

杨红,顾妍,张朝阳,等.不同辐射及温度处理对西瓜花粉生活力的影响[J].江苏农业科学,2017,45(2):111-113.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.02.031

不同辐射及温度处理对西瓜花粉生活力的影响

杨红,顾妍,张朝阳,罗德旭,孙玉东

(江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所/淮安市设施蔬菜重点实验室,江苏淮安 223001)

摘要:以 Bonbon、嘉年华二号、先甜 74 和超玉 4 个西瓜品种为试验材料,对其花粉进行 γ 射线辐照、紫外线辐照、高温及低温贮藏处理,观察花粉活力及授粉后坐果能力。结果表明,强度为 600 Gy 的 γ 射线辐照处理效果较好,果实内种子数量较多;紫外线辐照和高温处理不便于操作,且效果远不如 γ 射线辐照处理。西瓜花粉经干燥后分装到冷冻管中,可于液氮 ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) 中贮存半年以上,使用前 $40\sim 42\text{ }^{\circ}\text{C}$ 解冻 2 min。坐果率与花粉的生活力之间并无直接关系。

关键词:西瓜;花粉;辐射; γ 射线;花粉活力;坐果

中图分类号: S651.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)02-0111-02

花粉(雄配子体,染色体数 n)是植物遗传物质的载体,花粉质量的优劣、生活力的强弱,对诱导雌核发育获得单倍体的研究来说,起着决定性的作用。在自然环境下,西瓜花粉的寿命很短,通常只有几个小时,开花当日下午,花冠即凋萎,雄蕊萎缩,花粉失去生活力。如遇晴天高温,西瓜花及花粉的寿命更短。但如果花期遇低温、阴雨天,虽然西瓜花第二天仍能开放,但雄花花粉已失去生活力。研究表明,温度、湿度等环境条件是影响植物花粉生活力的主要因素^[1-2],不同植物所需条件差异很大。陈宗光等以二倍体西瓜 B99 品种为试材,研究了不同保存条件对西瓜花粉生活力的影响,结果表明常温干燥条件下可延长花粉保存时间;低温($4\text{ }^{\circ}\text{C}$)干燥($RH\ 25\%$)条件下保存花粉,花粉生活力 4 d 内降低较慢,4 d 后降低稍快,但到 9 d 时仍有 1/3 以上的花粉具有生活力;前 8 d 的坐果率可以达到自然状态(用新鲜花粉授粉)的 73%^[3]。郭尚等对西瓜花粉生活力的研究表明,西瓜花粉萌发适宜温度为 $18\sim 38\text{ }^{\circ}\text{C}$,上限温度为 $48\text{ }^{\circ}\text{C}$,下限温度为 $8\text{ }^{\circ}\text{C}$,在较高生长温度条件下形成的花粉生活力较强;低温处理时间越长,越不利于花粉发芽, $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温、干燥条件有利花粉短期保存^[4]。杨槐俊等表明液氮贮藏是保存西瓜花粉的有效途径, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温 2 min 适合于西瓜花粉液氮贮存后的解冻^[5]。

花粉辐射处理,主要是将其生殖细胞杀死,而花粉可以正常授粉,授粉坐果后得到的西瓜为少籽或无成熟种子西瓜。本试验研究辐射、温度、保存条件对西瓜花粉活力及坐果的影响,同时对西瓜花粉进行紫外线处理及高温处理,与经过 γ 射线辐射处理的花粉对比,寻找可以取代辐射处理花粉的方式,为西瓜原位雌核发育途径获得单倍体奠定基础。

1 材料与方法

收稿日期:2015-11-24

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(14)2014];江苏省科技支撑计划(编号:BE2012323)。

