

## 二球悬铃木花粉萌发及花粉保存研究

陆顺教<sup>1,2</sup>, 易双双<sup>1,2</sup>, 刘国锋<sup>2</sup>, 包满珠<sup>2</sup>, 田华琴<sup>2</sup>, 孙佳琦<sup>2</sup>

(1. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 农业部华南作物基因资源与种质创制重点开放实验室, 海南 儋州 571737;

2. 华中农业大学 园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 湖北 武汉 430070)

**摘要:**以新鲜采集的二球悬铃木花粉为试材, 研究了不同浓度的蔗糖及硼酸对花粉萌发的影响, 并在此基础上研究了不同贮藏温度对干燥与未干燥的二球悬铃木花粉生活力的影响。结果表明: 在 15% 蔗糖+0.10% 硼酸的液体培养基上花粉萌发最好; 不同贮藏温度对花粉的生活力影响显著, 随着贮藏温度的降低, 花粉生活力上升, 且贮藏时间延长, 常温条件下贮藏 10 d 后花粉生活力为 0%, 而在 -72℃ 条件下贮藏 38 d, 干燥花粉仍有 24.65% 生活力; 花粉经硅胶干燥 4 h 后耐贮藏性明显高于新鲜花粉。综合分析, 经硅胶干燥后于 -72℃ 条件下贮藏利于二球悬铃木花粉的保存。

**关键词:**二球悬铃木; 花粉萌发; 花粉保存; 温度; 干燥花粉

**中图分类号:**S 792 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)06-0062-04

二球悬铃木(*Platanus acerifolia* Willd) 属悬铃木科悬铃木属落叶乔木, 是一球悬铃木和三球悬铃木的杂交种(*P. occidentalis* × *P. orientalis*), 又称为英国梧桐<sup>[1]</sup>。因其冠大荫浓、树皮光洁、生长迅速、耐修剪、抗性强, 能适应城市环境和各种土壤条件, 耐移植, 大树移植成活率极高, 对较强的空气污染及各种光化学烟雾、苯、乙醚、硫化氢等有害气体具有较强的抗性, 同时具有良好的滞尘降噪、净化空气的能力, 全球温带及亚热带区域普遍用作道路、工厂及小区绿化树种, 并享有“行道树之王”的美誉<sup>[2]</sup>。美中不足的是, 二球悬铃木每年春季会有大量的果毛飘落, 对环境和人体健康造成了很大的影响, 虽然园林科研工作者做了多年的研究和探索, 但仍不能从根本上解决。要从根本上解决该问题, 必须通过育种的手段, 而通过倍性育种结合杂交育种培育三倍体悬铃木是行之有效的办法。其中花粉生活力是确保杂交育种成功的关键。关于二球悬铃木花粉生活力方面的研究较少, 李志能等<sup>[3]</sup>研究认为干燥花粉在 4℃ 条件能保持较长的生活力。但是关于花粉生活力和贮藏方面的研究已经有大量的报道。赵兴华等<sup>[4]</sup>研究发现 5℃

低温干燥法最适合百合花粉活力的保持。胡君艳等<sup>[5]</sup>研究发现 4℃ 低温干燥贮藏利于银杏花粉的保存。冯岚等<sup>[6]</sup>研究了不同含水量及贮藏温度对青钱柳花粉生活力的影响, 结果表明含水量为 7.3%、贮藏在 -80℃ 条件下最有利于青钱柳花粉的保存。

悬铃木为雌雄异花, 雄花一般比雌花提早开放, 而且不同植株之间花期不遇的现象十分严重, 前后花期相差 30~40 d, 所以在杂交育种过程中常常需要采集及贮藏花粉。该试验开展了二球悬铃木花粉萌发及贮藏方面的研究, 旨在探讨悬铃木花粉适宜的贮藏条件, 期为悬铃木的杂交育种工作提供参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

