

doi:10.3969/j.issn.1001-3776.2017.03.005

崇左金花茶花粉萌发及在不同贮藏条件下活力变化的研究

周兴文¹, 杨 乐², 黄肇宇¹, 张凤兰¹, 王 辉²

(1. 玉林师范学院, 广西 玉林 537000; 2. 信阳农林学院, 河南 信阳 464000)

摘要: 2015年7月, 采集崇左金花茶 *Camellia chuangtsoensis* S. Y. Liang et L. D. Huang 花粉, 分别置于室温 25℃, 4℃, -20℃和-80℃保存。采用离体液体培养基法筛选出最佳崇左金花茶花粉的萌发条件, 在此基础上试验不同贮藏温度和不同贮藏时间对花粉萌发率的影响。结果表明, 崇左金花茶花粉萌发的最适培养基为 12%蔗糖+0.12% H₃BO₃。花粉-20℃条件下贮藏5个月时, 花粉萌发率仍可达原来的(68.93%)25%; 在-80℃条件下贮藏5个月时, 花粉萌发率可达原来的32%, -80℃条件下保存的花粉其萌发率略高于-20℃。

关键词: 崇左金花茶, 花粉, 萌发, 保存 花粉活力

中图分类号: S 571.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-3776 (2017) 03-0028-04

Pollen Germination of *Camellia chuangtsoensis* and Their Viability under Different Storage Conditions

ZHOU Xing-wen¹, YANG Le², HUANG Zhao-yu¹, ZHANG Feng-lan¹, WANG Hui²

(1. Yulin Normal University of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Yulin 537000, China; 2. Xinyang College of Agriculture and Forestry of Henan, Xinyang 464000, China)

Abstract: Pollens of *Camellia chuangtsoensis* were collected in July 2015, and stored under 25℃, 4℃ and -80℃. Germination conditions for fresh *C. chuangtsoensis* pollen were tested by fluid medium in vitro. Experiments were conducted on germination rate of pollens stored under different temperature and duration. The result demonstrated that the best medium for fresh pollen germination 12% sucrose + 0.12% H₃BO₃. Germination rate of pollens stored at -20℃ 5 months later was 25% of that of the fresh ones, and that stored at -80℃ 5 months later was 32%.

Key words: *Camellia chuangtsoensis*; pollen; germination; storage; pollen viability

崇左金花茶 *Camellia chuangtsoensis* S. Y. Liang et L. D. Huang 为山茶科 Theaceae 山茶属 *Camellia* L. 的常绿灌木, 花期主要集中在5-12月^[1-2], 花黄色且花瓣数量多, 是难得的培育山茶花新品种的亲本材料。在山茶花新品种培育过程中, 杂交育种是培育新品种最有效、最常用的手段之一。但杂交经常遇到时空不遇和异地授粉的问题, 适宜的花粉保存技术可有效解决这个问题。花粉是种子植物自然条件下遗传信息交流的载体^[3-4], 是开展杂交育种最基本也是最重要的材料, 花粉活力的大小对育种成果影响很大, 花粉活力是评价花粉保存效果的主要指标之一。因此, 授粉前对花粉活力的检测是至关重要的^[5]。

本研究采用液体培养基萌发法, 对不同保存时间和保存温度下崇左金花茶花粉活力进行测定, 旨在寻找最

收稿日期: 2017-01-23 ; 修回日期: 2017-04-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360197); 玉林师范学院高层次人才科研启动基金(G20120027); 河南省高等学校重点科研项目(17B220002)

作者简介: 周兴文, 副教授; 从事园林植物栽培育种研究; E-mail: xingwenzhou2003@163.com。通信作者: 王辉, 副教授, 从事植物造景与养护研究; E-mail: tdhp2006@126.com。

适合的花粉保存条件, 为开展以崇左金花茶为亲本的杂交育种工作奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 5 年生崇左金花茶嫁接苗 25 株, 种植于广西玉林师范学院苗圃中, 平均株高 90 cm, 冠幅 60 cm, 地栽, 长势良好。

1.2 试验方法

1.2.1 花粉的收集与保存 2015 年 7 月中旬晴天上午采集崇左金花茶初开花朵, 带回室内收集花粉。将收集的新鲜花粉置于硫酸纸上于室温 25℃ ~ 26℃ 条件下干燥 1 d 后^[6], 取适量花粉与变色硅胶一起分装于若干个小离心管中密封避光分别放置于室温 25℃ 以及 4℃, -20℃, -80℃ 冰箱中保存。

1.2.2 花粉活力的测定方法 参考离体萌发测定法^[7-10], 采用液体培养基培养花粉。用吸管吸取培养液, 分别滴 1 滴于双凹玻片的两个凹槽中, 用毛笔蘸取少量不同温度下贮藏的干燥花粉, 均匀地撒在培养基上, 盖上盖玻片, 用吸水纸吸去多余的培养液, 然后置于垫有湿润滤纸的培养皿里, 在相应温度的培养箱中培养 3 h 后, 在低倍镜下观察花粉粒的萌发情况并拍照留存, 统计参照标准为花粉管长度等于或大于花粉粒直径者为萌发。每个处理设 4 个重复, 每个重复在显微镜下随机取 4 个视野, 每个视野 20 个花粉粒以上, 数取花粉粒总数及萌发数, 计算平均值作为萌发率。