作者简介:杨红(1982—),女,硕士,助理研究员,主要从事蔬菜育种与栽培工作。E-mail:linrainhong@qq.com。

通信作者:孙玉东(1968—),男,研究员,主要从事蔬菜遗传育种和设施蔬菜栽培等研究工作。E-mail:sunyudong@aliyun.com。

1.1 材料

供试西瓜品种为 Bonbon、嘉年华二号、先甜 74 和超玉,其中 Bonbon 为日本引进的西瓜品种,嘉年华二号和先甜 74 由先正达公司提供,超玉(审定名:淮蜜 2 号)为江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所育成。供试花粉为经花粉萌发测试后的混合花粉。

1.2 试验方法

1.2.1 花粉采集及处理 于花期 15:00 后采集第二天上午将要开放的西瓜雄花花蕾,剥去花瓣、萼片,放入纸盒中,再放入干燥器中干燥,等待散粉。第二天上午,用毛笔将已散西瓜花粉刷下、收集,用于后续试验。

辐照处理:对收集好的花粉分别进行辐射剂量为 0、100、300、600、900 Gy 的 γ 射线辐射处理。将辐射处理后的花粉标明辐射剂量及辐射时间,分别于常温、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 及 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (液氮)保存,定期测定花粉萌发率。

紫外灯照射处理:紫外线处理在组培室进行,采用的是普通医用紫外灯。将收集好的西瓜花粉散铺于培养皿中,放在距离紫外灯管 10 cm 的位置,照射 0、1、2、3、4 h。试验组培室温度设定为 $15\sim 18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

高温处理:采用水浴的方式进行。将收集好的花粉放在宽口试管中,在恒温水浴锅 $40\sim 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下处理 0、5、10、20、30、60 min。期间不断晃动,确保花粉受热均匀。对处理过的花粉立即进行花粉萌发率测试。

低温贮藏处理:花粉经自然干燥,收集、600 Gy 的 γ 射线辐射处理后,分别于常温、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 及 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (液氮)保存,定期测定花粉萌发率。

1.2.2 花粉萌发率测试及萌发观察 将注射液小瓶洗净,装入约 1/3 瓶蒸馏水,瓶口涂抹适当凡士林备用。

在盖玻片上滴 1 滴 ($20\text{ }\mu\text{L}$) Brewbaker 培养基,将花粉小心地撒在培养基上,轻轻将盖玻片翻转,使液滴面向下,慢慢将盖玻片移至备好的注射液小瓶上,使其密封,置于培养箱中 $25\sim 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养 2 h。在双目显微镜下观察花粉管的生长情况,选择 3 个较为清晰的视野,对总花粉及已萌发花粉计数,计算花粉萌发率。当花粉管伸长达到花粉粒直径的 1/2,即视为花粉萌发。花粉萌发率 = 已萌发花粉数/总花粉数 \times

100%。

将各处理的花粉(冷冻花粉经 40~42℃解冻 2 min)于处理当天进行田间授粉,授粉后 7 d 统计坐果率。

2 结果与分析

2.1 γ射线辐照处理对花粉萌发的影响

γ射线辐照处理对花粉的生活力有一定影响,从表 1 可以看出,花粉萌发率随着辐照强度的增加而降低。与对照相比,100 Gy 辐射处理花粉萌发率差异不显著,300、600、900 Gy 辐射处理,花粉萌发率较对照显著降低,且处理间差异显著。

表 1 γ射线辐照处理对花粉生活力的影响

辐照剂量(Gy)	花粉萌发率(%)
0	93.88a
100	84.99a
300	69.51b
600	53.66c
900	19.39d

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下表同。

2.2 紫外线处理对花粉萌发的影响

紫外线会使空气中的氧气变成臭氧,从而起到灭菌的作用,但正是这种作用,导致处理过的花粉明显失活,花粉颜色从金黄色变为暗黄色,处理时间越长,对花粉生活力破坏越大。从表 2 可以看出,紫外辐照下,随着照射时间的延长,萌发率逐渐下降,紫外线处理明显降低了花粉的萌发率,且差异显著,但不能确定的是其对花粉生殖细胞的影响。

