

核桃不同品种花粉生活力及其贮藏条件研究

王锦锋^{1,2}

(1. 西北农林科技大学, 陕西杨凌 712100; 2. 陇东学院农林科技学院, 甘肃庆阳 745000)

摘要 [目的]测定核桃不同品种花粉的生活力,并研究其贮藏条件。[方法]采用固体培养基和液体培养基测定维纳、元丰、香玲、丰辉和当地核桃5个品种的花粉生活力,并对贮藏条件进行考察。[结果]固体培养基测定的花粉生活力普遍高于液体培养基0.98%~2.51%。5个品种均在2.5%蔗糖溶液中萌发率高;花粉最适宜的贮藏条件为-20℃、遮光。核桃不同品种的花粉生活力存在显著差异($P < 0.05$);在同一培养基上,维纳花粉生活力最高为12.3%,其次是丰辉、元丰、香玲,当地核桃最低为3.9%。[结论]花粉生活力的测定以固体培养基较适合。同一培养基上,维纳花粉生活力最高。

关键词 核桃(*Juglans regia* L.);花粉生活力;贮藏条件

中图分类号 S664.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)02-00392-03

Study of Different Varieties of Walnut Pollen Viability and Storage Conditions

WANG Jin-feng (Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract [Objective] To study different varieties of walnut pollen viability and storage conditions. [Method] Pollen vitality of 5 walnut cultivars of Weina, Yuanfeng, Xiangling, Fenghui, Dangdihetao were determined by solid and liquid medium. [Result] The results showed that the determination of solid medium of pollen vitality were higher than liquid medium at the level of 0.98% to 2.51%, so the pollen vitality of determination in solid medium was more suitable; five varieties high germination rate in 2.5% sucrose solution; pollen optimum storage conditions for -20℃, the shading; there existed significant deviation of pollen vitality of walnut cultivars, the varieties in the same medium, Weina had the highest vitality of pollen reached 12.3%, the second was Fenghui, Yuanfeng, Xiangling, minimum of local walnut was 3.9%. [Conclusion] Solid medium is more suitable for determination of pollen viability. On the same medium, Weina pollen viability is the highest.

Key words Walnut; Pollen vitality; Storage conditions

核桃(*Juglans regia* L.)属于壳斗目胡桃科(Juglandaceae)植物。其核桃仁具有丰富的营养成分和药用保健功能,是世界著名的4大干果之一。据报道,2010年,我国核桃以种植面积240万 hm^2 、产量超过百万吨,雄踞全球之首。核桃分布于我国26个省(市、区),近1000个品种、优系,由于国家大力扶持的产业政策和规划布局,核桃成为我国主要的经济作物之一。

核桃是典型的雌雄同株异花植物^[1],风媒花,自然条件下授粉坐果率低,异花授粉能提高核桃的坐果率和果实品质。因此,要获得优质高产的核桃,合理配置授粉树,并进行辅助授粉显的极为重要。在我国北方地区,恶劣的环境条件,尤其是刮大风、晚霜危害,是当地核桃优质高产的主要限制因素之一。为此,试验研究核桃不同品种花粉生活力(所谓花粉生活力即花粉具有存活、生长、萌发或发育的能力^[2])的大小以及适合的花粉贮藏条件,对人工辅助授粉、核桃授粉树的配置及核桃花粉的贮藏提供理论依据,对庆阳核桃生产健康发展具有良好的指导作用。目前,对于花粉生活力测定方法的研究较多,其中以离体培养法较为准确、简单、迅速、合理,并可完全定量^[3]。试验采用离体培养法研究核桃花粉的生活力,离体培养的基本原理是根据花粉离体培养时的萌发率判定其生活力。萌发率高则生活力强;反之,生活力就低。离体培养法的培养基有固体和液体培养基2种,培养基的配方多样,但多以硼酸,蔗糖作为基本成分,固体培养基还需加入琼脂作为凝固剂。硼酸中的硼元素为微量元素之一,其作用是促进花粉管的萌发^[4],作用机理是硼酸能够