1.2.3 花粉萌发的培养条件 参考程伟等^[7]研究, 配置 5 种花粉萌发培养基。配方 1:10%蔗糖+0.1% H₃BO₃; 配方 2:10%蔗糖+0.12% H₃BO₃; 配方 3:10%蔗糖+0.14% H₃BO₃; 配方 4:12%蔗糖+0.12% H₃BO₃; 配方 5:14%蔗糖+0.12% H₃BO₃ (表 1)。将崇左金花茶新鲜花粉分别在以上培养基上培养, 培养温度分别为 23℃, 25℃, 27℃, 30℃, 培养时间为 3 h, 观察统计花粉萌发率, 确定最佳培养基和最佳培养温度。对保存于-20℃和-80℃冰箱中的干燥花粉, 培养前于 4℃冰箱中复温 4 h, 然后根据最佳培养基进行花粉培养, 测定其活力。

1.2.4 不同条件下花粉保存的时间 新采集的花粉在保存前测定一次花粉活力, 干燥处理之后根据不同的保存温度确定下一次的测定时间, 直到花粉活力丧失, 以确定不同温度下花粉的最长保存时间。

1.3 数据分析

采用 SPSS17.0 进行数据方差分析, Excel 2010 作图。

2 结果与分析

2.1 新鲜花粉萌发最佳培养基和培养温度

崇左金花茶花粉在不同配方的培养基上和不同温度下的萌发率见表 1。从表 1 上可以看出, 崇左金花茶在配方 1 即 10%蔗糖+0.1%H₃BO₃ 的培养基上, 23℃ 温度下萌发率最低; 在配方 4 即 12%蔗糖+0.12% H₃BO₃ 的培养基上, 27℃ 温度下萌发率最高; 30℃ 度条件下萌发率也较高。因此, 花粉萌发率测定的条件采用配方 4, 27℃ 培养 3 h。在 23℃, 25℃, 30℃ 条件下, 各组配方之间均差异显著 ($P<0.05$), 在 27℃ 条件下, 配方 1 和配方 2 之间差异不显著, 但与其他各组之间均差异显著 ($P<0.05$)。

表 1 不同培养基与不同培养温度下新鲜花粉萌发率
Table 1 Germination rate of pollens in different medium and under different temperature

配方	培养基	新鲜花粉平均萌发率/%			
		23℃	25℃	27℃	30℃
1	10%蔗糖+0.1% H ₃ BO ₃	35.61±0.39e	37.38±0.20e	39.15±0.14d	38.42±0.17e
2	10%蔗糖+0.12% H ₃ BO ₃	36.32±0.15d	39.53±0.13d	39.02±0.13d	41.48±0.27d
3	10%蔗糖+0.14% H ₃ BO ₃	38.72±0.19c	41.27±0.07c	43.65±0.24c	43.17±0.39c
4	12%蔗糖+0.12% H ₃ BO ₃	40.28±0.19b	42.13±0.08a	48.56±0.15a	48.22±0.29a
5	14%蔗糖+0.12% H ₃ BO ₃	41.82±0.24a	41.68±0.17b	46.48±0.12b	45.36±0.10b

注: 表中同小写字母显示 0.05 水平不显著 (单因素方差分析采用 LSD 进行多因素比较)。

2.2 不同保存温度对花粉活力的影响

崇左金花茶花粉在不同保存温度 and 不同保存时间下的萌发率见图 1。由图 1 可知, 5 d 内保存的花粉在 4 种温度下活力相差不大。花粉在 25℃ 条件下保存至 2 周时, 其活力约为原来 (68.93%) 一半, 其他 3 种温度下花粉活力基本接近。当花粉在 25℃ 条件下保存至 60 d 时, 花粉已没有活力; 4℃ 和 -20℃ 条件下保存 60 d 的花粉, 其活力开始呈现出急剧下降的趋势, -80℃ 条件下保存的花粉则至第 90d 时其活力开始急剧下降。长期保存时, 4℃ 条件下花粉活力明显低于 -20℃ 和 -80℃ 的花粉活力, 而 -20℃ 和 -80℃ 条件下保存的花粉其活力相差不大。

