

# 不同条件下牡丹花粉的贮藏寿命

盖树鹏<sup>1</sup>, 盖伟玲<sup>2</sup>, 郑国生<sup>1</sup>

(1. 青岛农业大学 生命科学院, 山东 青岛 266109; 2. 青岛农业大学 农学与植保学院, 山东 青岛 266109)

**摘 要:**以 2 个牡丹品种“凤丹白”和“鲁荷红”为试材, 以花粉萌发率和授粉结实率为依据, 研究了室温(25℃)、4℃、-20℃、-86℃条件下的牡丹花粉贮藏寿命, 以建立花粉贮藏技术。结果表明: 牡丹花粉室温下保存 7 d、4℃下保存 90 d、-20℃下保存 180 d 仍有很高的萌发率, -86℃下贮藏 1 a, 花粉萌发率没有明显下降、授粉结实率高。室温干燥 24 h 花粉贮藏后萌发率显著高于未干燥花粉。温度和含水量是影响牡丹花粉贮藏寿命的重要因素。自来水冲洗解冻效果最好。4℃和-86℃贮藏是解决牡丹育种花期不遇的有效措施。

**关键词:**牡丹; 花粉; 萌发率; 贮藏寿命

**中图分类号:** S 685.111 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)18-0104-03

牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)是原产中国的特色名花, 雍容华贵, 富丽端庄, 自古以来被尊为“国色天香”、“花中之王”, 也是首选国花<sup>[1]</sup>。历来被我国人民奉为幸福、吉祥、富贵、和平和繁荣昌盛的象征。牡丹自然花期较短, 培育早花、晚花品种, 是延长牡丹群体花期的有效措施。国内栽培牡丹主要以中花品种为主, 迫切需要开展花期育种<sup>[2]</sup>。花期育种的关键是选择花期差异较大的材料进行杂交和远缘杂交育种, 花期不遇就成为花期育种的主要障碍。采取适当的方法保存花粉, 尽可能维持其活力, 是进行牡丹花期育种的必要条件。王兵益等发现滇牡丹(*Paeonia delavayi* Franch)花粉-70℃和-18℃贮藏 86 d 后, 花粉萌发率没有明显变化<sup>[3]</sup>。施江等认为牡丹花粉室温下安全贮藏

藏期( $T_{50}$ )为 5.90 d, 4℃下花粉安全贮藏期为 40.48 d, -20℃下花粉安全贮藏期为 91.86 d<sup>[4]</sup>。这些贮藏方法不能提供花粉用于翌年授粉。李秉玲等发现日本品种花粉在液氮中(-196℃)保存 2 a, 花粉仍有很高的萌发率<sup>[5]</sup>。以上研究为牡丹花粉贮藏奠定了基础, 但研究系统性略显不足, 仍有必要对牡丹花粉贮藏方法进行系统研究。现研究了 2 个牡丹品种在室温、4℃、-20℃、-86℃条件下保存寿命及解冻方法, 为牡丹花粉的短期和长期保存提供依据, 为解决牡丹杂交育种花期不遇奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料“凤丹白”( *Paeonia ostii* cv ‘Fengdanbai’) 和“鲁荷红”( *Paeonia suffruticosa* Andr. cv ‘Luhehong’), 种植于青岛农业大学牡丹品种资源圃。于开花期早上 8:00~9:00 采集花粉。将纸袋套于花朵顶部, 轻轻敲打花茎, 使花粉自然脱落到纸袋中。尽量在无风的天气下采集花粉, 采集动作要轻巧, 避免花粉污染。花粉在通风、避光条件下自然干燥

第一作者简介: 盖树鹏(1974-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为牡丹遗传育种和发育生物学。E-mail: spgai@qau.edu.cn。

基金项目: 山东省良种产业化资助项目(鲁科农社字[2007]217号)。

收稿日期: 2011-06-11

## Study on the Adaptation of Introducing Varieties of Cut-lisianthus in the Yinchuan Area

ZHANG Li

(College of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

**Abstract:** The introduction of cut-lisianthus cultivation experiment in the Ningxia area controlled was done through growing environment by facilities to observe the biological characteristics and development cycle, analyzed the different varieties of comparison in local adaptation and selected the suitable species. The results showed that cut-lisianthus cultivation conditions in the facility could normally grow and develop. The varieties of ‘Mariachi’ had high growing survival rate, large flowers, high stem, vase for a long time, which ‘Echo’ followed, ‘Eeidi’ and ‘DeubleEagle’ were the last.

