

不同培养基及贮藏条件对文冠果花粉生活力的影响

吴月亮¹, 赵传统¹, 伊文芝², 蒋 俐¹, 董胜君¹, 刘明国¹

(1. 沈阳农业大学 林学院, 辽宁 沈阳 110866; 2. 铁岭市林业局, 辽宁 铁岭 112000)

摘 要:以文冠果的花粉为试材, 研究不同培养基及贮藏条件对文冠果花粉生活力的影响。结果表明:培养基中硼酸对花粉萌发的影响最大, 蔗糖次之, 琼脂最小; 适合文冠果花粉萌发的培养基中蔗糖浓度为 10%~15%, 硼酸浓度为 0.01%~0.05%, 琼脂浓度为 0.5%~0.6%; 贮藏条件对文冠果花粉生活力有很大影响, -20℃ 冷冻条件下有利于保持花粉的生活力, 4℃ 低温贮藏次之, 25℃ 条件不利于花粉的长期贮藏。该研究可为文冠果生产上的花粉贮藏和人工授粉提供参考依据。

关键词:文冠果; 花粉生活力; 培养基; 贮藏条件

中图分类号:S 668.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0064-04

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia*)属无患子科文冠果属落叶小乔木或灌木^[1], 是中国特有的优良木本油料树种; 其适应性广, 抗逆性强, 又是干旱和半干旱地区荒山绿化、水土保持和防沙固沙的重要生态树种。文冠果花杂性, 两性花和雄花同株, 异花授粉^[2]; 侧枝多萌发雄花, 顶枝为可孕花^[3]; 虽开花很多, 但可孕花少, 坐果率低, 故有“千花一果”之称, 这影响了文冠果开发与利用^[4]。由于文冠果为异花授粉植物, 类型多、变异性大^[5], 选育文冠果优良类型并开展杂交, 创造文冠果新品种成为可能。如果杂交的 2 个亲本之间花期不遇, 或者涉及到异地杂交问题, 需要对采集的花粉进行贮藏或运输。在这些过程中, 花粉的生活力受到一定程度的影响, 进一步影响到杂交的成功率^[6]。因此, 运输贮藏前后、杂交之前都要对花粉生活力进行测定。充分掌握花粉生活力和贮藏特性, 对确保杂交的成功具有重要意义。现采用培养基法对文冠果花粉进行了萌发试验, 并对文冠果花粉的贮藏条件和时间进行了探索, 以期对文冠果杂交育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为 2014 年 4 月 28 日从沈阳农业大学校园

内采集的文冠果花粉。文冠果花有 5 种雄蕊样本, 分别为长花丝黄色雄蕊(LY), 长花丝红色雄蕊(LR), 短花丝黄色雄蕊(SY)、短花丝红色雄蕊(SR)及可孕花短花丝雄蕊(FS), 李强峰等^[7]研究不同类型花粉生活力得出长花丝黄色雄蕊(LY)生活力最高, 可能为文冠果主要的授粉花粉类型。故取长花丝黄色雄蕊(LY)带回实验室, 取出花药, 将其置于干净的硫酸纸上, 存放于 25℃ 环境中, 待花粉自然散出后(约 12~24 h)收集备用。

1.2 试验方法

1.2.1 文冠果花粉萌发适宜培养基筛选 以长花丝黄色雄蕊(LY)型花粉为试材, 以培养基成分蔗糖、硼酸、琼脂 3 个指标作为因素, 每因素取 3 个水平, 按 $L_9(3^4)$ 正交表(表 1)进行试验, 试验共配置 9 种培养基, 3 次重复, 用玻片法进行花粉离体培养; 以含 0.5% 琼脂、无硼酸、无蔗糖的培养基为对照(CK)。在恒温箱中培养 4~6 h 后, 取出载玻片用光学显微镜观察花粉萌发, 每个凹孔在显微镜下检查 3 个视野, 统计其萌发率, 进而筛选适合文冠果花粉萌发的培养基。以花粉管长度超过花粉粒直径的 2 倍作为萌发标准。萌发率(%) = 已萌发的花粉粒数/花粉粒总数 × 100%。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交实验因素与水平

