

苹果地方品种花粉形态分类及聚类研究

王大江, 王 昆, 高 源, 刘立军, 龚 欣

(中国农业科学院果树研究所/农业部园艺作物种质资源利用重点实验室, 辽宁兴城 125100)

摘要: 利用扫描电镜观察了苹果属植物 25 个地方品种、10 个野生种类型、3 个栽培品种、2 个杂交种共 40 个不同类型的花粉形态特征, 根据花粉形状、极轴和赤道轴长度等 11 个指标, 采用类平均法 (UPGMA) 对欧式距离进行聚类分析。结果发现: 所观察花粉类型均为 $N_3P_4C_5$ 类型, 呈两侧对称的长球形或超长球形, 花粉表面有条状饰纹和穿孔, 各类型间花粉粒大小及外壁纹饰差异明显, 地方品种早白海棠外壁饰纹无纹束, 区别于其他资源。聚类分析表明: 在遗传距离 1.30 水平上, 40 份资源聚为 9 大类, 地方品种与野生资源、栽培品种相互交错, 部分地方品种单独聚为一类。地方品种花粉形态多样性极为丰富, 除一些特异类型, 花粉形态不能单独作为地方品种分类的依据, 需结合其他分类方法; 部分地方品种起源于新疆野苹果或者新疆野苹果与其他野生资源或者栽培种的自然杂交, 部分地方品种经过相互杂交和人工选择形成其类型的多样性, 具有重要的科研价值。

关键词: 苹果; 地方品种; 花粉形态; 扫描电镜; 分类; 起源演化

Study on the Pollen Morphology, Taxonomy and Clustering of the Local varieties of Apples

WANG Da-jiang, WANG Kun, GAO Yuan, LIU Li-jun, GONG Xin

(Research Institute of Pomology, CAAS/Key Laboratory of Horticulture Crops Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Xingcheng Liaoning 125100)

Abstract: Pollen morphology of 25 local varieties, 10 wild species, 3 cultivars and 2 hybrids of *Malus* were observed through scanning electron microscope, cluster analysis with UPGMA based on the shape, the length of equatorial axis, the length of polar axis and the other 8 indexes. The results indicated that *Malus* pollen belonged to the $N_3P_4C_5$ type, prolate sphericity or ultra prolate sphericity with striate pattern and some small pores on the exine surface, the size and exine sculpture of pollen from different varieties were significantly distinct, the local variety 'Zaobaihaitang' which didn't have stripe was different from others. From the UPGMA cluster analysis at the 1.30 level of genetic distance, 40 taxa could be classified into 9 groups, some local varieties distributed over the wild species, cultivates and hybrids, the others clustered into a category respectively. Pollen morphology of local varieties were rich in diversity, it need to be combined with other classification methods to taxonomy the local varieties except for some specific local varieties; and some local varieties originated from *M. sieversii* (Ledeb.) Roem or originated from the natural hybridization between *M. sieversii* (Ledeb.) Roem and others wild species or cultivars, other local varieties and the diversity emerged after natural hybrid and artificial selection, and the local varieties have important value in scientific research.

Key words: apple; local varieties; pollen morphology; scanning electron microscope; taxonomy; evolutionary origins

收稿日期: 2015-01-28 修回日期: 2015-04-03 网络出版日期: 2015-12-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20151209.0914.026.html>

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303093); 农作物种质资源保护项目 (NB2015-2130135-39)

第一作者研究方向为苹果种质资源研究。E-mail: dajiang0101@126.com

通信作者: 王昆, 主要从事苹果种质资源研究。E-mail: wangkun5488@163.com

地方品种,亦称农家品种,是农民经过长期驯化世代相传的具有明显不同特点的作物,地方品种具有适应性强和类型多等特点,其遗传组成具有较高的杂合性^[1]。在现代的苹果发展中,利用地方品种进行人工杂交、选育,形成了部分优异的栽培品种和优良砧木^[2-7]。我国新疆、山西、河北等地苹果栽培历史悠久,苹果地方品种极为丰富,这些地方品种不仅满足了当时人类对果品的需求,而且对现代苹果形成和发展起了重要的作用,研究这些地方品种的花粉形态及其分类和起源演化具有重要的意义。

迄今为止,利用形态学、孢粉学等手段对梨、桃和枣等植物进行了大量的研究^[8-10],花粉的形态特征亦作为苹果属植物重要分类及起源演化的研究依据。杨晓红等^[11]对北美绿苹果组植物 6 个种的花粉进行扫描观察表明,6 个种的花粉极轴/赤道轴(P/E)大小不同,野香海棠的最大,粉绿叶海棠最小,P/E 比值可作为北美绿苹果组植物演化关系的参考。闫忠业等^[12]对富士芽变系花粉形态的研究表明,P/E 比值可以作为芽变品种鉴定的重要指标。李晓磊等^[13]观察苹果属 17 个原生种和 25 个观赏海棠品种的花粉形态特征表明,25 个观赏海棠品种起源于北美洲基因中心,并通过与欧洲、亚洲基因中心的苹果种间杂交形成亲缘关系复杂的品种。秦伟等^[14]对新疆野苹果和部分栽培品种花粉进行观察对比指出,新疆野苹果与栽培品种除了纹饰有细微不同之外,其他特征相近,差异不明显。李林光等^[15]比较了四倍体天星和二倍体富士花粉性状,指出四倍体花粉 P/E 值小,花粉粒形状不及二倍体规则且饱满度也低。前人对苹果野生类型、栽培品种和杂交类型花粉形态有一定的研究,但对苹果地方品种的花粉形态及在苹果属植物中的分类、起源演化研究较少。

