

郭思佳,王 倩,梁隐泉,等. 几种百合花粉生活力测定及贮藏条件研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):205-208.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.066

几种百合花粉生活力测定及贮藏条件研究

郭思佳,王 倩,梁隐泉,刘冬云

(河北农业大学园林与旅游学院,河北保定 071000)

摘要:以 2 种野生百合(山丹、有斑百合)、3 种切花百合(西伯利亚、索邦、白天堂)和 1 种栽培百合(兰州百合)为材料,采用离体萌发法测定花粉生活力,研究花粉萌发最适的培养条件和保持花粉活力最适的贮藏条件。结果表明,西伯利亚和索邦最适培养基配方为 5% 蔗糖 + 20 mg/L H_3BO_3 ,有斑百合和兰州百合为 15% 蔗糖 + 20 mg/L H_3BO_3 ,山丹为 5% 蔗糖 + 10 mg/L H_3BO_3 ,白天堂为 10% 蔗糖 + 80 mg/L H_3BO_3 ;除有斑百合外,其他百合均在室内散射光照射下花朵完全开放时萌发率最高;低温贮藏有利于保持花粉的活性,-20 ℃ 条件下贮藏 1 年,各百合花粉均有一定生命力。

关键词:百合;花粉;生活力;贮藏

中图分类号:S682.2⁺65.03

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2015)09-0205-03

百合(*Lilium brownii* var. *viridulum* Baker)为百合科百合属常见本草类植物,扎根处有鳞有茎^[1]。百合赏心悦目,多为观赏用,多彩且花瓣较大,盛开时清新柔美,常被用作室内盆栽、插花,众多园林小榭、高校雅阁里也频现身姿;百合还是常见的食材和药材^[2]。百合品种众多,目前记载的有 115 种,一半以上在中国被发现和培育,而其中又包括 18 个变异品种^[3]。目前,市场存在三大百合杂种系列,即东方百合、麝香百合、亚洲百合,生产中均存在抗病性和抗热性差、花色单一等问题,需要通过杂交育种方法培育更为优良的百合新品种^[4],这是获得百合新品种的主要途径^[5]。但是,由于很多百合品种杂合度较高、花粉活性较低且不宜贮藏,不宜作为父本使用^[6]。因此,对百合花粉生活力及其贮藏条件进行研究,对百合杂交育种工作的开展具有十分重要的意义。

对于百合花粉的萌发和贮藏,前人已做过不少研究。张艺萍等对 30 个百合品种和 2 个野生百合的花粉生活力进行测定,结果表明,32 个百合品种中,Casa Blanca 的萌发率最高^[7];李润根等对万载龙牙百合花粉的萌发进行研究,认为醋酸洋红法测定龙牙百合花粉生活力效果最好^[8];孙晓光等研究亚洲百合精粹的开花习性花粉特性,确定精粹百合花粉萌发的最适培养基为 10% 蔗糖 + 10 mg/L 硼酸 + 10 mg/L 氯化钙 + 0.5 g 琼脂^[9];张艺萍等对 32 个基因型的百合品种进行贮藏条件研究,得出在冷藏条件下花粉萌发率随贮藏时间的推移总体呈下降趋势但下降速度比室温贮藏明显缓慢的结论^[10]。Rhee 等认为,-20 ℃ 以下适宜百合花粉的贮藏,经贮藏多年花粉仍能萌发^[11-12]。前人研究多集中在花粉生活力测定方法及贮藏方法的比较上,选取的试材针对性不是很

强。本试验在综合前人研究的基础上,选取河北省分布最多的 2 种野生百合、目前市场上最常见且最具代表性的 3 种切花百合及 1 种应用较为广泛的栽培百合,共 3 大类型 6 个品种的百合花粉作为试材,筛选适宜花粉萌发的培养基配方,研究光照条件及花蕾发育时期对花粉活力的影响,探究最佳的贮藏方法,为百合杂交选育工作的进行提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验采用 6 种百合的花粉为材料,分别为 2 种野生百合,即山丹(*Lilium pumilum*)、有斑百合(*L. concolor* var. *buschianum*);3 种切花百合,即索邦(Sorbonne)、西伯利亚(Seberia)、白天堂(White Heaven);1 种栽培百合,即兰州百合(*L. davidii* var. *unicolor*)。试验于 2013 年在河北农业大学园林与旅游学院基础部 301 实验室中进行。