供试二球悬铃木花粉采自武汉市华中农业大学校园内生长状态正常的 40~50 年生的同一单株盛花期时向阳面的雄花序。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 花粉的采集 盛花期采集同一植株中部向阳面成熟的雄花序, 采回后在水培条件下收集花粉。

1.2.2 花粉萌发适宜培养基的确定 配制蔗糖+硼酸液体培养基, 蔗糖浓度设 5%、10%、15%、20%、25% 5 个处理, 硼酸浓度设 0.01%、0.05%、0.10%、0.15% 4 个处理。将蔗糖浓度和硼酸浓度进行正交实验设计, 共计 20 个处理。将 1 滴培养液滴于载玻片上, 用牙签挑取少许新鲜采集的花粉播于培养基上, 将接种好花粉的载玻片置于铺有湿润滤纸的培养皿中, 盖上盖子, 于 25℃ 恒温培养箱中培养 24 h, 每隔 1 h 观察 1 次, 在光学显微镜下

**第一作者简介:**陆顺教(1981-), 男, 博士, 助理研究员, 现主要从事园林花卉遗传育种与生物技术等研究工作。E-mail: lushunjiao@sina.com.

**责任作者:**刘国锋(1975-), 男, 博士, 教授, 现主要从事园林植物遗传育种与生物技术等研究工作。E-mail: gfliu@mail.hzau.edu.cn.

**基金项目:**教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-12-0867); 国家林业公益性行业科研专项资助项目(201304103)。

**收稿日期:**2013-11-22

统计花粉萌发情况,萌发的花粉管长度超过花粉直径测定为萌发。每个处理重复3次,每次重复随机选取5个视野观察,每个视野的花粉粒数大于80粒,统计花粉粒总数和萌发花粉粒数量。花粉生活力=已萌发的花粉粒数量/花粉粒总数 $\times 100\%$ 。

1.2.3 花粉的贮藏 将新鲜花粉收集于干燥的离心管中,将部分分装于若干干燥离心管中,于密封条件下分别贮藏于常温、4、-20、-40℃和-72℃条件下。剩下部分加入硅胶,于4℃条件下干燥4 h,然后分装于若干干燥离心管中,于密封条件下分别贮藏于常温、4、-20、-40℃和-72℃条件下。用萌发法分别测定新鲜花粉和干燥花粉贮藏0、3、10、17、24、31、38 d的花粉生活力。

### 1.3 数据分析

试验数据采用SAS统计软件进行方差分析及多重比较分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养时间对二球悬铃木花粉萌发的影响

从图1可以看出,在培养初期,花粉的萌发率极低,只有4%左右,随着培养时间的增加,花粉的萌发率逐渐上升,在培养13 h时达到最高,为66%左右,随后维持在63%左右。所以,培养13 h是二球悬铃木花粉生活力统计的最适合时间。

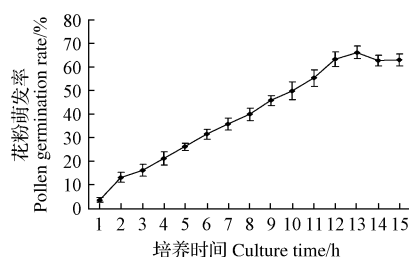


图1 培养时间对二球悬铃木花粉萌发的影响

Fig.1 Effect of culture time on pollen germination of *Platanus acerifolia*

### 2.2 不同培养基对二球悬铃木花粉萌发的影响

从图2可以看出,15%蔗糖+0.10%硼酸培养基花粉的萌发率最高,达到66.06%。当蔗糖浓度不变,硼酸浓度超过0.10%时,花粉的萌发率随着硼酸浓度的增加而逐渐下降,说明高浓度的硼酸会抑制花粉的萌发,从该试验的结果来看,0.10%的硼酸浓度是二球悬铃木花粉萌发的最适合浓度。当硼酸浓度保持0.10%不变,花粉萌发率随着蔗糖浓度的增加而升高,在蔗糖浓度为15%时达到最高,而后随着蔗糖浓度的增加而逐渐下降,说明高浓度蔗糖同样会抑制二球悬铃木花粉的萌发。