本研究采用电镜扫描对苹果资源 25 个地方品种、10 个野生种、3 个栽培品种和 2 个杂交种共 40 个类型的花粉进行观察,对其基本特征进行定性和定量描述,并进行聚类分析,研究苹果地方品种与栽培品种、野生种及其不同类型花粉之间的主要差异,同时对其分类和起源演化进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

40 份试验材料中 39 份取自国家果树种质苹果圃(辽宁兴城),1 份(山楂海棠)取自国家果树种质寒地果树圃(吉林公主岭),详见表 1。

表 1 供试苹果种质资源材料

Table 1 *Malus germplasm resources*

编号 Code	材料名称 Material name	原产地 Origin place of resources
1	八棱海棠	中国河北
2	小砬山八棱海棠	中国河北
3	小砬山槟子	中国河北
4	红海棠	中国河北
5	早白海棠	中国河北
6	晚白海棠	中国河北
7	热礅子短枝	中国河北
8	冷海棠	中国河北
9	三块石海棠	中国河北
10	西府海棠	中国河北
11	克孜阿尔玛	中国新疆
12	和田红肉苹果	中国新疆
13	红果子	中国新疆
14	冬白果	中国新疆
15	冬红果	中国新疆
16	柠檬海棠	中国新疆
17	霍城白果子	中国新疆
18	桑归	中国新疆
19	阿留斯坦	中国新疆
20	大红海棠	中国新疆
21	山西林檎	中国山西
22	保德海红	中国山西
23	东北黄海棠	中国吉林
24	莱芜难咽	中国山东
25	柰子	中国山东
26	山荆子	中国辽宁
27	黑俞山荆子	中国山西
28	镜泊湖山荆子	中国黑龙江
29	扎矮山荆子	中国内蒙古
30	毛山荆子	中国辽宁
31	山楂海棠	中国吉林
32	尖嘴林檎	中国云南
33	陇东海棠	中国甘肃
34	新疆野苹果	中国新疆
35	野香海棠	北美
36	俄罗斯苹果	俄罗斯
37	俄罗斯白苹果	俄罗斯
38	铃铛果	北美
39	樱叶海棠	中国江西
40	朱眉海棠	日本

1~25 为地方品种;26~35 为野生种或其不同类型;36~38 为栽培品种;39、40 为杂交种

1-25 are local varieties,26-35 are wild species or their different styles,36-38 are cultivars,39 and 40 are hybrids

1.2 方法

圃地管理水平一般,树势中庸,树龄 5 年,基础为山荆子,大小较为整齐。2013 年 5 月随机取树冠外围大蕾期花朵,每份资源取 3 株树树冠外围的 10 朵花苞,室内自然阴干后将其花粉混合,装入 1.5 mL 离心管、密封保存于 4℃ 冰箱、备用。花粉电镜观察在中国农业大学生命科学研究中心扫描电镜实验室进行,将花粉均匀粘在双面导电的载物台上,利用 HITACHI 公司的 S-3400 扫描电镜观察,加速电压 15 kv,选取典型的花粉粒进行拍照。通过图像软件 Image Tool 3.6 测量或调查花粉极轴(P)、赤道轴(E)、P/E、条脊宽、条脊距、穿孔密度、穿孔直径、表面纹饰等指标,每项指标调查 20 个数据取平均值。利用 DPS 9.5 的类平均法(UPGMA)进行聚类分析。

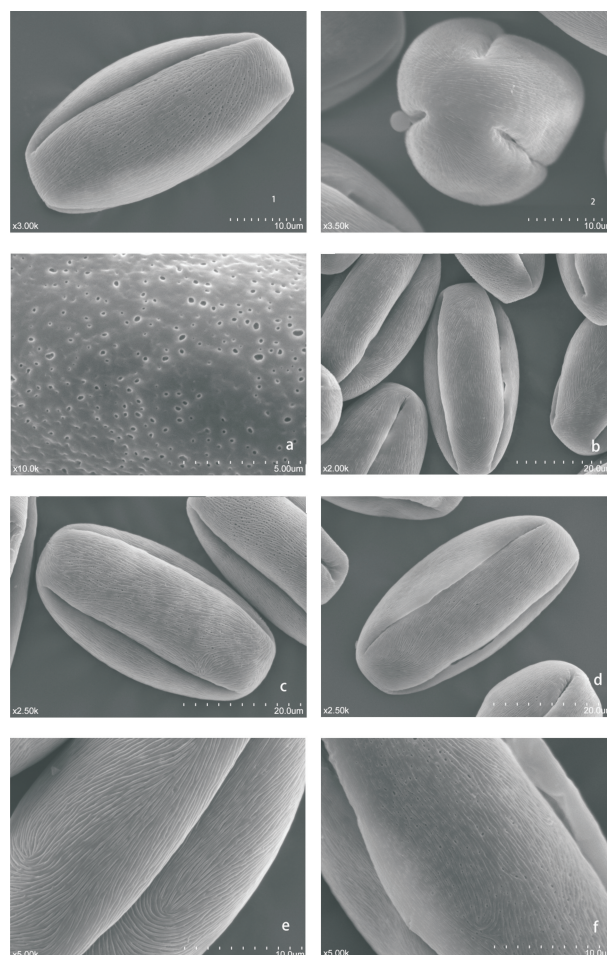
2 结果与分析

2.1 花粉形状

如图 1 所示,所观测的 40 份苹果资源的花粉形状为长球形或超长球形(1.65 ~ 2.10),10 个地方品种为超长球形,分别为小砬山八棱海棠、小砬山檉子、冷海棠、热碾子短枝、红海棠、大红海棠、霍城白果子、克孜阿尔玛、柠檬海棠和山西林檎,其余 15 个地方品种为长球形;野生资源 3 个为超长球形,分别为黑俞山荆子、镜泊湖山荆子和扎矮山荆子,其余 7 个资源为长球形;3 个栽培品种均为长球形;杂交种樱叶海棠为超长球形,朱眉海棠为长球形。所观测花粉侧面均为长椭圆形,极面为三裂圆形,赤道面具 3 条孔沟,沿极轴方向延伸至两极,属赤道三孔沟类型,即 $N_3P_4C_5$ [16]。