**Key words:** Lisianthus; species introduction; characters; Ningxia

24 h,移入冻存管中进行保存。

1.2 试验方法

1.2.1 萌发法测定花粉活力 配制含 50 mg/L 硼酸、0.04 g/L CaCl<sub>2</sub>、100 g/L 蔗糖、4 g/L 蔗糖的固体培养基,取少量花粉涂布均匀 24℃下培养,6 h 后倒置显微镜 Nikon TE 2000 下统计萌发率<sup>[6]</sup>。萌发的标准为花粉管的长度大于花粉粒直径的 2 倍,以萌发的花粉数除以花粉总数计算萌发率。每处理 5 次重复,每重复观察 3 个视野。

1.2.2 不同贮藏条件下的花粉萌发率 将干燥和新鲜牡丹花粉装入小瓶中,分别置于室温(25℃)、4、-20、-86℃条件下保存,每隔一定时间取少量的花粉播种到培养基上,24℃培养箱中培养后镜检,统计花粉萌发率。

1.2.3 解冻方法 花粉样品从超低温冰箱(-86℃)中取出后,分别在 40℃水浴、25℃室温、0℃冰浴中和自来水冲洗等方法进行解冻,测定萌发率。

1.2.4 冰冻保存花粉的授粉结实检测 供试母本为“凤丹白”,选择未开放、尚未散粉的花蕾,去雄后套袋,3 d后用贮存的花粉授粉,调查结实率。

2 结果与分析

2.1 新鲜花粉和干燥花粉不同贮藏条件下的萌发率

新鲜花粉含水量较高,贮藏后易结块、发热,花粉活力迅速下降。从图 1 可看出,牡丹花粉经 24 h 干燥后,在室温、4、-20、-86℃条件下贮藏 10 d 后仍保持较高的萌发率。而新鲜花粉 10 d 后,花粉萌发率迅速下降,与干燥花粉相比差异达极显著水平( $\alpha=0.01$ )。可见,花粉含水量是影响花粉贮藏活力的重要因素,在进行花粉贮藏时,对花粉进行干燥是必要的。

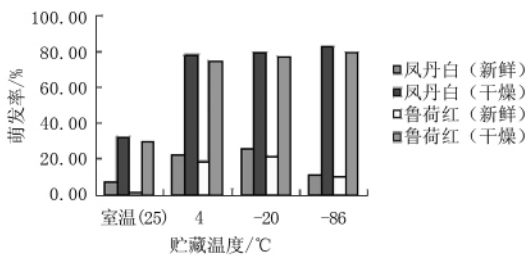


图 1 干燥花粉与新鲜花粉贮藏后萌发率的变化(贮藏 10 d)

2.2 室温下花粉的保存寿命

从图 2 可看出,花粉萌发率在室温下随着保存时间的增加逐渐降低,“凤丹白”在 15 d 时萌发率为 0,花粉活力丧失,“鲁荷红”室温下 13 d 萌发率近为 0,活力丧失。室温贮藏 7 d 时,2 种牡丹花粉尚能保持 30%左右的萌发率,依据经验,这样花粉授粉仍有很高的结实率。因此,牡丹干燥花粉室温保存 7 d 仍可用于杂交育种。

