔗品种划为 4 类(图 1): I 类群花粉萌发率最低,花粉成熟度最小,花粉管生长速度较慢,花粉粒最小; II 类群花粉萌发率较低,花粉成熟度较大,花粉管生长速度最慢,花粉粒较小; III 类群花粉萌发率较高,花粉成熟度中等,花粉管生长速度较快,花粉粒较大; IV

类群仅有 1 个品种,占总品种的 11.1%,其花粉萌发率最高,花粉成熟度最大,花粉管生长速度最快,花粉粒最大,极显著高于其他 3 个类群;4 个类群间差异显著。

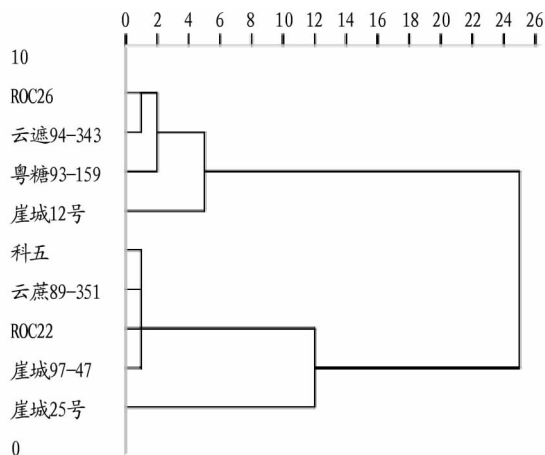


图 1 9 份甘蔗种质初花期花粉成熟度和花粉活力的聚类分析树状

Fig.1 Cluster analysis of the maturation and viability of pollen in 9 *Saccharum* cultivars at flowering stage

3 结论

杂交育种是新品种选育的一种行之有效的方法,花粉成熟度和花粉活力是杂交育种特性研究的一项重要内容,花粉成熟度大小和花粉活力强弱直接影响杂交结实率和发芽率。花粉成熟度、花粉活力与品种存在密切关系^[9,12],同种内不同品种间花粉活性存在较大差异,目前国内在枣^[7]、梅花^[8]、桃^[9]、梨^[10]、油茶^[13]等植物中均有报道。该试验的 9 份甘蔗种质的初花期花粉成熟度、花粉管长度、花粉粒大小、花粉萌发率在种间亦存在较大差异:甘蔗花粉离体培养 2 h 后,花粉成熟度 58.5%~94.5%,花粉粒大小 860.8~1 879.1 μm^2 ,花粉萌发率 13.9%~44.3%,花粉管长度 31.4~89.3 μm 。在甘蔗杂交育种中,花粉直接衡量雄配子的发育情况,且花粉育性是反映亲本育性最突出的指标。在花粉育性划分上,国内将可育率是 0 划分为全不育,低于 5% 为高不育,6%~30% 为半不育,31%~50% 为低不育,大于 50% 为正常可育^[14]。以花粉育性为标准,试验的 9 份甘蔗种质中,萌发率大于 50% (正常可育) 的品种为 0 个,低不育 (31%~50%) 的品种 2 个,占总数的 22.2%,半不育 (6%~30%) 的品种 7 个,占总数的 77.8%,说明部分甘蔗亲本存在杂交结实率低的问题,其原因是花粉发育不良或杂交亲和力和低^[15]。因此,花粉离体萌发技术可以被确定为甘蔗育种人员在甘蔗品种改良方案进行双亲杂交测定所需花粉育性的一种工具。

4 讨论

9 份甘蔗核心种质中,以花粉成熟度与花粉管长度、花粉萌发率与花粉管长度、花粉管长度与花粉粒大小指标进行分析后表明,指标间存在极显著正相关,说明各指标在品种间的差异取决于品种自身的遗传特性,因此推测在甘蔗初花期,可利用花粉成熟度大小估测花粉活性高低,将花粉成

