

网络出版时间:2020-11-25 16:59 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2021.05.016
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20201125.1136.013.html

蜂糖李花粉离体萌发及活力保存研究

高倩^a, 黄榜^a, 张安平^a, 李悦^b, 陈红^a

(贵州大学 a 贵州省果树工程技术研究中心, b 科技学院, 贵州 贵阳 550025)

【摘要】【目的】明确蜂糖李花粉活力影响因素和贮藏特性,为蜂糖李花粉的保存提供支持。【方法】以蜂糖李花粉为研究对象,青脆李花粉为对照,采用离体培养萌发法,研究不同质量浓度蔗糖、 H_3BO_3 、植物生长调节剂(NAA、 GA_3 和 6-BA)以及不同贮藏方式(4℃低温干燥、-20℃冷冻干燥及蔗糖密封保存)对 2 种李花粉活力的影响。【结果】蜂糖李和青脆李花粉萌发及花粉管生长的最佳培养基组合为 150 g/L 蔗糖+0.10 g/L H_3BO_3 +10 g/L 琼脂,在此条件下花粉萌发率分别为 53.68% 和 57.06%,花粉管长度分别为 1 554.70 和 1 353.43 μm ,均无较大差异。10~30 mg/L NAA 能极显著提高蜂糖李的花粉萌发率;但所有 NAA 处理均极显著抑制其花粉管的生长;不同质量浓度 GA_3 均可极显著促进蜂糖李花粉的萌发,且 20 和 50 mg/L GA_3 可极显著促进其花粉管生长;5~10 mg/L 6-BA 能极显著提高蜂糖李花粉萌发率,质量浓度达 20 mg/L 时会极显著抑制其花粉管伸长。蔗糖密封保存能有效减缓 2 种李花粉活力的下降速度,延长花粉贮藏时间;贮藏至 20 d 时,蔗糖密封保存的蜂糖李花粉萌发率(39.54%)分别是 4℃低温干燥保存、-20℃冷冻干燥保存的 2.11 和 1.94 倍。【结论】蜂糖李最适花粉萌发和花粉管生长培养基组分为 150 g/L 蔗糖+0.10 g/L H_3BO_3 +10 g/L 琼脂; GA_3 是最适宜的植物生长调节剂,20 和 50 mg/L GA_3 能同时促进蜂糖李花粉萌发和花粉管生长;花粉保存以蔗糖密封保存方式为宜。

【关键词】蜂糖李;花粉活力;离体萌发;花粉管长度;花粉保存

【中图分类号】S662.3

【文献标志码】A

【文章编号】1671-9387(2021)05-0123-07

Pollen *in vitro* germination and vitality storage of Fengtang plum

GAO Qian^a, HUANG Bang^a, ZHANG Anping^a, LI Yue^b, CHEN Hong^a

(a Guizhou Engineering Research Center for Fruit Crops, b College of Science and Technology,
Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: 【Objective】This study clarified factors affecting pollen viability and storage characteristics to improve storage of Fengtang pollen. 【Method】Fengtang plum pollen was studied using Qingcui plum as control. The effects of sucrose, H_3BO_3 , plant growth substances (NAA, GA_3 and 6-BA) at different concentrations and storage methods (4℃ low temperature drying preservation, -20℃ freeze dried preservation and sucrose sealing) on pollen activity were studied using pollen *in vitro* culture. 【Result】The most suitable medium for pollen germination rate and pollen tube length of Fengtang and Qingcui plum was 150 g/L sucrose+0.10 g/L H_3BO_3 +10 g/L agar. The obtained germination rates of Fengtang and Qingcui plum were 53.68% and 57.06% and pollen tube lengths were 1 554.70 μm and 1 353.43 μm , respectively. There was no significant differences in germination rate and pollen tube length of Fengtang and Qingcui plum. NAA with concentrations of 10—30 mg/L significantly improved germination of Fengtang plum, while NAA significantly inhibited its pollen tube length; Different concentrations of GA_3 very significantly pro-

【收稿日期】2020-04-20

【基金项目】贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2016]2521号);贵州省生物学一流学科建设项目(GNYL[2017]009)

【作者简介】高倩(1996—),女,贵州盘州人,在读硕士,主要从事果树种质资源研究与利用研究。E-mail:2923425135@qq.com

【通信作者】陈红(1975—),男,重庆潼南人,副教授,博士,主要从事生物技术与园艺植物遗传育种研究。

E-mail:chenh96@aliyun.com

moted germination rate of Fengtang plum, and it improved pollen tube growth at concentrations of 20 and 50 mg/L. The 6-BA with concentrations of 5—10 mg/L very significantly promoted germination of Fengtang plum, while it inhibited pollen tube length at the concentration of 20 mg/L. Sucrose sealing can effectively reduce decrease of pollen vigor of Fengtang and Qingcui plum, and storage time was extended. Twenty days after sucrose sealed storage, Fengtang plum had the highest germination rate of 39.54%, which was 2.11 and 1.94 times higher than 4 °C and -20 °C, respectively. 【Conclusion】 The optimal culture media for pollen germination rate and tube length of Fengtang plum was 150 g/L sucrose+0.10 g/L H_3BO_3 +10 g/L agar. GA_3 was the proper plant growth substance and it promoted germination rate and tube growth at concentrations of 20 and 50 mg/L. Sealing with sucrose was the optimal for pollen storage.