增加花粉对糖的吸收、运转和代谢,形成糖硼酸复合体,增加氧的吸收,并促进构成花粉膜的成分——果胶物的合成;蔗糖提供花粉萌发的能量和营养。前人对于核桃花粉散出的原因及相关研究很少,而庆阳对核桃品种花粉生活力的研究就更少。试验以庆阳核桃生产中的的5个核桃品种为研究对象,旨在对这5个核桃品种的花粉生活力大小进行研究,进而研究影响核桃花粉生活力贮藏的条件,为庆阳核桃生产配置最佳授粉品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。8年生的维纳、元丰、香玲、丰辉以及庆阳当地核桃5个品种,生长正常,无严重的病虫害危害,除当地核桃外,其他4个品种是2003年引自山东果树研究所的核桃品种。供试验花粉于2012年5月4日采自庆阳市西峰区肖金镇林颖科技农业合作社的核桃园内,采集由绿变黄、小花分散、花药杏黄色但未散粉的雄花序带回试验室,放在干燥的报纸上,在室温下晾干,待花药开裂,花粉全部散出后,用0.25mm的土壤筛筛出花粉,收集于青霉素小瓶中备用。

1.1.2 主要仪器。培养皿,购自北京宏昌信科技有限公司;恒温培养箱,购自上海和呈仪器制造有限公司。

1.1.3 主要试剂。琼脂、蔗糖、硼酸等均为国产分析纯,市售。

1.2 方法

1.2.1 试验地条件。试验地位于庆阳市西峰区肖金镇南部距市区15km,在202省道、西汾高速公路旁边,交通方便,果园占地面积6.67 hm^2 ,属黄河中游内陆地区,地势平坦,土壤肥沃,年日照2400~2600h,年降水400~600mm,年均气温8.8℃,极端最高气温39.6℃,极端最低气温-22.6℃,适合多种果树生长。

基金项目 甘肃省科技支撑计划项目;项目编号1011NKCM063。

作者简介 王锦锋(1963-),男,甘肃庆阳人,副教授,从事果树栽培的教学与科研工作。

收稿日期 2013-12-18

1.2.2 不同形态的培养基培养花粉。培养基形态分为固体培养基和液体培养基(不加琼脂)2种类型。其中,固体培养基中加入1.0 g 琼脂,将固体培养基趁热分取10 ml 于小培养皿中,放在水平的桌面上使其凝固,把花粉用毛笔均匀地播种于培养基上(花粉的量要适宜,否则堆积在一起的花粉无法观察其萌发率),液体培养基的操作相同,将播种好的培养皿迅速的盖上盖子,每个处理重复5次。在25℃的恒温培养箱中培养,12 h后镜检,统计花粉萌发率,花粉萌发率(%)=(花粉管长度大于花粉直径的花粉数量/观察花粉粒总数)×100。

1.2.3 不同蔗糖浓度的培养基培养花粉,在不同蔗糖浓度,硼酸浓度相同的固体培养基上分别进行发芽试验。其中,蔗糖浓度设置为0、2.5%、5.0%和7.5%4个水平,硼酸浓度为0.05%,将5个核桃品种的花粉播种于培养基上,每个处理重复5次,在25℃的恒温培养箱中培养,12 h后镜检,统计花粉萌发率。

1.2.4 不同温度光照条件培养花粉。花粉萌发率是鉴定花粉生活力的一项重要指标,除了与花粉本身的质量有关外,萌发率还与萌发时的环境条件密切相关,尤其是培养时的温度和光照条件等。试验以元丰为例,将元丰花粉在以下6种环境:A1(4℃遮光)、A2(4℃不遮光)、A3(20℃遮光)、A4(20℃不遮光)、A5(-20℃遮光)、A6(-20℃不遮光)中贮藏,贮藏每间隔2 d、5 d后,取出花粉置于培养基中,于25℃的恒温培养箱中培养12 h后,镜检并统计花粉萌发率。每个处理重复5次。培养基采用固体培养基,蔗糖浓度为2.5%,琼脂为1%,硼酸为0.05%。

