

金子明, 王国明, 柯亚琪, 等. 梨自交花粉原位萌发观察及不亲和性强度研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(12): 86–91.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.12.020

梨自交花粉原位萌发观察及不亲和性强度研究

金子明, 王国明, 柯亚琪, 石苏利, 吴磊, 谷超

(南京农业大学梨工程技术研究中心, 江苏南京 210095)

摘要:梨是世界四大水果作物之一, 拥有特殊的自交不亲和特性。这种现象在蔷薇科中普遍存在, 但关于不同品种的自交不亲和强度却鲜有报道。综合田间自花授粉套袋试验及花粉管原位荧光显微观察, 对 256 个不同梨品种进行套袋处理, 花粉管生长特性观察、自交不亲和性强度统计分类以及坐果率调查。结果显示: 自交不亲和性较强品种的花粉管虽然有少量穿过柱头, 但不能在花柱内进一步生长, 表现为扭曲变形、花粉管杂乱无章, 以及花粉管末端变粗膨大等现象。不同梨品种自交不亲和性强度 R 值参差不齐, 所调查的大部分梨品种自交不亲和强度分布在强与弱之间, 分别占 57.4%、33.6%, 而自交不亲和性弱的只占 9.0%, 仅有闫庄鸭梨、秋荣、54S-135、金坠、大果黄花和晚秀 7 个品种。田间自花授粉坐果率调查发现, 自交不亲和性强度为强与中的品种的结实率基本为 0, 弱自交不亲和性强度品种金坠、秋荣的结实率分别为 61.4%、32.7%, 但晚秀表现出自交不结实。研究结果不仅具有理论价值, 而且有潜在的意义。

关键词:梨; 花粉管; 自交不亲和性; R 值; 坐果率; 花粉萌发

中图分类号:S661.203 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)12-0086-06

蔷薇科梨属 (*Pyrus* L.) 植物普遍存在由 S 基因位点控制的配子体型自交不亲和 (gametophytic self-incompatibility) 现象, 大多数品种表现为自花授粉不亲和以及低结实率的特征^[1]。大量研究表明, 梨自花授粉不亲和性主要是由花柱分泌的 S 糖蛋白引起的, 这种 S 糖蛋白能够分解自花授粉花粉管的 RNA, 导致花粉管停止生长并进入程序性死亡^[2-3]。也有人认为该反应由 S 位点 (S -locus) 的 1 对 S 等位基因控制, 即由雌蕊和花粉的 S 基因控制, 分别为 $S-RNase$ 、 S -locus F -box/ S -haplotype-specific F -box 基因^[4]。当花粉的 S 基因与雌蕊的 1 对 S 等位基因之一的 S 基因相同时, 自花花粉能够在柱头上萌发, 但花粉管沿花柱向子房伸长过程中会被花柱内的 S 糖蛋白抑制, 而不能完成受精坐果^[5], 这种普遍存在的机制能够抑制品种自交, 促进异花授粉。在各种自然因素的作用下, 自交不亲和植物也会发生自交亲和性突变, 一种是花柱突变, 如日本梨品种奥嘎二十世纪是二十世纪 (Nijisseiki, S 基因型 S_2S_4) 的突变体, 其中 1 个花柱 S 基因, 即 $S42RNase$ 基因发生变异, 导致奥嘎二十世纪的花柱不能识别自己的花粉^[6]。另一种自交亲和性突变就是花粉发生突变, 即花粉失去自交不亲和 (self-incompatibility, 简称 SI) 识别功能, 而形成花粉 SI 突变体^[5]。如吴华清等研究的金坠梨是鸭梨的芽变品种, 金坠梨自花授粉结实率高达 76%, 自花的花粉管能正常生长至花柱基部, 由于花粉 S 基因发生突变,

导致自交不亲和性功能的丧失, 表现出自花授粉能够结实^[7]。梨属于配子体型自交不亲和果树, 绝大多数品种自花授粉结实率极低, 在生产上必须配置授粉树以及花期人工辅助授粉, 才能完成授粉受精, 获得经济产量, 但是同时也增加了生产成本^[4]。尽管如此, 也常因授粉树配置不合理、人工授粉不及时或是花期不良的气候条件等问题影响授粉受精而造成减产^[5], 而选育自花结实性品种是解决这些问题的重要途径之一。加深对梨自交不亲和性的研究, 不仅有助于更好地了解这一生命现象, 还可以为果树育种和生产提供可靠的理论依据。同时为进一步阐明梨自交亲和性突变机制, 深入研究自花花粉管被抑制的机制, 从形态学角度探明花粉管在花柱中的生长特性, 以及不同品种自交不亲和强度分析统计, 为显花植物防止自交衰退这一遗传机制提供一些试验统计数据。因此, 对不同品种的梨树自交不亲和性强度的研究, 不仅具有理论价值, 而且有潜在的实践意义。