Table 1 The factor and levels of orthogonal test design of $L_9(3^4)$

| 水平 Level | 因素 Factors | | |
|-------------|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| | A 蔗糖浓度 Sucrose concentration/% | B 硼酸浓度 Boric acid concentration/% | C 琼脂含量 Agar concentration/% |
| 1 | 5 | 0.01 | 0.4 |
| 2 | 10 | 0.05 | 0.5 |
| 3 | 15 | 0.10 | 0.6 |

1.2.2 文冠果花粉贮藏试验 用筛选出的适宜培养基做基质, 将采集的长花丝黄色雄蕊(LY)型花粉(1 d)测

第一作者简介:吴月亮(1972-), 男, 辽宁铁岭人, 博士, 副教授, 现主要从事园林植物与林木育种等研究工作。E-mail: wuyueliang72@163.com.

责任作者:刘明国(1964-), 男, 辽宁朝阳人, 博士, 教授, 现主要从事森林培育及经济林种质资源等研究工作。

基金项目:沈阳农业大学“林业种质创新与培育”学术创新团队资助项目(2013-4-B-2)。

收稿日期:2014-11-25

花粉萌发率,然后分别贮藏于 25℃、4℃、-20℃条件下,于 5、10、20 d 后分别取出花粉在蔗糖浓度为 10%、硼酸浓度为 0.01%、琼脂含量为 0.5%的培养基进行花粉萌发,测定文冠果花粉生活力,对贮藏条件和贮藏天数进行双因素的方差分析,确定文冠果花粉适宜的贮藏条件及贮藏天数。

1.3 数据分析

采用 SPSS 13.0 统计软件,对花粉萌发率百分数经过反正弦转换后进行方差分析,采用 S-N-K 法进行多重比较^[8]。

2 结果与分析

2.1 文冠果花粉萌发适宜培养基的筛选

由表 2 可知,B 因素(硼酸浓度)的极差最大(26.89),A 因素(蔗糖浓度)的极差次之(10.56),C 因素(琼脂含量)的极差最小(9.67),说明硼酸对文冠果花粉萌发的影响最大,其次是蔗糖,影响最小的是琼脂;从平均值看,A 因素的第 3 水平最好,B 因素的第 1 水平最好,C 因素的第 2 水平最好,也就是说,各种因素的最好搭配是 A₃B₁C₂,即蔗糖浓度用 15%,硼酸浓度取 0.01%,琼脂含量为 0.5%。对照培养基(CK)未能使文冠果花粉萌发。

表 2 不同处理条件下文冠果花粉萌发率

Table 2 Pollen germination rate of *Xanthoceras sorbifolia* under the different treatments

| 处理 Treatment | 因素 Factor | | | 空列 Empty | 萌发率 Germination rate/% | | | X _i . |
|-----------------|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------|-------------|------------------------|------------------|--------------------|------------------|
| | A 蔗糖浓度 Sucrose concentration | B 硼酸浓度 Boric acid concentration | C 琼脂含量 Agar concentration | | 重复I RepeatI | 重复II RepeatII | 重复III RepeatIII | |
| 1 | A ₁ | B ₁ | C ₁ | 1 | 14 | 11 | 23 | 48 |
| 2 | A ₁ | B ₂ | C ₂ | 2 | 25 | 22 | 31 | 78 |
| 3 | A ₁ | B ₃ | C ₃ | 3 | 5 | 2 | 5 | 12 |
| 4 | A ₂ | B ₁ | C ₂ | 3 | 40 | 43 | 45 | 128 |
| 5 | A ₂ | B ₂ | C ₃ | 1 | 29 | 25 | 21 | 75 |
| 6 | A ₂ | B ₃ | C ₁ | 2 | 10 | 7 | 12 | 29 |
| 7 | A ₃ | B ₁ | C ₃ | 2 | 38 | 61 | 36 | 135 |
| 8 | A ₃ | B ₂ | C ₁ | 3 | 28 | 23 | 19 | 70 |
| 9 | A ₃ | B ₃ | C ₂ | 1 | 9 | 12 | 7 | 28 |
| K ₁ | 138 | 311 | 147 | | | | | |
| K ₂ | 232 | 223 | 234 | | | | | |
| K ₃ | 233 | 69 | 222 | | | | | |
| \bar{x}_1 | 15.33 | 34.56 | 16.33 | | | | | |
| \bar{x}_2 | 25.78 | 24.78 | 26.00 | | | | | |
| \bar{x}_3 | 25.89 | 7.67 | 24.67 | | | | | |
| R | 10.56 | 26.89 | 9.67 | | | | | |

注:K_i 代表同一因素不同水平观测值的和, \bar{x}_i 代表同一因素不同水平观测值的平均值,R 代表极差。

Note:K_i represents the sum of different level observational values of the same factor, \bar{x}_i represents the mean of different level observational values of the same factor, R represents range.