Key words: Fengtang plum; pollen vitality; *in vitro* germination; pollen tube length; pollen storage

蜂糖李为李树新良种,果实品质优良,受到众多消费者青睐,市场经济价值极高,现已发展成为具有贵州地域特色的优势产业,近年来在我国其他一些省份也具有了一定知名度。但关于蜂糖李的研究还处于初级阶段,许多生产上的难题还未解决,其中以坐果率低的问题最为突出。蜂糖李自花结实率低,花粉活力是否是造成坐果率低的原因,目前尚不明晰。生产上通过配置授粉树、人工辅助授粉和花期化控等措施^[1-2],使坐果率有一定程度的提高。蜂糖李还可作为杂交育种的优良种质资源,而较高的花粉活力是开展育种工作的基础,因为花粉活力直接关系到授粉受精过程。花粉活力除与自身质量有关外,也会受到外界条件的影响^[3]。因此可通过人为筛选有利于花粉萌发和花粉管生长的环境条件,研究其影响机理,对提高授粉受精成功率具有重要意义,也可以为生产上的花期化控和杂交育种^[4]提供理论参考。但李品种间的花期常常不一致,并且在自然状态下花粉寿命通常较短,这增加了杂交授粉的难度。开展花粉贮藏性研究,可克服花期不遇的问题,能为李的跨时间和跨地域杂交授粉提供有利条件。

目前,有关李花粉活力的研究很多^[5-7],但多集中在花粉活力测定、矿质营养和植物生长调节剂对花粉萌发率的影响及花粉贮藏期间温度对花粉活力的影响等方面。而将花粉管长度作为花粉活力评价指标,对影响花粉管长度因素的研究以及花粉贮藏过程湿度影响的研究较少,关于蜂糖李花粉活力的研究尚未见系统性的研究报道。基于此,本研究分析了蔗糖、 H_3BO_3 和植物生长调节剂(NAA、 GA_3 和 6-BA)对蜂糖李花粉萌发率和花粉管长度的影响,并探讨了贮藏方式对花粉活力的影响,筛选花粉离体萌发的最佳培养基组分和最适宜贮藏方式,以为蜂糖李的杂交育种和花期化控研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料蜂糖李以及坐果率高的对照品种青脆李,均取自贵州省黔南州惠水县断杉镇大坡村蜂糖李栽培果园基地,基地面积 200 hm^2 ,海拔 1 080 m,果园土壤为沙性土壤,pH 5.5~6.5;株行距 3 m×4 m,树龄 5 年。2019 年 2 月 22 日,在蜂糖李和青脆李进入大蕾期时,分别采集树冠外围中部东南西北各方位的一年生枝条带回实验室备用。

1.2 花粉采集和贮藏试验

摘取大蕾期的花朵,剥离出花药,置 25 °C 恒温培养箱内散粉。待花粉散出后用孔径 100 μm (150 目)的标准检验筛过筛,分装在指形管内。在管内放置变色硅胶,将花粉分别置于 4 °C 低温和 -20 °C 冷冻条件下干燥贮藏。将蔗糖磨细后用孔径 125 μm (120 目)的标准检验筛过筛,与花粉按体积比 5:1 的比例混匀,装至指形管 2/3 处,剩余 1/3 用过筛后的蔗糖填满作为蔗糖密封保存处理。于贮藏 0,5,10,15,20 d 取样,分析 3 种贮藏方式对花粉萌发的影响。

1.3 花粉活力试验

1.3.1 培养基筛选 培养基组分为琼脂(质量浓度均为 10 g/L)、蔗糖、 H_3BO_3 ,pH 均为 5.8,取 -20 °C 保存的新鲜花粉进行试验。为研究不同质量浓度蔗糖和 H_3BO_3 对蜂糖李、青脆李花粉活力的影响,设计二因子四水平的全因子试验(表 1)及单因素试验,以筛选蔗糖和 H_3BO_3 的最佳质量浓度。

1.3.2 植物生长调节剂对花粉活力的影响 筛选出最佳培养基组分后,在培养基 pH 为 5.8、培养温度 25 °C、暗培养时间 12 h 的条件下,研究植物生长调节剂 NAA、 GA_3 、6-BA 对 2 种李花粉(-20 °C 下保存材料)活力的影响,其中 NAA 质量浓度设为

10,20,30,40 mg/L 4 个梯度,GA₃ 质量浓度设为 20,30,50,80 mg/L 4 个梯度,6-BA 质量浓度设为 5,10,15,20 mg/L 4 个梯度。分别单独进行单因素试验,统计花粉萌发率并测定花粉管长度,筛选单个植物生长调节剂的最佳质量浓度。在研究某个植物生长调节剂时,同时以不加该调节剂作为对照,NAA、GA₃、6-BA 对照分别记为 CK1、CK2 和 CK3。

表 1 蔗糖和 H₃BO₃ 对李花粉活力影响的全因子试验方案

Table 1 Experimental design for effects of sucrose and H ₃ BO ₃ on plum pollen activity g/L		
水平 Level	因素 Factor	
	蔗糖 Sucrose	H ₃ BO ₃
1	50	0.10
2	100	0.15
3	150	0.20
4	200	0.30

1.3.3 花粉活力测定与分析 采用离体培养萌发法^[8],将配制好的培养基滴在双凹载玻片上,凝固后用发丝进行花粉的均匀播种,将玻片置于有湿润滤纸的培养皿中,25℃恒温培养箱暗培养 12 h 后,用 OLYMPUS(BX63)显微镜于 10 倍镜下观察花粉萌发情况并测定花粉管长度,将花粉管长度大于花粉

粒直径视为萌发^[9],计算萌发率。每处理 3 次重复,每重复随机观察 10 个视野,每视野观察 50 个以上花粉粒,每重复测量 15 个花粉管长度。

1.4 数据处理

采用 Excel 2010 和 SPSS 23.0 进行数据的统计与分析,用 Origin 2016 绘图。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对蜂糖李花粉活力的影响

