

茶花花粉生活力及贮藏力的研究

谢焰锋, 许林, 戴小梅, 陈卫东

(武汉市林业果树科学研究所, 湖北省园林植物工程技术研究中心, 湖北 武汉 430075)

摘要:以茶花花粉为试材,采用培养基法研究了不同离体培养茎、不同花粉贮藏时间及不同品种花粉的生活力及贮藏力。结果表明:供试的7个品种最高萌发率均达到90%以上,其中“天山粉”在M1培养基中萌发率最高,达到98.34%,5个品种的花粉萌发率在不同培养基中的差异达到显著性;贮藏时间对花粉萌发率有显著影响,“葡萄汁”在贮藏50 d时,花粉萌发率由低温贮藏30 d时的87.87%锐减为贮藏50 d时的3.18%,贮藏70 d时,其萌发率仅为2.02%;不同品种间低温贮藏70 d的茶花花粉贮藏力存在极显著性差别,“红露珍”花粉在低温贮藏70 d后,仍有38.16%的萌发率,而“葡萄汁”与“歌女”萌发率仅为2.02%和2.69%,已基本失去活性。

关键词:茶花; 离体培养; 花粉活力; 花粉贮藏力

中图分类号:S 685.14 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0074-04

茶花(*Camellia japonica* L.)为山茶科山茶属常绿灌木和小乔木,又名山茶花,是中国传统的十大名花之一,有2万多个品种。茶花新品主要通过杂交育种和芽变得来,杂交育种是培育茶花新品种的重要途径,现在许多名贵的茶花品种均由杂交而得。

花粉在有性繁殖中起着传递雄性亲本遗传信息的作用,在正常条件下花粉在雌蕊上萌发的能力,就是花粉的生活力。花粉的采集、贮存以及测定花粉生活力是进行人工辅助授粉或杂交授粉的基础^[1-2]。控制授粉前进行花粉生活力测定在杂交工作中很重要,尤其当亲本花期不遇时,花粉要经过一段较长时间的贮藏过程时,检验花粉的生活力,可以避免因使用无生活力的花粉而造成杂交工作的失败,因此开展茶花花粉生活力的研究显得尤为重要。

花粉生活力的测定方法常用的有:花粉萌发、核及原生质染色、酶测试及荧光染色法^[3]。花粉萌发法因更接近自然实际情况,所以应用更具有现实意义。现旨在通过对不同茶花品种的花粉生活力及贮藏力进行分析,了解其花粉特性,为茶花杂交育种提供参考。

第一作者简介:谢焰锋(1985-),男,硕士,助理工程师,现主要从事园林植物育种研究工作。E-mail:xieyanfeng33@126.com。

责任作者:许林(1979-),女,博士,高级工程师,现主要从事园林植物育种研究工作。E-mail:xulin.xulin@yahoo.com.cn。

基金项目:武汉市农科院创新资助项目(CX201222);武汉市科技攻关资助项目(201121412514-4)。

收稿日期:2012-10-22

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试茶花均为3 a生、生长健康、无病虫害的植株。花粉生活力测定选择“西子香荷”、“女儿红”、“D3(4)”、“天山粉”、“单体红山茶”、“红花油茶”和“多齿红山茶”7种植株;花粉贮藏力测定选择早花品种“红露珍”、“葡萄汁”和“歌女”,花期1~3月份,品种性状优良,长势好。

1.2 试验方法

试验于2012年在武汉市林业果树科学研究所茶花资源圃进行。

1.2.1 花粉生活力测定 于盛花期晴天上午10:00左右,从供试植株上采下将开的花朵,取出花药放在纸上,置于干燥的室内,收集自然散落的干燥花粉,用于生活力测定试验。试验设置5种液体培养基,基本成分为:200 mg/L MgSO₄+100 mg/L KNO₃+300 mg/L Ca(NO₃)₂,在基本成分中添加不同浓度的硼酸和蔗糖(表1),pH 6.0左右。将配好的5种培养基滴于凹槽载玻片上,用接种针将采集的新鲜花粉均匀的散布在培养基表面,再将载玻片放于湿润的培养皿中,置于25℃左右的人工气候箱内,黑暗条件下培养24 h,显微镜下观察统计萌发率。每处理3次重复,每重复随机测3个视野,每视野花粉数不少于50粒,以花粉管长度大于花粉粒直径时记为萌发。花粉萌发率=某视野萌发花粉数/该视野花粉总数×100%,取均值。