1 材料与方法

1.1 材料准备

本试验于 2014 年 3 月至 2016 年 6 月, 分别于江苏省农业科学院梨资源圃和南京农业大学江浦农场园艺试验站梨资源圃内进行, 共有 256 个品种进行套袋处理。每个品种随机选取 6 朵发育正常的并且处于大蕾期的花朵进行硫酸纸套袋处理。待花开后花药散粉时, 轻轻摇动纸袋或树枝, 使其自交授粉。为了确保每朵花自交授粉成功, 从套袋后第 2 天起, 每天摇动纸袋或树枝 2 次。5 d 后采取套袋花朵, 从基部截取花柱并迅速置于 FAA(甲醛、冰乙酸、70% 乙醇体积比 5:5:90) 固定液中, 4℃ 保存。

1.2 花粉管原位荧光显微观察并拍照

花粉原位萌发的荧光显微观察技术参照吴巨友等的方法^[8], 并稍有改动: 从 FAA 固定液中取出样品, 用蒸馏水多次

收稿日期: 2016-12-27

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 31672118)。

作者简介: 金子明 (1994—), 男, 硕士研究生, 主要从事果树发育生物学、果树自交不亲和的研究。E-mail: 2016804145@njau.edu.cn。

通信作者: 谷超, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事果树发育生物学、果树自交不亲和、果实成熟与衰老的研究。E-mail: guchao@njau.edu.cn。

清洗后,放入 2 mol/L NaOH 溶液中软化,65 ℃ 水浴 40 min,使组织软化;再次清洗多次后,用 0.1% 苯胺蓝水溶液(用 0.1% K_3PO_4 溶液配制)避光室温染色 4~6 h。多次清洗后,滴甘油压片,用宏观变倍体式荧光显微镜(型号: MVX10, 日本 OLYMPUS 公司)观察并拍照。

1.3 数据处理

利用 Image-ProPlus6.0 软件测量花柱中花粉管的生长长度及其花柱的长度,利用 Excel 2007 统计软件计算不同品种花粉管伸长长度占花柱全长的比值,并进行统计分析。

1.4 坐果率调查

于 2016 年选取筛选后的梨品种进行自花授粉坐果率调查。在开花前 1 周,对发育一致的花序进行疏花,只留 2~3 个生长较好的花蕾,进行套袋处理。盛花期轻轻摇动套袋的花序,进行自花授粉,每天摇动纸袋或树枝 2 次。分别在盛花后 20、30 d 统计坐果率,坐果率大于 20% 被认为是自交亲和^[9]。

2 结果与分析

2.1 花粉管生长特性观察

对梨不同品种花粉管原位荧光拍照观察发现,花柱中花粉管分布及数量表现为上部较多、中部较少、下部最少的梯度分布(图 1-A、图 1-B)。部分自花授粉的花粉管停止生长时会出现少量的尖端膨大和弯曲等变形现象,与陈迪新等研究观察结果一致^[10](图 1-C、图 1-D)。同时发现自交不亲和性较强的品种花粉管虽然有少量穿过柱头,但不能进一步在花柱内生长,表现为花粉管在柱头上为畸形、扭曲变形、先端膨大、杂乱无章等不亲和性现象(图 1-E、图 1-F)。