由表 2 可知,蜂糖李和青脆李的花粉萌发率及花粉管长度在蔗糖、H₃BO₃ 及二者交互作用下表现出极显著差异,说明蔗糖和 H₃BO₃ 对其花粉活力有明显的影响。三者对蜂糖李花粉萌发率和花粉管长度的影响强度分别表现为:蔗糖>蔗糖×H₃BO₃>H₃BO₃,蔗糖>H₃BO₃>蔗糖×H₃BO₃,说明蔗糖对蜂糖李花粉萌发和花粉管伸长作用最大;三者对青脆李花粉萌发和花粉管长度的影响程度分别表现为:蔗糖>蔗糖×H₃BO₃>H₃BO₃,H₃BO₃>蔗糖×H₃BO₃>蔗糖,说明 H₃BO₃ 对青脆李花粉管伸长作用更为明显。

表 2 不同质量浓度蔗糖和 H₃BO₃ 对 2 种李花粉活力影响的方差分析(主体间效应的检验)

Table 2 Variance analysis of two plum pollen viability under different concentrations of sucrose and H ₃ BO ₃ (test of effect inter-subjectivity)									
品种 Variety	源 Source	df		Ⅲ型平方和 Type Ⅲ sum of squares		均方 Mean square		F	
		萌发率 Germination rate	花粉管长度 Pollen tube length	萌发率 Germination rate	花粉管长度 Pollen tube length	萌发率 Germination rate	花粉管长度 Pollen tube length	萌发率 Germination rate	花粉管长度 Pollen tube length
蜂糖李 Fengtang plum	校正模型 Corrected model	15	15	13 520.125	43 620 006.00	901.342	2 908 000.402	12.132 ***	14.642 ***
	蔗糖 Sucrose	3	3	6 038.015	16 001 543.59	2 012.672	5 333 847.863	27.091 ***	26.857 ***
	H ₃ BO ₃	3	3	1 866.421	12 564 257.58	622.140	4 188 085.861	8.374 ***	21.088 ***
	蔗糖×H ₃ BO ₃ Sucrose×H ₃ BO ₃	9	9	3 583.656	8 625 092.79	398.184	958 343.644	5.360 ***	4.825 ***
青脆李 Qingcui plum	校正模型 Corrected model	15	15	21 272.404	28 875 561.60	1 418.160	1 925 037.440	27.837 ***	11.389 ***
	蔗糖 Sucrose	3	3	10 595.961	6 620 067.72	3 531.987	2 206 689.241	69.330 ***	13.055 ***
	H ₃ BO ₃	3	3	3 012.803	13 021 992.35	1 004.268	4 340 664.116	19.713 ***	25.680 ***
	蔗糖×H ₃ BO ₃ Sucrose×H ₃ BO ₃	9	9	6 350.344	7 819 094.24	705.594	868 788.249	13.850 ***	5.140 ***

注:***表示差异达极显著水平(P<0.001)。
Note: *** means significant difference (P<0.001).

不同培养基对 2 种李花粉活力的影响见表 3。由表 3 可知,蜂糖李花粉萌发率最高的培养基组分为 100 g/L 蔗糖+0.20 g/L H₃BO₃,萌发率可达 61.47%;青脆李花粉萌发率最高的培养基组分为 150 g/L+0.2 g/L H₃BO₃,萌发率为 68.00%,与培养基为 100 g/L 蔗糖+0.20 g/L H₃BO₃ 的萌发率

无显著差异,因此认为 2 种李花粉萌发的最适培养基为 100 g/L 蔗糖+0.20 g/L H₃BO₃。2 种李花粉管伸长的最佳培养基组分均为 150 g/L 蔗糖+0.10 g/L H₃BO₃。由表 3 可知,2 种李花粉萌发率随着蔗糖质量浓度升高而呈现先上升后下降趋势,说明过低或过高质量浓度蔗糖均不利于 2 种李花粉的萌

发;花粉萌发率随 H₃BO₃ 质量浓度上升总体呈 V 字形变化。花粉管长度随蔗糖质量浓度升高而变长,在蔗糖质量浓度为 150 g/L 时达到峰值,质量浓度继续上升花粉管变短;花粉管长度随 H₃BO₃ 质量浓度升高逐渐变短,说明高质量浓度 H₃BO₃ 会抑制花粉管的伸长。

由表 3 可见,在 150 g/L 蔗糖 + 0. 10 g/L H₃BO₃ 培养基中,2 种李花粉管均最长,且该培养条件下的花粉萌发率与最适花粉萌发培养基培养条件下的花粉萌发率无显著差异。综合考虑,最佳基本培养基组分为 150 g/L 蔗糖 + 0. 10 g/L H₃BO₃,在此基础上进行后续单因素植物生长调节剂试验。

表 3 不同培养基对蜂糖李和青脆李花粉萌发率及花粉管长度的影响
Table 3 Effects of different media on germination and pollen tube length of Fengtang and Qingcui plum