1.2 方法

1.2.1 百合花粉生活力的测定

1.2.1.1 蔗糖浓度对花粉萌发的影响 分别配制 1%、3%、5%、10%、15%、20%、30% 浓度的蔗糖溶液,以蒸馏水作对照;将配制好的溶液分别滴在载玻片的凹槽中,用解剖针均匀撒上少许花粉;将载玻片放入带盖培养皿中,培养皿中垫 2 层滤纸并加少量水,置于 25 ℃ 光照培养箱中培养 4 h;光学显微镜下观察花粉萌发情况,确定最适于花粉萌发的蔗糖溶液浓度。

1.2.1.2 硼酸浓度对花粉萌发的影响 以各百合最适浓度的蔗糖溶液作为基本培养基,分别添加浓度为 5、10、20、40、80、160 mg/L 的硼酸溶液;参照花粉萌发培养方法,在光照培养箱中培养 1 d;光学显微镜下观察花粉萌发情况,确定最适于各百合花粉萌发的硼酸浓度。

1.2.1.3 不同光照对花粉萌发的影响 分别选取各百合品种生长状况相同的花朵,采集尚未散开的花药分别放在室内自然散射光、日光灯、太阳光 3 种光照条件下处理数小时;待花粉完全散开,将花粉均匀撒在含最适蔗糖浓度培养基的载玻片上,放在垫有 2 层滤纸并加少量水的培养皿中,加盖,置于

收稿日期:2015-03-19

基金项目:河北省教育厅项目(编号:2010253)。

作者简介:郭思佳(1989—),女,河北张家口人,硕士,从事园林植物资源与应用研究。E-mail:1244172467@qq.com。

通信作者:刘冬云,女,硕士生导师,主要从事百合遗传育种工作研究。E-mail:dongyunliu@hebau.edu.cn。

25 ℃光照培养箱中培养 1 d;光学显微镜下观察花粉萌发情况,分别统计花粉的萌发率。

1.2.1.4 花期对花粉萌发的影响 分别在花蕾未显色、花蕾显色、花朵初开放、花朵完全开放这 4 个时期采集各百合品种花粉,将花粉均匀撒在含最适蔗糖浓度培养基的载玻片上,放在垫有 2 层滤纸并加少量水的培养皿中,加盖,置于 25 ℃光照培养箱中培养 1 d;光学显微镜下观察,分别统计花粉萌发率。

各处理均重复测定 3 次。观察时,凡是花粉管长度超过花粉粒直径的即认为花粉萌发。萌发率计算公式为:萌发率 = 已萌发的花粉粒数/花粉粒总数 × 100%。

1.2.2 百合花粉贮藏条件研究 试验设 3 中贮藏方式,即:采集新鲜花粉,分别放入硫酸纸小盒中,25 ~ 28 ℃室温下贮藏,每天测定花粉的萌发率,直至花粉丧失发芽力;采集新鲜花粉,用硫酸纸包裹,装于盛有少量硅胶颗粒的冻干管中,0 ~ 4 ℃冰箱中贮藏,分别于 10、20、30、60、120、240、360 d 测定花粉的萌发率;采集新鲜花粉,装于盛有少量硅胶颗粒的冻干管中, - 20 ℃冰箱中贮藏,分别于 10、20、30、60、120、240、360 d 测定花粉的萌发率。

2 结果与分析

2.1 百合花粉生活力的测定

2.1.1 蔗糖浓度对百合花粉萌发率的影响 试验结果表明,光照培养箱中培养 2 h 观察,各百合大多开始萌发,萌发率较低、不稳定,且花粉萌发长度较短;培养 4 h 观察,各百合均达到一定萌发率,且花粉萌发长度均为花粉粒直径 2 倍以上;培养 6 h 观察,除花粉萌发长度增长外,萌发率与 4 h 相比基本不变。因此,采用花粉培养 4 h 来统计其萌发率。由图 1 可见,随蔗糖溶液浓度升高,各百合花粉总体呈先增加后下降的趋势,但不同百合花粉萌发率达到最高值时的蔗糖浓度有所不同;西伯利亚、索邦和山丹在蔗糖浓度为 5% 时萌发率达到最高,分别为 52.8%、40.2%、56.3%;有斑百合和兰州百合均在蔗糖浓度为 15% 时萌发率最高,分别为 64.2%、58.3%;白天堂在蔗糖浓度为 10% 时萌发率最高,为 49.6%;除兰州百合外,各百合在蒸馏水中仅有少量萌发;蔗糖浓度为 30% 时,有斑百合花粉萌发率为 1.7%,其他百合均为 0。

