

# 不同贮藏温度对银中杨花粉寿命的影响

程广有, 唐晓杰, 孟范例, 魏春媛

(北华大学 林学院 吉林 吉林 132013)

**摘要:** 设定了-90、-30、-15.5℃和室温5个水平贮藏银中杨花粉,用氯化2,3,5-三苯基四唑(TTC)染色法测定花粉生活力。结果表明:银中杨单株间花粉寿命差异显著;银中杨花粉生活力因贮藏温度不同而存在显著差异,温度越低花粉寿命越长。室温条件下,银中杨花粉1周后即丧失活力;在5℃贮藏10 d时,有生活力花粉为22.98%,丧失活力;15 d后在-15℃和-30℃条件下贮藏,15 d后有生活力花粉分别为31.98%和38.56%;在-90℃条件下贮藏15 d后,有生活力花粉为82.7%,30 d时有活力的花粉为50.68%。

**关键词:** 银中杨;花粉生活力;贮藏温度

**中图分类号:** S 792.119 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)23-0105-03

银中杨(*Populus alba* × *P. berolinensis*)是银白杨(*Populus alba* Linn.)与中东杨(*Populus* × *berolinensis* Dipp.)通过人工有性杂交选育的雄性无絮品种,具有树干笔直、树冠丰满、叶形美观、叶色绿白相间,速生,抗病虫能力强,耐寒、耐瘠薄等优良特性。既是营造速生丰产林的优良树种,也是城乡绿化、特别是大中城市绿化的首选树种。同时,银中杨又是优良的种质资源,是进一步育种的原始材料。杨树花粉寿命较短是开展杨树杂交育种的主要障碍之一<sup>[1-3]</sup>,现探讨了不同贮藏温度对银中杨花粉生活力的影响,为克服杨树杂交育种花期不遇或异地杂交及杨树育种资源保存提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

于2009年4月在吉林省吉林市江南公园选择银中杨(*Populus alba* × *P. berolinensis*)优树。该地区属于温带大陆性季风气候,四季分明。春季少雨干燥,多大风,夏季温热多雨,秋季凉爽,昼夜温差大,冬季漫长而寒冷。全年平均气温3~5℃,1月平均气温-18~-20℃;7月平均气温21~23℃。年极端最高气温36.6℃,最低温度为-45℃,无霜期130~140 d。全年降雨量650~750 mm,日照时数2 400~2 600 h。

### 1.2 试验方法

在自然散粉前,从6株优树树冠的中、上部,剪取1~2 a生无病虫害,基部直径为1.5~2 cm、长70 cm以上的雄花枝,修剪后分别插在温室内盛清水的水桶内,

每隔3 d换1次水。培养花枝期间保持适宜的温、湿度。4月中旬银中杨雄花枝开始散粉,用手抖动花序使花粉落入硫酸纸袋内。然后用花粉筛去除杂质,室内风干后,装入试管中,用脱脂棉塞好管口,分别置于-90、-30、-15.5℃和室温(16~25℃)条件下贮藏。贮藏前先对新鲜花粉进行生活力测定,放入5个不同贮藏温度的花粉每隔24 h测定花粉活力1次。采用0.1%TTC(氯化2,3,5-三苯基四唑即四氮唑, pH 6.8)染色法检测花粉生活力,染色时间(黑暗)为2~4 h。染色后用玻璃棒蘸取少量花粉悬浮液滴于载玻片上,盖上盖玻片,在10倍镜下观察。凡是染成红色的花粉,其生活力为强,淡红的次之,无色的为不具活力的花粉或不育花粉<sup>[4]</sup>。每个温度观察1个制片,每片取3个视野,统计100多粒,计数有活力花粉的百分率。将花粉活力百分数先进行反正弦转换,然后方差分析和多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 染色时间与银中杨花粉着色效果

在4月15日收集银中杨新鲜花粉,进行染色。染色2 h的银中杨花粉几乎没有着色,效果不明显。染色4 h的银中杨花粉着色效果非常明显。TTC染色法的基本原理是具有活力的花粉呼吸作用较强,其产生的NADH<sub>2</sub>或NADPH<sub>2</sub>可将无色的TTC还原成红色的TTF(三苯甲)而着色,如果花粉呼吸作用较弱,则TTC的颜色较浅。说明经过4 h染色的花粉的内部发生的还原作用较充分,无色的TTC被还原成红色的TTF。最后确定银中杨花粉的TTC最佳染色时间为4 h。

### 2.2 银中杨单株间花粉活力的差异

在4月15日上午收集6株银中杨新鲜花粉,染色后,对新鲜花粉进行生活力测定。从图1可看出,各个

第一作者简介:程广有(1963-),男,博士,教授,研究方向为林木选育种与生物技术。E-mail: cgy6868@sina.com.