1.2.2 花粉贮藏力测定 资源圃内的“红露珍”、“葡萄汁”与“歌女”属早花品种,但花粉贮藏力未知,因此有必要对三者的花粉贮藏力进行分析,以便进一步开展此类早花品种的杂交育种工作。将3个品种的新鲜花粉于

室内阴干,24 h 后收集于指形管内,用脱脂棉塞住管口,贴上写有品种名称的标签,放入干燥器中,置于4℃条件下贮藏。花粉贮藏力测定时,取部分已贮藏70 d 的花粉于室温下进行5~6 h 的再吸水,采用表1所列M4培养基测定。

1.3 数据分析

方差分析(ANOVA)、多重比较(Duncan's)采用SPSS 19.0分析,花粉萌发率数据需经反正弦转换。

2 结果与分析

2.1 不同离体培养基对花粉萌发率的影响

供试的7个品种,花粉的最高萌发率均超过90%,其中品种“天山粉”在M1培养基中萌发率最高,达到98.34%。“D3(4)”和“多齿红山茶”对硼酸与蔗糖浓度的适应性强,在5种培养基中,二者的花粉萌发率介于87.00%~96.39%之间,没有显著性差别,其它花粉的萌

发率在不同培养基中均有显著性差别(表1)。当硼酸浓度一定时,“西子香荷”与“单体红山茶”萌发率随蔗糖浓度的升高而显著性升高,其中“西子香荷”的萌发率增幅明显,当蔗糖浓度由100 g/L增至200 g/L时,花粉的萌发率由25.23%上升至81.52%,增长了3.23倍;“女儿红”、“天山粉”与“红花油茶”则随蔗糖浓度的升高而显著性下降。当蔗糖浓度一定时,“西子香荷”与“单体红山茶”的萌发率随硼酸浓度的升高而显著性升高,而“红花油茶”与“天山粉”则随硼酸浓度升高而显著性下降。

由表1可知,除“西子香荷”在M1、M2中萌发率较低外,其它花粉在5个培养基中的萌发率都较高,均能达到花粉萌发率的统计要求,而M4、M5在品种中的适应性更广,萌发率更高,综合考虑,选择M4培养基(H_3BO_3 浓度200 mg/L,蔗糖浓度100 g/L)进行花粉贮藏力试验。

表1

不同培养基对花粉萌发率的影响

Table 1

The effect of different culture media on pollen germination rate

培养基 Culture medium	H_3BO_3 /mg·L ⁻¹	蔗糖 Sucrose /g·L ⁻¹	花粉萌发率 Germination rate							
			“西子香荷” ‘Xizixianghe’	“女儿红” ‘Nverhong’	“红花油茶” ‘Chekiangoleosa’	“天山粉” ‘Tianshanfen’	“单体红山茶” ‘Uraku’	“D3(4)”	“多齿红山茶” ‘Polyodonta’	
M1	100	100	25.23±4.60d	94.83±1.40ab	95.58±0.20ab	98.34±0.50a	94.17±0.75b	87.00±2.00a	94.31±1.77a	
M2	100	150	64.91±4.10c	96.18±0.30a	92.56±1.19c	96.00±0.12b	95.53±0.13ab	92.23±3.60a	94.53±2.08a	
M3	100	200	81.52±0.75b	88.77±1.10c	91.60±1.08c	95.53±0.41b	97.06±0.23a	91.32±0.14a	94.38±0.78a	
M4	200	100	91.59±1.27a	91.97±0.45bc	96.39±0.20a	96.53±0.94ab	95.10±1.05ab	93.36±0.77a	92.05±1.64a	
M5	300	100	92.22±2.10a	93.51±0.74ab	93.43±0.33bc	95.97±1.05b	97.09±0.32a	94.64±1.91a	96.39±1.34a	

注:同一列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Different letters in the same column indicate significant difference($P<0.05$).