表 2 紫外线处理对花粉萌发的影响

处理时间(h)	花粉萌发率(%)	
	对照 CK	紫外线处理
0	90.82a	90.82a
1	86.91a	62.55c
2	71.64b	42.01d
3	35.85e	31.15ef
4	26.05f	19.77g

2.3 高温处理对花粉萌发的影响

从表 3 可以看出,40℃干燥条件下,60 min 内花粉萌发率差异不大,40℃水浴条件下,10 min 后花粉萌发率差异明显,呈下降趋势。随着温度的升高及时间的延长,西瓜花粉的萌发率呈现明显的下降趋势,而在 70~80℃高温条件下,5 min 绝大部分花粉失活,失活的花粉颜色由金黄色变为暗黄色,少量为褐色,此失活花粉无法正常授粉。

表 3 高温处理对花粉萌发的影响

处理时间(min)	花粉萌发率(%)							
	常温	40℃干燥	40℃水浴	50℃水浴	60℃水浴	70℃水浴	80℃水浴	
0	93.73a	93.73a	93.73a	93.73a	93.73a	93.73a	93.73a	
5	89.97a	89.72a	90.60a	73.53b	46.13c	6.57d	5.01d	
10	87.97a	86.46a	80.46a	66.98b	30.87c	7.39d	2.37d	
20	85.96a	79.03b	55.03c	53.87c	5.13d	6.24d	3.87d	
30	84.73a	80.64a	45.64b	10.30c	3.67c	3.41c	1.91c	
60	81.21a	75.31a	41.31b	6.94c	4.38c	1.94c	0.98c	

2.4 低温贮藏对花粉萌发的影响

4℃条件下,辐射花粉达到可授粉状态时间不超过 5 d,

而在-18℃和-40℃条件下贮存,明显可以延长花粉保持活力的时间;而在-196℃条件下,贮存 4 个月,辐射花粉仍然能够正常萌发,且花粉萌发率差异不显著(表 4)。

表 4 低温贮藏对花粉萌发的影响

处理时间(d)	花粉萌发率(%)				
	对照(CK)常温	4℃	-18℃	-40℃	-196℃
0	48.46a	48.46a	48.46a	48.46a	48.46a
1	25.39b	39.72a	43.99a	46.48a	49.95a
2	21.82b	27.12bc	32.92bc	38.07bcde	46.87ab
3	9.84c	30.90b	41.69ab	35.56def	50.11a
4	1.98d	26.38c	39.98ab	43.86ab	43.59ab
5	0	8.61d	31.83bc	40.10bcd	44.30ab
6	0	5.79d	36.29abc	36.72cdef	38.52b
10	0	0.82e	35.33abc	34.55defg	41.55ab
20	0	0	28.54cd	34.31def	46.69ab
30	0	0	19.56de	42.57abc	43.58ab
40	0	0	16.77e	33.96efg	51.21a
50	0	0	14.73ef	39.98bcd	42.63ab
60	0	0	10.62efg	36.48def	50.19a
90	0	0	4.91fg	29.31g	43.64ab
120	0	0	1.31g	30.94fg	44.38ab

2.5 花粉辐射处理对坐果率及诱导单倍体的影响

不同辐射剂量的处理对西瓜花粉授粉效果影响较大,差异显著(表 5)。其中 600 Gy 的辐射处理效果较好,果实内种子较多,但大多为瘪种(幼胚不正常发育)。低于 600 Gy 的辐射处理,形成的成熟种子较多,不利于筛选;高于 600 Gy 的辐射处理坐果率较低,形成的种子较少,效果较差。

表 5 花粉辐射处理对坐果率及诱导单倍体的影响

辐射处理剂量(Gy)	坐果率(%)	幼胚数量(粒)	瘪种比例(%)
0	93.3a	>200	21.23a
100	84.8b	>200	46.55a
300	80.1bc	100~200	68.27b
600	76.2c	100~200	89.93c
900	52.6d	<100	91.26d