2.2 花粉大小

如表 2 所示,40 份资源的花粉极轴长 36.74 ~ 47.97 μm ,平均值为 43.23 μm ;赤道轴长 19.86 ~ 25.15 μm ,平均值为 22.26 μm 。地方品种花粉极轴长为 36.74 ~ 47.15 μm ,平均值为 43.27 μm ,赤道轴长 19.86 ~ 25.15 μm ,平均值为 22.23 μm ,其中花粉最大的地方品种为冷海棠,大小为 47.15 μm × 22.42 μm ,最小的为柰子,大小为 36.74 μm × 21.20 μm ;P/E 值为 1.65 ~ 2.10,平均为 1.94,最小的和田红肉苹果,最大的为冷海棠。野生资源花粉极轴长为 38.66 ~ 47.97 μm ,平均值为 43.38,赤道轴长 21.51 ~ 23.51 μm ,平均值为 22.42 μm ,其中最大的为黑俞山荆子,大小为 47.97 μm × 23.51 μm ,最小的为新疆野苹果,为 38.66 μm × 23.21 μm ;P/E 值为 1.67 ~ 2.07,平均值为 1.94,最大的为镜泊湖山荆



1: 花粉赤道面(朱眉海棠); 2: 花粉极面(阿留斯坦);
a ~ f: 花粉外壁纹饰; a: 仅有穿孔(早白海棠);
b: 中部极轴方向平行, 两端赤道方向平行(陇东海棠);
c: 不规则, 条纹纵横交错(保德海红); d: 极轴方向平行(镜泊湖山荆子); e: 仅有条纹(野香海棠); f: 簸箕状指纹型(山荆子)
1: Pollen in equatorial view(Zhumeihaitang), 2: Pollen in polar view(Aliusitang), a-f: Pollen exine ornamentation,
a: Only have pores(Zaobaihaitang), b: Pore axis parallel near the middle(Longdonghaitang), c: Irregular vertically and horizontally(Baodehaihong), d: Parallel to the pole axis(Jingbohu shanjingzi), e: Only have stripes(Yexianghaitang), f: Resemble 'Boji' dactylogram(Shanjingzi)

图 1 苹果种质资源花粉形态

Fig. 1 Pollen morphology of *Malus* germplasm resources

子,最小的为新疆野苹果。栽培品种花粉极轴长 41.21 ~ 44.51 μm ,平均为 42.89 μm ,赤道轴长 21.59 ~ 23.17 μm ,平均值为 22.34 μm ,花粉大小依次为俄罗斯苹果、俄罗斯白苹果和铃铛果,P/E 大小为 1.91 ~ 1.93,平均值为 1.92,最大的为俄罗斯白苹果,最小的为铃铛果。2 个杂交种极轴平均长 42.46 μm ,赤道轴平均长 21.72 μm ,P/E 分别为 2.01 和 1.91。

表 2 苹果种质资源扫描电镜观察比较

Table 2 Comparing the ESEM observation of pollen morphology of different *Malus* germplasm resources