蔗糖质量浓度/ (g · L ⁻¹) Sucrose concentration	H ₃ BO ₃ 质量浓度/ (g · L ⁻¹) H ₃ BO ₃ concentration	蜂糖李 Fengtang plum		青脆李 Qingcui plum	
		花粉萌发率/% Germination rate	花粉管长度/μm Pollen tube length	花粉萌发率/% Germination rate	花粉管长度/μm Pollen tube length
50	0. 10	54. 19±3. 33 abAB	843. 37±158. 56 cdCD	60. 82±3. 66 abAB	982. 98±104. 22 bcB
100	0. 10	58. 46±2. 63 abAB	1 244. 86±196. 33 abAB	64. 01±2. 66 abAB	1 018. 92±160. 93 bAB
150	0. 10	53. 68±2. 81 abAB	1 554. 70±144. 31 aA	57. 06±1. 38 bcBC	1 353. 43±136. 88 aA
200	0. 10	34. 36±4. 50 cC	734. 21±73. 71 cdCD	26. 75±1. 55 dD	611. 80±41. 57 cdC
50	0. 15	60. 16±4. 07 abA	416. 45±43. 93 deD	54. 91±2. 57 bcBC	612. 10±60. 97 cdC
100	0. 15	55. 89±2. 32 abAB	812. 68±124. 07 cdCD	59. 50±2. 54 bB	757. 51±78. 24 bcBC
150	0. 15	40. 50±2. 54 cBC	1 234. 30±120. 70 bAB	48. 72±3. 28 cC	879. 93±74. 48 bcBC
200	0. 15	24. 10±0. 85 dC	866. 85±68. 75 cC	26. 88±2. 12 dD	589. 06±61. 19 cdCD
50	0. 20	53. 99±2. 98 abAB	540. 81±51. 99 dD	54. 68±2. 46 bcBC	371. 62±32. 30 dD
100	0. 20	61. 47±3. 43 aA	863. 21±92. 33 cC	62. 97±2. 18 abAB	639. 84±84. 12 cdC
150	0. 20	58. 78±1. 14 abA	1 220. 59±110. 17 bcB	68. 00±1. 51 aA	791. 27±86. 12 bcBC
200	0. 20	53. 31±2. 14 bAB	1 296. 91±155. 55 abAB	51. 09±3. 69 cBC	739. 90±70. 27 cBC
50	0. 30	47. 41±1. 75 bcB	318. 77±25. 32 eD	50. 74±1. 99 cC	339. 93±33. 42 dD
100	0. 30	58. 56±2. 89 abA	703. 38±91. 08 cdCD	67. 71±2. 25 aAB	559. 66±61. 48 cdCD
150	0. 30	59. 78±1. 48 abA	637. 11±68. 21 cdCD	57. 71±2. 51 bcBC	494. 31±48. 26 dCD
200	0. 30	47. 33±3. 16 bcB	636. 30±30. 08 cdCD	57. 07±2. 23 bcBC	516. 35±58. 90 dCD

注:数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。下表同。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference at $P<0.05$ level and different uppercase letters indicate significant difference at $P<0.01$ level. The same below.

2.2 植物生长调节剂对蜂糖李花粉活力的影响

由表 4 可知,随着 NAA 质量浓度的升高,蜂糖李的萌发率呈先增大后减小的趋势,在 NAA 质量浓度增至 20 mg/L 时,蜂糖李花粉萌发率最高,为 74.03%,是对照的 1.39 倍。说明 NAA 对蜂糖李萌发的影响作用是双重的,超出适宜范围会表现出抑制作用,其最适 NAA 质量浓度为 10~30 mg/L。对青脆李而言,其花粉萌发率则随 NAA 质量浓度的增大而逐渐降低。2 种李花粉管长度均随着 NAA 质量浓度的升高而变短,说明 NAA 可以抑制花粉管的伸长,且质量浓度越高抑制作用越显著。花粉萌发过程中,与对照品种青脆李相比,蜂糖李能适应更大质量浓度范围的 NAA。

表 4 显示,在本试验的质量浓度范围内,GA₃ 均可以极显著地促进蜂糖李花粉的萌发。对青脆李

而言,在 GA₃ 质量浓度为 30 mg/L 时可以极显著促进其花粉萌发。GA₃ 质量浓度为 20 和 50 mg/L 时,蜂糖李花粉管长度极显著长于对照。总体而言,本试验 GA₃ 处理对青脆李花粉管长度无显著影响,但能同时促进蜂糖李花粉萌发和花粉管生长。

由表 4 还可知,6-BA 质量浓度为 5~10 mg/L 时,蜂糖李萌发率均极显著高于对照,以 5 mg/L 时的萌发率最高,为 69.68%,比对照提高了 38.61%。6-BA 质量浓度≥10 mg/L 时,青脆李花粉萌发率均极显著低于对照。6-BA 质量浓度达 20 mg/L 时,蜂糖李花粉管长度极显著低于对照,为 397.67 μm,比对照降低了 63.56%。总体而言,本试验所有 6-BA 质量浓度处理抑制了青脆李花粉萌发和花粉管的生长,而适宜质量浓度的 6-BA 能促进蜂糖李的花粉萌发。

表 4 植物生长调节剂对蜂糖李和青脆李花粉萌发率及花粉管长度的影响

Table 4 Effects of plant growth substances on germination and pollen tube length of two plum varieties