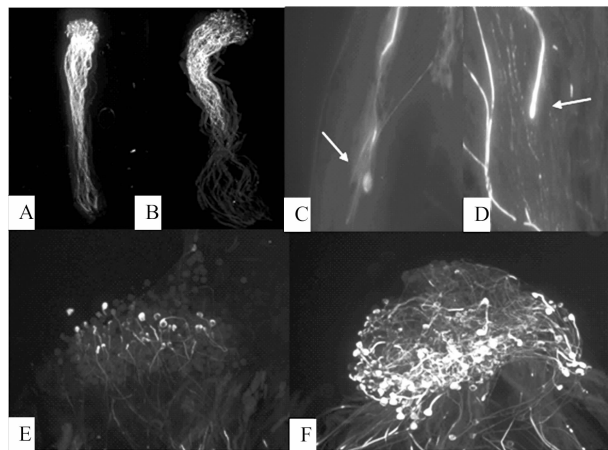


图1 不同品种花粉管生长特性观察

2.2 梨自交不亲和性强度

由于不同果树树种自交亲和与不亲和性的判定标准不同,且对于同一树种不同研究者掌握的尺度也不同。张绍铃等通过 S 糖蛋白含量高低来判断自交不亲和强度^[11]。还有研究表明,自花授粉的花粉管在花柱中生长长度与其 S 糖蛋白含量显著相关^[12]。本研究根据自交授粉花柱中花粉管生长长度占整个花柱的比例定义品种的自交不亲和强度 R 值,通过对 R 值进行分类,将梨供试品种的自交不亲和强度分为强(强, $0 \leq R \leq 30\%$)、中(中, $30\% < R \leq 70\%$)、弱(弱, $70\% < R \leq 100\%$) 3 种类型(图 2)。

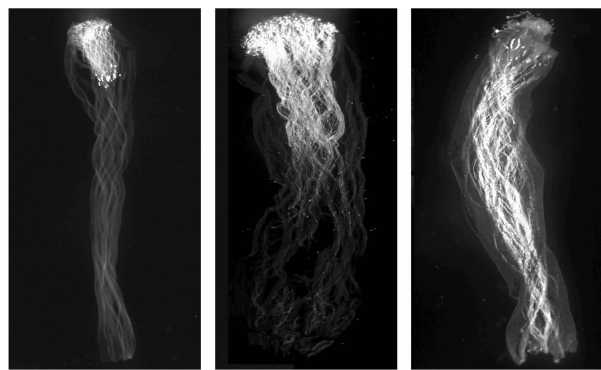


图2 3类自交不亲和强度的梨花柱中花粉管的荧光染色结果

2.3 自交不亲和强度 R 值分析

由于梨自交不亲和的花粉能在柱头上萌发并进入花柱,但在花柱中的生长受到抑制,不能完成受精,本试验对套袋处理的 256 个梨品种从基部截取花柱,染色拍照并进行统计分析。结果显示,不同梨品种自交不亲和性强度差异明显,不亲和性强度变幅为 0~100%,自交不亲和性强度 R 值强、中、弱参差不齐。花粉管可以完全长到基部,共发现 6 个极可能为自交亲和性的品种,只占调查总数的 2.34%。本研究发现大多数品种花粉管不能长到基部(表 1),符合梨属于自交不亲和树种的基本属性,说明梨属于典型的自交不亲和性植物。这 6 个不同梨品种的 R 值为 100%,其中闫庄鸭梨^[13]、秋棠^[14]、54S-135^[14]、金坠梨^[7]、大果黄花梨^[15]是已报道的自交亲和性品种,而晚秀则是本试验通过自花花粉管发现的极可能为自交亲和性品种。这些品种的花粉管能在自交花柱中生长并长至花柱底部,至于能否完成下一步受精及坐果过程,需对这些品种进行进一步自花套袋坐果率调查。通过鉴定自交不亲和强度 R 值,对后期自交亲和性品种进行了初步筛选。并且为后期探索花粉管生长长度与自交不亲和强度的深入研究提供了充足的基础数据。

2.4 不同梨品种自交不亲和性强度 R 值频度分布

对 256 个品种分析发现,其中自交不亲和性强度为强的有 147 个,占所调查总数的 57.4%;自交不亲和性强度为中的有 86 个,占 33.6%;自交不亲和性强度为弱的有 23 个,占 9.0%。从频度分布角度分析,梨不同品种自交不亲和强度主要趋于强与中,花粉管能长到花柱基部的占少数,进一步验证了梨属于配子体自交不亲和植物(图 3)。对 256 个品种所属系统归类和对不同系统自交不亲和性强度的分布频度进行统计比较,发现每个系统自交不亲和性强度 R 值的强、中和弱