经SAS方差分析结果可知,蔗糖和硼酸浓度对二

球悬铃木花粉萌发率具有极显著的差异( $F_{蔗糖}=100.92$ ,  $F_{硼酸}=864.46$ ,  $P<0.01$ );同时蔗糖浓度与硼酸浓度之间的交互作用也具有极显著的差异( $F=905.69$ ,  $P<0.01$ )。

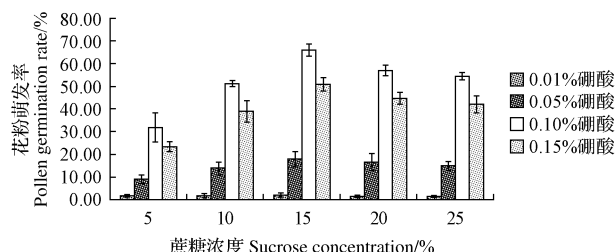


图2 不同培养基对二球悬铃木花粉萌发的影响

Fig.2 Effect of difference culture medium on pollen germination of *Platanus acerifolia*

### 2.3 贮藏条件对二球悬铃木花粉生活力的影响

2.3.1 干燥对二球悬铃木花粉耐贮性的影响 二球悬铃木干燥花粉和未干燥花粉,其生活力随着贮藏时间的变化差异显著。从表1可以看出,花粉在4℃条件下干燥4 h后,花粉生活力比新鲜花粉下降了27.34%。在常温条件下,花粉的生活力急剧下降,贮藏3 d时,未干燥花粉的生活力从66.06%下降到10.03%,而干燥花粉则从48.00%下降到16.44%;在贮藏10 d时,干燥花粉和未干燥花粉均未发现有花粉萌发,花粉全部丧失生活力。在4℃贮藏条件下,花粉的贮藏时间稍微延长了一点,在贮藏10 d后,干燥花粉和未干燥花粉的生活力分别为2.67%和1.64%,而贮藏17 d时二者的生活力仅有0.50%和0.30%,已经基本丧失生活力。在-20℃和-40℃的贮藏条件下,花粉的生活力下降较为缓慢。2种花粉的生活力在前10 d下降幅度均比较大,在10 d后下降就比较缓慢。在贮藏初期,2种花粉的生活力差异不显著,但随着贮藏时间的延长,2种花粉的生活力差异性逐渐显著。在贮藏38 d后,-20℃条件下干燥花粉和未干燥花粉的生活力分别为5.94%和1.75%,差异显著。在-40℃的贮藏条件下这2种花粉的生活力分别为7.95%和5.73%,干燥花粉活力明显比未干燥花粉高。在-72℃贮藏条件下,未干燥花粉生活力在前10 d下降幅度比较大,10 d后下降趋于缓慢。而干燥花粉在整个贮藏过程中生活力下降均比较缓慢,下降幅度比较小。贮藏38 d后,干燥花粉的生活力仍然有24.65%,与未干燥花粉的8.46%之间具有显著性差异。由此说明,适当的干燥有利于二球悬铃木花粉的贮藏。经多重比较分析发现,适当干燥的二球悬铃木花粉生活力均比未干燥花粉高。

表 1

干燥及贮藏温度对二球悬铃木花粉生活力的影响

Table 1

Effect of dry and storage temperatures on pollen viability of *Platanus acerifolia*

