

淡黄花百合花粉离体保存条件研究

刘 伟, 丁 长 春, 常 征, 赵 雨 芳

(文山学院 环境与资源学院, 云南 文山 663099)

摘 要:为了获得最适合淡黄花百合花粉离体保存的条件,以不同发育阶段的淡黄花百合花粉为试材,采用 TTC 法测定花粉萌发率,研究了 4 种贮藏温度对 3 个发育阶段淡黄花百合花粉生命力的影响。结果表明:取样当天测定开花第 3 天的花粉生命力最强,萌发率为 91.97%;开花当天的花粉萌发率为 73.63%;开放前 2 d 的花粉萌发率为 70.60%。在不同温度下离体保存后,随着贮藏时间的延长,所有花粉的萌发率在前 4 d 迅速下降,4 d 后下降变缓。通过对比,开花前 2 d 和开花当天的花粉贮藏在 4℃ 的条件下其生命力保持较好,保存时间不超过 8 d 为宜。

关键词:淡黄花百合;花粉生活力;离体保存

中图分类号:S 682.2⁺65 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)23-0108-04

花粉是杂交育种中必不可少的父本单元,花粉活力的高低是杂交育种成功与否的决定因素之一。在杂交过程中,尤其是远缘杂交中,育种双亲的配子体往往会在成熟时间上存在差异,空间上存在隔离,从而给杂交育种工作带来诸多不便,花粉的离体保存与运输对于解决花期不遇和地理隔离具有重要意义^[1],使得远缘杂交变得可能,是杂交育种中常用的技术手段。经过大量学者的研究,花粉离体保存的技术已非常成熟,基本上达成了共识,即干燥、低温有利于花粉活力的保持,尤其是一定干燥程度下超低温贮藏是保持花粉活力的最佳方法。

百合是重要的花卉之一,百合育种的主要方法是杂交育种,寻找好的种质资源作为亲本是提升百合品质、丰富百合品种的重要途径。淡黄花百合(*Lilium sulphureum* Baker apud Hook. f.)属百合科百合属植物,已有研究表明该植物具有许多优良形状,可以作为百合育种的亲本^[2]。然而淡黄花百合作为育种亲本也会在杂交过程中碰到花期不遇的问题,花期调节、花粉离体保存等方法为解决这一问题的重要途径。百合花粉的离体保存已见报道,时婷婷等^[3]研究认为干燥处理 2 h 后在 -20℃ 预处理 30 min 后超低温贮藏是百合花粉的最佳保存条件;赵兴华等^[4]研究认为 5℃ 低温干燥法最有

利于保持百合花粉活力;周蕴薇等^[5]研究表明,在 -20℃ 和 -80℃ 低温贮藏下,28 d 后花粉活力可达 40% 以上;4℃ 干燥皿冷藏可使丹东野百合花粉在 45 d 后还能萌发^[6];室温下干燥脱水处理 8~12 h 后在 -80℃ 贮藏可以使有斑百合花粉保持 2 年的生命力^[7];有关淡黄花百合花粉离体保存的研究鲜见报道。该试验以淡黄花百合花粉的离体保存条件及保存时间为研究切入点,重点研究花粉提取时间、花粉贮存温度对花粉离体保存时间长短及花粉活力的影响,以期对淡黄花百合与其它百合杂交育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

从文山州麻栗坡县野外采集和文山市中药材市场购买淡黄花百合种球,种植在文山学院生物试验地,选取直径为 6~8 cm 鳞茎作为试验材料,常规管理,取不同开放时间的花粉作为供试材料。

1.2 试验方法

于试验当天 9:00—10:00,在同一植株上,用剪刀剪取花朵开放前 2 d、开放当天、开放第 3 天的花药分别用锡箔纸包裹,置于小玻璃瓶中,用脱脂棉封口,分别于 -20、2、4℃ 和常温条件下保存。

1.3 项目测定

花粉活力用 TTC 法测定,取样当天测定 1 次,以后每隔 4 d 测定 1 次,每处理设 4 个重复,每次重复随机抽取 4 个视野,统计 4 个视野内有活力的花粉数占花粉粒总数的百分比。观察花粉活力随保存时间的变化并分

第一作者简介:刘伟(1977-),男,硕士,副教授,现主要从事植物学等研究工作。E-mail:liuwei00780@126.com.