采用极差分析,可以找到 A、B、C 因素的最好水平及最佳组合,但是极差分析无法检验差异的显著性,方差分析可以进行比较精确的分析。由表 3 可知,A 蔗糖浓度和 B 硼酸浓度 2 个因素各水平间对文冠果花粉萌发的影响都达到了极显著水平、C 琼脂含量各水平间造成的差异达到了显著水平,采用 S-N-K 法进行多重比较。由表 4 可知,15%蔗糖浓度效果最好,10%效果稍次,但二者之间差异不显著,5%蔗糖浓度对文冠果花粉萌发影响效果较差,与前二者差异达到了极显著差异;硼酸浓度中 0.01%效果最好,0.05%效果次之,但二者之间

差异不显著,0.10%浓度对文冠果花粉萌发影响效果最差,与前二者差异达到极显著水平,可见硼酸浓度过高不利于文冠果花粉萌发;琼脂以 0.5%含量效果最好,0.6%含量次之,0.4%含量效果最差,其中 0.5%含量和 0.6%含量处理之间差异不显著,但二者与 0.4%含量处理之间差异达到显著水平。

根据方差分析结果,后续试验采用正交实验中第 4 个处理即蔗糖浓度用 10%,硼酸浓度取 0.01%,琼脂含量为 0.5%的培养基进行下一步试验。

表 3 在不同浓度的蔗糖、硼酸、琼脂条件下文冠果花粉萌发率的方差分析

Table 3 Variance analysis of pollen germinating rate of *Xanthoceras sorbifolia* under the different concentrations in sucrose, boric acid and agar

| 变异来源 Sources of variation | 离差平方和 SS | 自由度 df | 均方 MS | F | P | 显著性 Sig. |
|---------------------------------|-------------|-----------|----------|--------|-------|------------------------|
| A 蔗糖浓度 Sucrose concentration | 365.492 | 2 | 182.746 | 10.834 | 0.001 | 极显著 Sig. at 0.01 level |
| B 硼酸浓度 Boric acid concentration | 1 859.593 | 2 | 929.797 | 55.125 | 0.000 | 极显著 Sig. at 0.01 level |
| C 琼脂含量 Agar concentration | 188.113 | 2 | 94.057 | 5.576 | 0.015 | 显著 Sig. at 0.05 level |
| 机误 Error | 269.879 | 16 | 16.867 | | | |

表 4 不同因素条件下文冠果花粉萌发率的 S-N-K 检验

Table 4 S-N-K multiple range test in pollen germinating rate of *Xanthoceras sorbifolia* under the different factors

| | 水平 Level | A 蔗糖浓度 Sucrose concentration | B 硼酸浓度 Boric acid concentration | C 琼脂含量 Agar concentration |
|-------------------------|-------------|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| 萌发率 Germination rate | 1 | 15.33B | 34.56A | 16.33b |
| | 2 | 25.78A | 24.78A | 26.00a |
| | 3 | 25.89A | 7.67B | 24.67a |

注:不同大写字母表示在 0.01 水平下差异性显著,不同小写字母表示在 0.05 水平下差异性显著,下同。
Note: Different capital letters show significant difference at 0.01 level, different lowercase letters show significant difference at 0.05 level, the same blow.

2.2 文冠果花粉贮藏试验

不同贮藏温度和不同贮藏时间对文冠果花粉生活力都造成了极显著影响,由表 5 S-N-K 法多重比较结果可知, -20℃ 冷冻条件更适于文冠果花粉生活力的保持,在贮藏 5 d 后花粉生活力从 42.67% 下降到 30.00%, 10 d 后为 12.33%, 20 d 后为 4.33%; 4℃ 冷藏条件次之,在贮藏 5 d 后花粉生活力从 42.67% 下降到 17.33%,

