

# 五种早春开花木本植物花粉萌发的研究

李 群<sup>1,2</sup>, 王 萌<sup>2</sup>, 阮成江<sup>2</sup>

(1. 沈阳农业大学 生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110866; 2. 大连民族学院,  
生物技术与资源利用国家民委教育部重点实验室, 辽宁 大连 116600)

**摘 要:**以连翘、紫丁香、紫叶小檗、紫藤和黄山紫荆 5 种早春开花木本植物的花粉为试材, 采用离体萌发培养法研究了不同浓度蔗糖、不同培养时间和超低温贮藏对花粉萌发的影响。结果表明: 蔗糖在一定浓度范围内对花粉萌发具有促进作用, 但超过一定浓度后则会抑制花粉萌发; 随着培养时间的延长, 花粉萌发率呈上升趋势; 连翘、紫丁香、紫叶小檗、紫藤和黄山紫荆在蔗糖浓度分别为 20%、10%、25%、10%、15% 时花粉萌发率最高, 分别为 98.0%、71.7%、57.8%、83.0%、76.5%; 冷藏后的花粉萌发率与对照相比明显降低, 降低幅度在 43.7% (连翘)~58.0% (紫叶小檗); 而贮藏时间对花粉萌发率的影响不大。

**关键词:**早春; 木本植物; 花粉; 萌发率; 低温贮藏

**中图分类号:**Q 944.58 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0073-04

花粉萌发研究的重要意义在于其与植物的培育及与植物遗传特性的研究密切相关, 旨在掌握植物生殖特

**第一作者简介:**李群(1978-), 女, 博士, 讲师, 现主要从事植物繁殖生物学等研究工作。E-mail: liqunmuai2000@163.com.

**责任作者:**阮成江(1972-), 男, 博士, 教授, 现主要从事植物进化生态学等研究工作。

**基金项目:**国家自然科学基金青年科学基金资助项目(31100226)。

**收稿日期:**2013-05-20

照品种“上海青”发病率为 15.0%、“夏冠 28”为 53.7%。“高原油白菜 3 号”黑斑病发生率仅为 5.0%, 而对照品种“上海青”发病率为 20.0%，“夏冠 28”为 15.0%。

## 4 栽培技术要点

### 4.1 整地

选择排水良好、土层疏松、土壤肥沃且排灌方便的地块, 播种前每 667 m<sup>2</sup> 施优质农家肥 3 000~4 000 kg, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 5.87 kg。可直播, 播种时用播种机或人力开沟条播, 行宽 8.00~10.00 cm, 播种深度 3.00~5.00 cm, 每 667 m<sup>2</sup> 播种量 0.30~0.50 kg。播种后轻度镇压, 确保田块平整保墒。

### 4.2 播种技术

前茬作物收割后, 结合秋季雨水多, 及时深翻、纳蓄雨水、镇压保墒, 使地表有 3~4 cm 的细土层。播种前进行冬灌或播前春灌, 保证表层土壤精细平整, 并使播种时土壤含水量在 15% 以上。

### 4.3 田间管理

重点是防治茎龟象、跳甲等主要害虫、以及间苗定苗。出苗后便可发现茎龟象等取食子叶和真叶, 严重时会造成大面积缺苗断垄。当 80% 出苗后可喷施 48% 乐斯苯乳油 40 mL/667m<sup>2</sup> (1 000 倍液) 防治茎龟象。2~3

性, 提高杂交育种的效率<sup>[1]</sup>。而花粉低温或超低温贮藏能够延长花粉的寿命, 因而可以利用贮藏花粉进行杂交育种或解决双亲开花不协调导致少量结实的问题<sup>[2-3]</sup>。早春花卉是指开花期在 4 月中旬至 5 月上旬的花卉, 在北方地区, 早春开花植物有缤纷的色彩、奇特的花姿, 在景观绿化中占有重要的地位<sup>[4]</sup>, 尤其是一些早春开花木本植物, 由于其有抗性强、易于管理等优点, 一直是城市街区、花园、居民区和校园绿化的首选。早春骤然降温、