收稿日期: 2010-09-06

优树新鲜花粉的活力分别为 98.5%、99.2%、99.6%、99.9%、99.7%、98.6% 无明显差异, 几乎都接近 100%。在不同温度条件下贮藏后, 各个优树花粉在贮藏期间活力变化的趋势基本一致。随着贮藏时间的延长, 花粉活力逐渐降低。降低幅度以贮藏期前 5 d 较大, 花粉活力降低 60%左右。贮藏到 15 d 时, 4 号优树花粉活力降到 42%, 1、2、3、5 和 6 号优树的花粉活力分别降低到 28.6%、25.4%、23%、32.6% 和 30.2%。可看出贮藏 15 d 后 4 号优树的花粉活力降低最少, 其它优树花粉活力降低幅度较大, 表明 4 号优树花粉耐贮藏能力较强。

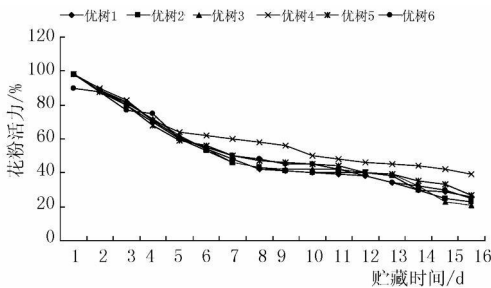


图 1 不同优树间花粉活力比较

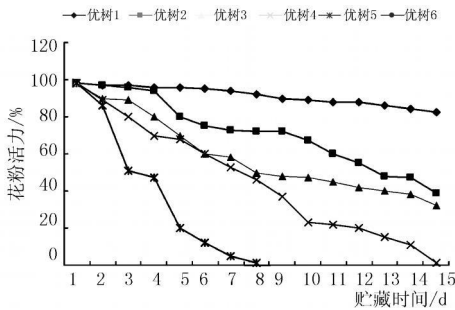


图 2 贮藏温度与银中杨花粉活力

对贮藏 15 d 的花粉活力进行方差分析。由表 1 可看出, 花粉在不同温度条件下经过一段时间贮藏后, 各优树间花粉活力差异显著, 说明银中杨优树间存在遗传差异。

表 1 银中杨花粉活力的方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	显著性
温度间	41 172.322	4	10 293.081	3 129.26 **
优树间	504.43067	5	100.886	30.67 **
误差	65.786	20	3.2893	
总变异	41 292.53867	29		

表 2 各优树间花粉活力多重比较

优树	平均值%	差异显著性	
		0.05	0.01
4 号	42.25	a	A
5 号	33.26	bc	B
6 号	30.56	bc	B
1 号	29.20	bc	B
2 号	25.65	c	C
3 号	23.42	c	C

多重比较结果表明, 4 号优树花粉活力最高(表 2)。4 号优树花粉在贮藏 15 d 后平均生活力为 42.25%, 花粉仍保持较高活力, 其次是 1、5 和 6 号优树花粉活力较高, 2 和 3 号优树花粉活力最差。

2.3 贮藏温度对花粉活力的影响

银中杨花粉贮藏前活力平均为 99.76%, 接近 100%。经过不同温度贮藏后, 各温度处理后的花粉活性变化的趋势基本一致, 随贮藏时间的延长花粉活力逐渐降低。在-90℃条件下贮藏的花粉活力明显高于其它贮藏温度(图 2)说明温度越低花粉活力越强。在室温(16~20℃)条件下 7 d 时银中杨花粉活力不足 5%, 而在 5、-15、-30、-90℃条件下贮藏的花粉活力分别为 45.98%、49.98%、71.55%、92.25%。在 5℃条件下贮藏 15 d 后, 有活力的花粉 0.37%。贮藏 15 d 后, -15、-30 和 -90℃的花粉活力分别为 31.68%、38.6% 和 82.7%。表明贮藏温度越低, 银中杨花粉寿命越长。

由表 1 可知, 银中杨花粉在不同贮藏温度间差异极显著。由表 3 可知 -90、-30、-15、5℃ 间差异极显著, 5℃和室温差异不显著。在室温条件下, 银中杨花粉在散粉后 1 周, 即有近 90% 以上的花粉丧失生活力; 银中杨花粉在-90℃条件下贮藏 15 d 时有生活力花粉为 82.7%, 30 d 时有活力的花粉为 50.68%。说明在-90℃条件下贮藏的花粉寿命最长, 其次为-30、-15℃, 5℃和室温贮藏的花粉寿命最短。低温可以使贮藏期间花粉呼吸减弱, 可溶性糖类、有机酸等消耗减少, 说明温度是影响花粉生活力的主要因素之一。

表 3 不同贮藏温度条件下花粉活力多重比较

温度/℃	平均值%	差异显著性	
		0.05	0.01
-90	82.7	a	A
-30	38.56	b	B
-15	31.98	c	C
5	0.37	de	DE
室温	0	e	E