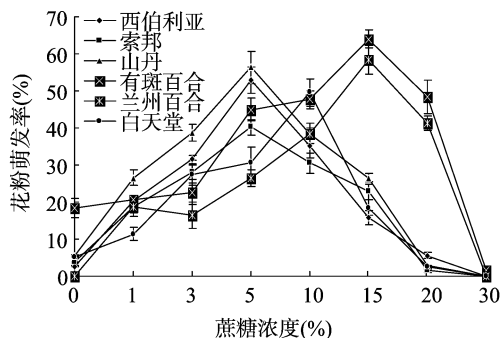


图1 蔗糖浓度对百合花粉萌发率的影响

2.1.2 硼酸浓度对百合花粉萌发率的影响 由图 2 可见,硼酸对花粉萌发具有很好的促进作用;西伯利亚、索邦、有斑百合和兰州百合花粉在硼酸浓度为 20 mg/L 时萌发率达到最高,分别为 98.8%、92.6%、86.6%、94.5%,比不添加硼酸分

别提高了 46.0%、52.4%、22.6%、36.2%;山丹花粉在硼酸浓度为 10 mg/L 时萌发率最高,为 97.2%,比不添加硼酸时提高了 40.9%;白天堂花粉在硼酸浓度为 80 mg/L 时萌发率最高,为 82.3%。

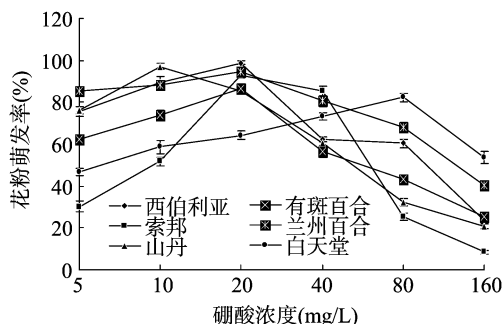


图2 硼酸对百合花粉萌发率的影响

2.1.3 不同光照对花粉萌发率的影响 由图 3 可见,相同花药在不同光照条件下散粉后的萌发率不同;除有斑百合在太阳光下散粉萌发率高外,其他百合均在室内散射光下萌发率最高;山丹、白天堂在 3 种光照条件下散粉,其花粉萌发率相差不大,而西伯利亚、索邦则相差较大。

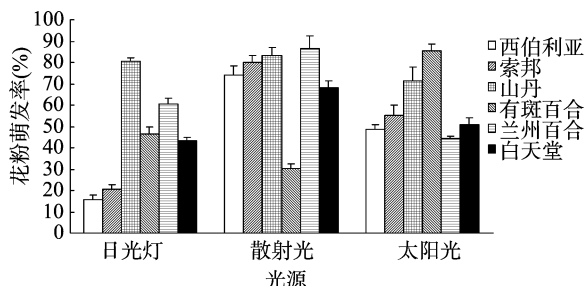


图3 不同光照对花粉萌发率的影响

2.1.4 花期对花粉萌发率的影响 花粉的采集时期非常关键。由图 4 可见,在不同花朵开放时期采集花粉,各百合花粉萌发率不同;除有斑百合外,其他百合均在花朵完全开放时采收的花粉萌发率最高,而在花朵初放时的花粉萌发率大约降低一半;有斑百合在花朵初放时花粉萌发率最高,仅有斑百合在花蕾未显色时的花粉有少量萌发,其他百合均没有萌发;在花蕾显色时,各百合花粉的萌发率均较低。

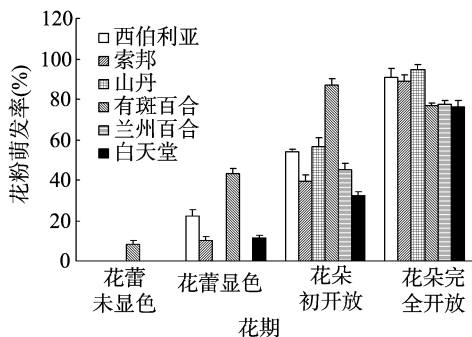


图4 花期对花粉萌发率的影响

2.2 百合花粉的贮藏

2.2.1 室温贮藏对花粉生活力的影响 室温贮藏下花粉萌发能力的大小对杂交育种有着重要的影响。由图 5 可见,西伯

利亚和白天堂的储藏时间相对较长,30 d时花粉萌发率还将近5%;山丹花粉储藏时间相对较短,贮藏4 d时花粉的萌发率急剧下降,贮藏5 d就丧失发芽力;有斑百合和兰州百合分别在贮藏9、10 d时萌发率为0;索邦花粉生命力能够坚持20 d。