3 结论与讨论

郭尚等通过花粉培养、显微镜观察的方法,认为 8℃的低温条件适合西瓜花粉的短期保存^[4],陈宗光等认为低温干燥(4℃,RH 25%)条件下,花粉保存 4 d 后生活力降低加快,9 d 后仍有 1/3 以上的花粉具有生活力^[3],这一点在本试验过程中得到验证。辐射处理后的花粉生活力明显低于未辐射的花粉,低温贮存和高温处理都遵循了普通西瓜花粉的生活力变化趋势。郭尚等提出,花粉先在-18℃条件下预冻,然后在-68℃条件下保存效果较好^[4],本试验过程中发现,经过干燥的花粉放入冻存管后,直接放入液氮(-196℃)中保存效果较好。

在用医用紫外灯进行辐照处理的同时,紫外线会使空气中的氧气变成臭氧,从而起到灭菌的作用,但正是这种作用,导致处理过的花粉明显失活,花粉颜色从金黄色变为暗黄色。本试验发现,处理时间相对较长,对花粉生活力破坏极大,这对花粉处理没有有效的利用价值。

温度对动物的生殖细胞影响较大,高温容易导致动物的生殖细胞失活,而高温对植物的授粉也有一定影响。郭尚等将花

张朝阳,徐兵划,顾妍,等.西瓜无萌蘖嫁接技术[J].江苏农业科学,2017,45(2):113-114.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.02.032

西瓜无萌蘖嫁接技术

张朝阳,徐兵划,顾妍,赵建峰,罗德旭,王林闯,仲秀娟,王玮玮,孙玉东

(江苏省徐淮地区淮阴农业科学研究所/淮安市设施蔬菜重点实验室,江苏淮安 223001)

摘要:以西瓜品种淮蜜 2 号为接穗,强根为砧木,以普通贴接、插接法为对照,研究无萌蘖嫁接方法对嫁接工效、嫁接苗成活率、成苗率、萌蘖率、幼苗株高、接穗干质量、叶绿素含量、第 1 雌花节位、果实中心糖含量、皮厚及单果质量的影响。结果发现,与贴接、顶插接常用嫁接方法相比,无萌蘖贴接、蘖插接法的嫁接苗成活率、成苗率、幼苗株高,但第 1 雌花节位、平均单果质量、果实中心糖含量、皮厚及产量等指标无显著差异,嫁接工效、接穗干质量、幼苗真叶叶绿素含量存在极显著差异。但采用该技术嫁接的西瓜苗产生的萌蘖率均为 0,极显著低于常用嫁接法,因此该方法可在生产中推广应用。无萌蘖嫁接幼苗生长量、真叶叶绿素含量明显低于常用的贴接和插接,但定植后,第 1 雌花开放时期与常用嫁接方法无明显差异,幼苗这一缺点可采用延长苗龄的方法来克服。

关键词:砧木;西瓜;嫁接方法;无萌蘖嫁接

中图分类号: S651.04+3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)02-0113-02

我国西瓜嫁接苗使用面积约 44.2 万 hm^2 ,西瓜嫁接是防治西瓜枯萎病的首选方法,还可使西瓜达到稳产高产^[1]。目前,年产 1 000 万株以上嫁接苗的公司已达数十家,嫁接苗生产过程中,砧木萌蘖难以避免,尤其是插接,苗期须要去除萌蘖 2 次以上,工作量大且功效低,随着劳动力的匮乏,砧木萌蘖的及时去除成为工厂化育苗的难题,尤其是采用机器嫁接的国家及地区,人工去除砧木萌蘖不太现实,去除萌蘖的成本远远高于嫁接成本。无萌蘖西瓜嫁接方法是一种新授权发明专利应用方法,该方法避免了现有嫁接方法嫁接后发生砧木萌蘖现象,对机器嫁接的应用具有深远意义。