3 结论

试验结果表明, 利用 TTC 染色法检测银中杨花粉活力的最佳染色时间为 4 h。银中杨单株间新鲜花粉活力相同, 但贮藏期间花粉寿命差异显著。贮藏 15 d 测定, 4 号优树花粉活力最高, 其次是 1、5 和 6 号优树花粉活力较高, 2 和 3 号优树花粉活力最差。银中杨花粉在不同温度下贮藏时, 花粉寿命显著不同, 贮藏温度越低银中杨花粉寿命越长。在室温条件下, 银中杨花粉在散粉后 1 周, 绝大多数花粉丧失生活力; 在 5℃贮藏 15 d 时花粉活力丧失殆尽; 15 d 后贮藏在一 15、-30℃条件下的花粉活力分别为 31.98% 和 38.56%; -90℃条件下贮藏 15 d 时有生活力花粉为 82.7%, 30 d 时有活力的花粉为 50.68%。

# 蝴蝶兰组培苗的练苗驯化与定植

郑一强, 狄文伟

(阜新高等专科学校 农牧系 辽宁 阜新 123000)

中图分类号: S 682.2<sup>+</sup>9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)23-0107-02

近 10 a 来, 蝴蝶兰组织培养技术已经成熟, 为蝴蝶兰温室工厂化生产奠定了技术基础。当前对蝴蝶兰组培技术研究较多, 但对其组培苗练苗驯化研究较少; 蝴蝶兰组培苗的练苗驯化技术虽不十分困难, 但却并不系统、不明确。对于相当一部分生产者来说, 降低练苗损失是提高利润的重要途径之一。经过反复的研究实践, 较为系统地归纳总结如下。

## 1 瓶苗练苗驯化

### 1.1 练苗驯化场准备

练苗驯化最好在专门划定的场区内进行, 如面积有限, 可在小苗区进行, 在进行练苗之前应对练苗场消毒,

除采用常规喷雾打药消毒外, 也可在风机上风方向设硫消毒器, 以利用硫熏蒸, 增强消毒效果。10 000 m<sup>2</sup> 的蝴蝶兰生产温室内练苗面积约为 500 m<sup>2</sup>。

### 1.2 练苗驯化培养

从培养室移出的组培苗在移苗定植前需要进行锻炼。这一阶段为使幼苗在被移植之前有一个适应外界环境的过程, 使其生理状态从培养室内的异养状态过渡到温室内的自养状态。此阶段主要注意光照、温度、湿度管理。

从培养室刚移出的前 2~3 d, 环境温度应与培养室内温度相接近, 即 22~24℃, 光照强时应适当遮阳, 在瓶上盖双层遮阳网, 光照在 1 000 lx 左右。1 周后, 盖单层遮阳网, 早晚掀开, 中午向地面喷水降温增湿, 在经过 2 周左右的锻炼后, 中午盖遮阳网或只打开温室内遮阳网, 可见幼苗根茎基部颜色变绿变深, 萌发新叶新根, 表

第一作者简介: 郑一强(1980-), 男, 在读硕士, 讲师, 现主要从事组织培养研究与教学工作。E-mail: kevinjeng@163.com.  
收稿日期: 2010-09-07

## 参考文献

[1] 张延桢. 关于杨树遗传育种中的若干问题[J]. 林业科学研究, 1996, 9(1): 80-86.  
[2] 李天权, 朱之悌. 白杨派内杂交难易程度及杂交方式的研究[J]. 北京林业大学学报, 1989, 11(3): 54-59.

[3] Rao H Y, Wu N F, Huang M R, et al. Two insect-resistance genes were transferred into poplar hybrid and transgenic poplar show insect-resistance [J]. Molecular Breeding of Woody Plants, 2001(5): 239-245.  
[4] 沈熙环. 林木育种学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1992.

## Live Span of Pollen of *Populus alba* × *P. berolinensis* in Different Storage Temperature

CHENG Guang-you, TANG Xiao-jie, MENG Fan-li, WEI Chun-yuan  
(Forestry College of Beihua University, Jilin, Jilin 132013)

**Abstract:** Five temperature levels of storage of poplar pollen were set. Pollen live of *Populus alba* × *P. berolinensis* was studied at different temperature, they were -90, -30, -15, 5℃ and nature temperature, with chlorinated 2, 3, 5-Triphenyl tetrazole (TTC). The results showed that there was significant variation of longevity of poplar pollen among plants. There was significant variation of longevity of poplar pollen among different storage temperature, too. The lower the temperature of storage, the longer life expectancy. Poplar pollen can save one week at nature temperature. There were life pollen 22.98% after 10 days at 5℃. There were life pollen 31.98% and 38.56% at -15℃ and -30℃. There were life pollen 82.7% and 50.68% after 15 d and 30 d at -90℃ separately.

**Key words:** *Populus alba* × *P. berolinensis*; viability of pollen; stocked temperature