代号 Code	极轴 × 赤道轴 (μm) P × E	极轴/ 赤道轴 P/E	花粉形状 Pollen shape	条纹束, 分叉 Stripes, divarication	条脊 (μm) Ridge		穿孔 Pore		中部, 近极端分布 Middle and polar distribution
					宽 Width	距 Interval	直径 (μm) Diameter	密度 (个/ μm^2) Density	
1	$(43.42 \pm 1.97) \times$ (21.88 ± 1.64)	1.98 ± 0.04	长球	IR 粗疏, 少	0.15 ± 0.02	0.26 ± 0.09	0.17 ± 0.04	1.520	均匀
2	$(44.30 \pm 2.56) \times$ (21.14 ± 1.46)	2.10 ± 0.05	超长球	PP 粗疏, 少	0.24 ± 0.03	0.17 ± 0.05	0.13 ± 0.05	0.054	均匀
3	$(45.99 \pm 1.12) \times$ (22.69 ± 1.90)	2.03 ± 0.22	超长球	EP-PP-EP 细密, 少	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.05	0.12 ± 0.03	1.781	均匀
4	$(45.55 \pm 1.27) \times$ (22.42 ± 1.49)	2.03 ± 0.05	超长球	PP 粗疏, 少	0.18 ± 0.02	0.15 ± 0.04	0.17 ± 0.06	0.517	多, 少
5	$(45.40 \pm 2.88) \times$ (25.14 ± 2.80)	1.81 ± 0.08	长球	—	—	—	0.23 ± 0.02	1.474	均匀
6	$(44.95 \pm 1.37) \times$ (22.62 ± 1.19)	1.99 ± 0.09	长球	EP-PP-EP 粗疏, 少	0.15 ± 0.03	0.24 ± 0.11	0.17 ± 0.08	1.377	均匀
7	$(46.53 \pm 1.78) \times$ (22.47 ± 1.30)	2.07 ± 0.17	超长球	BQ 粗疏, 少	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.10 ± 0.03	0.466	多, 少
8	$(47.15 \pm 1.62) \times$ (22.42 ± 1.44)	2.10 ± 0.08	超长球	PP 细密, 多	0.13 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.10 ± 0.02	0.744	少, 多
9	$(39.24 \pm 1.01) \times$ (21.40 ± 1.13)	1.83 ± 0.06	长球	PP 粗疏, 少	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.04	0.15 ± 0.03	0.325	均匀
10	$(41.81 \pm 1.45) \times$ (22.32 ± 1.03)	1.87 ± 0.05	长球	IR 粗密, 少	0.19 ± 0.04	0.11 ± 0.03	0.12 ± 0.05	0.622	多, 少
11	$(40.99 \pm 2.15) \times$ (19.86 ± 1.49)	2.06 ± 0.04	超长球	IR 粗密, 多	0.21 ± 0.04	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.04	0.301	多, 少
12	$(41.55 \pm 1.99) \times$ (25.15 ± 1.51)	1.65 ± 0.12	长球	IR 粗疏, 少	0.23 ± 0.04	0.20 ± 0.07	0.14 ± 0.05	0.772	少, 多
13	$(40.96 \pm 1.06) \times$ (21.81 ± 1.45)	1.88 ± 0.04	长球	IR 粗疏, 多	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.06	0.21 ± 0.08	1.523	多, 少
14	$(41.16 \pm 1.26) \times$ (21.97 ± 1.34)	1.87 ± 0.07	长球	PP 粗密, 少	0.17 ± 0.02	0.13 ± 0.04	0.11 ± 0.04	0.605	少, 多
15	$(43.01 \pm 1.32) \times$ (22.65 ± 1.30)	1.90 ± 0.08	长球	PP 粗疏, 多	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.04	—	—	—
16	$(43.28 \pm 1.85) \times$ (21.38 ± 1.86)	2.02 ± 0.09	超长球	BQ 粗疏, 少	0.20 ± 0.03	0.15 ± 0.04	0.17 ± 0.04	0.430	多, 少
17	$(44.34 \pm 1.08) \times$ (21.52 ± 1.12)	2.06 ± 0.09	超长球	IR 细疏, 多	0.12 ± 0.02	0.26 ± 0.06	0.21 ± 0.05	2.164	均匀
18	$(44.50 \pm 1.73) \times$ (22.32 ± 1.03)	1.99 ± 0.05	长球	PP 粗疏, 少	0.15 ± 0.02	0.29 ± 0.05	0.25 ± 0.05	1.499	均匀
19	$(44.14 \pm 1.97) \times$ (24.28 ± 0.12)	1.82 ± 0.06	长球	IR 粗疏, 少	0.19 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.15 ± 0.04	0.277	多, 少
20	$(44.68 \pm 1.93) \times$ (22.20 ± 1.54)	2.01 ± 0.05	超长球	PP 粗疏, 少	0.21 ± 0.03	0.16 ± 0.04	0.17 ± 0.04	0.539	均匀

表 2(续)

代号 Code	极轴 × 赤道轴 (μm) P × E	极轴/赤道轴 P/E	花粉形状 Pollen shape	条纹束,分叉 Stripes, divarication	条脊(μm) Ridge		穿孔 Pore		中部,近极端分布 Middle and polar distribution
					宽 Width	距 Interval	直径(μm) Diameter	密度(个/ μm^2) Density	
21	$(44.27 \pm 1.12) \times$ (21.99 ± 1.31)	2.01 ± 0.06	超长球	EP-PP-EP 粗疏,多	0.15 ± 0.02	0.14 ± 0.04	0.24 ± 0.06	0.511	少,多
22	$(43.07 \pm 1.85) \times$ (21.96 ± 1.37)	1.96 ± 0.15	长球	IR 粗疏,多	0.20 ± 0.04	0.17 ± 0.03	0.17 ± 0.05	0.825	多,少
23	$(42.24 \pm 1.90) \times$ (21.24 ± 0.98)	1.99 ± 0.09	长球	EP-PP-EP 粗疏,多	0.17 ± 0.04	0.15 ± 0.04	—	—	—
24	$(42.41 \pm 1.68) \times$ (21.64 ± 1.21)	1.96 ± 0.09	长球	EP-PP-EP 粗密,多	0.20 ± 0.04	0.13 ± 0.03	—	—	—
25	$(36.74 \pm 1.54) \times$ (21.20 ± 1.45)	1.73 ± 0.08	长球	PP 粗密,多	0.15 ± 0.03	0.14 ± 0.03	—	—	—
26	$(42.89 \pm 2.60) \times$ (22.48 ± 2.04)	1.91 ± 0.09	长球	BQ 粗疏,少	0.20 ± 0.04	0.19 ± 0.03	0.20 ± 0.04	1.982	均匀
27	$(47.97 \pm 1.20) \times$ (23.51 ± 1.51)	2.04 ± 0.09	超长球	PP 细疏,少	0.12 ± 0.03	0.20 ± 0.07	0.13 ± 0.03	0.904	均匀
28	$(44.6 \pm 2.00) \times$ (21.59 ± 1.92)	2.07 ± 0.07	超长球	PP 粗疏,少	0.19 ± 0.04	0.15 ± 0.06	0.16 ± 0.05	0.953	多,少
29	$(44.04 \pm 3.26) \times$ (21.51 ± 2.05)	2.05 ± 0.19	超长球	PP 粗疏,少	0.17 ± 0.03	0.18 ± 0.06	0.19 ± 0.03	1.355	均匀
30	$(43.37 \pm 2.19) \times$ (22.62 ± 1.53)	1.92 ± 0.07	长球	PP 粗疏,少	0.20 ± 0.03	0.17 ± 0.05	0.18 ± 0.04	0.660	均匀
31	$(41.87 \pm 1.49) \times$ (21.58 ± 1.75)	1.94 ± 0.08	长球	IR 粗疏,少	0.24 ± 0.04	0.16 ± 0.06	0.15 ± 0.05	0.126	少,多
32	$(42.20 \pm 1.57) \times$ (22.59 ± 1.81)	1.87 ± 0.07	长球	PP 粗密,多	0.17 ± 0.03	0.13 ± 0.03	—	—	—
33	$(44.42 \pm 1.47) \times$ (22.74 ± 1.59)	1.95 ± 0.08	长球	EP-PP-EP 粗疏,少	0.16 ± 0.02	0.13 ± 0.03	0.15 ± 0.04	0.382	均匀
34	$(38.66 \pm 2.66) \times$ (23.21 ± 1.12)	1.67 ± 0.08	长球	IR 粗疏,少	0.18 ± 0.04	0.16 ± 0.04	0.17 ± 0.04	1.217	多,少
35	$(43.81 \pm 3.54) \times$ (22.35 ± 3.00)	1.96 ± 0.09	长球	IR 粗疏,多	0.18 ± 0.02	0.21 ± 0.03	—	—	—
36	$(44.51 \pm 1.14) \times$ (23.17 ± 1.69)	1.92 ± 0.07	长球	IR 细疏,少	0.13 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.04	1.131	多,少
37	$(42.95 \pm 1.92) \times$ (22.27 ± 1.29)	1.93 ± 0.08	长球	EP-PP-EP 细疏,少	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.09 ± 0.02	1.673	均匀
38	$(41.21 \pm 0.29) \times$ (21.59 ± 1.26)	1.91 ± 0.06	长球	PP 粗疏,少	0.18 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.25 ± 0.08	0.887	多,少
39	$(42.69 \pm 2.77) \times$ (21.28 ± 1.35)	2.01 ± 0.08	超长球	PP 粗疏,少	0.15 ± 0.02	0.18 ± 0.04	0.27 ± 0.07	1.467	均匀
40	$(42.23 \pm 2.39) \times$ (22.15 ± 1.41)	1.91 ± 0.07	长球	EP-PP-EP 粗疏,少	0.20 ± 0.03	0.18 ± 0.04	0.19 ± 0.04	1.086	多,少