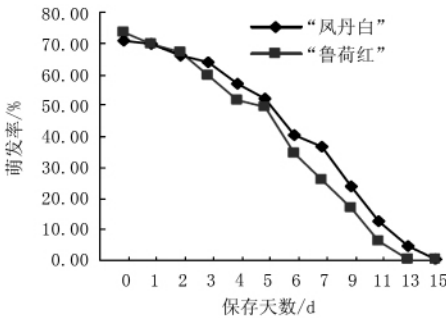


图 2 室温条件下牡丹花粉萌发率

2.3 低温贮藏下的花粉萌发率

将干燥的“凤丹白”花粉分别置于 4、-20、-86℃条件下冷藏、冻藏和超低温保存,每隔一定时间取出测定萌发率。从表 1 可看出,在 4、-20℃条件下,花粉萌发率随着时间延长而逐渐下降;而-86℃条件下,花粉萌发率变化不明显,贮藏 380 d,花粉萌发率为 69.74%,接近贮藏前的水平。4℃条件下,花粉贮藏 40 d,萌发率达 62.06%;90 d 左右,仍可测到 35.91%的花粉萌发,用于授粉仍有很高的结实率;贮藏 180 d 后花粉活力已很低,240 d 花粉全部失活。-20℃条件下,花粉贮藏 90 d 仍有接近 60%的萌发率,180 d 的花粉仍可用于授粉,240 d 活力基本丧失。-86℃条件下花粉贮藏 1 a,仍保持很高的花粉萌发率,是长期保存的有效措施。

表 1 不同温度和贮藏时间对花粉萌发率的影响

| 贮藏天数/d | 萌发率/% |       |       |
|--------|-------|-------|-------|
|        | 4℃    | -20℃  | -86℃  |
| 0      | 73.24 | 76.26 | 72.85 |
| 20     | 71.77 | 74.98 | 73.52 |
| 40     | 62.06 | 70.76 | 72.25 |
| 60     | 43.85 | 63.25 | 71.56 |
| 90     | 35.91 | 59.81 | 70.93 |
| 120    | 23.49 | 45.32 | 75.13 |
| 180    | 11.27 | 33.67 | 69.79 |
| 240    | 0.00  | 12.98 | 70.12 |
| 300    | —     | 1.32  | 68.26 |
| 380    | —     | 0.00  | 69.74 |

注:“凤丹白”花粉为材料。

2.4 解冻方法对牡丹花粉超低温保存的影响

超低温保存对材料发生伤害主要是在冰冻和化冻 2 个过程中。因此,适宜的解冻处理是冷冻保存花粉恢复活力的必要技术环节。从图 3 可看出,冷冻花粉解冻后的萌发率顺序为:自来水冲洗>40℃水浴>25℃室温>0℃冰浴,自来水冲洗解冻后花粉萌发率最高,这可能与自来水冲洗传、散热均匀有关。

将-86℃贮藏 360 d 的花粉解冻后,分别对 30 朵去雄的“凤丹白”花进行了授粉试验。“凤丹白”作父本有 26 朵花结实,“鲁荷红”作父本有 28 朵花结实,结实率分别为 86.7%和 93.3%,结实数分别为 543 和 530

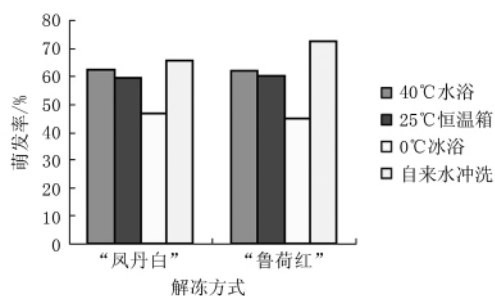


图3 不同解冻方式下超低温保存花粉萌发率

粒。可见, -86℃可贮藏牡丹花粉1 a以上, 自来水冲洗解冻后, 仍维持很高的活力。

### 3 讨论与结论

花粉保存寿命是决定其能否在育种中应用的重要因素。从该研究的结果看, 牡丹花粉含水量和贮藏温度是影响花粉寿命的重要因素, 低温、干燥处理是长期保存花粉的必要条件, 这与前人的研究结果一致<sup>[7-11]</sup>。低温可能降低了花粉内部呼吸强度, 而花粉保存前进行干燥可抑制花粉代谢, 降低酶活性减弱, 避免花粉冷冻和解冻过程中的伤害, 从而使花粉贮藏寿命延长。“凤丹白”、“鲁荷红”花粉室温下可保存1周左右, 4℃可保存3个月, -20℃条件下可保存6个月, -86℃条件下贮藏1 a以上。