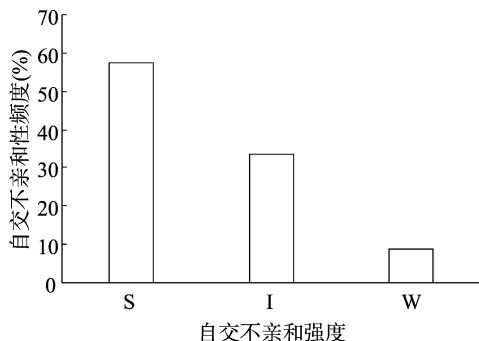


图3 256 个梨品种自交不亲和强度的频率分布

分布符合所调查的整体规律,自交不亲和性强的占大多数,而自交不亲和性弱的仅占少数(表 1、图 4)。同时对比发现,西洋梨与砂梨系统自交不亲和性强度 R 值弱的分布频度较其他系统高(图 4),为发现更多的自交亲和性品种提供了方向。

表 1 不同梨品种自交花柱中花粉管的生长长度占花柱的比例(R 值)、自交不亲和性强度分类及所属系统

序号	品种名	R 值 (%)	SI 强度	系统
1	22774	67.48	I	H
2	25966	40.92	I	H
3	108-1-94	46.42	I	H
4	115-3-36	63.41	I	H
5	115-3-41	31.31	I	H
6	1-19	51.03	I	H
7	1-29	14.88	S	H
8	1-7	0	S	H
9	24 号	46.62	I	N
10	3-26	54.79	I	H
11	4×红巴梨	0	S	C
12	4×鸭梨	14.34	S	B
13	54S-135	100.00	W	H
14	5 号梨	75.73	W	H
15	6-16	47.53	I	H
16	7-1	18.20	S	H
17	7-9	10.51	S	H
18	80-9-31	0	S	H
19	80-9-37	66.67	I	H
20	BA-29	0	S	Z
21	K10	22.51	S	N
22	K15	85.70	W	N
23	K5	0	S	H
24	K6	0	S	H
25	K7	0	S	H
26	K9	0	S	H
27	La France	94.20	W	C
28	S07	74.55	W	N
29	S14	0	S	N
30	S25	97.30	W	N
31	矮砧	78.89	W	Z
32	矮砧 333	9.64	S	Z
33	矮砧 51	0	S	Z
34	矮砧 87	0	S	Z
35	爱丽丝	40.23	I	C
36	安农 1 号	8.97	S	H
37	安农 2 号	51.36	I	H
38	安图山梨	38.39	I	Z
39	奥噶	73.68	W	P
40	八红	56.89	I	N
41	八里香	15.43	S	U
42	八月红	43.88	I	H
43	巴梨	60.14	I	C
44	白花罐	38.92	I	U
45	北新	0	S	P
46	变异黄花	55.41	I	P
47	博多青	15.08	S	P
48	不知道	0	S	N

续表 1				
序号	品种名	R 值 (%)	SI 强度	系统
49	苍梧大沙梨	0	S	P
50	崇化大梨	0	S	B
51	初夏绿	91.73	W	P
52	粗柄酥	14.81	S	P
53	粗皮西绛坞	41.79	I	P
54	脆绿	7.10	S	H
55	大慈梨	0	S	B
56	大果黄花	100.00	W	P
57	大果酥梨	0	S	B
58	大菊水	54.99	I	P
59	大青	67.10	I	N
60	大叶雪	0	S	P
61	砀山酥梨	11.90	S	B
62	冬果	45.30	I	B
63	冬蜜	19.58	S	H
64	冻花盖	0	S	U
65	豆梨	13.51	S	Z
66	鹅梨	61.26	I	B
67	鹅酥	0	S	B
68	鄂梨 1 号	69.83	I	H
69	鄂梨 2 号	0	S	H
70	恩梨	24.35	S	B
71	二宫白	46.81	I	P
72	法兰西	0	S	C
73	樊山	0	S	B
74	丰水 A	0	S	P
75	丰月	0	S	N
76	甘川	37.50	I	P
77	甘谷香水	64.48	I	U
78	甘梨早 6	0	S	H
79	甘梨早 8	0	S	H
80	桂冠	21.78	S	P
81	桂花梨	76.09	W	P
82	汉源大白	38.35	I	B
83	杭红	66.29	I	P
84	杭青	7.82	S	P
85	红安久	0	S	C
86	红巴梨 B	40.44	I	C
87	红蓓蕾砂	9.43	S	C
88	红哈代	0	S	C
89	红考蜜斯	9.34	S	C
90	红茄梨	10.96	S	C
91	红山	0	S	N
92	红香	26.96	S	P
93	红香蜜	0	S	B
94	红香酥	0	S	B
95	红霄-1	0	S	B
96	红星	0	S	C
97	红云 2 号	0	S	P
98	花盖	22.34	S	U
99	花长把	57.83	I	X
100	华金	35.73	I	H
101	华酥	34.87	I	P

