

## 悬铃木花粉生活力及贮藏力的研究

李志能, 刘国锋, 罗春丽, 包满珠\*

(园艺植物生物学教育部重点实验室, 华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070)

**摘要:** 以30~40年生悬铃木(*Platanus acerifolia*)的花粉为试材,研究了不同培养基对其萌发的作用,同时探讨了不同贮藏条件和贮藏时间对花粉生活力的影响。结果表明:悬铃木花粉在15%蔗糖+0.01%硼酸的培养基上培养24 h后萌发率最高;附加琼脂的固体培养基对花粉的萌发影响不大;50 mg/L的赤霉素对悬铃木花粉的萌发没有明显的抑制或促进作用;花粉干燥后在低温4℃下贮藏能保持较长的生活力,比未经干燥25℃和4℃下贮藏分别长35 d和20 d。

**关键词:** 悬铃木; 花粉; 生活力; 贮藏力

中图分类号: S722

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2006)01-0054-04

## Studies on the Pollen Vitality and Storage Capacity in *Platanus acerifolia*

LI Zhi-Neng, LIU Guo-Feng, LUO Chun-Li, BAO Man-Zhu\*

(Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education; College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** The effects of different culture media, preservation condition and time on the germination of pollens collected from 30-40 years old *Platanus acerifolia* tree were studied. The result showed that the pollen germinating percentage reached the highest after incubated for 24 h on the media supplemented with 15% sucrose and 0.01% Boric acid; solid medium supplemented with agar or 50 mg/L gibberelin ( $GA_3$ ) wielded little influence over pollen germination; the dry pollen preserved under the temperature of 4℃ retained the viability 35 days and 20 days longer than the fresh pollen preserved under the temperature of 25℃ and 4℃, respectively.

**Key words:** *Platanus acerifolia*; Pollen; Vitality; Storage capacity

悬铃木树型雄伟端庄、绿叶期叶大荫浓、树冠广阔、生长迅速、寿命长、易繁殖、萌芽力强、耐修剪;对土壤的适应能力强,能耐干旱、瘠薄,具有极强的抗烟抗尘能力,对城市环境的适应能力极强,故世界各国广泛应用,有“行道树之王”的美称<sup>[1]</sup>。但悬铃木每年春季新叶和球果落毛,严重污染环境。且易致人皮肤过敏、咳嗽等,影响人们的身体健康。因此,如何减灭它的球果成为大家关注的问题<sup>[2]</sup>。要从根本上解决悬铃木的果毛污染,只有通过育种手段,通过杂交育种培育三倍体悬铃木将是行之有效的方法。一旦选育出少果、无果品系,只需要引种,即可繁殖推广<sup>[3]</sup>。

在农业和林业的常规育种中,为了进行人工辅助授粉或杂交授粉,需要早期采集和贮藏花粉<sup>[4-9]</sup>。

悬铃木花粉在授粉之前必须进行花粉生活力的测定,以鉴定其质量。目前,关于花粉生活力鉴定的方法很多,主要有显微镜形态观测法、染色法、培养基发芽法<sup>[10]</sup>,其中染色法又有 TTC 染色法、醋酸洋红染色法、I-KI 染色法等。染色法虽然操作简便,但其测定误差相对较大。而培养基发芽法应用较为普遍,并且其测定结果比较精确可靠<sup>[4,11,12]</sup>,但不同植物花粉萌发的时间不同,适合萌发的条件也不同<sup>[11,13]</sup>。我们采用培养基发芽法来测定悬铃木花粉的生活力,研究适合花粉萌发的培养基类型及不同贮藏条件、贮藏时间对悬铃木花粉生活力的影响,为测定其花粉生活力提供一定的理论依据。因此研究花粉的生活力以及花粉适宜的贮藏条件,对悬铃木的遗传改良、育种操作、基因库的保持等具有重要意义。

收稿日期:2005-08-09,修回日期:2005-11-23。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371015);教育部重点资助项目(03117);教育部新世纪人才计划项目;华中农业大学科技创新基金(03082)资助。

作者简介:李志能(1980-),男,湖北孝感人,博士研究生,从事园林植物遗传育种与生物技术研究。

\* 通讯作者(E-mail:mzbao@mail.hzau.edu.cn)。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