PP:极轴方向平行;EP-PP-EP:中部极轴方向平行,两端转赤道方向平行;BQ:簸箕状指纹;IR:不规则,条纹纵横交错。超长球: $P/E \geq 2$;长球: $1.5 < P/E < 2$;细条纹束:条脊宽 $< 0.15 \mu\text{m}$;粗条纹束:条脊宽 $\geq 0.15 \mu\text{m}$;条纹束排列疏松:条脊距 $\geq 0.15 \mu\text{m}$;条纹束排列紧密:条脊距 $< 0.15 \mu\text{m}$
 PP:Parallel to the pole axis,EP-PP-EP:Pole axis parallel near the middle turn to equator parallel near the polar,BQ:Resemble 'Boqi' daetylogram,IR:Irregular,vertically and horizontally.Ultra prolate: $P/E \geq 2$,Prolate: $1.5 < P/E < 2$,Thin stripes;Ridge width $< 0.15 \mu\text{m}$,Thick stripes;Ridge width $\geq 0.15 \mu\text{m}$,Sparse stripes;Ridge interval $\geq 0.15 \mu\text{m}$,Dense stripes;Ridge interval $< 0.15 \mu\text{m}$

2.3 花粉表面纹饰

花粉的外壁纹饰如图 1 中 a~f 所示,不同类型间的外壁纹饰差异较大,除了早白海棠外壁无条纹束,其他类型均有条纹束,条纹束排列主要有 4 种类型:分别为极轴方向平行(PP),中部极轴方向平行、两端赤道方向平行(EP-PP-EP),簸箕状指纹(BQ)和不规则、条纹纵横交错(IR)。地方品种表面饰纹 9 个为 PP,8 个为 IR,5 个为 EP-PP-EP,2 个为 BQ,1 个为无条纹束;条纹分叉多的有 10 个资源,14 个资源条纹分叉为少;条脊宽为 $0.12 \sim 0.24 \mu\text{m}$,平均值为 $0.18 \mu\text{m}$,最大的为小矾山八棱海棠,最小的为霍城白果子;条脊距为 $0.08 \sim 0.29 \mu\text{m}$,平均为 $0.17 \mu\text{m}$,最大的为桑归,最小的为冷海棠;穿孔大小为 $0.10 \sim 0.25 \mu\text{m}$,平均值为 $0.16 \mu\text{m}$,最大的为桑归,最小的为热礅子短枝和冷海棠;穿孔密度为 $0.054 \sim 2.164 \text{ 个}/\mu\text{m}^2$,平均为 $0.870 \text{ 个}/\mu\text{m}^2$,最大的为霍城白果子,最小的为小矾山八棱海棠。

野生资源 5 个为 PP,3 个为 IR,1 个为 EP-PP-EP,1 个为 BQ;条纹分叉多的资源有 2 个,8 个分叉少;条脊宽为 $0.12 \sim 0.24 \mu\text{m}$,平均为 $0.18 \mu\text{m}$,最大的为山楂海棠,最小的黑俞山荆子;条脊距为 $0.13 \sim 0.21 \mu\text{m}$,平均为 $0.17 \mu\text{m}$,最大的为野香海棠,最小的为尖嘴林檎和陇东海棠;穿孔大小为 $0.13 \sim 0.20 \mu\text{m}$,平均为 $0.17 \mu\text{m}$,最大的为山荆子,最小的为黑俞山荆子;穿孔密度为 $0.126 \sim 1.982 \text{ 个}/\mu\text{m}^2$,最大的为山荆子,最小的为山楂海棠。