续表 1

序号	品种名	R 值 (%)	SI 强度	系统
102	华王	0	S	P
103	黄金梨	0	S	P
104	黄皮鄂梨	0	S	P
105	黄茄梨	60.26	I	P
106	黄色品种西洋梨	86.06	W	C
107	黄县长把	30.61	I	B
108	黄香	37.36	I	B
109	会理早白	0	S	P
110	金棒头	32.02	I	B
111	金川雪梨	0	S	B
112	金川野生梨 2 号	40.17	I	P
113	金二十世纪	0	S	P
114	金花梨	0	S	B
115	金水酥	47.22	I	H
116	金星	0	S	B
117	金坠	100.00	W	B
118	锦丰	20.20	S	B
119	锦香梨	0	S	H
120	晋大	50.98	I	N
121	京白梨	10.87	S	U
122	酒泉长把	0	S	B
123	菊水	10.02	S	P
124	君塚早生(褐皮)	0	S	P
125	君塚早生(绿皮)	0	S	P
126	康德	0	S	P
127	考密斯	18.60	S	C
128	孔德梨	43.08	I	C
129	库实	0	S	N
130	兰州软儿梨	21.08	S	U
131	兰州长把	33.34	I	X
132	梨园麻子梨	53.06	I	P
133	礼县新八盘	43.16	I	B
134	丽江面梨	0	S	P
135	辽阳大香	0	S	U
136	临夏杂吊蛋	0	S	X
137	临夏黄麻	66.46	I	X
138	六月黄棕梨	0	S	P
139	六月爽	0	S	N
140	六月酥	20.00	S	B
141	龙泉 19	0	S	H
142	龙泉 44 号	51.90	I	P
143	龙团梨	19.42	S	P
144	隆回巨梨	32.92	I	P
145	绿云	28.25	S	P
146	麻梨	23.35	S	U
147	满丰	52.43	I	P
148	满园香	0	S	U
149	茅卢库介	0	S	N
150	美人酥	10.22	S	P
151	弥渡火把	43.30	I	P
152	米黄	23.26	S	N
153	面包梨	0	S	N
154	明珠	0	S	N

续表 1

序号	品种名	R 值 (%)	SI 强度	系统
155	南果梨	45.32	I	U
156	南山糖梨 1 号	62.65	I	P
157	南水	0	S	P
158	南月	23.78	S	P
159	糯稻	42.83	I	P
160	苹博香	10.12	S	H
161	苹果梨	27.37	S	B
162	苹香梨	29.98	S	H
163	蒲梨宵	28.85	S	P
164	浦瓜	31.94	I	N
165	青松	0	S	N
166	青云	65.86	I	N
167	清玉	25	S	P
168	秋黄	61.67	I	P
169	秋荣	100.00	W	P
170	秋月	38.51	I	P
171	全州梨	68.06	I	P
172	日光	37.54	I	P
173	软儿梨	37.34	I	U
174	若光	11.55	S	P
175	陕西红金瓶	0	S	N
176	上岗梨	47.75	I	P
177	身不知	37.32	I	H
178	盛马	44.52	I	C
179	十里香	0	S	P
180	实生	0	S	N
181	实生伏梨	20.50	S	P
182	水洞瓜	0	S	B
183	松岛 1	36.04	I	P
184	松岛 2	91.72	W	P
185	苏门	0	S	N
186	索美	15.88	S	P
187	台湾雪梨	78.04	W	P
188	太白	0	S	P
189	泰安长把	0	S	N
190	塘湖青	32.75	I	P
191	天堂	0	S	N
192	铁农 1 号	0	S	H
193	铁农 25 号	0	S	H
194	团早梨	45.61	I	P
195	晚咸丰	25.32	S	P
196	晚秀	100.00	W	P
197	威廉姆斯	87.37	W	C
198	威宁自生梨	0	S	P
199	吾妻锦	25.53	S	P
200	五九香	96.50	W	H
201	五三优株	15.15	S	P
202	武巴	0	S	H
203	武山糖梨	66.32	I	B
204	细花平头青	29.15	S	P
205	细皮西绛坞	55.99	I	P
206	香梨	0	S	P
207	香麻	0	S	P