2.2 不同贮藏时间对花粉生活力的影响

由表2可以看出,3个茶花品种的新鲜花粉均有较高的萌发率,随着贮藏时间的增加,其花粉萌发率均呈下降的趋势。对“葡萄汁”花粉贮藏时间进行分析,发现前30 d 花粉萌发率下降幅度较小,低温贮藏30 d 的花粉萌发率仍能达到新鲜花粉的96.87%,可以有效解决杂交时花期不遇的问题;贮藏30 d 后,花粉萌发率呈极显著地下降,花粉贮藏50 d 时,萌发率仅为新鲜花粉的3.51%;贮藏70 d 时,萌发率仅为新鲜花粉的2.23%,无法满足杂交育种对花粉生活力的要求。“歌女”与“红露珍”花粉经贮藏70 d 后,萌发率也发生显著性下降,分别由92.36%和92.59%下降为2.69%和38.16%。由此可见,杂交时如果父本经长时间低温贮藏,有必要对花粉做萌发率测试,以保证花粉具有较高的活力,确保杂交的成功率。

2.3 不同品种花粉离体萌发率的比较

通过对低温贮藏70 d 的3种茶花花粉贮藏力进行测定,结果表明,3种茶花的贮藏力存在极显著性差别(表2)。“红露珍”花粉在低温贮藏70 d 后,仍有38.16%的萌发率,极显著地高于“葡萄汁”与“歌女”,后二者经过长时间的贮藏,花粉萌发率仅为2.02%和2.69%,已基

本失去活性。因“红露珍”花期为1~3月,而多数茶花品种花期2~4月,由此可见,用“红露珍”做父本可实现与多数晚花品种的杂交,从而培育出更多抗性强的新品。

表2 不同贮藏时间对花粉萌发率的影响

Table 2 The effect of different storage time on pollen germination rate

贮藏时间 Storage time/d	花粉萌发率 Pollen germination rate/%		
	“葡萄汁” ‘Putaozhi’	“歌女” ‘Gen’	“红露珍” ‘Hongluzhen’
0	90.71±0.39 ab	92.36±0.15 a	92.59±0.55 a
30	87.87±0.59 b	—	—
50	3.18±0.58 d	—	—
70	2.02±0.71 d	2.69±1.17 d	38.16±0.66 c

注:不同字母表示差异显著($P<0.01$)。

Note: Different letters indicate significant difference($P<0.01$).

3 结论与讨论

植物杂交育种作为一种常规的育种方法,一直被广泛的应用于生产实践中。制约杂交育种的问题有很多,花期不遇就是其中重要的一个。花粉低温贮藏是解决杂交品种花期不遇的方法之一,然而有些品种的花粉生活力有限,经低温贮藏后的花粉,其生活力将受到影响,而高活力的花粉是保证较高结实率的重要前提条件,因此,杂交试验前对花粉进行生活力检测显得尤为重要。

测定花粉生活力的方法有很多,花粉离体萌发法因

为结果准确、简单易行几乎适用于所有植物的花粉生活力测定^[4]。大量研究表明,培养基中蔗糖和硼酸浓度对花粉生活力影响很大,适宜浓度的蔗糖和硼酸有利于花粉的萌发和花粉管的伸长^[4~10]。蔗糖既可以给萌发的花粉提供营养,又能防止花粉与培养基之间渗透压的失衡而造成花粉的破裂;硼酸能够增加花粉对糖的吸收、运转和代谢,促进花粉萌发^[11]。该研究中,供试各品种的花粉最高萌发率均达到90%以上,这可能与新鲜花粉的活性较强有关。不同品种对蔗糖和硼酸的最适浓度要求不同,各供试种中,“D3(4)”与“多齿红山茶”对硼酸和蔗糖浓度不敏感,5种培养基中的花粉萌发率介于87.00%~96.39%之间,无显著性差异,说明二者的花粉生活力很强。“女儿红”、“天山粉”与“红花油茶”的花粉萌发率随蔗糖浓度的升高而下降,当蔗糖浓度由100 g/L增至200 g/L时,萌发率均达到了显著性差异,说明高浓度的蔗糖对花粉的萌发具有一定的抑制作用,这与张涛等^[12]的研究结果相一致。各供试种对硼酸的需求也不同,其中“西子香荷”与“单体红山茶”花粉萌发率随浓度的增加而显著性上升,“西子香荷”最为突出,硼酸浓度为300 mg/L时的萌发率是100 mg/L时的3.7倍。从“西子香荷”与“单体红山茶”试验结果可以看出,花粉对蔗糖和硼酸浓度的需求具有一致性,证明硼酸可以促进花粉对蔗糖的吸收与利用,而“天山粉”与“红花油茶”的试验结果正好相反,萌发率随浓度的升高而降低,这可能与花粉对蔗糖的利用程度有关,具体原因有待进一步细分浓度梯度后进行研究。