花粉类型	温度	花粉生活力 Pollen viability / %						
Pollen type	Temperature	0 d	3 d	10 d	17 d	24 d	31 d	38 d
干燥花粉 Dry pollen	常温	48.00	16.44 Ea	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4℃	48.00	21.73 Da	2.67 Ca	0.50 Ca	0.00	0.00	0.00
	-20℃	48.00	27.47 Ca	13.16 Ba	10.97 Ba	8.52 Ba	7.03 Ba	5.94 Ca
	-40℃	48.00	30.10 Ba	15.60 Ba	12.59 Ba	10.76 Ba	9.12 Ba	7.95 Ba
	-72℃	48.00	42.73 Aa	37.11 Aa	33.47 Aa	30.17 Aa	27.33 Aa	24.65 Aa
未干燥花粉 Not dry pollen	常温	66.06	10.03 Db	0	0	0	0	0
	4℃	66.06	16.22 Cb	1.64 Ca	0.30 Ca	0	0	0
	-20℃	66.06	21.81 Cb	12.91 Ba	8.82 Ba	5.88 Cb	2.91 Cb	1.75 Cb
	-40℃	66.06	30.28 Ba	13.22 Ba	10.80 Ba	9.06 Ba	7.27 Ba	5.73 Bb
	-72℃	66.06	39.28 Aa	26.40 Ab	20.12 Ab	17.44 Ab	10.96 Ab	8.46 Ab

注:同列中大写字母表示不同温度对同一类型花粉生活力影响的多重比较结果,小写字母表示同一温度下干燥与否对花粉生活力影响的多重比较结果,不同字母均表示在 0.05 水平上差异显著。

Note: The capital letters in the same column represent the multiple comparison results of effect of difference storage temperature for pollen viability, the lower case represent the multiple comparison results of effect of dry or not dry for pollen viability of the same storage temperature, different letter represent the significant difference on the 0.05 level.

2.3.2 温度对二球悬铃木花粉耐贮性的影响 从表 1 可以看出,干燥花粉在室温条件下贮藏 3 d 时,生活力从 48.00% 降到了 16.44%,下降幅度达到 65.75%;在 4℃ 条件下花粉生活力降到了 21.73%,下降幅度为 54.73%;在 -20℃ 温度下花粉生活力降到 27.47%,下降幅度为 42.77%;在 -40℃ 条件下花粉生活力降到 30.10%,下降幅度为 37.29%;而在 -72℃ 温度下花粉生活力只降到 42.73%,下降幅度仅为 10.98%。多重比较结果发现干燥花粉贮藏 3 d 时,不同温度条件下的花粉生活力具有显著性差异。在贮藏 10 d 时,干燥花粉在室温条件下已经全部丧失生活力;在 4℃ 条件下花粉生活力只有 2.67%;在 -20℃ 和 -40℃ 条件下花粉生活力分别降到 13.16% 和 15.60%;而在 -72℃ 温度下花粉生活力降到 37.11%。经过多重比较分析发现,贮藏 10~31 d, -20℃ 和 -40℃ 贮藏条件下干燥花粉生活力差异不显著,但与 -72℃ 条件下的花粉生活力差异显著。在贮藏 38 d 时,室温和 4℃ 条件下干燥花粉生活力均早已全部丧失生活力,而 -20、-40℃ 和 -72℃ 条件下依然有部分花粉保持生活力,且 -72℃ 条件下贮藏的花粉生活力最高,3 种温度下的花粉生活力具有显著的差异。未干燥花粉在室温下贮藏 10 d 全部丧失生活力,而在 4℃ 条件下贮藏 17 d 时花粉生活力只有 0.30%。在冷冻条件下,花粉的生活力下降较慢。-20℃ 温度下贮藏 10 d 时还有 12.91% 的花粉具有生活力,贮藏 38 d 时只有 1.75% 的花粉具有生活力,而 -40℃ 条件下贮藏 38 d 时花粉的生活力为 5.73%, -72℃ 条件下花粉生活力为 8.46%。多重比较分析发现,贮藏 3 d 时,4℃ 和 -20℃ 温度下的花粉生活力没有显著差异,但是与室温、-40℃ 和 -72℃ 之间具有显著性差异,而 -40℃ 和 -72℃ 之间同时具有显著差异。在贮藏 10 d 和 17 d 时, -20℃ 和 -40℃ 之间花粉生活力没有显著差异,均为 10% 左右,但是与