续表 1

序号	品种名	R 值 (%)	SI 强度	系统
208	湘菊	0	S	P
209	新九梨	22.30	S	N
210	新世纪	73.45	W	P
211	新兴	0	S	P
212	新秀	46.00	I	P
213	新鸭梨	39.94	I	B
214	兴矮二号	55.92	I	P
215	兴山 10 号	0	S	P
216	兴山 15 号	26.06	S	P
217	兴山 16 号	53.56	I	P
218	兴山 34 号	21.56	S	P
219	兴山 8 号	22.86	S	P
220	幸藏	55.99	I	P
221	雄古冬梨	37.31	I	P
222	秀黄	59.08	I	P
223	雪英	56.22	I	H
224	鸭梨	28.01	S	B
225	雅青	68.49	I	H
226	闫庄鸭梨	100.00	W	B
227	义乌子梨	0	S	P
228	意大利 7 号	0	S	C
229	油酥	21.36	S	P
230	玉露香	0	S	H
231	圆黄	26.01	S	P
232	云和柿扁梨	8.24	S	P
233	云林	55.02	I	P
234	云南海东	40.80	I	N
235	早冠	94.58	W	H
236	早黄金	52.75	I	P
237	早金酥	0	S	H
238	早绿	43.39	I	H
239	早三花	0	S	P
240	早酥蜜	0	S	B
241	早香脆	31.12	I	B
242	长把酥	0	S	P
243	浙 12-4	35.15	I	P
244	浙 21	13.61	S	P
245	蔗梨	15.54	S	H
246	真鎰	43.80	I	P
247	芝麻梨	60.08	I	P
248	祗圆	85.74	W	P
249	中矮 3 号	15.32	S	Z
250	中翠	7.93	S	H
251	中梨 1 号	24.37	S	H
252	中梨 3 号	18.81	S	H
253	重阳红	0	S	N
254	猪嘴巴	24.84	S	P
255	筑波 49	67.37	I	P
256	筑水	34.50	I	P

注:S(strong)代表自交不亲和强度强的品种,I(intermediate)代表中强度的品种,W(weak)代表弱强度的品种,B代表白梨(*P. brestschnederi*),C代表西洋梨(*P. communis*),H代表种间杂交(interspecific hybridization),N(unknow species)代表未知种类,P代表砂梨(*P. pyrifolia*),U代表秋子梨(*P. ussuriensis*),X代表新疆梨(*P. sinkiangensis*),Z(stock species)代表砧木类型。

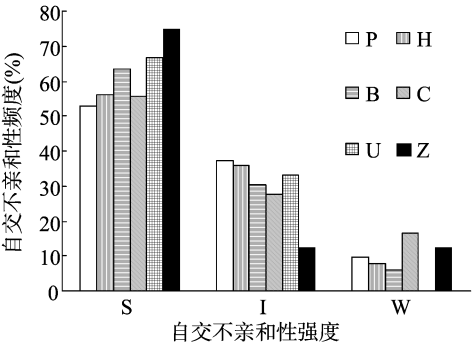


图4 不同梨系统自交不亲和强度的频度分布

2.5 自花授粉坐果率统计调查

对于自交亲和性强度极弱的,笔者选择了 $R > 90\%$ 的品种(金坠、秋荣、晚秀、五九香、早冠、初夏绿)进一步探索自花授粉结实率,结果发现,金坠、秋荣、晚秀 3 个品种 R 值为 100.00%,其中以已报道的自交亲和品种金坠和秋荣作为对照。同时笔者也对自交不亲和强度为中的早黄金、自交不亲和强度为强的锦丰和六月爽多个品种进行了自花套袋试验。表 2 结果表明,金坠和秋荣在花后 20、30 d 坐果率都高于 20%,而其他品种自花套袋的品种基本没有坐果。金坠和秋荣自花花粉管长到花柱最低端,并且坐果率大于 20%,说明金坠和秋荣为自交亲和性品种,同时通过自交不亲和强度 R 值来初步筛选自交亲和性品种的可靠性得到了一定的验证。然而,并不是所有 R 值为 100.00% 的品种都是自交亲和性品种,本试验中,初步鉴定晚秀 R 值为 100.00%,但通过自花套袋发现坐果率为 0。其他自交亲和性强度为强与中的品种自花套袋不结实,或者结实率极低,为自交不亲和品种,进一步说明通过 R 值在海量的资源中初步筛选自交亲和性品种方法的优越性及可靠性。