3 个栽培品种条纹分布分别为 IR、EP-PP-EP 和 PP;条纹分叉均为少;条脊宽为 $0.13 \sim 0.18 \mu\text{m}$,平均为 $0.15 \mu\text{m}$,铃铛果为 $0.18 \mu\text{m}$,其余 2 个均为 $0.13 \mu\text{m}$;条脊距为 $0.15 \sim 0.16 \mu\text{m}$,铃铛果为 $0.16 \mu\text{m}$,其余 2 个均为 $0.15 \mu\text{m}$;穿孔大小为 $0.09 \sim 0.25 \mu\text{m}$,平均为 $0.17 \mu\text{m}$,铃铛果为 $0.25 \mu\text{m}$,俄罗斯白苹果为 $0.09 \mu\text{m}$;穿孔密度为 $0.887 \sim 1.673 \text{ 个}/\mu\text{m}^2$,平均为 $1.230 \text{ 个}/\mu\text{m}^2$,最大为俄罗斯白苹果,最小为铃铛果。

2 个杂交种表面饰纹分布分别为 PP 和 EP-PP-EP;条纹分叉均为少;条脊宽分别为 $0.15 \mu\text{m}$ 和 $0.20 \mu\text{m}$;条脊距均为 $0.18 \mu\text{m}$;穿孔大小分别为 $0.27 \mu\text{m}$ 和 $0.19 \mu\text{m}$;穿孔密度分别为 $1.467 \text{ 个}/\mu\text{m}^2$ 和 $1.086 \text{ 个}/\mu\text{m}^2$ 。

2.4 聚类分析

聚类分析结果表明(图 2),在遗传距离 1.30 水平上,40 个苹果资源聚为 9 个类群,第 1 类仅有 1 个类型,为地方品种;第 2 类群 4 个野生类型、5 个

地方品种、3 个栽培品种和 1 个杂交种;第 3 类群仅有 1 个类型,为地方品种;第 4 类群包括 4 个野生类型、7 个地方品种、1 个杂交种;第 5 类群包括 3 个地方品种;第 6 类群包括 2 个中国地方品种;第 7 和第 8 类群均包括 1 个地方品种;第 9 类群包括 2 个野生类型和 4 个地方品种。

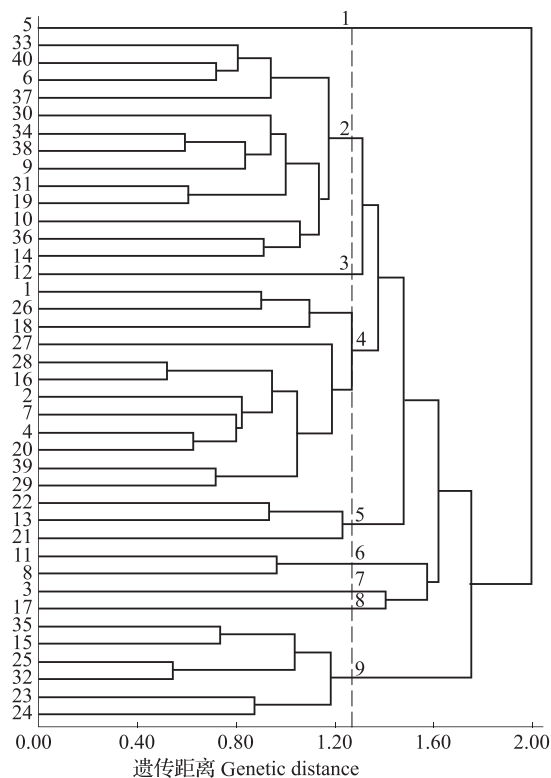


图 2 40 份苹果种质资源花粉形态的聚类分析
Fig. 2 UPGMA cluster of the 40 *Malus* germplasm resources

第 1 类群的 1 个资源为河北地方品种早白海棠,突出特征为花粉粒饰纹仅有穿孔,无条纹束,穿孔中等偏上大小,直径为 $0.23 \mu\text{m}$,密度较大,为 $1.474 \text{ 个}/\mu\text{m}^2$,均匀分布。

第 2 类群包括的资源较为复杂,既有中国野生资源陇东海棠、毛山荆子、新疆野苹果、山楂海棠和 1 个日本杂交类型朱眉海棠,地方品种晚白海棠、三块石海棠、阿留斯坦、西府海棠和冬白果,栽培品种铃铛果、俄罗斯白苹果和俄罗斯苹果。主要表现为花粉粒形状均为长球形,条纹束排列方式主要为 EP-PP-EP 和 PP,条脊粗度和密度多为粗疏,条脊分叉少,穿孔分布多为均匀和中部多、近极端少分布。

第 3 类群的 1 个资源为和田红肉苹果,为新疆地方品种,为特殊的红肉类型,花粉突出特征为 P/E 较小,条脊距较宽,穿孔分布为中部少、近极端

多分布。

第4类群和第2类群一样,包括的资源也较为复杂,既有中国野生资源山荆子、黑俞山荆子、镜泊湖山荆子和扎矮山荆子,地方品种红海棠、柠檬海棠、大红海棠、热礅子短枝、桑归、八棱海棠和小矾山八棱海棠,1个杂交种樱叶海棠。主要表现为花粉形状多为超长球形,极轴长度较大,介于42.69~47.97 μm 之间,花粉P/E较大,多为2.00以上,条纹束方向多为PP和BQ排列,条脊密度多为疏,条脊分叉均为少。

第5类群包括3个中国地方品种,品种为保德海红、红果子和山西林檎。主要表现为条脊分布为疏,条脊分叉多,穿孔直径较大。

第6类群包括2个中国地方品种,为新疆的克孜阿尔玛和河北的冷海棠。主要特征为花粉形状均为超长球形,P/E较大,均为2.00以上,条脊分叉多。

第7类群的1个资源为河北的古老地方品种小矾山槟子。主要特征为花粉性状超长球形,条纹方向为EP-PP-EP,条脊粗度和分布为细密,条脊分叉为少,穿孔密度较密,为1.781个/ μm^2 ,分布为均匀。