-72℃ 条件下的 26.40% 和 20.12% 差异显著。在贮藏 24 d 以后,常温和 4℃ 条件下的花粉均失去生活力,而 -20℃ 和 -40℃ 温度下的花粉生活力均低于 10%,只有 -72℃ 温度下的花粉生活力在贮藏 38 d 时才低于 10%。试验结果表明,适当的干燥有利于二球悬铃木花粉的贮藏,同时花粉的耐贮性受温度的影响十分显著。不论是在何种贮藏条件下,花粉生活力均随贮藏时间的延长而下降。对于相同贮藏时间下的花粉来说,其生活力随贮藏温度的降低而逐渐升高,低温下贮藏的花粉生活力明显高于室温下贮藏的花粉生活力。方差分析结果显示,干燥与未干燥处理之间、不同贮藏温度处理之间的花粉生活力差异显著。对于同一温度,同一贮藏时间下的花粉来说,适当干燥的花粉生活力明显高于未干燥花粉。多重比较分析结果表明,适当干燥之后于 -72℃ 贮藏较利于二球悬铃木花粉的保存。

### 3 结论与讨论

大量的研究表明,萌发法是比较可靠的检测花粉生活力的方法。在探索适合二球悬铃木花粉萌发的培养基中,在 15% 蔗糖 + 0.10% 硼酸液体培养基上,二球悬铃木花粉的萌发率最高。随着硼酸浓度和蔗糖浓度的增加,花粉的萌发受到抑制,萌发率逐渐下降。在花粉离体萌发的过程中,不同植物对蔗糖和硼酸浓度的要求不一样。如在硼酸 10 mg/L + 蔗糖 10% 条件下,青钱柳花粉萌发率最高<sup>[6]</sup>;广玉兰花粉萌发的适合培养基为 2% 蔗糖 + 0.001% 硼酸,花粉萌发率达到 90.05%<sup>[7]</sup>。郁李花粉萌发的最适合培养基条件为 15% 蔗糖 + 0.004% 硼酸<sup>[8]</sup>。在 15% 蔗糖 + 100 mg/L 硼酸培养基条件下,红碧桃花粉萌发率达到最高,为 50.58%<sup>[9]</sup>。

在杂交育种过程中,父本花粉生活力是决定杂交成功与否的关键因素之一。目前关于花粉贮藏的研究已有大量的报道,普遍认为干燥、低温有利于花粉的贮藏,



但是不同植物花粉的适合贮藏温度是不同的。张铭芳等<sup>[10]</sup>研究发现, -80℃适合百合花粉的长期保存。玉兰花粉的最适合贮藏温度为-40℃和-80℃, 在贮藏 40 d 后仍保持 50% 以上的生活力<sup>[11]</sup>。牡丹花粉在-86℃条件下贮藏 1 a 后花粉萌发率没有明显下降, 授粉成功率依然很高<sup>[12]</sup>。白芨花粉的最适合贮藏温度为-20℃<sup>[13]</sup>。在该研究中, 二球悬铃木花粉适合的贮藏温度为-72℃, 与大多数植物花粉贮藏要求低温条件相一致。但是, 超低温保存是否更适合二球悬铃木的贮藏还有待进一步的研究。

含水量是影响花粉贮藏的重要因素之一, 大量研究表明, 适当干燥有利于花粉更长时间的贮藏。盖树鹏等<sup>[12]</sup>研究表明适当干燥有利于牡丹花粉的贮藏。刘自刚<sup>[14]</sup>研究表明桔梗花粉经过 45℃脱水 4 h 后, 虽然花粉生活力明显下降, 但耐贮性明显高于普通花粉。黑莓花粉在硅胶干燥 4 h 后耐贮藏性最好<sup>[15]</sup>。孟令威等<sup>[16]</sup>研究认为干燥条件有利于紫花鸢尾花粉的贮藏, 且硅胶为适宜的干燥剂。该研究中二球悬铃木花粉经硅胶干燥 4 h 后, 虽然花粉生活力比新鲜花粉略有下降, 但是耐贮性明显比新鲜花粉高。综合分析表明, 二球悬铃木花粉经硅胶干燥 4 h 后, 于-72℃条件下贮藏有利于花粉生活力的保持。

#### 参考文献

[1] Besnard G, Tagmount A, Baradat P, et al. Molecular approach of genetic affinities between wild and ornamental *Platanus* [J]. *Euphytica*, 2002, 126: 401-412.