表 2 自花授粉后果实坐果率统计

品种	套袋花数 (朵)	果实数量(个)		坐果率(%)		R 值 (%)
		20 d	30 d	20 d	30 d	
金坠	290	190	178	65.5	61.4	100.00
秋荣	300	121	98	40.3	32.7	100.00
晚秀	303	0	0	0.0	0.0	100.00
五九香	310	4	0	1.3	0.0	96.50
早冠	142	0	0	0.0	0.0	94.58
La France	150	0	0	0.0	0.0	94.20
初夏绿	255	4	0	1.6	0.0	91.73
早黄金	138	2	0	1.4	0.0	52.75
锦丰	145	0	0	0.0	0.0	20.20
六月爽	140	0	0	0.0	0.0	0.00

3 讨论

梨是蔷薇科中自交不亲和物种^[16],自花花粉可以在柱头上萌发,但是很少能生长到花柱底部^[17-18]。本研究通过观察不同品种自花花粉管在花柱内停止生长的位置差异发现,许多品种花粉萌发后生长很短或者刚能穿过柱头就完全停止生长,表现为强自交不亲和性,而大多数品种自花花粉管生长停止在花柱长度的 2/3 之前,这与前人的报道一致^[17]。然而,仍有少量花粉管能够生长至花柱基部,表现为弱自交不亲和性。每个花粉管数量在花柱中的分布从柱头到基部越来越

少,且绝大多数花粉管最终在花柱内停止生长,花粉管末端形态结构改变。有活体试验表明,不亲和性花粉管生长受抑制前,有弯曲、先端膨大变形等现象,而异花授粉的花粉管没有此现象^[10]。也有研究表明,自花授粉的花粉管在花柱内都有“快—慢—快”的动态生长变化过程^[10]。在不同的梨品种中花粉管生长受到抑制时,花柱的发生部位及变化不同,徐义流等认为可能是自交不亲和基因时空表达的差异造成的^[19]。也有研究表明,梨花柱中 S 糖蛋白的含量具有品种特异性和组织差异性,即品种不同,花柱中 S 糖蛋白的含量不同,并且 S 糖蛋白在花柱中分布不均匀导致花粉管停止生长^[12,20]。梨的自交不亲和性主要表现在自交授粉花柱中花粉管的生长受到抑制,这与 S 糖蛋白有直接的关系,S 糖蛋白的核糖核酸酶活性可通过降解花粉管 RNA 来抑制花粉管生长^[21]。活体和离体试验均表明,自交不亲和性强度与花粉管长度呈负相关^[11-12]。从而分析认为,由花粉管生长的长度可以判断自交不亲和强度,自交花柱中花粉管生长长度占花柱的比例将自交不亲和强度分为强、中和弱 3 类。在本研究中 256 个品种中,自交不亲和性强度参差不齐,强、中和弱频度分布也有很大差距。在离柱头近的地方 *S-RNase* 浓度可能较高,因此自交不亲和性为强的频度分布占多数,为梨不同品种花柱内 S 糖蛋白总量及其花柱内的分布提供一定的理论基础。S 糖蛋白在花柱内是否具有梯度分布和怎样的分布有待进一步验证。本研究同时为后期深入研究自交不亲和性强度具体机制提供了充足的基础数据。

笔者通过对大量自花授粉花粉管生长状态研究,来初步判断筛选自交亲和性品种。发现金坠、秋荣和晚秀花粉管长到了花柱最底端,自交不亲和强度 *R* 值为 100.00%。进一步自花套袋调查了坐果率,发现金坠和秋荣确实为自交亲和性品种。然而遗憾的是,晚秀在鉴定花粉管过程中极可能是自交亲和性品种,但最终自花套袋未结实。同时还发现,自交不亲和强度呈现中和强的品种,在自花套袋试验中也不结实。因此,这样的结果验证了笔者通过自花花粉管生长状态来初步筛选自交亲和性品种的必要性和可靠性,大大减少了盲目调查坐果率的工作量,并且丰富了自交不亲和强度 *R* 值数据,为后期进一步研究自交不亲和机制提供了充足的数据及一定的理论基础。