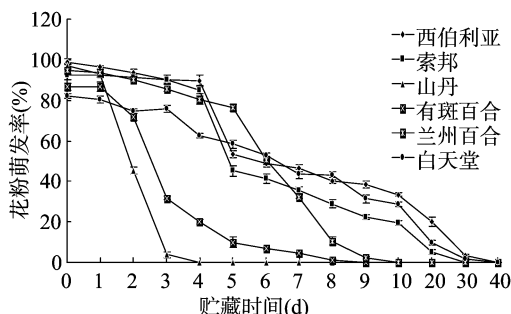


图5 室温贮藏对花粉萌发率的影响

2.2.2 0~4℃低温贮藏对花粉生活力的影响 花粉生命力受低温和干燥环境影响,呼吸作用大大降低。由图6可见,0~4℃贮藏的各百合花粉生命力明显延长,但随贮藏天数的延长,各百合花粉萌发率逐渐降低;白天堂贮藏240 d时萌发率为0,有斑百合贮藏360 d时发芽力丧失,其他百合在贮藏1年时花粉均还有一定的萌发率,其中,兰州百合贮藏360 d时花粉的萌发率为18.6%。

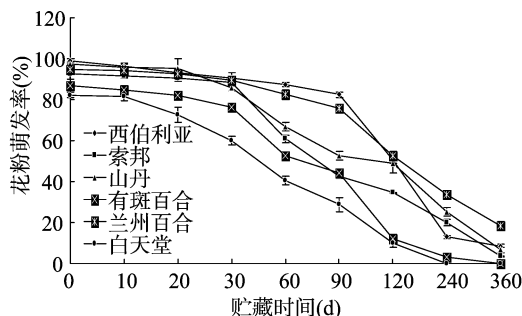


图6 0~4℃贮藏对花粉萌发率的影响

2.2.3 -20℃贮藏对花粉生活力的影响 由图7可见,-20℃贮藏,各百合花粉的生命力均表现出缓慢下降的趋势;贮藏360 d时,各百合花粉均有一定的发芽力,其中,兰州百合花粉萌发率最高,为63.3%,索邦次之,为31.5%,两者均还可以用于杂交授粉;贮藏360 d时,西伯利亚、有斑百合、白天堂和山丹均有较低的生命力,花粉萌发率分别为18.8%、19.6%、10.5%、6.2%,不再适合用于授粉;西伯利亚花粉在-20℃贮藏240 d时,萌发率为45.3%,有斑百合、山丹和白天堂在-20℃贮藏120 d时,花粉萌发率分别为44.8%、50.5%、42.7%,均可用于授粉。

3 结论与讨论

试验表明,各种百合所需最适萌发条件不同,西伯利亚和索邦最适培养基配方为5%蔗糖+20 mg/L H_3BO_3 ,有斑百合和兰州百合为15%蔗糖+20 mg/L H_3BO_3 ,山丹为5%蔗糖+10 mg/L H_3BO_3 ,白天堂为10%蔗糖+80 mg/L H_3BO_3 ;除有斑百合外,各百合花粉均在室内散射光照射、花朵完全开放时萌发率最高;低温贮藏有利于花粉保持活性,-20℃条件下贮藏花粉1年,各品种百合花粉均保持有一定生命力。

