

树莓花粉研究进展

1. 张升艳 2. 官纪元

(1. 贵州省遵义市红花岗区巷口镇农业服务中心; 2. 贵州省植物园)

摘要: 树莓在经济、保健、药用及生态等方面具有重大的利用价值, 受到人们越来越多的关注。我国树莓野生资源丰富, 种类繁多, 但我国树莓育种进展缓慢, 品种多由国外引进, 引种后多出现生长不适应性, 因此培育适宜我国本土栽培的新品种是推动我国树莓产业发展的重要途径。本文从树莓花粉活力检测方法、花粉活力的影响因素等方面进行综述, 系统总结目前树莓花粉研究进展, 以期为树莓育种和树莓花粉贮藏提供一定的参考依据。

关键词: 树莓; 花粉活力; 贮藏

树莓(Raspberry)为蔷薇科(Rosaceae)悬钩子属(Rubus), 因果实柔嫩多汁、风味独特, 富含多种营养物质, 能增强人体免疫力和改善新陈代谢, 已被联合国粮农组织誉为“第三代水果”。目前, 全球种植树莓的国家约有40多个, 总面积约12万公顷, 总产量约80万吨。树莓能双季结果, 具有产量高、货架期长和经济价值高等特性。随着近几年树莓产业的快速发展, 新品种的选育受到国内外育种家的重视。我国树莓育种起步晚, 栽培品种多由国外引进, 缺乏具有国内自主知识产权的栽培品种, 加快我国的树莓育种进程显得尤为迫切。花粉与植物的品种改良及遗传育种有着很密切的联系, 杂交育种常伴有花期不遇, 花粉的生活力因贮藏和运输等方式会在一定程度上影响杂交成功率, 因此花粉生活力的大小是决定植物杂交育种成败的关键因素。本文就树莓花粉的活力检测方法和影响花粉活力因素进行研究, 以期为树莓优良品种的选育提供参考。

一、树莓花粉活力检测方法

花粉生活力检测是开展杂交育种工作不可缺少的基础性工作, 需要先检测花粉生活力后, 再进行花粉的使用、采集和贮存。花粉生活力是指具有生存能力、生长能力、萌发能力或发育能力的花粉。花粉的形态、酶的活性、淀粉的含量, 往往都与它的生命力有着千丝万缕的联系。因此, 花粉活力的高低可以通过观察花粉的形态特征, 检测淀粉含量和过氧化物酶或脱氢酶活性的高低, 以及对花粉在离体培养条件下萌发比例的统计来表现。它的测定方法有形态观测法、离体萌发测定法、染色法、直接授粉法等多种方法。

(一) 形态观测法

形态观测法是一种较适合快速判断花粉生活力的方法。一般来说育性高的花粉颗粒饱满、生活力高。有研究表明, 花粉若形状不饱满, 有可能是花粉萌发所需营养物质受阻, 导致花粉发育异常造成干瘪。还有研究者认为花粉萌发孔(沟)的发育状况可能会影响花粉的萌发和发育, 萌发沟长度与极轴长度比值小于1时, 花粉萌发率较高。树莓花粉形态的研究已有一些报道。李维

林等将树莓植物花粉外壁纹饰分为4种类型和11种亚型, 说明树莓的花粉形态特征对该属的系统分类具有一定的参考价值。王小蓉等比较树莓野生种及部分栽培品种的花粉特征, 发现表面纹饰在不同品种间存在区别。使用花粉形态观测法操作简单, 但结果准确性不高, 目前还未有此方法检测树莓花粉活力的报道。

(二) 离体萌发测定法

花粉萌发率是评价花粉活力水平的重要指标。正常发育成熟的花粉粒一般活力较强, 在适宜条件培养基中能够萌发, 通过统计花粉萌发比例来确定花粉活力。离体萌发法简单、迅速、合理, 是较为理想的花粉活力鉴定方法。在培养基中添加蔗糖和硼酸、更有利于提高树莓花粉的萌发率, 但添加蔗糖或硼酸的浓度因种间不同而有所差异。例如适宜山莓(*Rubus corchorifolius*)花粉萌发的蔗糖浓度为17%+硼酸为0.03%, 适宜蓬蒿(*Rubus hirsutus*)花粉萌发的蔗糖浓度为5%+硼酸为0.01%, 及适宜掌叶覆盆子(*Rubus chingii*)花粉萌发的蔗糖浓度为10%+硼酸为0.01%。此外, 花粉萌发及花粉管生长还受其他多种外源物质, 如植物激素、Ca²⁺等的影响, 还需要进一步的试验来筛选出适合不同树莓的培养基配方。



(三) 染色法

染色法常用到的染色剂有氯化三苯基四氮唑(TTC)、联苯胺、醋酸洋红、碘-碘化钾(I-KI)、蓝墨水等。其中, TTC染色法是一种应用较广的花粉染色方法, 该方法基本原理是TTC渗入细胞后, 可被呼吸代谢中的还原酶所还原, 并由无色的氧化型变成红色的