生长调节剂 Growth substance	质量浓度/ (mg·L ⁻¹) Concentration	蜂糖李 Fengtang plum		青脆李 Qingcui plum	
		花粉萌发率/% Germination rate	花粉管长度/μm Pollen tube length	花粉萌发率/% Germination rate	花粉管长度/μm Pollen tube length
NAA	CK1	53.38±0.85 cB	875.49±99.43 aA	59.84±4.55 aA	980.96±112.97 aA
	10	71.44±2.38 aA	602.83±54.96 bB	58.73±2.90 aA	525.20±44.13 bB
	20	74.03±1.58 aA	380.40±16.46 cC	48.90±2.07 bB	390.15±29.14 cC
	30	70.07±1.58 aA	317.60±27.10 cC	43.28±2.55 bB	374.59±22.37 cC
	40	58.97±1.90 bB	308.59±21.84 cC	36.31±1.67 cC	358.20±35.46 cC
GA ₃	CK2	50.27±3.69 cC	898.45±100.65 bB	48.18±5.91 bB	956.92±148.94 aA
	20	62.95±2.75 bB	1 511.89±111.45 aA	54.60±3.18 abAB	1 217.08±123.72 aA
	30	73.37±2.39 aA	1 159.90±120.14 bAB	61.09±2.13 aA	1 111.77±102.98 aA
	50	69.23±1.09 aAB	1 425.58±126.04 aA	57.74±1.16 aAB	1 242.11±120.04 aA
	80	70.61±1.79 aAB	969.00±93.69 bB	58.23±1.36 aAB	1 029.87±96.43 aA
6-BA	CK3	50.27±3.70 cB	1 091.27±94.02 aA	54.73±5.27 aA	956.25±108.29 aA
	5	69.68±1.89 aA	750.59±68.10 aA	55.06±1.24 aA	611.94±35.98 bB
	10	67.51±1.83 abA	862.50±56.29 aA	42.16±2.81 bB	475.21±32.09 cC
	15	61.70±2.34 bAB	784.55±71.12 aA	32.36±1.12 cC	418.24±23.79 cC
	20	56.18±3.02 bcB	397.67±29.42 bB	23.94±3.18 dC	252.74±24.16 dD

2.3 不同贮藏方式对蜂糖李花粉萌发率的影响

不同贮藏方式对蜂糖李、青脆李花粉萌发率的影响情况如图 1 所示。图 1 显示,不同贮藏条件下,随贮藏时间的延长,2 种李的花粉萌发率均逐渐降低,但下降速度存在一定差异。4℃、-20℃和蔗糖密封保存条件下分别保存至 5 d 时,蜂糖李花粉萌发率分别降为 23.76%,42.75%和 43.92%,青脆李分别降为 18.29%,38.92%和 42.50%。其中均以蔗糖密封保存的花粉萌发率最高,4℃低温保存最低。说明花粉贮藏前期,萌发率表现出不稳定的状态,可能由环境骤变所导致。在贮藏的 10~20 d,4℃低温保存和蔗糖密封保存的 2 种李花粉萌发率的下降幅度趋于平缓状态;而-20℃冷冻保存的花粉

萌发率总体下降速度较快。至 20 d 时,4℃、-20℃干燥保存和蔗糖密封保存条件下,与新鲜花粉相比,蜂糖李花粉萌发率分别下降了 62.88%,59.65%和 21.72%;青脆李花粉萌发率分别下降了 73.50%,59.77%和 25.30%。也以蔗糖密封保存的花粉萌发率下降幅度最小,说明蔗糖密封保存可有效减小花粉活力的下降速度,延长贮藏时间。蔗糖密封保存到 20 d 时,蜂糖李花粉萌发率分别是 4℃、-20℃处理的 2.11 和 1.94 倍;青脆李花粉萌发率分别是 4℃、-20℃处理的 2.82 和 1.86 倍。说明蔗糖密封保存是最适宜的李花粉贮藏方式。且不同贮藏方式下,蜂糖李与对照品种青脆李贮藏期间花粉活力的变化趋势相似。

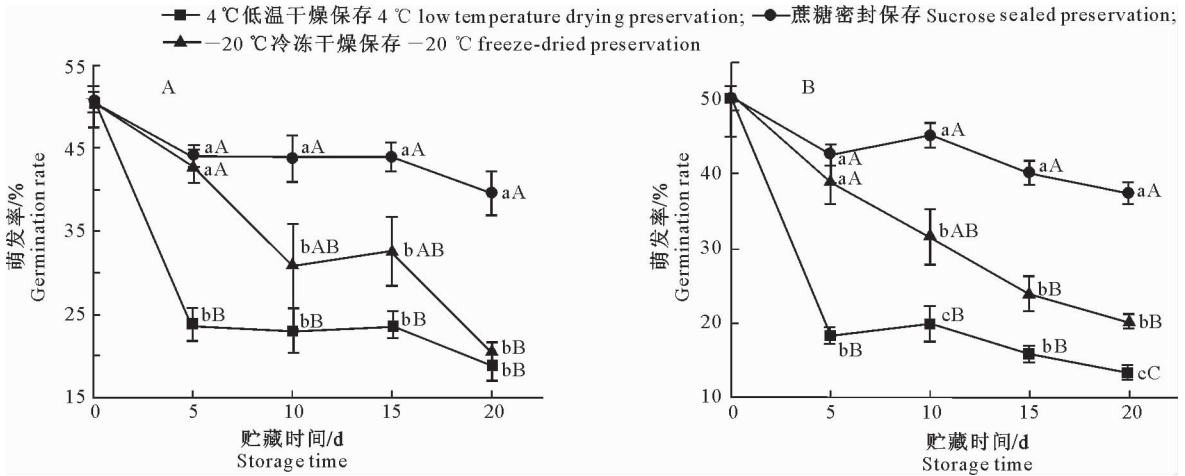


图 1 不同贮藏方式下蜂糖李(A)和青脆李(B)花粉活力的变化

Fig.1 Changes of Fengtang (A) and Qingcui (B) plum pollen germination rate under different storage methods