实验中测定的花粉于 4 月中旬采自华中农业大学 30~40 年生的悬铃木 (*Platanus acerifolia*) 同一单株相同时期的盛花期花粉。

### 1.2 方法

花粉生活力的测定采用培养基发芽法<sup>[14]</sup>: 配制所需蔗糖浓度的培养基, pH 值调至 5.8~6.0。滴 1 滴于载玻片上, 取少量悬铃木花粉置于滴液 (液体培养基) 中, 用大头针搅拌均匀, 或者将花粉均匀撒播在固体培养基上; 然后将玻片放在有湿滤纸的培养皿中, 盖上皿盖, 一起放入 27℃ 的培养箱内, 定期取出, 于显微镜下观察统计发芽率。每处理重复 5 次, 每重复镜检 3 个视野 (每个视野花粉数  $\geq 50$ )。花粉萌发率 = 某视野萌发花粉数 / 该视野统计花粉总数  $\times 100\%$ 。

**1.2.1 花粉萌发时间的确定** 悬铃木花粉在简单培养基 (10% 蔗糖 + 1% 硼酸) 上培养, 隔 2、6、12、24、28 h 后, 分别观察统计悬铃木花粉的萌发率, 以确定悬铃木花粉萌发的最适观察统计时间。

**1.2.2 花粉萌发最适培养基 (含蔗糖和硼酸) 的确定** 配置 6 种液体培养基, 分别是: 0.001% 硼酸 + 5% 蔗糖; 0.001% 硼酸 + 10% 蔗糖; 0.001% 硼酸 + 15% 蔗糖; 0.01% 硼酸 + 5% 蔗糖; 0.01% 硼酸 + 10% 蔗糖; 0.01% 硼酸 + 15% 蔗糖。培养时间为上述确定的最佳观测时间, 分别观察统计花粉在各种培养基上的萌发率, 以确定适合悬铃木花粉萌发的最佳培养基。

**1.2.3 在不同培养基、不同贮藏条件和贮藏时间下的花粉萌发实验** 取悬铃木花粉在最佳培养基上, 经最适时间培养后, 观察固体培养基 (加 1% 的琼脂) 和液体培养基 (不加琼脂) 上花粉的萌发率, 比较两种培养基上的花粉萌发率。配制 50 mg/L 赤霉素 ( $GA_3$ ) + 最佳培养基, 经最适时间培养后, 观察比较悬铃木花粉在该培养基与原最佳培养基上的萌发率。将盛花期的悬铃木花粉装入小瓶中, 分别置于室温 (25℃) 和低温 (4℃) 两种条件下保存, 每隔一定时间取少量的花粉播种到培养基 (10% 蔗糖 + 1% 硼酸) 上, 27℃ 培养箱中培养后镜检, 统计花粉萌发率。

从花粉贮藏起开始测定生活力, 最初一周每隔 4 h 测定 1 次。之后间隔时间逐渐延长, 每天观察 1 次。15 d 后萌发率降至 1%~2% 左右, 改为每周观

察 1 次。直到 50 d 左右, 视野中很难找到萌发的花粉时停止观察。

## 2 结果与分析

### 2.1 悬铃木花粉萌发时间

悬铃木花粉在不同时间上的萌发率是有差异的。实验结果表明 (图 1): 前 6 h 基本上没有花粉萌发, 6~24 h, 随着时间的延长花粉的萌发率逐步提高, 24 h 后悬铃木花粉萌发率达到最高, 为 88.56%, 28 h 后观察结果与 24 h 相近, 花粉的萌发率趋于平稳, 说明 24 h 有生活力的花粉已萌发完毕, 不再随时间的延长而提高萌发率, 故随后的实验均在培养 24 h 后统计花粉生活力。

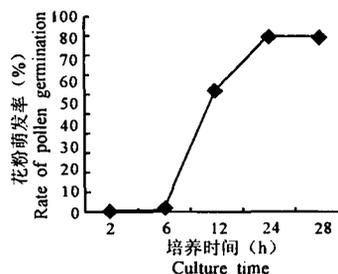


图 1 培养时间对花粉生活力的影响

Fig. 1 Effect of culture time on pollen viability

### 2.2 适宜花粉萌发的最佳培养基 (含蔗糖和硼酸)

悬铃木在不同培养基上的萌发率不同。实验结果表明 (图 2): 花粉在 15% 蔗糖 + 0.01% 硼酸的培养基上萌发率最高, 在 5% 蔗糖 + 0.001% 硼酸的培养基上萌发率最低; 蔗糖浓度相等的条件下, 在含硼酸 0.01% 的培养基上的萌发率大约是在含硼酸 0.001% 的培养基上的 2 倍; 硼酸浓度相等的条件下, 悬铃木花粉在 5% 蔗糖的培养基上比在 10% 和 15% 蔗糖的培养基上的萌发率低。