还原型，有活力的花粉将染成红色，无活力的花粉则无色。因TTC染色法具有操作简单快捷、时间短的优点，目前使用此法测定树莓花粉生活力的报道较多。联苯胺染色法又称过氧化物酶染色法，王菲用该方法对8个树莓栽培品种进行花粉活力测定，花粉活力达80%以上。有研究表明，使用醋酸洋红、碘-碘化钾（I-KI）或蓝墨水会使花粉活力测定值偏高，所以应用较少。

（四）直接授粉法

花粉活力的高低最终体现在授粉、坐果和结实上。直接授粉法主要是根据坐果、结实和种子质量来表示花粉活力，结果准确可靠，但是用时较长，只能定性评价而不能定量表示，且试验结果易受气候条件、人工管理的影响。



二、影响树莓花粉活力的因素

（一）遗传特性

树莓染色体基数 $X=7$ 。据现有统计树莓染色体的倍性范围为 $2X-14X$ ，个别为 $18X$ ；大部分为整倍体，以二倍体和四倍体居多，有非整倍体存在。随着染色体倍性越大，在减数分裂过程中发生异常的概率也越大，这会影响不育花粉粒的百分比。付华清研究发现，5个野生树莓种即栽秧泡（*Rubus ellipticus* var. *obcordatus*）、山莓、秀丽莓（*Rubus amabilis*）、红泡刺藤（*Rubus niveus*）和光滑高粱泡（*Rubus lambertianus* var. *glaber*）的减数分裂过程基本正常，花粉活性很高；在“Dinkum”“Chilcotin”和“Nova”3个红莓栽培品种的减数分裂过程中，部分细胞能观察到异常现象发生，花粉活性一般；黑莓“Bristol”栽培品种在减数分裂过程中常有异常现象发生，花粉活性较低。这与其他研究报道的观察结果相一致。导致上述结果出现的原因是树莓品种在减数分裂过程中染色体构型变为了异源多倍体，

或单价体，从而致使这些品种的花粉粒大部分不正常、部分不育，或完全不育。

（二）水分

适宜的树莓花粉含水量有利于保持花粉的活力，这可能是因为适宜的含水量使花粉细胞内代谢缓慢，减少了有机物质的消耗，从而延长花粉的贮藏寿命。含水量高的花粉呼吸作用旺盛，大量消耗养分，致使花粉很快失活。但花粉的含水量并不是越低越好，同一低温条件下含水量为14.13%的黑莓花粉活力明显高于含水量为8.91%的黑莓花粉，前者的花粉活力约为后者的3倍，造成上述结果的原因可能是过低的含水量可能会丧失大部分自由水和部分束缚水，进而影响了花粉的活力。

（三）温度

温度是树莓花粉生活力维持时间长短的重要影响因素之一。同一树莓品种在不同贮藏温度下花粉的生活力表现出很大的差异，在 25°C 和 5°C 条件下掌叶覆盆子花粉活力大于40%可保存3d，在 -5°C 条件下可保存15d，在 -18°C 条件下可保存30d。温度越低越有利于保持树莓花粉的生活，这与许多资料报道的研究结果相似。此外，LpezGutierrez等人研究发现一天之中气温的变化也会影响树莓的花粉活力，上午10:00树莓花粉活力最高，其次是上午9:00。

（四）其他

不同散粉时间、散粉方式对花粉萌发也有一定的影响。王菲等以“秋福”为研究试材，研究表明花药离体与整花散粉花粉萌发率存在显著差异，整花散粉花粉萌发率明显大于花药散粉花粉萌发率，且花药散粉花粉管极短（整花散粉是它的1.78倍）、稍细小，萌发不整齐；在相同散粉方式下，散粉后24h的花粉萌发率最高，之后随着时间推移，花粉萌发率逐渐降低。树莓种子出苗率低，存在出苗不整齐的问题，影响到杂交育种工作有条不紊地推进。还有出芽难的问题，与种子小也密切相关，另外内果皮和种皮坚硬。为了提高种子出芽率，常常采用浓硫酸的方法处理种子，以破坏其种皮。李粤渤等人的研究表明，树莓的种子由胚、胚乳层、种皮及内果皮组成，胚乳层、种皮及内果皮均显著抑制胚的萌发，由此推断种皮及胚乳层中存在抑制胚萌发的物质。研究所采用的树莓种子均不存在胚休眠。本研究采用了不同的层积处理时间、不同的播种时间以及利用药剂处理种子，试图提高树莓种子的出苗率，但是效果并不显著。对果实的解剖构造观察表明树莓种子的外壳是由内果皮和种皮两部分组成，内果皮是由多层排列紧密的木质化明显的纤维状细胞组成，随着果实的发育，内果皮明显增厚，而种皮也由多层细胞组成，结构紧密，内果皮和种皮的这种结构是影响种子出芽的一个主要原因。至于种皮中和胚乳层存在哪些物质对种胚的