3 讨论与结论

适宜浓度的蔗糖和 H_3BO_3 对花粉萌发和花粉管生长具有明显促进作用,蔗糖作为营养物质,可在花粉萌发过程中提供能源,调节渗透压^[10]。 H_3BO_3 能和蔗糖形成络合物,促进糖分吸收利用^[11-12],还能作为微量元素影响酶的活性,进而参与花粉管壁形成和改变管壁的延展性,促进花粉的萌发和花粉管的伸长^[13-14]。本试验研究了蔗糖和 H_3BO_3 对蜂糖李与对照品种青脆李花粉活力的影响,结果发现蔗糖对花粉萌发和花粉管长度有较大影响。可能是因为蔗糖作为能源物质,在花粉萌发过程中起主导作用。本试验表明,促进蜂糖李花粉萌发和花粉管生长的最适培养基组分为 150 g/L 蔗糖 + 0.10 g/L H_3BO_3 ,在此培养基下,蜂糖李与对照品种青脆李花粉活力差异不大,说明花粉活力不是蜂糖李结实率低的主要原因。本研究发现, H_3BO_3 质量浓度过高会抑制李花粉管的伸长,可能是其影响了花粉管伸长过程中花粉管壁的酯化果胶脱酯化^[15]。孙慧瑛等^[16]在杏上也得出相同结论,但与谢鹏等^[17]、彭伟秀等^[18]、薛晓敏等^[19]的研究结论存在差异,这些研究中蔗糖和 H_3BO_3 的最适质量浓度各异。这可能与品种遗传特性、花粉营养状况、采集时间、培养条件或花粉活力测定方法等有关。

本研究表明,低质量浓度 NAA(≤ 30 mg/L)、6-BA(≤ 15 mg/L)可以促进蜂糖李花粉萌发;所有 NAA 处理及 10 mg/L 以上的 6-BA 处理,均能显著抑制蜂糖李花粉管的生长。说明 NAA 和 6-BA 在适宜质量浓度范围内能明显提高蜂糖李花粉萌发率,但超出一定范围则表现出抑制作用,表现出“低促高抑”现象;而对花粉管生长而言,二者具有较明显的抑制作用。周瑞金等^[20]在杏梅上的研究也认为,低质量浓度 6-BA 能促进花粉萌发,超过一定范围则表现出抑制作用;而李学强等^[7]在欧李上的研究则认为,低质量浓度 NAA 对花粉萌发和花粉管生长无明显促进作用;6-BA 会抑制萌发,但适宜质量浓度可以促进花粉管伸长。这些研究成果说明,NAA、6-BA 在不同植物上的影响效果存在较大差异。本试验中 NAA 和 6-BA 处理对青脆李的花粉萌发和花粉管伸长无促进作用,这与刘佳等^[21]的研究结论相似。在本研究质量浓度范围内, GA_3 均可以显著促进蜂糖李花粉萌发,且其质量浓度为 20、50 mg/L 时对花粉管长度也有极显著促进作用,这与 Sun 等^[22]在杏上的研究结论相似。需提出的是,

本试验对 GA_3 质量浓度设置存在欠缺,还应扩大浓度梯度范围,以筛选出抑制蜂糖李花粉萌发和花粉管伸长的 GA_3 质量浓度。

只有较高萌发率和较长的花粉管才能保证植物最终的结实率,因此要综合考虑花粉萌发率和花粉管长度,才能更为准确地评价花粉活力。花粉萌发是植物授粉受精的前提条件,花粉管的长度最终决定受精过程能否顺利完成。以花粉管长度为重点观察指标,更能准确评价花粉活力的强度。因此,在最适花粉萌发和花粉管生长的培养基组分上,添加质量浓度 20 或 50 mg/L 的 GA_3 配成营养液,在蜂糖李花期进行喷施,可能可以提高蜂糖李的授粉受精成功率。但这是实验室得出的结论,具体效果还得进行田间试验,且喷施次数和间隔时间、营养液的 pH 等田间试验影响因素也应加以考虑。

花粉贮藏过程中依然在进行微弱的代谢生理活动,不断消耗花粉内的原有营养物质,进而导致花粉萌发率不断下降^[23]。花粉活力下降速度与贮藏条件有密切关系,其中贮藏温度是影响花粉寿命的重要因素。许多研究表明,降低贮藏温度可有效延长花粉的寿命^[24]。本研究也表明,冷冻保存较低温保存更能延长花粉寿命,可能是更低的温度降低了花粉的呼吸强度,导致代谢速度缓慢,减少了糖类、矿物质营养和有机酸等的消耗,从而延长了花粉寿命。对大多数植物花粉来说,湿度也是影响花粉活力的重要因素^[25-27],本试验采用蔗糖密封保存研究了花粉贮藏过程中环境湿度的影响,结果表明蔗糖密封保存能有效提高贮藏过程中的花粉活力。花粉萌发过程中蔗糖作为能量源,能补充花粉贮藏过程可溶性糖类物质的消耗,同时使花粉贮藏的环境湿度维持在一个稳定合适的状态。综合分析,李花粉的保存以蔗糖密封保存效果最为理想,这不但能有效降低花粉萌发率的下降速度,延长贮藏时间,而且因可常温保存,在异地杂交时携带方便,田间操作性和灵活性更强。但关于蔗糖维持贮藏环境相对湿度的适宜范围,以及其是否补充了花粉贮藏过程中糖类物质的消耗等,均有待进一步研究。

〔参考文献〕

- [1] 刘 宁,刘威生,张玉萍.李、杏优良新品种的落花落果规律及保花保果措施研究 [J]. 安徽农业科学,2010,38(9):4477-4478.
- Liu N, Liu W S, Zhang Y P. Dropping regular and protecting measure of flowers and fruits on new apricot and plum varieties [J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2010, 38(9): 4477-