花粉的贮藏效果直接影响杂交育种的成功率,合理贮藏花粉可以确保杂交育种获得较多群体数量的后代^[13]。在花粉贮藏过程中,温度对花粉生活力影响很大,它通过影响花粉内可溶性糖和有机酸的消耗,进而影响花粉的活力。一般研究认为4℃低温贮藏效果最佳,既防止温度过高而增加对糖类和有机酸的消耗,又可以防止因温度过低而造成细胞脱水而失活^[14]。在研究花粉贮藏力的试验中,供试的“葡萄汁”新鲜花粉生活力达到90.71%,说明该品种的花粉生活力较强,可以满足杂交育种的要求。经过30 d的低温贮藏,该品种的花粉生活力有所下降,但幅度较小,仍能达到新鲜花粉的96.87%,贮藏效果非常明显。随着时间的延长,当贮藏时间达到50 d时,花粉的生活力出现急剧下降,仅为新鲜花粉的3.51%,已失去杂交的作用;贮藏时间达到70 d时,仅为新鲜花粉的2.23%。低温贮藏30 d的花粉,其

萌发率由87.87%下降到3.18%仅用20 d,这可能与花粉的耐贮性有关,萌发率骤降的具体时间有待进一步研究。由此可见,30 d是“葡萄汁”花粉低温贮藏的最佳时间,由于多数茶花品种的花期集中于2~4月,30 d的贮藏时间既可以解决多数亲本花期不遇的问题,还可以增加杂交子代的遗传多样性,培养更多的新优茶花品种。

各品种受自身条件的制约,花粉的贮藏力也不尽相同,对3个茶花品种进行贮藏力的比较结果表明,当花粉贮藏70 d时,“葡萄汁”与“歌女”已基本失活,萌发率仅为2.02%和2.69%,而“红露珍”的萌发率为38.16%,证明该品种的贮藏力较强。“红露珍”因生长快、抗性强,作为一种优良的砧木被广泛的应用于茶花嫁接中,后期可以开展该品种与其它茶花的杂交工作,以期获得更多抗性强的茶花品种。

参考文献

- [1] 王钦丽,卢斗龙,吴小琴,等.花粉的保存及其生活力测定[J].植物学通报,2002,19(3):365~370.
- [2] 魏兆兆,谢云,孟辉,等.3种类型浙江红山茶的花粉形态学研究[J].浙江农林大学学报,2012,29(4):634~638.
- [3] 叶要妹,张佳祺,张双凤,等.百日草自交系花粉萌发条件及花粉活力研究[J].华中农业大学学报,2007,26(5):693~696.
- [4] 许林,杜克兵,陈法志,等.川鄂连蕊茶花粉的形态、生活力及贮藏力研究[J].园艺学报,2010,37(11):1857~1862.
- [5] 王超,张桂玲.甘蓝花粉萌发离体培养最佳蔗糖硼酸配方初探[J].园艺学报,2004,31(2):209.
- [6] 杜克兵,沈宝仙,许林,等.不同贮藏条件下杨树花粉活力变化及隔年杂交授粉应用的可行性研究[J].华中农业大学学报,2007,26(3):385~389.
- [7] Kakegawa K, Ishii T, Matsunaga T. Effects of boron deficiency in cell suspension cultures of *Populus alba* L[J]. Plant Cell Rep, 2005, 23: 573~578.
- [8] 年玉欣,罗凤霞,张颖,等.测定百合花粉生命力的液体培养基研究[J].园艺学报,2005,32(5):922~925.
- [9] 郭光明,张福锁,尚忠林,等.硼对百合花粉萌发过程中细胞内游离钙离子的影响[J].中国农业大学学报,2002,7(5):32~37.
- [10] 刘赢男,周丹,刘玮,等.不同培养基及贮藏条件对山梅花属植物花粉生活力的影响[J].东北林业大学学报,2011,39(12):47~48.
- [11] 刘会超,贾文庆,刘露颖,等.不同条件对迎春花粉生活力的影响[J].广东农业科学,2011(6):55~57.
- [12] 张涛,黄敏.蔗糖和PEG对山茶花花粉离体萌发的影响[J].北方园艺,2009(1):101~102.
- [13] Parton E, Vervaeke I, Delen R, et al. Viability and storage of bromeliad pollen[J]. Euphytica, 2002, 125: 155~161.
- [14] 尹佳蕾,赵惠恩.花粉生活力影响因素及花粉贮藏概述[J].中国农业科学,2005,21(4):110~113.

(致谢:中国科学院武汉植物园任景博士对该试验亦有帮助,谨此致谢。)

Study on Pollen Vitality and Storage Capacity of *Camellia japonica* L.

