

陆琳,解玮佳,李云生,等. 温度、pH 值和贮藏方式对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):186-188.

# 温度、pH 值和贮藏方式对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响

陆琳<sup>1</sup>, 解玮佳<sup>1</sup>, 李云生<sup>2</sup>, 宋杰<sup>1</sup>, 李树发<sup>1</sup>

(1. 云南省农业科学院花卉研究所/国家观赏园艺工程技术研究中心, 云南昆明 650205;

2. 云南省玉溪市元江县经济作物工作站, 云南元江 653300)

**摘要:**采用固体培养基培养法研究了培养温度、pH 值和贮藏方式对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响,结果表明:培养温度对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响较大,25~30℃下培养,大喇叭杜鹃花粉的萌发生长较好,且以25℃最佳;花粉在外源 pH 值为4~6的条件下能够正常萌发,且最适合其萌发的 pH 值为4.5~5.0,萌发率达87%;室温、4℃、-18℃等3种贮藏方式中以-18℃的贮藏效果最佳,贮藏4个月后的花粉萌发率仍有68.3%。

**关键词:**大喇叭杜鹃;花粉萌发;温度;pH 值;贮藏

**中图分类号:** S685.210.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0186-02

云南省是杜鹃花的世界分布中心之一,有着丰富的种质资源<sup>[1-3]</sup>。大喇叭杜鹃(*Rhododendron excellens* Hemsl. et Wils.)为杜鹃花科杜鹃花属常绿灌木,主要分布在云南省内,且分布范围较小而集中,大部分分布于滇东南地区的文山州境内,在玉溪和红河以及临沧也有少量分布。大喇叭杜鹃花大而密集,花形独特,具有较高的观赏价值,是培育高山杜鹃大花品种的优良亲本资源<sup>[4-5]</sup>。花粉活力直接与育种效率有关,而杜鹃花花粉活力及其贮藏方法的研究是开展高山杜鹃良种培育的前提。经研究发现,不同植物的花粉萌发条件不尽相同<sup>[6]</sup>,如苹果属(*Malus*)植物花粉在 pH 值 4.0~9.0 之间都能正常萌发<sup>[7]</sup>;Holdaway-Clarke 等研究发现,台湾百合花粉的萌发与生长都会受外源 pH 值变化的影响<sup>[8]</sup>。目前国内外尚无大喇叭杜鹃花粉的萌发条件及贮藏方法的相关报道。本研究通过对大喇叭杜鹃花粉的萌发温度、pH 值、贮藏温度及其贮藏时间进行研究,拟探讨大喇叭杜鹃花粉萌发所需的条件,了解其花粉的贮藏耐性,旨在解决花期不遇、异地授粉等杂交中的实际困难,为高山杜鹃的杂交育种提供科学依据和技术指导。

## 1 材料与与方法

### 1.1 试验材料

试验在云南省农业科学院花卉研究所的实验室内进行,试验材料大喇叭杜鹃花粉采自云南省麻栗坡县下金厂乡干坝子,地理位置 23°07'27.58"N、104°49'21.70"E,海拔 1 858~1 891 m。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 花粉粒的收集** 于散粉前采集大喇叭杜鹃的花药,采用阴干法置于硅胶中干燥 24~48 h,见花粉粒分离时采集

花粉。

**1.2.2 花粉生活力的测定** 采用花粉离体萌发法测定花粉的生活力,离体培养法的培养基配方为 50 g/L 蔗糖 + 50 mg/L 硼酸 + 50 mg/L 氯化钙 + 0.7% 琼脂。用玻璃棒加 1~2 滴培养液于载玻片上,稍冷却后用干净的毛笔蘸取少许花粉均匀撒播于培养基表面,置于 25℃ 恒温培养箱中,黑暗条件下培养 6 h 后观察花粉萌发情况。每个处理设 4 次重复(即培养 4 个载玻片),每个重复选取 2 个随机视野(本试验采用 200 倍视野),每个视野中应不少于 50 粒花粉,记录发芽率,相关计算公式如下。