- 4478.
- [2] 艾小艳,何华平,龚林忠,等.不同保果剂对设施栽培油蟠 36-3 保花保果的影响 [J].湖北农业科学,2017,56(24):4793-4795.
- Ai X Y, He H P, Gong L Z, et al. Effect of different fruit protecting treatments on protecting flowers and fruits of Youpan 36-3 in the protected cultivation [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017, 56(24): 4793-4795.
- [3] 吴开志,肖千文,廖运洪,等.核桃花粉离体萌发的培养基研究 [J].果树学报,2008,25(6):941-945.
- Wu K Z, Xiao Q W, Liao Y H, et al. Study on culture media for walnut pollen germination *in vitro* [J]. Journal of Fruit Sciences, 2008, 25(6): 941-945.
- [4] 李千惠,姜文龙,徐同乐,等.日本海棠花粉最佳离体萌发培养基筛选及萌发过程研究 [J].经济林研究,2018,36(2):154-160.
- Li Q H, Jiang W L, Xu T L, et al. Selection of pollen *in vitro* germination media and pollen germination process of *Malus floribunda* [J]. Nonwood Forest Research, 2018, 36(2): 154-160.
- [5] Wei Y J, Li W W, Feng B B, et al. Study on the flowering biological characteristics of *Prunus domestica* × *Armeniaca* [J]. Agricultural Science & Technology, 2016, 17(3): 577-583.
- [6] 刘会超,贾文庆,贾国瑞.紫叶李花粉生活力及贮藏特性研究 [J].安徽农业科学,2010,38(9):4507-4508.
- Liu H C, Jia W Q, Jia G R. Studies on pollen viability and storage characteristics of *Prunus cerasifera* [J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2010, 38(9): 4507-4508.
- [7] 李学强,李秀珍,司凤云,等.不同贮藏条件及生长调节剂对欧李花粉生活力的影响 [J].西北植物学报,2007,27(11):2251-2256.
- Li X Q, Li X Z, Si F Y, et al. Effects of storage conditions and plant growth substances on the activity of *Cerasus humilis* (Bge.) sok. pollen [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2007, 27(11): 2251-2256.
- [8] 胡适宜.植物胚胎学实验方法: I. 花粉生活力的测定 [J].植物学通报,1993,10(2):60-62.
- Hu S Y. Experimental methods in plant embryology: I. Determination of pollen viability [J]. Chinese Bulletin of Botany, 1993, 10(2): 60-62.
- [9] 钱 鑫,刘 芬,牛晓玲,等.无距虾脊兰花粉离体萌发及储藏条件的研究 [J].西北植物学报,2014,34(2):341-348.
- Qian X, Liu F, Niu X L, et al. *In vitro* pollen germination and storage conditions of *Calanthe tsoongiana* [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 34(2): 341-348.
- [10] Che D, Fan J, Wang J. Study on optimization of the culture medium for oriental hybrids pollen germination [J]. Bulletin of Botanical Research, 2003, 23(2): 178-181.
- [11] 魏国芹,孙玉刚,安 森,等.甜樱桃 7 个品种花粉数量及花粉萌芽率测定 [J].华北农学报,2010,25(S2):123-127.
- Wei G Q, Sun Y G, An M, et al. Determination of the pollen number and pollen germination rate of seven sweet cherry varieties [J]. Acta Agriculture Boreali-Sinica, 2010, 25(S2): 123-127.
- [12] 夏春英,谢小敏,刘江枫,等.竹叶兰花粉离体萌发及其贮藏特性 [J].森林与环境学报,2019,39(5):454-459.
- Xia C Y, Xie X M, Liu J F, et al. *In vitro* germination and storage characteristics of *Arundina graminifolia* pollen [J]. Journal of Forest and Environment, 2019, 39(5): 454-459.
- [13] 田翠婷,吕洪飞,王 锋,等.培养基组分对青木杆离体花粉萌发和花粉管生长的影响 [J].北京林业大学学报,2007,29(1):47-52.
- Tian C T, Lü H F, Wang F, et al. Effects of media components on *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of *Picea wilsonii* Mast [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2007, 29(1): 47-52.
- [14] 胡珂雪,张晓曼,郑云凤.四季报春花花粉萌发特性研究 [J].西北林学院学报,2017,32(2):170-173.
- Hu K X, Zhang X M, Zheng Y F. Characteristics of pollen germination of *Primula obconica* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32(2): 170-173.
- [15] 杨淑娟,毛桂莲,孙 驰.钙和硼对芦荟花粉萌发和花粉管生长的影响 [J].安徽农业科学,2010,38(14):7238-7239.
- Yang S J, Mao G L, Sun C. Effects of calcium and boron on pollen germination and pollen tube growth of *Aloe vera* L. var. *chinesis* [J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2010, 38(14): 7238-7239.
- [16] 孙慧瑛,安晓芹,廖 康,等.不同培养条件对杏花粉萌发和生长的影响 [J].新疆农业大学学报,2012,35(3):173-177.
- Sun H Y, An X Q, Liao K, et al. Influence of different culture conditions on germination and growth of pollen from three Xinjiang apricot varieties [J]. Journal of Xinjiang Agricultural University, 2012, 35(3): 173-177.
- [17] 谢 鹏,谭晓风,李芳东,等.6 个杏李品种花粉量及花粉萌发率测定 [J].中国南方果树,2009,38(2):34-35.
- Xie P, Tan X F, Li F D, et al. Determination of pollen mass and pollen germination rate of six species of apricot [J]. South China Fruits, 2009, 38(2): 34-35.
- [18] 彭伟秀,冯大领,郑 辉,等.晚熟李花粉生活力及柱头可授性研究 [J].河北农业大学学报,2008,31(5):57-60.
- Peng W X, Feng D L, Zheng H, et al. Studies on pollen viability and stigma receptivity of *Prunus salicina* [J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2008, 31(5): 57-60.
- [19] 薛晓敏,王金政,张安宁,等.三个李品种花粉离体萌发特性与条件筛选试验 [J].黑龙江农业科学,2015(12):11-14.
- Xue X M, Wang J Z, Zhang A N, et al. Pollen germination characteristics and conditions selecting for three plum varieties [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2015(12): 11-14.
- [20] 周瑞金,彭兴芝,张丽丽,等.植物生长调节物质对杏梅花粉萌发及花粉管生长的影响 [J].广东农业科学,2010,37(4):70-73.
- Zhou R J, Peng X Z, Zhang L L, et al. Effects of plant growth regulators on pollen germination and tube growth in plum [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010, 37(4): 70-73.