基金项目:云南省教育厅自然科学研究资助项目(2013Y582);文山学院重点学科资助项目(09wsxk 02)。

收稿日期:2015-07-27

析其变化趋势。

1.4 数据分析

所有数据采用 Excel 及 SPSS 13.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 花朵开放前 2 d 的花粉在不同贮存温度条件下活力的变化

由表 1 可知,当天刚取的花粉活力最高,为 70.60%。随保存时间的延长,花粉活力也发生相应的变化。在常温下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 70.60% 降至 51.83%,下降了 18.77 个百分点;8 d 后降至 31.83%,下降了 20 个百分点;12 d 后降至 29.1%,下降了 2.73 个百分点;16 d 后降至 27.40%,下降了 1.7 个百分点。从变化趋势看,随贮藏时间的延长,前 8 d 花粉活力迅速下降,8 d 之后缓慢降低。在 4℃ 下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 70.60% 降至 58.87%,下降了 11.73 个百分点;8 d 后降至 42.93%,下降了 15.49 个百分点;12 d 后降至 39.73%,下

降了 12.2 个百分点;16 d 与 20 d 变化不明显。与常温相比,该温度下的花粉活力下降速度均匀且缓慢。在 2℃ 下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 70.60% 降至 39.95%,下降了 30.65 个百分点;8 d 后降至 35.63%,下降了 4.32 个百分点;12 d 后降至 33.47%,下降了 2.16 个百分点;16 d 后降至 27.03%,下降了 6.44 个百分点;到第 20 天降至 21.41%,下降了 5.62 个百分点。可以看出,花粉活力在前 4 d 下降最快,而 4 d 以后则相对缓慢。在 -20℃ 下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 70.60% 降至 52.10%,下降了 18.5 个百分点;8 d 后降至 32.87%,下降了 19.23 个百分点;12 d 后降至 29.13%,下降了 3.74 个百分点;16 d 后降至 26.33%,下降了 2.8 个百分点。与以上相比,该温度下花粉活力下降较快。

整体来看,在 4℃ 的温度条件下保存,淡黄花百合花粉活力下降缓慢,与其它 3 个贮藏温度相比较,适合进行淡黄花百合花粉的离体保存。

表 1

不同温度下开放前 2 d 花粉活力随保存时间的变化

Table 1

Pollen viability in two days before flowering at different temperature

%

温度 Temperature/℃	0	4	8	12	16	20
-20	70.60	52.10	32.87	29.13	26.33	25.10
2	70.60	39.95	35.63	33.47	27.03	21.41
4	70.60	58.87	42.93	39.73	37.87	37.23
25(常温)	70.60	51.83	31.83	29.10	27.40	26.77

2.2 开放当天的花粉在不同贮存温度条件下活力的变化

淡黄花百合开放当天花粉活力为 73.63%,随保存时间延长,其活力也相应发生变化。在常温条件下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 73.63% 降至 45.20%,下降了 28.43 个百分点;8 d 后降至 34.23%,下降了 10.97 个百分点;12 d 后降至 30.17%,下降了 4.06 个百分点;16 d 后降至 26.97%,下降了 3.20 个百分点;第 20 天降至 22.16%,下降了 4.81 个百分点。由此可以看出,其花粉活力在 0~8 d 下降较快,而后则较慢。在 4℃ 下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 73.63% 降至 60.36%,下降了 23.27 个

百分点;8 d 后降至 50.37%,下降了 9.99 个百分点;12 d 后降至 40.67%,下降了 9.7 个百分点;16 d 后降至 39.63%,下降了 1.04 个百分点。在该温度下,花粉活力下降较为缓慢。在 2℃ 下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 73.63% 降至 44.43%,下降了 39.20 个百分点;8 d 后降至 38.66%,下降了 5.77 个百分点;第 16 天降至 32.60%。可看出花粉活力下降较快。在 -20℃ 下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 73.63% 降至 37.47%,下降了 40.16 个百分点;12 d 后降至 27.73%,到了第 20 天则降至 26.30%。花粉活力下降较快。相比之下,4℃ 和常温的条件下更适合对淡黄花百合花粉的贮藏。

表 2

不同温度下开放当天花粉活力随保存时间的变化

Table 2

Pollen viability in flowering day at different temperature

%

温度 Temperature/℃	0	4	8	12	16	20
-20	73.63	37.47	34.16	27.73	27.33	26.30
2	73.63	44.43	38.66	33.33	32.60	31.60
4	73.63	60.36	50.37	40.67	39.63	35.43
25(常温)	73.63	45.20	34.23	30.17	26.97	22.16

2.3 开放第 3 天的花粉在不同贮存温度条件下活力的变化

淡黄花百合开放第 3 天的花粉活力与之前相比都

要高,为 91.97%。其活力随时间也发生相应变化。在常温条件下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 91.97% 降至 43.27%,下降了 48.7 个百分点;8 d 后降至 30.26%,