发芽率 = 视野内已发芽的花粉数 / 视野内的花粉粒总数 × 100%。

**1.2.3 不同温度条件对花粉萌发率的影响** 在 5、10、15、20、25、30、35、40℃ 条件下培养大喇叭杜鹃花粉。6 h 后在显微镜下观察并统计花粉萌发率,比较不同温度条件下花粉萌发率的差异。

**1.2.4 外源 pH 值梯度的设定** 采用花粉培养基(测定 pH 值为 5.6),用 1 mol/L NaOH 和 1 mol/L HCl 对培养基的 pH 值进行梯度调节,分别设 pH 值为 3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5。

**1.2.5 不同贮藏条件及不同贮藏时间下花粉萌发力测定** 将干燥后的花粉分别装入 45 个 1.5 mL 的离心管中,每个处理设 3 次重复。为了避免湿度的影响,在离心管中预先铺 1 层扇形的吸水纸,并采用以下 3 种方法密封保存大喇叭杜鹃花粉:常温保存、4℃ 冰箱保存、-18℃ 冰箱保存。从花粉贮藏起开始,每隔一定时间(1、2、4、5、6 个月)定期检测花粉萌发率。

### 1.3 数据分析

采用 DPS 软件对试验数据进行最小差异法(LSD)分析( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养温度对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响

由图 1-A 可以看出,培养温度在 5~15℃ 时,花粉萌发率几乎为 0;当培养温度达到 20℃ 时,花粉萌发数量急剧升

收稿日期:2013-10-22

基金项目:云南省科技计划(编号:2011EB110)。

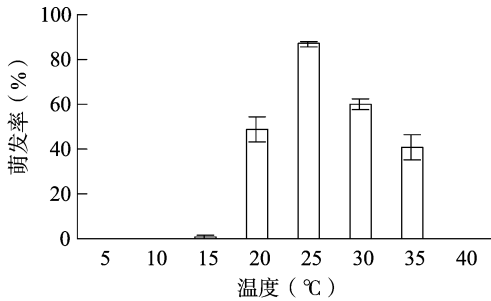
作者简介:陆琳(1976—),女,云南昆明人,高级实验师,主要从事云南特色园林花卉的种质资源创新研究。Tel: (0871) 65892602; E-mail: Lu\_lin2005@sina.com。

通信作者:李树发,男,硕士,研究员,主要从事云南特色花卉新品种选育及产业化开发应用研究。Tel: (0871) 65892602; E-mail: lsf206498@126.com。

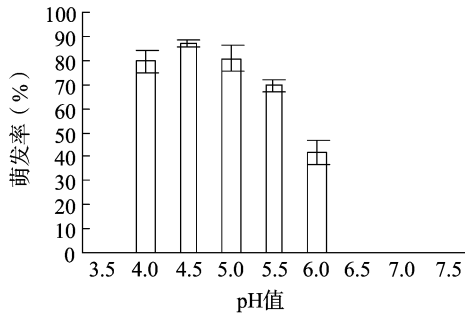
高,萌发率达到 48.9%;当培养温度在 25 ℃ 时,花粉萌发率达到最大值,为 87.0%;当培养温度进一步升高,花粉萌发率开始下降,30 ℃ 时的萌发率为 60%,35 ℃ 时的萌发率下降到 40.8%,而当培养温度高达 40 ℃ 时,萌发率降为 0。说明培养温度对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响较大,最适培养温度为 25 ℃。

2.2 pH 值对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响

由图 1-B 可以看出,花粉在 pH 值为 4.0~6.0 的条件下能正常萌发,其萌发率在 40%~87%之间;而当 pH 值为极酸的 3.5 和中性偏碱的 6.5~7.5 时,大喇叭杜鹃花粉均不会萌发,其萌发率为 0;当 pH 值在 4.0~5.5 时,大喇叭杜鹃花粉的萌发率均能达到 69% 以上,且当 pH 值为 4.5 时,其花粉萌发率达到最大值,为 87%。说明大喇叭杜鹃花粉对 pH 值较为敏感,在过度偏酸和中性偏碱的培养件条件下,其花粉均不能萌发。