参考文献:

- [1] Yamane H, Tao R. Molecular basis of self - (in) compatibility and current status of S - genotyping in rosaceous fruit trees[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2009, 78(2): 137 - 157.
- [2] McCubbin A G, Kao T. Molecular recognition and response in pollen and pistil interactions[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2000, 16(16): 333 - 364.
- [3] McClure B A, Du H, Liu Y H, et al. S - locus products in *Nicotiana glauca* pistils are subject to organ - specific post - transcriptional processing but not post - translational processing[J]. Plant Molecular Biology, 1993, 22(1): 177 - 181.
- [4] 张绍铃, 吴巨友, 吴俊, 等. 蔷薇科果树自交不亲和性分子机制研究进展[J]. 南京农业大学学报, 2012, 35(5): 53 - 63.
- [5] Končalová M N. D. de nettancourt incompatibility in angiosperms[J]. Folia Geobotanica, 1978, 13(4): 370 - 370.
- [6] Yamane H, Ikeda K, Ushijima K, et al. A pollen - expressed gene for a novel protein with an F - box motif that is very tightly linked to a gene for S - RNase in two species of cherry, *Prunus cerasus* and *P. avium*[J]. Plant and Cell Physiology, 2003, 44(7): 764 - 769.
- [7] 吴华清, 张绍铃, 吴巨友, 等. ‘金坠梨’自交亲和性突变机制的初步研究[J]. 园艺学报, 2007, 34(2): 295 - 300.
- [8] 吴巨友, 张绍铃, 蒋大华, 等. 梨远缘花粉原位萌发及生长特性[J]. 西北植物学报, 2006, 26(11): 2197 - 2201.
- [9] Komori S, Soejima J, Kudo K, et al. Selection of apple cultivars and strains corresponding to each S - allele genotype[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2008, 68(1): 73 - 82.
- [10] 陈迪新, 张绍铃, 陶书田. 沙梨花粉原位萌发与花粉管生长特性[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(3): 34 - 37.
- [11] 张绍铃, 杨记礅, 李秀根, 等. 梨自交不亲和强度不同品种花柱 S 糖蛋白含量的差异[J]. 园艺学报, 2002, 29(2): 165 - 167.
- [12] 张绍铃, 平塚伸. 梨花柱 S 糖蛋白对离体花粉萌发及花粉管生长的影响[J]. 园艺学报, 2000, 27(4): 251 - 256.
- [13] 李晓芳, 李茂福, 韩振海, 等. ‘鸭梨’芽变‘闫庄梨’自交亲和性分子机制初步研究[J]. 园艺学报, 2008, 35(1): 13 - 18.
- [14] 吴华清. 梨自交亲和性变异的分子机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2006.
- [15] 吴华清, 衡伟, 李晓, 等. 大果黄花梨自交亲和性变异机制研究[J]. 南京农业大学学报, 2007, 30(2): 29 - 33.
- [16] 周建涛, 姜雪婷, 李慧, 等. 钙调素及其抗血清对梨花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(2): 437 - 441.
- [17] Heng W, Wu H, Huang S, et al. Identification of S - genotypes and novel S - RNases in native Chinese pear[J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2008, 83(5): 629 - 634.
- [18] Qi Y J, Wu H Q, Cao Y F, et al. Heteroallelic diploid pollen led to self - compatibility in tetraploid cultivar ‘Sha 01’ (*Pyrus sinkiangensis* Yü) [J]. Tree Genetics & Genomes, 2011, 7(4): 685 - 695.
- [19] 徐义流, 张绍铃. 梨配子体型自交不亲和性及其分子机理[J]. 果树学报, 2003, 20(1): 59 - 63.
- [20] Zhang S L, Hiratsuka S. Cultivar and developmental differences in S - protein concentration and self - incompatibility in the Japanese pear[J]. Japanese Journal of Applied Physics, 2000, 13(S1): 351.
- [21] McClure B A, Gray J E, Anderson M A, et al. Self - incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA[J]. Nature, 1990, 347(6295): 757 - 760.