片真叶幼苗期开始间苗, 苗间距 3.00~5.00 cm, 5 片真叶苗期结合灌溉 667 m<sup>2</sup> 追施纯氮 3.45 kg, 结合中耕除草进行定苗, 苗间距 5.00~8.00 cm, 每 667 m<sup>2</sup> 保苗 2.67 万~3.34 万株。

## 5 采收

9~12 叶期采收上市, 采收时应将植株紧贴地表铲除, 保证其完整, 注意轻拿轻放, 剔除枯黄叶及泥土等污染物, 按每把 0.5~1.0 kg 打捆或散装装框运输销售。

## 6 结论

“高原油白菜 3 号”抗寒性强, 生长速度快, 丰产性好, 纤维含量少, 口感佳, 市场需求大, 经济效益显著<sup>[3]</sup>。该品种推广后, 将丰富居民的菜篮子, 促进设施农业和露地蔬菜生产的发展<sup>[4]</sup>。

### 参考文献

- [1] 司力珊. 白菜类蔬菜无公害生产技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [2] 赵洪朝, 安风云, 李钧. 小白菜杂交种青杂油白菜 1 号选育研究[J]. 西北农业学报, 2007, 16(1): 207-208.
- [3] 彭秀科, 赵洪朝. 低温处理对油白菜 SYM-4 初花期的影响[J]. 北方园艺, 2007(10): 18-19.
- [4] 张保才, 华娟莉, 张延安. 中熟大白菜新品种“秀翠”的选育[J]. 北方园艺, 2013(1): 182-183.

晚霜是中国北方地区一个主要气候特征,早春开花植物由于开花早,极易遭受晚霜的危害,一旦遇到霜冻,就会影响它的生长发育和观赏效果,严重限制了其在北方城市园林中的应用<sup>[5]</sup>。现以连翘、紫丁香、紫叶小檗、紫藤和黄山紫荆 5 种早春开花木本植物的花粉为试材,采用离体萌发培养法,研究了不同浓度蔗糖、不同培养时间和超低温贮藏对其花粉萌发的影响,以期为其生殖生物学研究、杂交育种及种质资源保存提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试连翘(*Forsythia suspensa*)、紫丁香(*Syringa oblata*)、紫叶小檗(*Berberis thunbergii* cv. *atropurpurea*)、紫藤(*Wisteria sinensis*)和黄山紫荆(*Cercis chingii*)的花粉均采自于大连民族学院校园内。

### 1.2 试验方法

1.2.1 花粉采收 预先选定发育正常、无病虫害的植株,每种植物各选 5 株做采粉树挂牌标记,选取花质均一,花期一致的花蕾套袋,于开花当天 9:00~10:00 用毛笔将花粉分别收集到洁净的小玻璃管中,标记后带回实验室备用。

1.2.2 花粉贮藏 将收集到的新鲜花粉放在 1.5 mL 的小离心管内,用封口膜封好后浸入装有液氮的容器中,在液氮中冷冻 1 min 后迅速取出,置于一 80℃ 的冰箱内备用,分别在冷冻 10、20、30 d 后取出测其花粉活力。

1.2.3 培养基的配制 无机盐母液组成:0.1%  $H_3BO_3$ 、0.3%  $Ca(NO_3)_2$ 、0.2%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.1%  $KNO_3$ 。