A.不同培养温度对花粉萌发的影响



B.不同 pH 值对花粉萌发的影响

图1 不同培养温度和 pH 值对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响

2.3 贮藏方式对大喇叭杜鹃花粉萌发的影响

贮藏前的大喇叭杜鹃花粉有较高的生命力,其花粉萌发率达 91.7%,适宜授粉。从表 1 可以看出,在室温、4 ℃、-18 ℃ 等 3 种贮藏条件下,随着贮藏时间的延长,大喇叭杜鹃花粉的萌发率均降低,并且以室温条件下的花粉萌发率下降得最快。室温贮藏 1 个月后,花粉萌发率降低至 58.1%,贮藏 2 个月后为 37.6%,4 个月后其花粉萌发率已降为 4.6%,6 个月时已降为 0;4 ℃ 条件下,其花粉萌发率的降低速度相对缓慢,贮藏 2 个月后的花粉萌发率为 68.7%,贮藏 4、5 个月后的花粉萌发率分别为 12.2%、21.3%,而 6 个月后将降至 1.4%;-18 ℃ 下的花粉贮藏效果最好,贮藏 1 个月后的花粉萌发率与新鲜花粉相当,达 90.1%,至 4 个月时其萌发率依然大于 60.0%,贮藏 5、6 个月后的花粉萌发率分别为 47.3%、15.0%。以上结果表明,大喇叭杜鹃花粉的最适贮藏条件为 -18 ℃,适宜保存时间为 4 个月,其花粉的萌发率与

表 1 不同贮藏方式及贮藏时间对大喇叭杜鹃花粉萌发率的影响

贮藏时间 (个月)	萌发率 (%)		
	室温	4 ℃	-18 ℃
1	58.1 ± 8.3a	84.9 ± 7.9a	90.1 ± 1.5a
2	37.6 ± 4.8b	68.7 ± 8.4b	75.4 ± 7.3b
4	4.6 ± 2.6c	12.2 ± 4.4c	68.3 ± 9.1b
5	9.3 ± 3.3c	21.3 ± 8.6d	47.3 ± 11.5c
6	0.0 ± 0.0h	1.4 ± 1.9e	15.0 ± 5.6d

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

贮藏时间呈负相关。

3 结论与讨论

花粉是植物有性繁殖进行遗传物质传递的载体,其活力直接影响传递的成败。因此在进行授粉之前,首先要对花粉的活力进行检测。花粉的生活力因品种而异,并且随着外界的影响(温度、湿度、辐射、贮藏条件)而变化。Wolukau 等认为,梅花花粉的最佳培养温度为 25 ℃<sup>[9]</sup>;Burke 等认为,棉花花粉的适宜的培养温度为 20~37 ℃<sup>[10]</sup>。本试验结果表明,培养温度对大喇叭杜鹃花粉的萌发生长有明显影响,其花粉萌发的最适培养温度为 25 ℃,过高的培养温度则会抑制花粉萌发。

本试验结果还表明,在 pH 值为 4.0~6.0 的条件下,大喇叭杜鹃花粉能正常萌发生长,且萌发率达到 40% 以上,最大萌发率为 87%,当 pH 值在 3.5 或 6.0~7.5 时,花粉就不能萌发,最适合大喇叭杜鹃花粉萌发的 pH 值为 4.5。这与苹果属花粉、甜橙花粉等极不相同,苹果属、甜橙等植物的花粉在 pH 值为 4.0~9.0 之间都能够正常萌发,甜橙花粉最适的 pH 值为 6.0~7.0<sup>[11]</sup>;而七子花 pH 值为 5.5~8.0 条件下均能萌发,最适 pH 值为 7,强酸或强碱条件均不利于大部分植物离体花粉的萌发与生长<sup>[12]</sup>。本研究发现,大喇叭杜鹃的花粉在强酸下最适合萌发,这与其实际的生长环境极其相关。