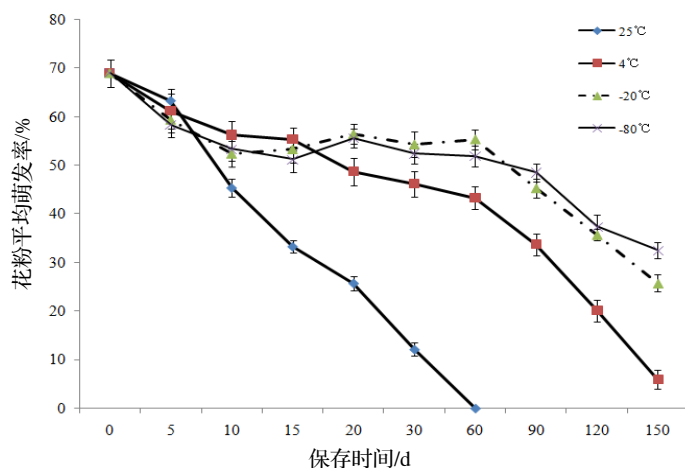


图 1 不同保存温度下崇左金花茶花粉萌发率

Figure 1 Germination rate of pollens stored at different temperatures

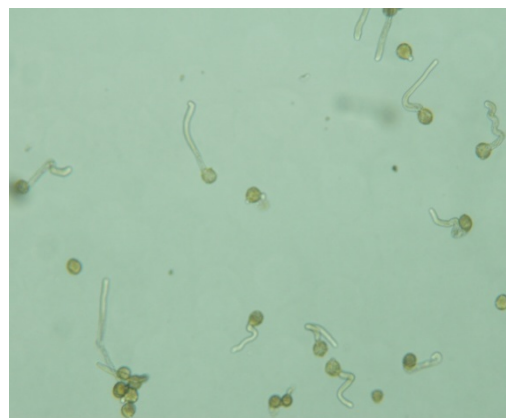


图 2 花粉在培养基上萌发

Figure 2 Pollens germinated in medium

3 结论与讨论

植物花粉的离体萌发需要一定浓度的糖、硼酸等物质, 不同物种对这些物质的浓度要求不同^[3]。本试验表明, 崇左金花茶花粉萌发所需的糖、硼酸最佳质量分数分别为 12%, 0.12%, 与其他山茶科植物花粉萌发所需浓度比较接近^[11-13]。花粉萌发培养时间与物种、培养温度、培养基等条件有密切关系。本研究发现, 崇左金花茶花粉在液体培养基中经过 27℃ 培养 3 h 之后, 大多数花粉管的长度已经达到花粉粒直径的 4 倍以上 (图 2), 完全可以满足统计分析的需求; 与固体培养基萌发法^[3]相比, 可以节省培养时间, 且操作相对比较简便。

花粉活力保持时间的长短受遗传基因和环境因素的影响^[14]。花粉常见的保存温度有 25℃, 4℃, -20℃, -80℃, 具体选用哪种温度条件保存取决于所用物种和研究目的。如短期保存, 室温与 4℃ 均可, 长期保存的则大多数选用 -20℃ 条件。但无论哪种条件, 都要对花粉活力进行检测, 以确定最佳保存温度。本试验表明, 崇左金花茶花粉在 -80℃ 条件下保存 5 个月时其萌发率约为 32%。因此, 这两种温度均可用于保存崇左金花茶花粉, 但是, 从经济方面考虑, -20℃ 条件更适合崇左金花茶的长期保存。

参考文献:

- [1] 梁盛业, 黄连冬. 金花茶新种—崇左金花茶[J]. 广西林业, 2010 (6): 33-33.
- [2] 高继银, 刘信凯, 黄连冬, 等. 四季开花的茶花又一重大发现—金花茶家族中的佼佼者‘崇左金花茶’[J]. 中国花卉盆景, 2010 (1): 2-4.
- [3] 贾文庆, 王少平, 范正琪, 等. 耐冬山茶花粉储藏条件及其活力的动态变化[J]. 林业科学研究, 2015, 28 (3): 374-379.
- [4] 赵鸿杰, 乔龙巴图, 殷爱华, 等. 3种山茶属植物花粉活力测定方法的比较[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30 (3): 105-107.
- [5] 李广清. 山茶花粉超低温保存研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2005.
- [6] 程伟, 赵志刚, 郭俊杰, 等. 西南桦花粉低温贮藏试验初报[J]. 浙江林业科技, 2007, 27 (6): 49-52.
- [7] 程伟, 赵志刚, 曾杰, 等. 西南桦花粉离体萌发的适宜条件与萌发特征[J]. 林业科学研究, 2007, 20 (2): 209-212.

-
- [8] 李秉玲, 尚晓倩, 刘燕. 芍药花粉超低温保存4年后的生活力检测[J]. 北京林业大学学报, 2008, 30 (6) : 145 – 147.
- [9] 郭蓓, 史芳芳, 李晨, 等. 20个荷花品种花粉活力测定及贮藏研究[J]. 河南科学, 2014, 32 (1) : 29 – 32.
- [10] 刘宝, 赵志刚, 程伟, 等. 光皮桦花粉离体萌发试验[J]. 广西植物, 2009, 29 (2) : 264 – 268.
- [11] 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.
- [12] 杨盛美, 宋维希, 唐一春, 等. 茶组植物花粉生活力测定及种间杂交研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26 (8) : 115 – 118.
- [13] 黄永芳, 吴雪辉, 何美儿, 等. 3种油茶植物花粉贮藏及生活力的研究[J]. 福建林学院学报, 2011, 31 (1) : 56 – 59.
- [14] 刘宝, 曾杰, 程伟, 等. 木本植物花粉采集、贮藏与活力检测的研究进展[J]. 广西林业科学, 2008, 37 (2) : 76 – 79.