10 d 后为 9.33%, 20 d 后为 0.67%; 常温条件不利于文冠果花粉生活力的保持,在贮藏 5 d 后花粉生活力从 42.67% 下降到 12.67%, 10 d 后为 2.33%, 20 d 后为 0; 不同贮藏条件之间两两差异都达到了极显著水平,不同贮藏天数对文冠果花粉生活力的影响两两差异也达到了极显著水平。

表 5 在不同贮藏条件下 LY 型花粉萌发率的平均值

Table 5 The mean of LY type pollen germinating rate under different storage conditions

| 天数 Days | 25℃ | | 4℃ | | -20℃ | | 总平均 Total mean | |
|----------------|------------|---------------------------|------------|---------------------------|------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| | 均值 Mean | 标准差 Standard deviation | 均值 Mean | 标准差 Standard deviation | 均值 Mean | 标准差 Standard deviation | 均值 Mean | 标准差 Standard deviation |
| 1 | 0.4267 | 0.0252 | 0.4267 | 0.0252 | 0.4267 | 0.0252 | 0.4267A | 0.0218 |
| 5 | 0.1267 | 0.0153 | 0.1733 | 0.0404 | 0.3000 | 0.0458 | 0.2000B | 0.0838 |
| 10 | 0.0233 | 0.0058 | 0.0933 | 0.0153 | 0.1233 | 0.0153 | 0.0800C | 0.0458 |
| 20 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0067 | 0.0058 | 0.0433 | 0.0058 | 0.0167D | 0.0206 |
| 总平均 Total mean | 0.1442C | 0.1779 | 0.1750B | 0.1652 | 0.2233A | 0.1581 | 0.1808 | 0.1657 |

3 结论与讨论

该试验中,影响文冠果花粉萌发的培养基各因素中,硼酸的影响最大,当硼酸为 0.01%~0.05% 时,花粉萌发率较高,随着硼酸浓度的升高,花粉生活力下降,这与李强峰等^[7] 高浓度的硼酸对文冠果花粉萌发有抑制作用的结论基本一致。较高的蔗糖浓度有利于文冠果花粉的萌发,10%~15% 的蔗糖浓度花粉萌发率较高,这与刘武林等^[9] 以悬滴法用不同的培养液作萌发条件试验所获得的结论基本一致。琼脂浓度对文冠果花粉萌发的影响最小。

-20℃ 冷冻条件下能在一定时间范围内保持花粉的生活力,20 d 后还能有 4.33% 的生活力,而常温条件下,文冠果花粉将很快丧失活力。刘武林等^[9] 在文冠果的花粉及其生活力的研究中,文冠果花粉的寿命在室温一般条件下不超过 10 d 就全部丧失发芽能力。在室温条件下花粉保持在干燥器内 22 d 后仍能发芽,在低于 0℃ 的条件下保持在干燥器内,90 d 后仍有 5% 的花粉粒

能够发芽。了解文冠果花粉适宜的贮藏条件,为今后开展文冠果的杂交育种工作奠定了良好的基础。

参考文献

[1] 吴征镒. 中国植物志[M]. 47(1)卷. 北京: 科学出版社, 2004: 72.
[2] 崔广智. 文冠果生物学特性的观察[J]. 林业科技, 1980(3): 11-13.
[3] 敖妍, 段劼, 于海燕, 等. 文冠果研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(6): 197-203.
[4] 彭伟秀, 李凤兰, 杨文利. 文冠果不同类型花粉生活力测定及比较[J]. 河北林果研究, 1999, 14(1): 51-53.
[5] 柴春山, 芦娟, 蔡国军, 等. 文冠果人工种群的果实表型多样性及其变异[J]. 林业科学研究, 2013, 26(2): 181-191.
[6] 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.
[7] 李强峰, 徐青萍. 文冠果花粉活力与萌发研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(27): 16664-16665.
[8] 张力. SPSS 在生物统计中的应用[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2008: 72-75.
[9] 刘武林, 马丽玲. 文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bge)的花粉及其生活力的研究[J]. 东北师大学报(自然科学版), 1982(3): 57-64.