下降了 13.01 个百分点;12 d 后降至 28.73%,下降了 1.53 个百分点;可知花粉活力在 0~4 d 下降较快。在 4℃下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 91.97%降至 44.92%,下降了 57.07 个百分点;8 d 后降至 35.67%,下降了 10.05 个百分点;第 16 天降至 33.40%;该温度下的花粉活力比在常温条件下下降得要快。在 2℃下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 91.97%降至 43.86%,下降了 48.11 个百分点;8 d 后降至 33.81%,下降了 10.05 个百分点;花粉活力在 0~4 d 下降最快。在 -20℃下,贮藏 4 d 后,花粉活力由 91.97%降至 45.43%,下降了 46.54 个百分点;12 d 后降至 27.03%,下降了 18.4 个百分点;花粉活力变化与在常温下相类似。

表 3 不同温度下开放第 3 天花粉活力随保存时间的变化

Table 3 Pollen viability after flowering three days at different temperature %

温度 Temperature/℃	0	4	8	12	16
-20	91.97	45.43	29.33	27.03	20.27
2	91.97	43.86	33.81	29.33	26.97
4	91.97	44.92	35.67	33.40	30.23
25(常温)	91.97	43.27	30.26	28.73	22.54

2.4 不同发育程度对花粉离体保存的影响

通过对不同发育时期(开放前 2 d、开放当天、开放第 3 天)的淡黄花百合花粉活力的比较,发现开放前 2 d 的淡黄花百合花粉活力比开放当天低,为 70.60%;而开放当天的花粉活力比开放第 3 天低,为 73.63%;开放第 3 天的花粉活力最高,为 91.97%。但在不同温度下随保存时间的延长,各花粉活力也发生变化。在花粉保存的 0~4 d,开放前 2 d 的花粉活力的下降幅度较小,开放当天的花粉活力的下降幅度较开放前 2 d 大,而开放第 3 天的花粉活力的下降幅度最大;在 0~8 d,开放前 2 d 的花粉活力的下降幅度较开放当天和开放第 3 天要大。同时通过对比,贮藏后的淡黄花百合花粉在 4℃的条件下其生命力保持较好,-20℃和常温条件下次之,2℃的贮藏条件最差。

3 结论与讨论

花粉离体保存是杂交育种中克服花期不遇的重要方法之一,该试验表明,淡黄花百合的花粉离体保存以 4℃最佳,但保存时间不宜太长;离体保存花粉的发育程度以开花前 2 d 至开花当天为佳;取样当天测定,开花后 2 d 的花粉活力最高,为 91.97%,如果当天授粉,开花后第 3 天为最佳时间。

通过对淡黄花百合花粉在不同贮藏温度的花粉活力的测定及比较不同贮藏时间对花粉活力的影响,可看出开放第 3 天的花粉活力比开放前 2 d 和开放当天的活力高。随着时间的加长,花粉活力开始下降,从数据可

以看出,特别是 0~4 d,花粉活力的下降幅度大不相同,开放前 2 d 下降幅度较小,而开放第 3 天的花粉活力最高,但下降的幅度也最大。在 4℃贮藏条件下,花粉活力缓慢下降(表 1、2);在 -20℃贮藏条件下,花粉活力先是快速降低,之后缓慢下降(表 1、2、3)。这可能是因为在该条件下花粉粒结冰,对细胞组织结构造成一定的伤害,导致花粉活力显著下降,随着贮藏时间的延长,冷冻的伤害作用小于低温对生活力的保存作用,就会出现下降速度减慢的结果^[8]。4℃的贮藏温度适合于淡黄花百合的短期保存,这与安勇等^[8]、罗凤霞等^[9]的研究结果一致。

通过试验发现,淡黄花百合花粉离体保存的贮藏时间不是很理想,可能是因为花粉没有进行脱水处理。含水量对花粉低温保存至关重要,但不同植物花粉超低温保存的适宜含水量有差异。据报道,玉米花粉为 7.30%~14.10%,杂交水稻约为 13.24%,桃、梨为 10.00%~25.00%,魔芋为 6.93%~21.35%,甘蓝花粉为 9.93%~14.18%,若不进行脱水处理,其保存效果极差^[10]。

花粉贮藏时,随着贮藏时间的增加,花粉内贮藏物质的消耗增多,酶活性下降,水分逐步流失,花粉的生活力会逐渐下降^[11]。该试验结果表明,总体上花粉萌发率随贮藏时间的延长呈下降趋势,但是在花粉贮藏的某个阶段,花粉萌发率会有明显上升的现象。在常温、4℃贮藏条件下,出现过花粉萌发率明显上升的现象,可能是由于每次测花粉萌发率时都将花粉拿到室温条件下打开取花粉,冷热交替刺激了花粉萌发,同时也改变了花粉的湿度,具体原因有待进一步研究。