1.2.4 蔗糖浓度梯度和培养时间试验 取 10 mL 无机盐母液配成 100 mL 基本液体培养基,分别加入不同浓度的蔗糖,制成蔗糖浓度为 0%、5%、10%、15%、20%、25% 6 种培养基,于 1.2 kg/cm<sup>2</sup>,121℃ 灭菌 20 min 备用。吸取 20 mL 培养基均匀地铺于培养皿上,并将当天采集的新鲜花粉,均匀地撒在培养基上,28℃ 黑暗培养。在培养 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h 后于 10×10 倍显微镜下观察花粉萌发和花粉管生长情况,并统计每个视野的花粉萌发情况。在显微镜下计数,每次每个处理分别取 3 个固定大小的视野统计,单次统计的花粉数不少于 60 个,3 次重复。以花粉管长度大于花粉粒直径 1/2 以上者为萌发标准<sup>[6-7]</sup>,统计花粉萌发率(%)。

1.2.5 贮藏花粉培养 将低温贮藏花粉取出后按 1.2.4 方法,在最适蔗糖浓度和培养时间下测其花粉活力。

### 1.3 数据分析

试验数据采用 Excel 软件进行处理分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同蔗糖浓度和培养时间对花粉萌发率的影响

从图 1~5 可知,不同蔗糖浓度和培养时间对连翘、紫

丁香、紫叶小檗、紫藤、黄山紫荆花粉的萌发率均有影响;在不同蔗糖浓度下,随着培养时间的延长,5 种植物花粉的萌发率均逐渐增加,即在培养 2.5 h 时萌发率最高;除紫藤花粉外,其在蔗糖浓度为 25% 时,随着培养时间的延长,花粉萌发率逐渐升高,至 1.5 h 时紫藤花粉萌发率为 12.2%,此后随着培养时间延长其花粉萌发率反而下降,至 2.5 h 时为 7.7%。不同蔗糖浓度对花粉萌发率的影响也很大,连翘、紫丁香、紫叶小檗、紫藤、黄山紫荆分别在蔗糖浓度为 20%、10%、25%、10% 和 15% 时花粉萌发率最高,分别为 98.0%、71.7%、57.8%、83.0% 和 76.5%。

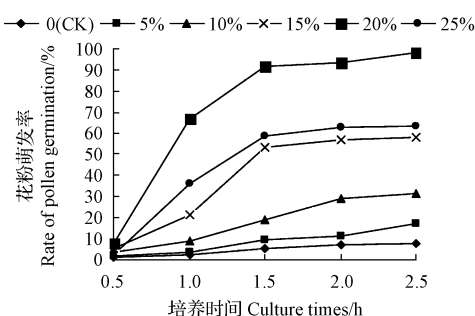


图 1 不同蔗糖浓度与培养时间对连翘花粉萌发率的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of sucrose and culture time on *Forsythia suspensa* pollen germination rate

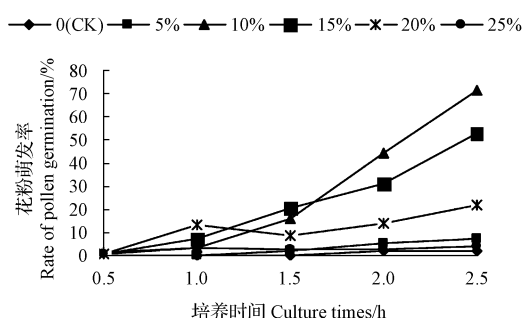


图 2 不同蔗糖浓度与培养时间对紫丁香花粉萌发率的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of sucrose and culture time on *Syringa oblata* pollen germination rate

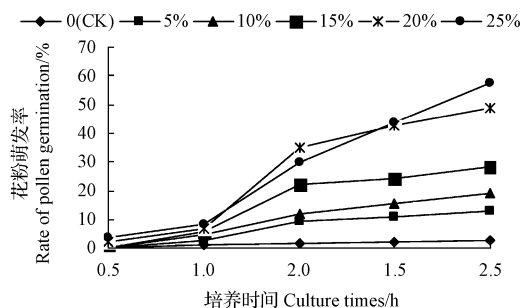


图 3 不同蔗糖浓度与培养时间对紫叶小檗花粉萌发率的影响

Fig. 3 Effects of different sucrose concentrations of sucrose and culture time on *Berberis thunbergii* cv. *atropurpurea* pollen germination rate