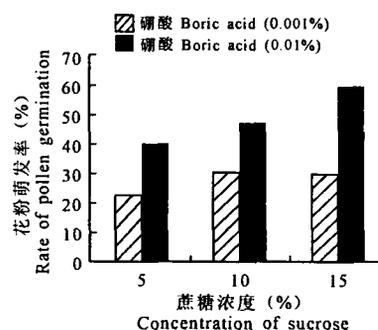


图 2 不同培养基对花粉萌发率的影响

Fig. 2 Effect of different media on pollen germination

**2.3 琼脂对悬铃木花粉萌发的影响** 以 2.2 确定的最佳培养基 (15% 蔗糖 + 0.01% 硼酸) 为液体培

培养基,在其上加上1%的琼脂作为固体培养基。取悬铃木花粉在两种培养基上培养,在最佳观测时间24 h后观测,比较固体培养基和液体培养基对花粉萌发的影响。实验结果表明:悬铃木花粉在液体培养基上的平均萌发率为58.36%,固体培养基上平均萌发率为54.70%,两者间不存在显著差异。说明在发芽培养基中是否加琼脂对悬铃木花粉萌发没有影响。

**2.4 赤霉素对悬铃木花粉萌发的影响** 以2.2确定的最佳培养基为对照,观察花粉在50 mg/L赤霉素(GA<sub>3</sub>) + 最佳培养基(15%蔗糖 + 0.01%硼酸)上的萌发率。实验结果表明(表1):悬铃木花粉在两种培养基上的平均萌发率分别为56.27%、54.86%,说明该浓度的赤霉素对悬铃木花粉的萌发没有明显的促进或抑制作用。

表1 赤霉素对悬铃木花粉萌发的影响  
Table 1 Effects of GA<sub>3</sub> on pollen germination

培养基类型 Type of media	平均萌发率(%) The average rate of pollen germination
15% sucrose + 0.01% boric acid	56.27
50 mg/L GA <sub>3</sub> + 15% sucrose + 0.01% boric acid	54.86

**2.5 不同贮藏条件和贮藏时间对悬铃木花粉生活力的影响** 为了探讨悬铃木花粉采收后的贮藏条件和最迟授粉时间,实验中研究了不同贮藏时期和贮藏温度与干湿度条件对花粉生活力的影响。实验结果表明(图3):悬铃木花粉萌发率不但随贮藏时间的延长而下降,与贮藏条件也有密切关系。无论是低温还是室温,贮藏的花粉萌发率均随贮藏天数的增加而迅速降低。对于贮藏相同时间的悬铃木花粉来说,低温下贮藏花粉萌发率高于室温下贮藏的花粉萌发率;对于均在低温下贮藏的花粉,干燥后的比未经干燥而采后立即贮藏的花粉萌发率高。

未经干燥在室温下贮藏的花粉萌发率到第3 d就下降到10%以下,仅为8.69%,到第5 d就不到1%了,以后的萌发率几乎为0;未经干燥在4℃低温下贮藏的花粉到25 d后萌发率不到1%,以后的萌发率几乎为0;干燥后在4℃低温下贮藏的花粉萌发率一直都高于前两种,直到第30 d还有13.82%的萌发率,第50 d时萌发率才渐趋于0。

贮藏1 d后,3种贮藏条件下的花粉萌发率下降幅度相同,但以后室温和低温未干燥的花粉萌发率下降幅度都快于低温干燥条件下的花粉萌发率,而且室温未干燥的花粉萌发率下降得最快,第3 d有显著下降。说明低温可以适当延长悬铃木花粉的寿

命,而采后经干燥过的花粉在低温条件下贮藏寿命最长。

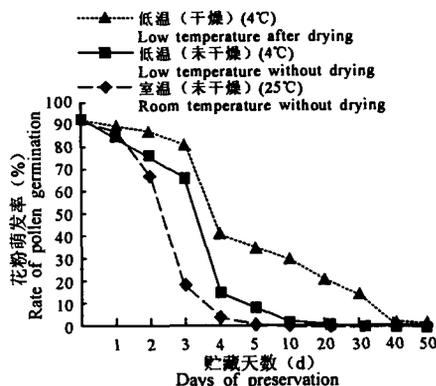


图3 不同贮藏条件和贮藏时间对花粉萌发率的影响

Fig.3 Effect of various preservation condition and time on pollen germination

### 3 结论与讨论

(1) 通过悬铃木花粉萌发梯度时间实验,确定悬铃木花粉的最佳萌发时间为24 h,之后趋于稳定,说明24 h是观察统计悬铃木花粉萌发率的最佳时间,本次实验结果为以后选择观察悬铃木花粉萌发率的时间提供了参考依据。

(2) 实验在含蔗糖和硼酸的基础上,比较不同蔗糖浓度和硼酸浓度对悬铃木花粉萌发的影响,得出悬铃木花粉在15%蔗糖 + 0.01%硼酸的培养基上萌发率最高,其次为10%蔗糖和0.01%硼酸的培养基。但对于一些复杂的培养基来说,是否蔗糖浓度为15%、10%,硼酸浓度为0.01%很适合悬铃木花粉的萌发,还需进一步研究。