第8类群的1个资源为新疆的地方品种霍城白果子。主要特征为花粉形状为超长球形,条纹方向为IR,条脊粗度和分布为细疏,条脊分叉多,条脊距较大,为0.26 μm 。

第9类群包括有北美野生资源野香海棠,中国野生资源尖嘴林檎,地方品种冬红果、东北黄海棠、柰子和莱芜难咽。主要突出特征为无穿孔,其他表现为花粉形状长球形,条纹束方向主要为PP和EP-PP-EP,条脊粗度和分布为粗疏和粗密,条脊分叉多。

3 讨论

3.1 苹果地方品种在苹果属植物中的分类研究

根据贺超兴等^[17]的研究,西府海棠和新疆野苹果共同划为苹果系,陇东海棠和山楂海棠共同划为陇东海棠系;张冰冰等^[18]对山楂海棠和陇东海棠进行RAPD标记分析后发现,两者亲缘关系较远,认为应将山楂海棠划分在陇东海棠系之外;在本研究中陇东海棠、山楂海棠、西府海棠、新疆野苹果共同聚为一大类,其中西府海棠和新疆野苹果并没有最先聚到一起,说明其亲缘关系较远;陇东海棠和山楂海棠亦没有最先聚在一起,为张冰冰等^[18]的研究提供

了佐证,同时也说明亲缘关系与地理分布有相关性,地理分布较远的资源其亲缘关系亦较远^[19]。

本研究中观察到的西府海棠外壁纹饰有穿孔,直径为0.11 μm ,密度为0.622个/ μm^2 ,均匀分布,而杨晓红^[20]报道的西府海棠无穿孔,苹果属相同类型外壁纹饰大多数较为一致,但一些野生种由于其自然分布的环境相对隔离,致使分化出许多变种和众多的种下类型^[21],因此存在同种纹饰不同的现象。本研究中的黑俞山荆子、山荆子和扎矮山荆子等同为山荆子种,花粉形状既有超长球形也有长球形,条纹束方向既有PP也有BQ,条脊粗度和分布既有细疏也有粗疏,穿孔密度既有均匀分布也有中部多、近极端分布少等现象,河北地方品种的八棱海棠和小矾山八棱海棠花粉形状亦存在着差异;早白海棠和晚白海棠的条纹束存在显著差异,晚白海棠条纹束明显,早白海棠无条纹束,与三叶海棠和西蜀海棠的表面饰纹被描述为“smooth”^[22]类似。再如新疆地方品种冬白果与冬红果条纹束和分叉存在显著差异,这和杨晓红等^[23]将新疆野苹果花粉外壁纹饰划为5大类,外壁纹饰可以作为同种不同类型分类的依据相符。因此,地方品种花粉的外壁饰纹存在和苹果属其他种相似的现象,即因其类型的多样性,花粉外壁饰纹存在较为丰富的多样性。

在苹果属植物分类研究中,中国地方品种的分类地位研究的较少,李育农^[24]将中国的地方品种归为中国古老栽培种绵苹果的近缘种;贾敬贤等^[25]则指出中国地方品种是在长期的演化中形成的一个特殊的物种,自有其分类地位的特征和依据。在本研究中,同为海棠系统中平顶海棠品种群的八棱海棠、小矾山八棱海棠、早白海棠、晚白海棠、热礅子短枝和冷海棠^[26]却分聚为4个不同类群。同为海棠系统的尖嘴海棠品种群的红海棠和三块石海棠亦分聚到不同类群,同被划分在绵苹果系统新疆地方品种及类型的桑归、冬红果及和田红肉苹果^[2]也分聚到不同类群。另外一些特异品种如早白海棠,果实30 g左右,果皮白色,果面光滑,花粉粒饰纹表面光滑无条纹束,明显区别与其他类型,单独聚为一类;小矾山槟子属于河北古老地方品种,果实大小适中,香味浓郁,明显不同与其他类型,在此聚类中单独聚为一类;和田红肉苹果为新疆地方品种,但和其他新疆地方品种明显区别,叶片红色,果肉红色,在此聚类中单独聚为一类。因此,花粉形态对部分特异地方品种可以起到分类的作用,但对大部分地方品种仍需结合其他分类方法。

3.2 苹果地方品种起源演化分析

我国的苹果地方品种是由新疆野苹果经过多年的栽培和选择,逐渐形成,随后沿丝绸之路向内地传播,有些经过直接筛选,有些经过与野生近缘种的杂交、地理环境的阻隔及长期的栽培选择,逐渐形成了类型和品种的多样性^[25]。花粉 P/E 值的大小可以作为起源演化的判定依据^[11]。新疆野苹果与和田红肉苹果的 P/E 值较小,分别为 1.67 和 1.65,明显低于其他类型,和田红肉苹果为新疆地方品种,新疆野苹果为栽培苹果的起源^[27-28],两者 P/E 值大小相近,为红肉苹果起源于新疆野苹果,是新疆野苹果的一个变型^[29]提供了依据。

40 个类型的聚类分析中,山荆子和八棱海棠较早地聚到一起,根据聚类原理,这 2 个类型的亲缘关系较近,存在着一定的演化关系^[30],随后又和镜泊湖山荆子、扎矮山荆子等野生类型聚在一起,说明了地方品种和这些野生类型亲缘关系较近,镜泊湖山荆子为山荆子种的不同类型,扎矮山荆子为山荆子筛选出的矮生类型,故八棱海棠与山荆子存在较为近的亲缘关系,为八棱海棠起源于山荆子与海棠果的杂交提供了依据^[24]。