1 材料与方

1.1 试验材料

试验于 2015 年 1—7 月在淮安市农业科研创新基地单体钢管塑料大棚中进行,供试接穗为西瓜品种淮蜜 2 号,由江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所提供;砧木品种为强根,来源于先正达(寿光)种子有限公司,由淮安市中园艺发展有限公司提供。

收稿日期:2015-11-22

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(13)3013]。

作者简介:张朝阳(1982—),男,江苏东海人,硕士,助理研究员,从事西瓜育种与栽培技术研究。E-mail:287362703@qq.com。

通信作者:孙玉东,研究员,从事西甜瓜育种技术研究。E-mail:haasyd@hotmail.com。

粉置于 48、53、58 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行培养,认为西瓜花粉在 53 $^{\circ}\text{C}$ 培养后 2~10 h 萌发率不超过 20%,而 58 $^{\circ}\text{C}$ 的花粉萌发率不超过 1%^[4]。而在本试验中,经 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴处理 5 min,有 46.13% 的花粉萌发,处理 10 min,花粉萌发率达到 30.87%。

参考文献:

[1] 农山渔村文化协会.野菜园芸大百科(5)[M].东京:农山渔村

1.2 试验设计

2015 年 1 月 28 日播种淮蜜 2 号,采用基质穴盘育苗,播种于 128 孔标准穴盘,共播种 20 盘;1 月 31 日播种砧木强根,采用 50 孔穴盘育苗,共播种 45 盘。于 2015 年 2 月 10 日开始嫁接,以无萌蘖贴接(T1)、无萌蘖插接(T2)作为处理,以常规贴接(CK1)、顶插接(CK2)为对照。嫁接时,挑选熟练嫁接工人 15 人,随机组合,每 5 人 1 组,分成 3 组,每组作为 1 个重复。贴接方法采用 1 人削接穗、1 人削砧木、3 人贴接,其他嫁接方法,各人独立操作。每种嫁接方法每组嫁接 3 盘,嫁接苗采用统一管理方法。嫁接苗于 3~4 叶 1 心即 3 月 5 日时定植于单体钢管塑料大棚中,行距 100 cm、株距 40 cm,每个小区种植 40 株,3 次重复,随机区组排列,吊蔓栽培。

贴接和插接参照苏胜举等的嫁接方法^[2-3]。(1)无萌蘖贴接法。首先用刀片从砧木 2 张子叶基部切除,切割位点有 0.5 cm 的跨度范围,砧木顶端形成 1 个 45 $^{\circ}$ 切面,接穗切法及嫁接苗固定同普通贴接法。(2)无萌蘖插接法。首先用刀片从砧木 2 张子叶基部切除,切割位点有 0.5 cm 的跨度范围,再用 1 根竹签从砧木顶部切口一边 45 $^{\circ}$ 斜插入下胚轴,并穿出下胚轴;然后切西瓜接穗,在西瓜接穗子叶基部下 1 cm 处,先沿接穗下胚轴一侧向下 45 $^{\circ}$ 切第 1 刀,深度约至接穗下胚轴直径 2/3,不切断下胚轴,切口长 1.4~1.6 cm;在接穗子叶基部下 1.5 cm 处,垂直于第 1 刀切口面向下 45 $^{\circ}$ 切第 2 刀,切断接穗下胚轴,接口长度 1 cm 左右;最后,拔出竹签,迅速插入西瓜接穗固定,完成嫁接。

文化协会,2004.

[2] 日本花粉学会.花粉学事典[M].东京:朝仓书店,1994.

[3] 陈宗光,马德伟,王宝山,等.保存条件对西瓜花粉生活力的影响[J].中国瓜菜,2008,21(4):11-14.

[4] 郭尚,王秀英.不同因素对西瓜花粉生活力的影响[J].华北农学报,2006,21(3):91-94.

[5] 杨槐俊,段锦兰,申仲妹,等.液氮贮藏西瓜花粉试验[J].山西农业科学,1992(3):12-13.