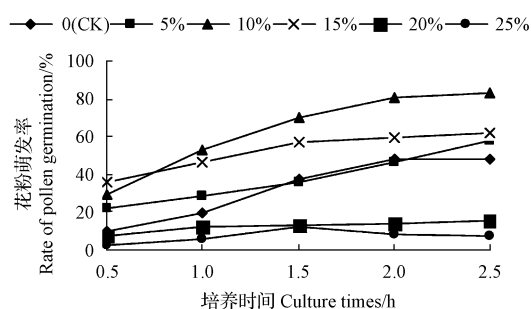


图4 不同蔗糖浓度与培养时间对紫藤花粉萌发率的影响

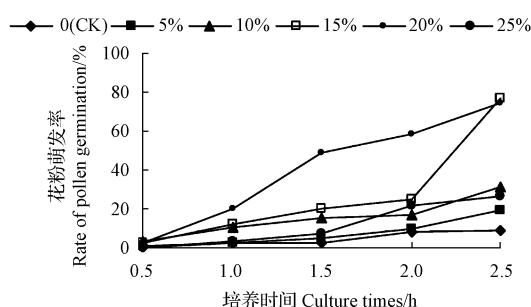
Fig. 4 Effects of different concentrations of sucrose and culture time on *Wisteria sinensis* pollen germination rate

图5 不同蔗糖浓度与培养时间对黄山紫荆花粉萌发率的影响

Fig. 5 Effects of different concentrations of sucrose and culture time on *Cercis chingii* pollen germination rate

## 2.2 贮藏时间对花粉萌发率的影响

将未冷冻(CK)和冷冻贮藏后的连翘、紫丁香、紫叶小檗、紫藤和黄山紫荆的花粉分别在蔗糖浓度为20%、15%、25%、10%和15%的培养基中28℃暗培养2.5 h,统计其花粉萌发率。从图6可知,冷藏后的花粉萌发率与CK相比明显降低,降低幅度在43.7%(连翘)~58.0%(紫叶小檗);而贮藏时间对花粉萌发率的影响不大,黄山紫荆的花粉萌发率随贮藏时间的延长花粉萌发

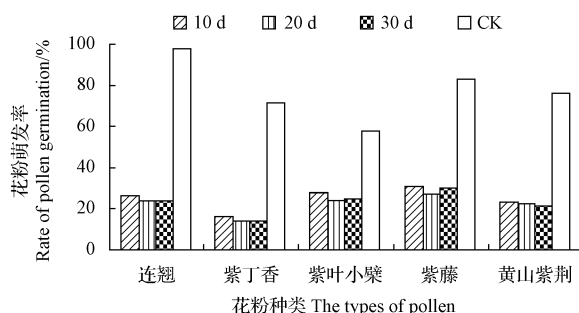


图6 不同贮藏时间对花粉萌发率的影响

Fig. 6 Effects of different storage time on pollen germination rate

率略有降低,贮藏10、20、30 d的花粉萌发率分别为23.0%、22.6%和21.8%,而其余4个物种的贮藏花粉萌发率都为10 d最高,其次是30 d,萌发率最低的是贮藏20 d后花粉。连翘、紫丁香、紫叶小檗、紫藤和黄山紫荆在贮藏30 d后的花粉萌发率分别为23.8%、13.8%、24.8%、29.8%和21.8%。