[18] 杨文君. 柴达木枸杞果实外观性状及有效成分的研究与评价 [D]. 西宁:青海大学,2012.
Yang W J. Study on reproductive characteristic of *Poa pratensis* var. *Anceps* Gaud. Cv. Qinghai [D]. Xining: Qinghai University,2012.

[19] 蔡国军,张广忠,张宝琳,等. 氮、磷、钾对枸杞果实糖类、胡萝卜素含量的影响 [J]. 西南农业学报,2013,26(1):209-212.
Cai G J,Zhang G Z,Zhang B L,et al. Effect of N,P,K on Chinese wolfberry fruit sugar and carotene content [J]. Southwest Journal of Agriculture,2013,26(1):209-212.

[20] 李惠霞,何文寿,王晓军. 盐渍化土壤枸杞叶养分变化规律研究 [J]. 北方园艺,2011(9):187-190.
Li H X,He W S,Wang X J. Study on moving discipline of *Lycium barbarum* L. leaf in salty soils [J]. Northern Horticulture,2011(9):187-190.

[21] 胡忠庆. 枸杞高产高效综合栽培技术 [M]. 银川:宁夏人民出版社,2003:26-128.
Hu Z Q. Comprehensive cultivation techniques of high yield and high efficiency of medlar [M]. Yinchuan: Ningxia People's Publishing House,2003:26-128.

[22] 常少刚. 枸杞阶段营养规律与合理施肥技术研究 [D]. 银川:宁夏大学,2018.
Chang S G. Study on the nutrition regularity and rational fertilization techniques of *Lycium barbarum* [D]. Yinchuan: Ningxia University,2018.

[23] 蔡国军,张广忠,张宝琳,等. 配方施肥对枸杞生长结实及叶片 NPK 含量的影响 [J]. 林业实用技术,2012(7):22-24.
Cai G J,Zhang G Z,Zhang B L,et al. Effects of formula fertilization on the growth and leaves' NPK content of Chinese wolfberry [J]. Silviculture & Management,2012(7):22-24.

[24] 周 萍,郭 荣,张自萍. 枸杞果实发育过程中营养成分的变化规律及其影响因素研究进展 [J]. 农业科学研究,2007(3):63-66.
Zhou P,Guo R,Zhang Z P. Progress of the variations in nutritional components and influencing factors during the fruit development of *Lycium barbarum* L. [J]. Journal of Agricultural Sciences,2007(3):63-66.

[25] 张志勇,马文奇. 酿酒葡萄“赤霞珠”养分累积动态及养分需求量的研究 [J]. 园艺学报,2006,33(3):466-470.
Zhang Z Y,Ma W Q. Studies on the requirement and accumulative trend of nutrient in wine grape 'Cabernet Sauvignon' [J]. Acta Horticulturae Sinica,2006,33(3):466-470.

[26] 杨 柳,南雄雄,王 昊,等. 水肥一体化技术对叶用枸杞产量及水肥利用率的影响 [J]. 天津农业科学,2019,25(6):72-75.
Yang L,Nan X X,Wang H,et al. Effects of integration technology of water and fertilizer on yield and water and fertilizer utilization of leaf utilization wolfberry [J]. Tianjin Agricultural Sciences,2019,25(6):72-75.

(上接第 129 页)

[21] 刘 佳,李 靖,陈 栋,等. 青脆李花粉生活力及贮藏性研究 [J]. 四川农业大学学报,2014,32(3):288-292.
Liu J,Li J,Chen D,et al. Study on the storage of pollen viability of Qingcui plum [J]. Journal of Sichuan Agricultural University,2014,32(3):288-292.

[22] Sun H Y,Liao K,An X Q,et al. Influence of plant growth regulators on pollen germination and growth of Xinjiang apricots [J]. Agricultural Science & Technology,2013,14(2):262-268.

[23] 张 芹,李保会,彭伟秀. 3 种丁香花粉离体萌发和贮藏条件研究 [J]. 河北农业大学学报,2013,36(5):43-47.
Zhang Q,Li B H,Peng W X. Pollen *in vitro* germination and storage conditions of three species of *Syringa* [J]. Journal of Hebei Agricultural University,2013,36(5):43-47.

[24] 何 莉,贾文庆. 郁李花粉生活力及贮藏特性的研究 [J]. 天津农业科学,2013,19(5):5-8.
He L,Jia W Q. Study on pollen vitality determination and storage characteristics of *Prunus japonica* Thunb [J]. Tianjin Agricultural Sciences,2013,19(5):5-8.

[25] 于安民,杨锦芬,詹若挺,等. 贮存条件对阳春砂花粉活力的影响 [J]. 北方园艺,2013(10):147-150.
Yu A M,Yang J F,Zhan R T,et al. Effects of storage conditions on pollen acitivity of *Amomum villosum* [J]. Northern Horticulture,2013(10):147-150.

[26] Daher F,Youssef C,Geitmann A. Optimization of conditions for germination of cold-stored *Arabidopsis thaliana* pollen [J]. Plant Cell Rep,2009,28(3):347-357.

[27] Franchi G G,Padni E. Pollen hydration status at dispersal:cytophysiological features and strategies [J]. Protoplasma,2001,216(3/4):171-180.