XIE Yan-feng, XU Lin, JI Xiao-mei, CHEN Wei-dong

(Wuhan Forestry and Fruit Tree Research Institute, Landscape Plants Engineering Technology Research Center of Hubei Province, Wuhan, Hubei 430075)

浅析我国园林植物造景的意境之美

陈玉兴

(河南城建学院 艺术系,河南 平顶山 467036)

摘要:从天人合一、诗情画意、因借之巧、物与神游四方面剖析总结了我国园林植物造景的意境之美。通过植物客观存在的形状、体量、色彩、质感等因素以及与其它园林景观要素的水体、地形、地面构筑物、铺装之间的相互配置来呈现,由表及里,由外及内,由形至神,最终和人的主观情感自然吻合,情景交融,共鸣不断,艺术境界不言而明。

关键词:植物造景;意境;天人合一;诗情画意;巧于因借;物与神游

中图分类号:S 732 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2013)02—0077—03

瑞士思想家阿米尔(Amiel)说,一片自然风光是一个心灵的境界。植物是园林景观设计中的主要素材之一,是自然风光的重要组成部分,是唯一具有生命特征的园林要素,是最生动活泼,富有生机的园林构成要素。园林景观设计中的其它景观要素也只能通过植物造景而鲜活,植物造景不仅能使园林空间体现出生生不息的生命活力和四时不同的季相变化,更能够通过园林植物造景抒发出设计者思想的激情,映射出心灵的境界。植物素材在园林景观设计中既有美的形态,又有美的精髓,在赋予人们艺术享受的同时能引人入胜,耐人寻味,品味无穷,有所启示,使人浮想联翩,思想深受感染,意境之美悠然而来。

意境是中国美学的重要范畴,也是表征园林植物造景设计审美品位和审美感受的概念。艺术意境的创构,是使客观景物作为主观情思的象征。“外师造化,终得心源”唐代画家张璪的训示,是意境创造的基本条件,在

植物造园中不时呈现的一花一树一世界,是艺术境界和哲理境界中的最高精神活动,是充沛自我、万象在旁、超脱自在的真理空间。对于艺术设计作品的鉴赏和感受,可以使人进入一种情景交融、虚实统一的精神境界,使审美主体超越感性具体的物象,领悟到某种宇宙或人生真谛的艺术化境界。意境强调意与境的结合,使这种境界贯注了情思和理趣,形成情景交融。“超其象外,得其环中”说的就是物象引发人的直接意象经延伸导至间接意象,二者结合产生新质,这便是意境。同时意境还有虚实相生的特点,意境所反映的并不拘泥于物象的直接内容,而形成于空间效应的结合,调动欣赏者的想象力,由实入虚,由虚悟实,形成具有意中之境“飞动之趣”的审美空间,余味隽永,令人回味。

园林植物种类繁多,形态各异,有高逾百米的巨大乔木,也有矮之几公分的草坪、地被植物;有直立的,也有攀援的和匍匐的;树形各异,叶、花、果也是色彩丰富、绚丽多姿;同时,园林植物在生长的过程中还呈现出鲜明的季相特色和兴衰变化。随着生态园林建设的深入和发展,以及景观生态学、全球生态学等学科的引入,植物景观设计的内涵也在不断扩展,对植物的应用日益广

作者简介:陈玉兴(1964-),男,河南平顶山人,硕士,副教授,研究方向为城市景观设计。E-mail:1041037114@qq.com。

收稿日期:2012-10-15

Abstract: Taking the pollens of *Camellia japonica* L. as materials, the effects of pollen vitality and storage capacity in different culture mediums, different storage time of pollens and different varieties were studied. The results showed that the highest germination rate for all the seven varieties could reach or exceed 90%, and the ‘Tianshanfen’ recorded the highest germination rate (98.34%) in the M1 medium. Difference of pollens germination rate for five varieties were significant in different culture mediums; with the extension of storage time, the pollen germination rate showed significant decreasing trend in ‘Putaozhi’. The germination rate was from low temperature germination rate of 87.87% after stored 30 days dropped to 3.18% and 2.02% when the pollen of ‘Putaozhi’ was stored for 50 d and for 70 d, respectively; besides, pollen storage capacity were observed on three varieties which were stored for 70 d with low temperature, and the results showed significant difference for different varieties. Pollen germination rate of ‘Hongluzhen’ was still 38.16%, but the pollen germination rate of ‘Putaozhi’ and ‘Genv’ were only 2.02% and 2.69%.

Key words: *Camellia japonica* L.; *in vitro* culture; pollen vitality; storage capacity