地方品种晚白海棠先与野生资源陇东海棠聚到一起,随后和俄罗斯白苹果聚到一起;三块石海棠与铃铛果聚到一起,随后与新疆野苹果和毛山荆子聚到一起;阿留斯坦与野生资源山楂海棠聚到一起;西府海棠、冬白果与栽培品种俄罗斯苹果聚到一起;最后聚为一个大类。地方品种居于野生种和栽培品种之间、相互交错,在第 4 类群和第 9 类群中也存在相似现象,这既体现了地方品种与野生种及栽培品种之间的密切关系,又体现了地方品种起源于新疆野苹果的演化历史,如地方品种槟子的亲本为绵苹果和沙果,林檎的为绵苹果或沙果的变种,西府海棠亲本为山荆子和海棠花^[24],花红可能为新疆野苹果的种子实生而来,阿留斯坦、霍城白果子、冬白果等为新疆野苹果到栽培苹果的过渡类型或新疆野苹果经过栽培和选择形成的地方品种^[26,31],因此一些地方品种应该起源于新疆野苹果或者新疆野苹果与其他野生资源或者栽培种的自然杂交,随后,部分古老地方品种又经过相互之间的自然杂交和人工选择形成更为丰富的其他类型,具有重要的科研价值。

参考文献

[1] 刘旭,曹永生,张宗文.农作物种质资源基本描述规范和术语[M].北京:中国农业出版社,2008:29

- [2] 陆秋农,贾定贤.中国果树志:苹果卷[M].北京:中国农业科技出版社,1999:291-296
- [3] 宗鹏鹏,曲艳华,柴朋,等.八棱海棠耐盐碱性评价[J].中国农业大学学报,2013,18(3):96-100
- [4] 吴梅君,刘学才,姜林.苹果矮化砧崂山奈子的特性和利用的研究[J].园艺学报,1990,17(2):89-94
- [5] 胡小平,梁振宇,杨家荣,等.我国主要苹果种质抗黑星病评价[J].中国生态农业学报,2008,16(5):1192-1196
- [6] 刘捍中,任庆棉,刘立军.苹果属种质资源抗腐烂病性状鉴定研究[J].果树科学,1990,7(2):85-70
- [7] 韩振海.苹果矮化密植栽培-理论与实践[M].北京:科学出版社,2011:65-70
- [8] Zamani A, Attar F, Maroofi H. Pollen morphology of the genus *Pyrus* (Rosaceae) in Iran[J]. Acta Biologica Szegediensis, 2010, 54(1):51-56
- [9] 过国南,王力荣,阎振立,等.利用花粉粒形态分析法研究桃种质资源的进化关系[J].果树学报,2006,23(5):664-669
- [10] Evrenosoglu Y, Misirli A. Investigations on the pollen morphology of some fruit species[J]. Turk J For Agric, 2009, 33:181-190
- [11] 杨晓红,李育农.北美绿苹果组植物的花粉形态和系统学研究[J].西南农业大学学报,1995,17(1):18-23
- [12] 闫忠业,伊凯,李作轩,等.富士芽变系品种花粉形态初探[J].园艺学报,2006,33(6):1299-1302
- [13] 李晓磊,沈向,孙凡雅,等.苹果属观赏海棠品种花粉形态及分类研究[J].园艺学报,2008,35(8):1175-1182
- [14] 秦伟,耿文娟,刘立强,等.新疆野苹果与部分栽培品种花粉形态的比较[J].经济林研究,2010,28(4):19-23
- [15] 李林光,王颖,王玉霞,等.苹果四倍体品种天星的花粉形态及胚囊发育特征研究[J].植物遗传资源学报,2011,12(4):662-666
- [16] Erdtman G. Handbook of palynology-an introduction to the study of pollen grains and spores [M]. Copenhagen: Munksgaard, 1969
- [17] 贺超兴,徐炳声.苹果属花粉形态特征及其分类学和进化意义[J].植物分类学报,1991,29(5):445-451
- [18] 张冰冰,梁英海,田彬彬,等.山楂海棠 RAPD 亲缘关系研究[J].吉林农业大学学报,2007,29(5):507-510
- [19] 高源,王昆,田路明,等. TP-M13-SSR 技术及其在苹果种质资源遗传多样性研究中的应用 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2):228-233
- [20] 杨晓红. 苹果属植物花粉观察研究[J]. 西南农业大学学报, 1986(2):121-129
- [21] 王昆,刘凤之,高源,等.中国苹果野生种自然地理分布、多型性及利用价值[J].植物遗传资源学报,2013,14(6):32-37
- [22] Nazari J V. Pollen Morphology of the genus *Malus* (Rosaceae) [J]. Iran J Sci Technol, Transaction A, 2008, 32(A2):89-97
- [23] 杨晓红,李育农,林培均,等.新疆野苹果 *Malus sieversii* (Ldb.) Roem 花粉形态及其起源演化研究[J].西南农业大学学报,1992,14(1):45-50
- [24] 李育农.苹果属植物种质资源研究[M].北京:中国农业出版社,2001:143-164
- [25] 贾敬贤,贾定贤,任庆棉.中国作物及其野生近缘植物-果树卷[M].北京:中国农业出版社,2006:40-83
- [26] 河北省农林科学院昌黎研究所.河北省苹果志[M].北京:农业出版社,1985:121-198
- [27] Vavilov N I. Studies on the origin of cultivated plants [J]. Trudy-Byuro Prikl Bot, 1926, 16:139-245
- [28] 李育农.世界苹果核苹果属植物基因中心的研究初报[J].园艺学报,1989,16(2):101-108
- [29] 张艳敏,冯涛,张春雨,等.新疆野苹果研究进展[J].园艺学报,2009,36(3):447-452
- [30] 高源,刘凤之,曹玉芬,等.苹果属种质资源亲缘关系的 SSR 分析[J].果树学报,2007,24(2):129-134
- [31] 张钊.新疆苹果[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,1982:27-28