- [2] 陈有民. 园林树木学(园林专业用)[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990: 400-403.
- [3] 李志能, 刘国锋, 罗春丽, 等. 悬铃木花粉生活力及贮藏力的研究[J]. *武汉植物学研究*, 2006, 24(1): 54-57.
- [4] 赵兴华, 张道旭, 印东生, 等. 百合花粉生活力测定和贮藏方法研究[J]. *北方园艺*, 2009(2): 172-175.
- [5] 胡君艳, 李云, 孙宇涵, 等. 银杏花粉生活力测定及贮藏方法的优化[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(5): 148-153.
- [6] 冯岚, 洪香香, 方升佐. 青钱柳花粉生活力及耐贮性的研究[J]. *北京林业大学学报*, 2010(4): 121-125.
- [7] 何莉, 张华珍, 贾文庆. 广玉兰花粉生活力测定及贮藏方法研究[J]. *江苏农业科学*, 2013(4): 164-166.
- [8] 何莉, 贾文庆. 郁李花粉生活力及贮藏特性的研究[J]. *天津农业科学*, 2013(5): 5-8.
- [9] 马杰, 李桂荣, 张玉园, 等. 不同培养条件对红碧桃花粉生活力的影响[J]. *资源开发与市场*, 2013, 29(5): 457-460.
- [10] 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.
- [11] 吴子龙, 赵昕, 牛红雷, 等. 不同干燥法与贮藏温度对玉兰花粉萌发的影响[J]. *北方园艺*, 2013(1): 59-61.
- [12] 盖树鹏, 盖伟玲, 郑国生. 不同条件下牡丹花粉的贮藏寿命[J]. *北方园艺*, 2011(18): 104-106.
- [13] 黄春球, 宋天顺, 李明静, 等. 白芨花粉活力测定与花粉保存[J]. *北方园艺*, 2011(3): 182-184.
- [14] 刘自刚. 桔梗花粉贮藏研究[J]. *北方园艺*, 2009(4): 73-75.
- [15] 王小敏, 吴文龙, 李维林, 等. 黑莓花粉含水量与贮藏特性的研究[J]. *江西农业学报*, 2013, 25(5): 35-37.
- [16] 孟令威, 毕晓颖, 郑洋. 紫花鸢尾花粉萌发及贮藏性研究[J]. *中国农学通报*, 2012(28): 192-197.

## Research on Pollen Germination and Pollen Preservation of *Platanus acerifolia*

LU Shun-jiao<sup>1,2</sup>, YI Shuang-shuang<sup>1,2</sup>, LIU Guo-feng<sup>2</sup>, BAO Man-zhu<sup>2</sup>, TIAN Hua-qin<sup>2</sup>, SUN Jia-qi<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou, Hainan 571737; 2. Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070)

**Abstract:** Taking pollen of *Platanus acerifolia* as material, the effect of different sucrose and boric acid concentration on the pollen germination of *Platanus acerifolia* was studied, and then the effect of different storage temperature on pollen viability was analyzed. The results showed that pollen had the highest germination rate at the liquid medium with 15% sucrose and 0.10% boric acid. Storage temperature had a significant effect on pollen viability, with the reduction of storage temperature, the pollen viability risen and extended storage time. At normal temperature, all detected pollen loss viability after 10 days, but it had 24.65% viability when storage at -72℃ after 38 days. Moreover, the storage property of dry pollen was higher than fresh pollen. In conclusion, dry pollen and storage at -72℃ was favourable for preservation of *Platanus acerifolia* pollen.

**Key words:** *Platanus acerifolia*; pollen germination; pollen preservation; temperature; dry pollen