## 3 讨论

蔗糖是多数植物花粉离体培养所必需的成分,能为花粉萌发及花粉管生长提供营养,并能维持外界环境一定的渗透压<sup>[8]</sup>。蔗糖浓度对该研究的5种早春木本植物花粉萌发率的影响比较明显,低于5%的浓度,花粉萌发率均较低,其中紫丁香的花粉在蔗糖浓度为5%时几乎不萌发;高于20%,由于高的渗透压造成花粉细胞质壁分离,抑制花粉萌发,紫丁香、连翘、黄山紫荆和紫藤的花粉在蔗糖浓度为25%时均明显下降,仅有紫叶小檗花粉萌发的最适蔗糖浓度为25%;10%~15%的蔗糖浓度,能维持花粉细胞内外的渗透压平衡,有利于花粉的萌发<sup>[9-11]</sup>。刘红霞等<sup>[12]</sup>研究了不同花柱类型连翘花粉的生活力,认为短花柱型花粉萌发的最佳蔗糖浓度为15%,而长花柱型花粉在蔗糖浓度为5%~20%时萌发率差异很小,该研究在采集连翘花粉时未考虑其花柱类型差异,为二者混合花粉,因此其结果与刘红霞等<sup>[12]</sup>所研究结果不一致;蒋本国等<sup>[13]</sup>的研究发现,10%是紫叶小檗花粉萌发的最佳蔗糖浓度,与该研究结果差异较大,可能是所用基本培养基成分差异造成的;刘雪莲等<sup>[14]</sup>通过正交实验研究认为蔗糖浓度对紫丁香花粉萌发的影响最大。

John等<sup>[11]</sup>认为棉花花粉适宜的培养温度为20~37℃,在28℃下恒温培养3 h花粉管不破裂,超过3 h花粉管破裂;袁国军等<sup>[15]</sup>认为除了蔗糖浓度外,对黄连木花粉体外萌发影响最大的就是培养时间。该研究认为在培养2.5 h以内,随着培养时间延长,5种植物花粉萌发率逐渐提高。

影响花粉寿命的关键因子是花粉含水量和贮藏温度,低湿、干燥处理是长期保存花粉的必要条件<sup>[16-18]</sup>。不同品种的*Delphinium*花粉经过干燥并贮藏在一30℃条件下,经过180 d后仍然保持了较高的萌发率和较长的花粉管<sup>[19]</sup>;蓬蘽花粉在一10℃和一18℃条件下贮藏30 d活力下降较少,仍保持较高的萌发率<sup>[20]</sup>。该试验表明,与未经冷冻处理的花粉相比,冷冻后的花粉萌发率均明显降低;随着贮藏时间的延长,花粉萌发率下降不明显。该试验表明,贮藏早春开花木本植物的花粉时,可选择将新鲜花粉经液氮冷冻1 min后,于一80℃下贮藏,可保存至少30 d。低温保存是目前植物资源保存中较理想的途径,北方地区早春骤然降温、晚霜等恶劣天气容易影响植株的生长发育和观赏效果,经低温贮藏的花粉可

作为种质资源保存的依据,并可直接用于杂交育种中的授粉,为进一步培育新品种奠定坚实的基础。

### 参考文献

- [1] 龚洵,张国莉,潘跃芝.云南含笑花粉萌发研究[J].武汉植物学研究,2003,21(4):346-350.
- [2] 赵云,王天叫,潘涛,等.诸葛菜花粉的保存研究[J].中国油料,1995,17(2):12-18.
- [3] 徐刚标,何方,黄晓光.银杏种质离体保存的研究 I. 银杏花粉贮存[J].中南林学院学报,2000,20(1):27-30.
- [4] 刘晓铃,强玉丰,刘加,等.太原市早春开花植物的初步研究[J].山西大学学报,2001,24(3):251-254.
- [5] 李盼华,石丽环,沙翠云,等.10种早春开花植物花器官抗寒临界温度比较研究[J].中国农学通报,2011,27(8):98-102.
- [6] 向旭,欧良喜,邱燕萍,等.影响荔枝花粉活力的化学因子研究[J].广东农业科学,2000(6):29-32.
- [7] Vaknin Y, Eisidowitch D. Effects of short-term storage on germinability of pistachio pollen [J]. Plant Breeding, 2000, 119: 347-350.
- [8] 车代弟,樊金萍,王金刚.东方百合花粉萌发培养基组分的优化[J].植物研究,2003,23(2):178-181.
- [9] 黄静,曹秋芬,孟玉平,等.培养基成分对南瓜离体花粉萌发的影响[J].中国西瓜甜瓜,2004(3):6-7.
- [10] 樊新民,牛建新,孙爱新,等.榆叶梅和海棠花粉萌发率的测定及超

低温保存方法[J].湖北农业科学,2004(6):65-66.