影响花粉寿命的关键因素是花粉含水量和贮藏温度,低温、干燥处理是长期保存花粉的必要条件<sup>[13-15]</sup>。有研究表明,将不同品种的飞燕草花粉干燥并贮藏于 -30 ℃ 条件下,经过 180 d 后仍然保持较高的萌发率和较长的花粉管<sup>[16]</sup>。本试验结果表明,随着贮藏时间的延长,大喇叭杜鹃花粉的萌发率逐渐下降;适当的低温贮藏有利于延长大喇叭杜鹃花粉的寿命,贮藏于 -18 ℃ 下的花粉经过 1 个月后将保持 90.1% 的萌发率,与贮藏前花粉的萌发率(91.7%)相比仅仅下降了 1.6 个百分点。总体看来,低温保存是目前植物种质资源保存中较理想的途径,低温贮藏的大喇叭杜鹃花粉可直接用于杂交育种中进行授粉,从而为进一步培育新品种奠定了坚实的基础,也为将来用超低温保存技术对其长期保存作了基础性的技术保障。

参考文献:

[1] 冯国楣. 云南杜鹃花[M]. 昆明:云南人民出版社,1983.  
[2] 胡琳贞,方明渊. 中国植物志:第五十七卷第二分册[M]. 北京:科学出版社,1994.  
[3] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志:第四卷(种子植物)[M]. 北京:科学出版社,1986:58-99.

姜宗庆, 汤庚国, 肖文华, 等. 施肥对盆栽银杏幼苗生长指标的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(7): 188–189.

# 施肥对盆栽银杏幼苗生长指标的影响

姜宗庆<sup>1</sup>, 汤庚国<sup>1,2</sup>, 肖文华<sup>1</sup>, 余 乐<sup>1</sup>, 刘 争<sup>1</sup>

(1. 江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300; 2. 南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏南京 210037)

**摘要:**采用均匀设计, 对二年生银杏盆栽幼苗进行不同梯度的氮、磷、钾配比施肥试验, 探讨施肥处理对银杏盆栽幼苗苗高、地径、冠幅的影响。结果表明, 不同施肥处理对盆栽银杏幼苗的生长指标有明显影响。S5 (N: 0.075 0 g/株, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 0.350 0 g/株) 施肥处理的苗高、地径、冠幅最大, 其次为 S4 (N: 0.112 5 g/株, K<sub>2</sub>O: 0.050 0 g/株)、S3 (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 0.175 0 g/株, K<sub>2</sub>O: 0.100 0 g/株) 施肥处理, S2 (N: 0.037 5 g/株, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 0.087 5 g/株, K<sub>2</sub>O: 0.200 0 g/株)、S1 (N: 0.150 0 g/株, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 0.262 5 g/株, K<sub>2</sub>O: 0.150 0 g/株) 处理和对照则表现较差。氮、磷、钾对盆栽银杏幼苗生长的影响效应各不相同, 氮肥可促进盆栽银杏幼苗的生长, 过多的钾肥则不利于盆栽银杏幼苗的生长, 磷肥施用量大小对盆栽银杏幼苗的生长几乎没有影响。

**关键词:**施肥; 盆栽银杏; 幼苗; 生长; 苗高; 地径; 冠幅

**中图分类号:** S664.306 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0188-02

银杏全身都是宝, 集药用、食用、材用、观赏、绿化等多种价值于一体<sup>[1]</sup>。江苏省泰州市作为中国著名的银杏之乡, 银杏栽培历史悠久, 且栽培面积较大, 有着丰富的银杏资源。前人研究认为, 银杏生长必须有 16 种营养元素<sup>[2]</sup>。氮、磷、钾是植物生长所必需三大营养元素。有研究认为, 氮是保证银杏营养生长和生殖生长物质基础的主要元素, 在银杏生长发育过程中起重要作用<sup>[3-7]</sup>。但目前生产上银杏栽培仍较为粗放, 缺乏系统科学的施肥技术体系。本研究对盆栽银杏苗进行不同水平梯度的氮、磷、钾配比施肥试验, 通过测定盆栽银杏幼苗生长指标确定最优施肥配方, 为银杏科学合理施肥和培育壮苗提供理论依据。