(3) 实验在50 mg/L赤霉素(GA<sub>3</sub>) + 15%蔗糖 + 0.01%硼酸的培养基上,观察比较悬铃木花粉在该培养基与原最佳培养基(15%蔗糖 + 0.01%硼酸)上的萌发率,结果发现该浓度的赤霉素对悬铃木花粉的萌发没有明显的促进或抑制作用。但是否其它浓度的赤霉素对悬铃木花粉的萌发有促进或抑制作用,还需进一步实验观察;且对于不同的植物种类花粉萌发的最适赤霉素浓度都有不同,也有待进一步研究<sup>[15,16]</sup>。

(4) 本实验中悬铃木花粉在4℃贮藏条件下,前3 d萌发率较高(>60%),而在25℃条件下,第3 d花粉萌发率从65.32%降至17.89%,并且5 d后生活力为0。故4℃贮藏条件下前3 d盛花期的花粉生活力最高,是最合适的授粉材料。无论是低温还是室温,悬铃木花粉生活力都随时间的延长而下

降,且室温下下降得最快,低温干燥贮藏的花粉能保持较长的生活力时间。据有关资料报道,是因为花粉在贮藏过程中,仍然要进行新陈代谢的生命活动,低温贮藏中可溶性糖类和有机酸类消耗较少,所以花粉生活力下降得较慢;而低温干燥条件更减弱了花粉的代谢作用,故能保持较长的生活力时间<sup>[17,18]</sup>。真空干燥超低温保存(如-20℃)对悬铃木花粉生活力的影响有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990. 400-403.
- [2] 刘应安, 周守标, 张学武. 悬铃木球果的减灭试验[J]. 林业科技开发, 1996, 3: 21-22.
- [3] 王军. 优良品种选优少果无果悬铃木[J]. 花卉园艺, 2000: 17.
- [4] 起树仁. 番茄花粉超低温保存的研究[J]. 园艺学报, 1993, 20(1): 66-70.
- [5] 王钦丽, 卢龙斗, 吴小琴, 陈祖铿, 林金星. 花粉的保存及其生活力测定[J]. 植物学通报, 2002, 19(3): 365-373.
- [6] 周莉, 代力民. 丁香花粉生命力及贮藏力的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2003, 34(1): 16-19.
- [7] 赖焕林, 陈天华, 徐进, 姜广奎. 马尾松种子园无性系花粉生活力研究[J]. 林业科学研究, 1994, 7(5): 555-560.
- [8] Jóhannsson M H, Stephenson A G. Variation in sporophytic and gametophytic vigor in wild and cultivated varieties of *Cucurbita pepo* and their F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> generations[J]. *Sex Plant Reprod*, 1998, 11: 265-271.
- [9] Jóhannsson M H, Stephenson A G. Effects of pollination intensity on the vigor of the sporophytic and gametophytic generation of *Cucurbita texana*[J]. *Sex Plant Reprod*, 1997, 10: 236-240.
- [10] 邢世岩, 有祥亮, 李可贵, 董金伟. 银杏雄株开花生物学特性的研究[J]. 林业科学, 1998, 34(3): 51-58.
- [11] 李志军, 于军, 徐崇志, 徐雅丽, 段黄金. 胡杨、灰叶胡杨花粉成分及生活力的比较研究[J]. 武汉植物学研究, 2002, 20(6): 453-456.
- [12] Tejaswini. Variability of pollen grain features: a plant strategy to maximize reproductive fitness in two species of *Dianthus*[J]. *Sex Plant Reprod*, 2002, 14: 347-353.
- [13] 刘永庆. 葫芦科蔬菜花粉萌发特性的研究[J]. 武汉植物学研究, 1994, 12(3): 212-216.
- [14] 何凤仙. 植物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001. 7.
- [15] 张义, 王亚莉. 低温下矿质营养和植物生长调节剂对红叶李花粉萌发的影响[J]. 山西果树, 2003(5): 8-9.
- [16] 赵春香, 彭乃容, 李新福, 黄艳珍. 龙眼花粉生活力的研究[J]. 福建果树, 2002(总第123期): 8-10.
- [17] 郭荫槐, 姜辉. 沙棘花粉生活力测定和贮藏试验[J]. 辽宁林业科技, 1995(1): 28-30.
- [18] 梁建萍, 韩有志, 梁胜发, 王月娥. 丁香花粉生活力及其贮藏性的研究[J]. 山西林业科技, 2000(1): 10-12.