熟度、花粉粒大小、花粉管长度、花粉萌发率指标进行系统聚类分析对比,结果存在差异。4 个指标结合聚类分析将甘蔗测试品种分为 4 大类,其中成熟度和萌发率反映了花粉可育性。因此推测在甘蔗杂交育种中,除抗逆性授粉亲和性外,花粉成熟度和花粉活力亦是选择作父、母本的重要因素。第 I 类群 3 个品种 (ROC26、云蔗 94-343、粤糖 93-159) 具有较小的成熟度、较低的萌发率和较慢的花粉管生长速度,故推荐为甘蔗杂交育种母本选择的主要对象;第 III、IV 类群 5 个品种 (科五、崖城 97-47、云蔗 89-351、崖城 25 号、ROC22) 具有较大的成熟度、较高的萌发率、较快的花粉管生长速度,故推荐为甘蔗杂交育种父本选择的主要对象。刘少谋等^[16]、吴才文等^[17]、陈如凯等^[18]的研究表明,ROC26 作母本,其后代糖、蔗产量和锤度的配合力大,综合表现良好;ROC22 作为父本,可用于特殊用途材料的选育,其后代蔗茎产量高或锤度高;吴才文等^[19]的研究表明,云蔗 89-351 作父本利用,杂交后代糖、蔗产量和锤度的配合力大,综合表现良好。该试验仅以甘蔗初花期花粉成熟度和花粉活性为研究对象,对 9 份甘蔗种质亲本的选择及组合选配还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 彭绍光. 甘蔗育种学[M]. 北京: 农业出版社, 1985.
- [2] 邓海华, 张垂明, 符成, 等. 海南甘蔗育种场 1999/2000~2008/2009 甘蔗杂交制种回顾[J]. 甘蔗糖业, 2009(5): 6-10, 34.
- [3] MOORE P H, HEINZ D J. Increased post-inductive photoperiods for delayed flowering in *Saccharum* sp. hybrids [J]. Crop Sci, 1971, 11: 118-121.
- [4] MOORE P H, NUSS K J. Flowering and flower synchronization [M]// HEINZ D J. Sugarcane improvement through breeding. Amsterdam: Elsevier Press, 1987: 273-311.
- [5] 邓绍明. 现代甘蔗栽培[M]. 广州: 广东科学技术出版社, 1992.
- [6] 李奇伟, 陈子云, 梁洪. 现代甘蔗改良技术[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000.
- [7] 刘玲, 王玖瑞, 刘孟军, 等. 枣不同品种花粉量和花粉萌发率的研究[J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(3): 338-341.
- [8] 任广兵, 房伟民, 贾思振, 等. 梅花花粉量及离体萌发特性研究[J]. 上海农业学报, 2007, 23(4): 42-46.
- [9] 叶正文, 杜纪红, 苏明申, 等. 桃 92 个品种的花粉量及其萌发特性的差异[J]. 园艺学报, 2010, 37(4): 525-531.
- [10] 姜雪婷, 杜玉虎, 张绍铃, 等. 梨 43 个品种花粉生活力及 4 种测定方法的比较[J]. 果树学报, 2006, 23(2): 178-181.
- [11] 赵宏波, 陈发棣, 房伟民. 菊属植物花粉生活力检测方法的比较[J]. 浙江林学院学报, 2006, 23(4): 406-409.
- [12] SEDGLEY M, GRIFFIN A R. Sexual reproduction of tree crops[M]. London: Academic Press, 1989: 529-540.
- [13] 邹峰, 谭晓风, 袁德义, 等. 油茶花粉数量及 4℃ 贮藏萌发率特性研究[J]. 江西农业大学学报, 2009, 31(5): 892-895.
- [14] 朱英国. 水稻雄性不育生物学[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2000: 143-146.
- [15] 邓海华. 甘蔗遗传育种有关问题的商榷[J]. 甘蔗, 2002, 9(1): 44-46.
- [16] 刘少谋, 王勤南, 符成, 等. 甘蔗常用亲本及杂交组合家系评价[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 234-240.
- [17] 吴才文, 赵俊, 赵培方, 等. 几个新台糖甘蔗品种杂交育种潜力研究[J]. 西南农业学报, 2010, 23(5): 1413-1417.
- [18] 陈如凯, 林彦铨, 薛其清, 等. 配合力分析在甘蔗育种上的应用[J]. 福建农业学报, 1995, 24(1): 1-8.
- [19] 吴才文, 王炎炎, 夏红明, 等. 云南甘蔗创新亲本的遗传力和配合力研究[J]. 西南农业学报, 2009, 22(5): 1274-1208.