收稿日期: 2013-10-04

基金项目: 江苏农牧科技职业学院重点科研资助项目(编号: ZD1208)。

作者简介: 姜宗庆(1976—), 男, 江苏兴化人, 博士, 副教授, 主要从事植物品质生理研究。E-mail: wheatjq@126.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为江苏农牧科技职业学院园林科技系苗木基地培育的二年生银杏盆栽实生苗, 每盆 1 株, 苗木大小基本一致, 平均苗高 42.5 cm, 平均地径 1.29 mm。盆土质地为高沙土, 基础养分一致, 具体为有机质含量 0.124%, 速效氮含量 3.52 mg/kg, 速效磷含量 2.21 mg/kg, 速效钾含量 6.52 mg/kg, pH 值 6.9。

### 1.2 试验方法

试验采用均匀设计, 三因素五水平见表 1。不考虑交互作用, 共设置 5 个施肥处理(S1 至 S5)及 1 个对照(CK, 不施任何肥料), 每处理 20 盆。试验肥料为尿素(含 N 46%)、过磷酸钙(含 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 12%)和氯化钾(含 K<sub>2</sub>O 60%)。2012 年 3—5 月每月下旬进行施肥处理, 共施肥 3 次, 肥料用水溶解稀释后浇施, 每次单株施肥量见表 2。

[4] 张长芹. 杜鹃花[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2003: 188.

[5] 冯国楣. 中国杜鹃花: 第 2 册[M]. 北京: 科学出版社, 1992: 117.

[6] Messerli M A, Robinson K R. Ionic and osmotic disruptions of the lily pollen tube oscillator: testing proposed models[J]. Planta, 2003, 217(1): 147–157.

[7] Shivanna K R. Pollen biology and biotechnology[M]. USA: Science Publishers, 2003: 61–67.

[8] Holdaway – Clarke T L, Weddle N M, Kim S, et al. Effect of extracellular calcium, pH value and borate on growth oscillations in *Lilium formosanum* pollen tubes[J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(380): 65–72.

[9] Wolukau J N, Zhang S L, Xu G H, et al. The effect of temperature, polyamines and polyamine synthesis inhibitor on *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of *Prunus mume*[J]. Scientia Horticulturae, 2004, 99(3/4): 289–299.

[10] Burke J J, Velten J, Oliver M J. *In vitro* analysis of cotton pollen

germination[J]. Agronomy Journal, 2004, 96(2): 359–368.

[11] 吴 琼, 曹 立, 张 弛, 等. pH 值对甜橙花粉萌发及花粉管 Ca<sup>2+</sup> 分布的影响[J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2012, 32(4): 337–340.

[12] 何 琪, 何 芳, 刘 鹏, 等. PEG-4000、蔗糖及 pH 值对七子花花粉萌发的影响[J]. 湖北农业科学, 2006, 45(2): 214–216.

[13] Barnabas B, Rajki E. Storage of maize (*Zea mays* L.) pollen at –196 °C in liquid nitrogen[J]. Euphytica, 1976, 25(1): 747–752.

[14] Barnabas B, Kovacs G, Abranyi A, et al. Effect of pollen storage by drying and deep – freezing on the expression of different agronomic traits in maize (*Zea mays* L.) [J]. Euphytica, 1988, 39(3): 221–225.

[15] 王彩虹, 田义軻. 果树花粉保存研究进展[J]. 落叶果树, 1996(增刊 1): 35–36, 39.

[16] Honda K, Watanabe H, Tsutsui K. Cryopreservation of *Delphinium* pollen at –30 °C [J]. Euphytica, 2002, 126(3): 315–320.