Effect of Pollen Viability of *Xanthoceras sorbifolia* Under Different Culture Media and Storage Conditions

WU Yue-liang¹, ZHAO Chuan-tong¹, YI Wen-zhi², JIANG Li¹, DONG Sheng-jun¹, LIU Ming-guo¹

(1. College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866; 2. Forestry Bureau of Tieling, Tieling, Liaoning 112000)

不同基质中正插和倒插对锦屏藤插条重量及幼苗生长的影响

陈发军^{1,2}, 汤小凤¹, 黄作喜^{1,2}

(1. 内江师范学院 生命科学学院, 四川 内江 641100; 2. 四川省高等学校特色农业资源研究与利用重点实验室, 四川 内江 641100)

摘要:以锦屏藤为试材, 采用土壤和水中扦插的方法, 研究了正插和倒插对插条重量及幼苗生长动态特征的影响。结果表明: 以土壤为基质时, 正插繁殖的幼苗生长较快, 较早进入萌芽和抽枝阶段, 藤条长度和叶片数均高于倒插($P < 0.01$); 而成活率无明显差异。水插时, 正插和倒插的插条在重量变化上相似($R = 0.995$, $P < 0.01$), 能够较好地吸收水分。锦屏藤正插和倒插在水插生根动态上表现出明显差异, 正插在多数情况下根长和生根数指标优于倒插, 且在部分阶段藤条长度更长($P < 0.01$); 但最终在萌芽和生根的植株比例上并未表现出明显差异, 形态学上端的芽在2种扦插方式中都容易萌发。生根部位上, 正插插条在节、截面和皮孔处均能生根, 倒插插条生根主要在节上, 而在插条上端产生气生根。锦屏藤具有很强的倒插成活能力, 但正插的幼苗生根能力更强且藤条长势更好; 节在倒插成活中起着关键作用。

关键词:扦插; 藤本植物; 幼苗生长; 生根; 萌芽

中图分类号:S 687.315 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0067-04

植物可以通过扦插的方式进行营养繁殖, 许多研究已对如何选择合适的条件提高扦插效果进行了细致研究^[1-4]。扦插基质、水分和生物激素等因素具有重要影响, 同时也与植物本身的生理生化特征密切相关^[5]。一般而言, 植物是具有极性的, 营养和水分的运输具有一定的方向性。在扦插过程中需要区分插条的形态学上端和下端, 以利于插条生根和萌芽。但对于部分植物, 物质运输的方向可以变化, 如克隆植物分株之间可以交

换物质营养, 没有严格的方向限制^[6]。有关扦插试验也发现, 将插条形态学上端插入基质仍然能够扦插成活, 并且可能对以后植株的生长发育还有积极作用^[7]。这些现象与长期以来对植物特性的认识不一致, 加深了人们对于植物可塑性和营养繁殖特征的理解。

藤本植物是一类较为特殊的类群, 具有攀爬的特点, 在自然生态系统中具有重要作用^[8-9]。当前, 随着园林绿化要求的提高, 藤本植物在城市园林中的应用日益受到重视^[10-11]。但对于藤本植物的研究和认识相对缺乏, 其扦插繁殖过程中的可塑性和动态特征了解较少。锦屏藤(*Cissus sicyoide*)属葡萄科木质藤本, 适应力强, 依靠卷须攀爬, 节上能产生气生根, 有很好的园林应用前景^[11]。该试验选择了重要藤本园林植物锦屏藤作为研究对象, 以土壤和水分别为基质, 研究正插和倒插

第一作者简介:陈发军(1984-), 男, 硕士, 讲师, 现主要从事园艺学和生态学等研究工作。E-mail: cfjbio@163.com.

责任作者:黄作喜(1966-), 男, 教授, 现主要从事植物生理学等研究工作。E-mail: Huangzx118@126.com.

基金项目:内江师范学院重点(建设)学科资助项目(2012)。

收稿日期:2014-11-10

Abstract: Taking pollen of *Xanthoceras sorbifolia* as material, the pollen viability of *Xanthoceras sorbifolia* under the different culture media and the storage conditions was studied. The results showed that, the effect of boric acid on pollen germination was the greatest in the culture medium, followed by sucrose and agar. The suitable sucrose concentration to pollen viability was 10% ~ 15% in the culture medium, boric acid concentration was 0.01% ~ 0.05%, and agar concentration was 0.5% ~ 0.6%. Storage temperature had great effect on pollen viability. -20°C was favorable for keeping pollen viability, and 4°C took the second place, and 25°C was not conducive to the pollen storage. So reference basis for pollen-storage and artificial pollination of *Xanthoceras sorbifolia* in the production was offered.

Keywords: *Xanthoceras sorbifolia*; pollen viability; culture medium; storage condition