- [11] John J B, Jeff V, Melvin J O. *In vitro* analysis of cotton pollen germination [J]. Agronomy Journal, 2004, 96: 359-368.
- [12] 刘红霞,任士福,史宝胜,等.不同花柱类型连翘的花粉形态和生活力比较[J].河北农业大学学报,2009,32(1):37-41.
- [13] 蒋本国,冯晖,刘长建.紫叶小檗花粉的萌发研究[J].大连民族学院院报,2011,13(3):245-247.
- [14] 刘雪莲,李庆玲,秦佳梅,等.不同培养基对紫丁香花粉离体萌发的影响[J].东北林业大学学报,2010,38(7):61-63.
- [15] 袁国军,刘冰,宋宏伟,等.培养条件对黄连木花粉萌发的影响[J].中国农学通报,2011,27(2):17-20.
- [16] Barnabas B, Rajki E. Storage of maize (*Zea mays* L.) pollen at  $-196^{\circ}\text{C}$  in liquid nitrogen [J]. Euphytica, 1976, 25 (1): 747-752.
- [17] Barnabas B, Kovacs G, Abranyi A, et al. Effect of pollen storage by drying and deep-freezing on the expression of different agronomic traits in maize (*Zea mays* L.) [J]. Euphytica, 1988, 39(3): 221-225.
- [18] 王彩虹,田义柯.果树花粉保存研究进展[J].落叶果树,1996(增刊):35-39.
- [19] Honda K, Watanabe H, Tsutsui K. Cryopreservation of *Delphinium* pollen at  $-30^{\circ}\text{C}$  [J]. Euphytica, 2002, 126: 315-320.
- [20] 王小敏,李海燕,吴文龙,等.蓬蘽花粉低温贮藏研究[J].江苏农业科学,2010(3):170-171.

## Study on Germination of Five Species of Early Spring Flowering Woody Plants

LI Qun<sup>1,2</sup>, WANG Meng<sup>2</sup>, RUAN Cheng-jiang<sup>2</sup>

(1. Institute of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866; 2. Key Laboratory of Biotechnology and Bio-Resources Utilization, State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116600)

**Abstract:** Taking *Forsythia suspensa*, *Syringa oblata*, *Berberisthunbergii* cv. *atropurpurea*, *Wisteria sinensis* and *Cercis chingii* 5 early spring blossom woody plant pollen as experimental material, the effect of sugar gradients, culture time and ultra-low temperature storage for culturing five species of early spring flowering woody plants pollens on pollen germination were studied. The results showed that the pollen germination was promoted by the sucrose at certain values, but beyond values the pollen germination would be inhibited. When the sucrose concentration were 20%, 10%, 25%, 10% and 15%, respectively, the germination rate of *Forsythia suspensa*, *Syringa oblata*, *Berberisthunbergii* cv. *atropurpurea*, *Wisteria sinensis* and *Cercis chingii* were the highest, that were 98.0%, 71.7%, 57.8%, 83.0% and 76.5%, respectively. The germination rate of pollen treated by low temperature storage was obviously decreased compared with control. The range of reducing was between 43.7% (*Forsythia suspensa*) and 58.0% (*Berberisthunbergii* cv. *atropurpurea*). The storage time had a little effect on pollen germination rate.

**Key words:** early spring; woody plants; pollen; germination rate; low temperature storage