发芽起抑制作用,目前还存在不同的看法,还需要进一步地探讨,以找出抑制树莓种子发芽的关键因素,确定提高种子发芽率的适宜简便方法。

三、展望

花粉活力常受到自身遗传特性和外界诸多因素的影响。目前的研究大多针对花粉活力本身开展,相对单一,需要系统将花粉发育研究与分子生物学相结合,以期获得更加系统全面的研究结果。

在此工作基础上,今后除继续开展关于树莓双受精、果实成熟中胚和胚乳的变化等解剖学研究外,将着重从生理和分子水平探讨树莓花芽分化、果实成熟及种子休眠机理等方面的研究;如影响花芽分化的营养因素和激素平衡问题,果实成熟时和硬度相关的生理指标变化,激素调控问题,影响种子休眠的因素等,并进一步从分子水平上揭示调控这些发育过程的关键基因及其同内源激素、特异蛋白之间的相互作用。

如今花粉的超低温保存技术日渐兴起,能够大幅度延长花粉活力保持的时间,使花粉能作为种质资源进行长期保存,是目前长期而稳定保存花粉活力的方法。影响树莓花粉低温保存的影响因素很多,前人研究主要针对花粉含水量、贮藏时间、散粉方式等影响因素,对预冷冻方式、化冻方式、冻存花粉的授粉效果等方面及完整的树莓花粉超低温保存体系的建立还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 斯科特DH, 劳伦斯FJ, 奥莱基DK, 等. 草莓、悬钩子、穗醋栗和醋栗育种进展[M]. 邓明琴, 景士西, 洪建源译. 北京: 中国农业出版社, 1989.
- [2] 王彪, 赵杨, 仇杰. 七姊妹蔷薇花粉萌发特性研究[J]. 西部林业科学, 2022, 第51卷(3): 18-23, 39.
- [3] 罗立娜, 韩树全, 卢加举, 等. 油梨花粉形态观察和花粉生活力的测定[J]. 分子植物育种, 2021, 19(19): 6545-6550.
- [4] 刘明国, 李民, 吴月亮, 等. 山杏花粉形态特征与花粉萌发的关系[J]. 沈阳农业大学学报, 2015, 第46卷(2): 166-172.
- [5] 周群, 张万旗, 丁印龙, 等. 18个品种三角梅花粉育性与花粉形态的观察[J]. 江西农业学报, 2016(3): 39-42.
- [6] 唐艳, 王森, 胡琼, 等. 3种悬钩子属植物花粉离体萌发培养基成分筛选[J]. 经济林研究, 2017, 第35卷(2): 45-53.
- [7] 李川, 辜夕容, 姚小华, 3个薄壳山核桃无性系花粉活力与显微结构比较研究, 江西农业大学学报, 32(2): 324-328.
- [8] 张翔飞, 岳婉婉, 刘泉鑫, 等. 几种不同巴旦木花粉生活力及柱头可授性比较分析, 新疆农业科学, 57(8): 1450-1456.
- [9] 刘程宏, 宋尚伟, 张芳明. 果树花粉生活力检测研究进展[J]. 河南农业科学, 2011, 40(10): 13-16.
- [10] 许杰, 潘磊, 杨帅, 等. 烟草花粉活力研究进展[J]. 作物杂志, 2019(03): 10-14.
- [11] 沈植国, 孙萌, 丁鑫, 等. 不同培养基组分对5个蜡梅品系花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 浙江农业学报, 2021, 33(02): 278-287.
- [12] 江景勇, 洪洁, 陈珍. 掌叶覆盆子生物学特性及花粉活力测定[J]. 浙江农业科学, 2016, 57(01): 52-54.
- [13] 王小敏, 吴文龙, 李维林, 等. 黑莓花粉含水量与贮藏特性的研究[J].

江西农业学报, 2013, 25(05): 35-37.

[14] 王小敏, 李海燕, 吴文龙, 等. 蓬蘽花粉低温贮藏研究[J]. 江苏农业科学, 2010(03): 170-171.

[15] 贾静波, 吴文龙, 阎连飞, 等. 不同品种黑莓的花期生物学特征及花粉活力观察[J]. 植物资源与环境学报, 2007(02): 53-56.

[16] Jinnō T, 1958a. Cytogenetic and cytoecological studies on some Japanese species of *Rubus*. I. Chromosomes[J]. Botanical Magazine, 71: 15-22.

[17] Jinnō T, 1958b. Cytogenetic and cytoecological studies on some Japanese species of *Rubus*. II. Cytogenetic studies on some F1-hybrids[J]. Jap. J. Genet. 33: 201-209.

[18] Yan Wang, Qing Chen, Huaqing Fu, Jing Zhang, Tao Chen, Bo Sun, Ya Luo, Yong Zhang, Haoru Tang, Xiaorong Wang. Genome affinity in *Rubus* (Rosaceae) inferred from meiotic chromosome pairing of sixteen wild and cultivated brambles resources[J]. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding (The), 2018, 78(4).

[19] 付华清. 悬钩子属6个野生种(变种)及10个栽培品种的细胞学研究[D]. 四川农业大学, 2009.