参考文献

- [1] 祝朋芳. 园林植物育种学[M]. 北京:化学工业出版社,2011:51.
- [2] 刘伟. 文山野生淡黄花百合生物学特性及其应用[J]. 北方园艺,2012(17):85-87.
- [3] 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.
- [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] 周蕴薇,刘芳,李俊涛. 百合花粉生活力及贮藏特性[J]. 东北林业大学学报,2007,35(5):39-41.
- [6] 李雨,罗凤霞,沈向群,等. 丹东野百合花粉萌发率和贮藏条件关系的研究[J]. 辽宁林业科技,2007(6):36-38.
- [7] 赵婵璞,张泉卫,史宝胜,等. 有斑百合花粉低温贮藏研究[J]. 河北农业大学学报,2014,37(1):54-58.
- [8] 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,2011,35(1):44-45.
- [9] 罗凤霞,年玉欣,孙晓梅,等. 贮藏温度对不同发育期东方百合花粉生命力的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2005,36(3):298-300.
- [10] 汤青林,宋明,王小佳. 甘蓝自交不亲和系花粉的离体保存[J]. 西南林业大学学报,2003,25(4):293-296.
- [11] 乔红莲,刘忠华,霍喜颖. 贮藏温度对百合花粉生活力的影响[J]. 北方园艺,2010(5):86-89.

滇西北玉龙雪山两种野生观赏植物的核型分析

陈光富¹, 孙文光², 莫新春¹

(1. 丽江师范高等专科学校 生命科学系, 云南 丽江 674100; 2. 云南师范大学 生命科学学院, 云南 呈贡 650500)

摘 要:以玉龙雪山 2 种野生观赏植物胀萼蓝钟花和总花蓝钟花为试材, 进行了核型分析。结果表明: 胀萼蓝钟花为四倍体, 核型公式为 $2n=4x=24=2M+18m+8sm$, 总花蓝钟花为二倍体, 核型公式为 $2n=2x=12=6m+6sm$, 2 种植物的核型均为 2B 型, 核型数据均为该区域的首次报道。

关键词:玉龙雪山; 核型; 野生观赏植物; 蓝钟花属

中图分类号:S 684 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)23-0111-04

玉龙雪山是横断山系高山植物种类的核心区域, 也是滇西北到滇中高原地区的过渡区域^[1-2], 具有较为丰富的花卉资源, 其中以紫蓝色花色的花卉植物最为突出^[3]。胀萼蓝钟花(*Cyananthus inflatus*)和总花蓝钟花(*C. argenteus*)花作为紫蓝色花色中的重要类群, 隶属于桔梗科(Campanulaceae)蓝钟花属(*Cyananthus* Wall. ex Benth)^[4], 蓝钟花属是中国-喜马拉雅特有属^[5-6], 以在云南的分布最多^[7], 所以对该属植物的研究显得尤为重要。目前对该区域该属植物的研究报道较少, 主要集中在植物区系^[8]、资源类调查^[3,7]和园艺栽培^[9], 细胞学方

面仅见长花蓝钟花(*C. longiflorus*)的报道^[10], 对该区域胀萼蓝钟花和总花蓝钟花进行核型研究可为该属的系统分类、引种栽培和起源分化等提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试种子均采自滇西北玉龙雪山, 采集信息详见表 1。凭证标本存于丽江师范高等专科学校高山植物标本馆, 永久封片存于云南师范大学生命科学学院植物研究室。

1.2 试验方法

该研究采用植物根尖常规压片法^[11], 种子萌发温度 23~26℃, 以 0.002~0.003 mol/L 的 8-羟基喹啉混合液预处理 1.5 h, 卡诺固定液固定 8 h, 1 mol/L 盐酸于 60℃ 下解离 14 min, 卡宝品红染色 20~24 h。

1.3 项目测定

观察间期核和前期染色体的形态并且按 TANAKA^[12]的标准划分, 染色体类型和核型不对称性分析方法分别

第一作者简介:陈光富(1987-), 男, 云南大理人, 硕士, 助理教师, 现主要从事植物学教学及植物细胞学等研究工作。E-mail: chg178@163.com.

基金项目:丽江师范高等专科学校青年基金资助项目(QNXM2014-07)。

收稿日期:2015-05-26

Study on Pollen Storage Condition of *Lilium sulphureum* Baker

LIU Wei, DING Changchun, CHANG Zheng, ZHAO Yufang

(College of Resources and Environment, Wenshan University, Wenshan, Yunnan 663099)

Abstract: Pollen of *Lilium sulphureum* Baker was employed as experimental material to carry on studies on viability and storage condition. Pollen viability of 3 development periods and 4 temperature conditions were studied, and the germination rate was tested by TTC in these experiments. The results showed that fresh pollen of different development period had different viability. The pollen germination rate after flowering three days was 91.97%, flowering day was 73.63%, and two days before flowering was 70.60%. Pollen from undeveloped bud and new blooming bud had the longest shelf life after storage. Storage temperature had great effect on pollen viability. 4℃ was favorable for keeping pollen viability, and -20℃ took the second place, but the storage period should be within 8 days.

Keywords: *Lilium sulphureum* Baker; pollen viability; storage condition