蔗糖对花粉萌发起着积极的促进作用,一是蔗糖能够为

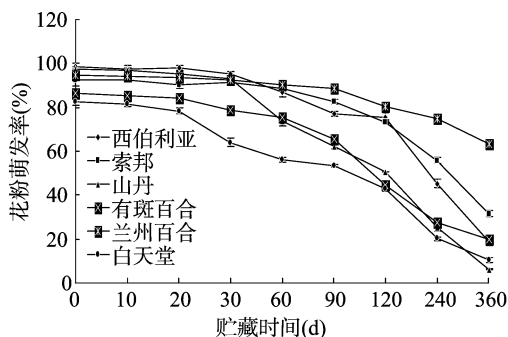


图7 -20℃贮藏对花粉萌发率的影响

植物花粉萌发提供所需的营养物质,二是可以调节外界环境渗透压^[13]。蔗糖对各品种百合花粉的萌发均有促进作用,随蔗糖浓度的升高,供试百合花粉萌发率提高,当超过最适浓度时,萌发率下降,这是因为在高浓度蔗糖溶液中,花粉管壁透性被改变,抑制了花粉的萌发。硼酸可显著促进花粉萌发和花粉管伸长^[14],硼能与糖形成络合物,使糖易于被花粉吸收、转运和代谢,而且硼还能促进花粉管壁组成成分果胶质的形成^[15]。各百合花粉在添加硼酸后萌发率均显著提高,在达到花粉萌发最适浓度后,随着硼酸浓度的增加,各百合花粉萌发率均有所下降,但与只含最适蔗糖浓度溶液时相比,花粉萌发率仍有所提高。

贮藏温度对花粉生命力保存有显著的影响,温度与花粉贮藏寿命呈负相关^[16]。在低温状态下,花粉细胞内的水分变成固态而不能被利用,新陈代谢基本停止^[17];同时低温可以抑制呼吸,从而延长花粉的贮藏时间^[18]。本研究结果表明,随着温度的降低,各百合品种花粉生命力下降趋势逐渐减缓,0~4℃低温贮藏使百合花粉的生命力延长至240 d,-20℃冷冻贮藏可使花粉的生命力得到更好的保持,这与前人研究结果^[19-20]一致。目前,花粉超低温保存研究正逐步深入,关于液氮保存花粉的报道仍然较少,可作为今后的研究方向。

参考文献:

- [1] 陈俊愉,程绪珂. 中国花经[M]. 上海:上海文化出版社,1990: 183-184.
- [2] 程金水. 园林植物遗传育种学[M]. 北京:中国林业出版社,2000.
- [3] 傅立国,陈潭清,郎楷永,等. 中国高等植物[M]. 青岛:青岛出版社,2002:118-133.
- [4] 刘冬云. 野生山丹种质资源遗传多样性及利用研究[D]. 北京:北京林业大学,2011.
- [5] 刘小溪,吴丽芳,张艺萍,等. 百合育种趋势及技术研究进展[J]. 浙江农业科学,2011(2):287-290.
- [6] 郝瑞娟,穆鼎,张檀,等. 百合品种间杂交的初步研究[J]. 西北林学院学报,2005,20(3):87-89,130.
- [7] 张艺萍,瞿素萍,吴丽芳,等. 30个百合品种和2个野生百合的花粉生活力及其贮藏条件研究[J]. 西南农业学报,2014,27(6):2548-2553.
- [8] 李润根,却志群,刘芳玲,等. 万载龙牙百合花粉活力测定及贮藏方法研究[J]. 安徽农业科学,2014,42(14):4404,4417.
- [9] 孙晓光,张晓曼,杨建民. 亚洲百合‘精粹’开花习性及花粉特性研究[J]. 西北林学院学报,2011,26(4):23-26.

德庆措姆,高松. 红颜草莓不同距离分株对光强和 CO_2 浓度的响应特征[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):208-210.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.067

红颜草莓不同距离分株对光强和 CO_2 浓度的响应特征

德庆措姆¹,高松²

(1. 西藏大学农牧学院植物科学技术学院,西藏林芝 860000; 2. 台州学院生态研究所,浙江台州 318000)

摘要:研究克隆植物不同分株对光强和 CO_2 浓度的响应特征,以红颜草莓为研究对象,采用 Li-6400 便携式光合作用测定系统,原位测量叶片的净光合速率(P_n)对光合有效辐射(PAR)与胞间 CO_2 浓度(C_i)的响应曲线。结果表明,草莓的光响应和 CO_2 响应曲线均可用直角双曲线修正模型方程来拟合。光饱和或 CO_2 饱和时草莓远端分株的最大净光合速率(P_{\max})和表观量子效率(AQY)显著高于近端分株,但光饱和点却显著低于近端分株。光补偿点(LCP)、暗呼吸速率(R_d)、 CO_2 饱和点(CSP)、 CO_2 补偿点(CCP)、光呼吸速率(R_p)和 RuBP 羧化效率(CE)在草莓的基株和分株间差异显著。远端分株保持较高的净光合速率有助于草莓累积更多的同化产物,占据更多空间以获得更多的资源,使得种群规模迅速扩大。