在牡丹育种特别是花期育种中, 需要利用花期差异较大的亲本进行杂交, 有时通过牡丹与芍药等近缘种杂交创造变异。不同栽培牡丹品种花期一般集中在20~30 d范围<sup>[12]</sup>, 牡丹与芍药花期差异在20 d左右, 考虑到不同条件下的保存寿命, 当年授粉可将花粉干燥24 h后在4℃保存; 异地授粉可将干燥花粉短时间

的室温避光保存, 一般控制在7 d以内; 考虑到正反杂交的因素, 如要利用早花品种作母本与晚花品种杂交, 以牡丹为母本与芍药杂交, 则必须使用前1 a贮藏的花粉, 此时应将干燥的花粉于超低温冰箱贮藏, 自来水冲洗解冻后用于杂交授粉。该文建立的花粉贮藏方法, 解决了育种中花期不遇的问题, 对牡丹育种具有重要的指导意义。

### 参考文献

- [1] 王莲英. 中国牡丹品种图志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997.
- [2] 高志民, 王雁, 王莲英. 牡丹、芍药繁殖与育种研究现状[J]. 北京林业大学学报, 2001, 23(4): 75-79.
- [3] 王兵益, 王伟, 丁开宇. 滇牡丹花粉贮藏方法的探索[J]. 云南大学学报, 2001, 23(植物学专辑): 109-110.
- [4] 施江, 辛莉, 史国安, 等. 三种贮藏温度条件下牡丹花粉的储藏特性[J]. 河南科技大学学报, 2009, 30(3): 76-79.
- [5] 李秉玲, 王荷, 刘燕. 日本牡丹品种花粉超低温保存[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(4): 297-300.
- [6] 盖伟玲, 盖树鹏. 牡丹花粉离体萌发的研究[J]. 北方园艺, 2010(22): 132-133.
- [7] 陈品良, 贺善安, 金炜, 杜仲, 秤锤树花粉的超低温贮藏研究[J]. 植物学报, 1990, 32(4): 288-291.
- [8] 赵树仁, 武丽英, 姚民昌, 等. 番茄花粉超低温保存的研究[J]. 园艺学报, 1993, 20(1): 66-70.
- [9] Stanley R G, Linskens H F. Pollen: Biology Biochemistry and Management[M]. New York: Springer-Verlag, 1974: 56-85.
- [10] Martinez-gomez E, Gradziel T M, Ortega E, et al. Low temperature storage of almond pollen[J]. Hortsci, 2002, 37(4): 69-692.
- [11] Nepi M, Cresti L, Guarnieri M, et al. Effect of relative humidity on water content, viability and carbohydrate profile of *Petunia hybrida* and *Cucurbita pepo* pollen[J]. Plant Syst Evol, 2010, 284: 57-64.
- [12] 陈富慧, 索志立, 赵孝庆, 等. 中国牡丹品种的花期[J]. 东北林业大学学报, 2005, 33(6): 55-61.

## Storage Longevity of Tree Peony Pollen in Different Conditions

GAI Shu-peng<sup>1</sup>, GAI Wei-ling<sup>2</sup>, ZHENG Guo-sheng<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109; 2. College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

**Abstract:** Two tree peony species were used as test material, based on their germination rate and seed setting rate, the shelf life in room temperature(25℃), 4, -20 and -86℃ respectively were studied and established the pollen storage technology. The results showed pollen could be stored 7 d in room temperature, 90 d in 4℃, 180 d in -20℃, and 380 d in -86℃, with still high germinate rate tested by *in vitro* culture. The pollen germination rate maintained with high level after stored in -86℃ for about one year, and high pollination setting rate was observed. Dry pollen displayed higher germination rate than fresh pollen after storage. As a conclusion, temperature and water content were important factors that influence pollen storage longevity. Thawing with tap water was most effective for pollen thawing. According to pollen storage longevity and florescence characteristic of peony, suggestion could be given that 4℃ or -86℃ storage was practical to resolve flowering asynchronism in tree peony breeding.

**Key words:** tree peony; pollen; germination rate; storage longevity