关键词:克隆植物;草莓;光响应曲线;光强; CO_2

中图分类号: S668.401 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0208-03

克隆植物是指在定居前期通过与基株相连的茎、根状茎或枝条等繁殖体产生大量基因型相同分株的植物,这些分株在完全独立之前通过间隔子(匍匐茎或根状茎)相互连接,同一株克隆植物由于分株之间的联系,使得植物内的资源在“源”和“汇”之间进行分配,即克隆整合,从而增强克隆植物的生长^[1]。研究表明,克隆整合有助于植物抵御水淹^[2]、耐受沙埋^[3]、耐受盐胁迫^[4]、采食干扰^[5]、遮光胁迫^[6]和干旱胁迫^[7]等,这是因为克隆植物在其栖息地内通过匍匐茎或根状茎等结构,将斑块内资源充足分株内的养分供应至低资源的分株,从而表现出对环境更强的适应能力^[8]。

草莓为典型的克隆植物,具有个体小、发育快、种子产量高、克隆生长等特点,易于开展重复试验;还具有早春开花、北半球分布的特性,使其更易于受到全球气候变化的影响,是开

展克隆植物研究的良好系统^[9]。目前,有关草莓光合作用特征的研究主要集中在环境胁迫以及施加外源激素对草莓光合作用的影响等方面^[10-11],而关于克隆植物基株与分株在连接的情况下,基株与分株碳同化能力的高低尚未见报道。本研究采用栽培草莓(*Fragaria × ananassa* Duch.)作为试验材料,考察基株、近端分株、远端分株光合作用对光强和 CO_2 浓度的响应特征,为阐明克隆植物的生态适应机制提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为红颜草莓(*Fragaria × ananassa* Duch.),于2013年4月购自临海市江南红叶草莓合作社。将红颜草莓幼苗分别种植于台州学院人工气候室的花盆内,空气相对湿度控制为(75±10)%,白天设为14 h,温度为(22±1)℃,光照强度约为500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;晚上设为10 h,温度为(15±1)℃。培养至成熟后取长势良好的植株进行试验。

1.2 方法

选择红颜草莓的基株、近端分株、远端分株上的功能叶片作为测定对象(草莓近端分株距基株52 cm,远端分株距母株

收稿日期:2014-09-09

基金项目:浙江省重点学科开放课题(编号:EKD2013-06)。

作者简介:德庆措姆(1970—),女,藏族,西藏西南人,硕士,副教授,从事园艺植物栽培及育种的教学与研究。E-mail:584219545@qq.com。

[10]张艺萍,吴丽芳,王祥宁,等. 百合32个基因型的花粉生活力及其贮藏条件的研究[J]. 华北农学报,2013,28(增刊1):167-171.

[11]Rhee H K, Lim J H, Cho H R, et al. The relationship of storage and viability of lily pollen[J]. Acta Horticulturae, 2003, 620: 319-324.

[12]Loews F A, Loews M W. Collection and storage of pollen from *Lilium longiflorum*[J]. Plant Cell Incompatibility Newsletter, 1990, 22: 32-36.

[13]贾文庆,刘会超,姚连芳. 紫薇花粉萌发特性研究[J]. 西北林学院学报,2007,22(6):18-20.

[14]王玲,祝朋芳,毛洪玉. 不同培养基及不同贮藏条件对金娃娃萱草花粉生命力的影响[J]. 西北林学院学报,2009,24(3):

95-97,108.

[15]志佐敏,加藤幸雄. 植物生殖生理学[M]. 东京:誠文堂新光社,1962:176-180.

[16]张铭芳,吴磊磊,贾桂霞. 百合不同杂交系品种花粉贮藏特性分析[J]. 西北植物学报,2013,33(7):1465-1472.

[17]陈和明,尹光天,胡哲森,等. 黄藤花粉萌发与低温贮藏研究[J]. 西北植物学报,2006,26(7):1395-1400.

[18]李广清. 山茶花粉超低温保存研究[D]. 北京:北京林业大学,2005.

[19]时婷婷,张桂玲,温四民,等. 百合花粉超低温保存方法研究[J]. 北方园艺,2013(3):64-66.

[20]安勇,张彦妮,钱灿. 贮藏温度及时间对百合花粉萌发率的影响[J]. 东北林业大学学报,2011,39(1):44-45.