2 结果与分析

2.1 不同形态培养基对核桃不同花粉生活力的影响 图1表明,培养基的形态是影响花粉萌发的重要因素,核桃同一品种的花粉在固体和液体培养基上的萌发率有所不同。固体培养基条件下各品种花粉生活力普遍高于液体培养基条件下的花粉生活力,维纳、丰辉、元丰、香玲和当地核桃分别提高了2.51%、2.40%、1.89%、0.98%和1.22%。固体培养基测定的花粉生活力高于液体培养基1.6至2.1倍。所以在进行花粉发芽试验时,最好选用固体培养基,不过液体培养基的配制较为简便,并且不易失水。

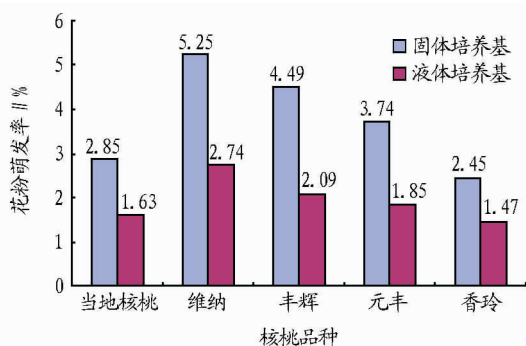


图1 不同形态培养基花粉生活力比较

2.2 不同蔗糖浓度对核桃不同品种花粉生活力的影响 图

2表明,不同蔗糖浓度间,花粉的萌发率有显著差异($P < 0.05$)。在不含蔗糖条件下,花粉萌发率较低,随着培养基中蔗糖浓度的增加,花粉萌发率逐渐上升,当蔗糖浓度达到2.5%时萌发率最高,但当蔗糖的浓度继续升高时,花粉萌发率呈现下降趋势。说明蔗糖在一定浓度下对核桃花粉萌发有促进作用,当蔗糖浓度增大到一定浓度后(>2.5%)对核桃花粉萌发有抑制作用。蔗糖浓度是影响花粉萌发率的重要因素之一,同一个核桃品种的花粉在不同蔗糖浓度的培养基上,其萌发率有所不同;不同的核桃品种,在同一蔗糖浓度上,其萌发率也不同。香玲、丰辉、维纳、元丰、当地绵核桃均在2.5%的蔗糖培养基上萌发率最高,浓度越高,萌发率越低。因此,在测定核桃花粉生活力时,要选择蔗糖的浓度为2.5%。

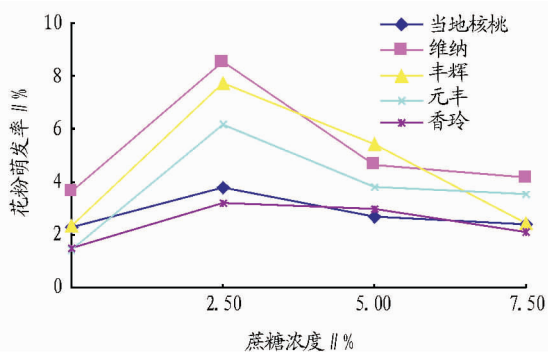


图2 不同蔗糖浓度花粉生活力的比较

2.3 不同温度光照条件对核桃花粉生活力的影响 由表1可知,在同一贮藏条件下,花粉萌发率随贮藏时间的延长而下降。在贮藏5 d后,常温遮光、常温不遮光、4℃遮光、4℃不遮光条件下的花粉生活力均为0,即核桃花粉不再萌发;-20℃遮光条件核桃花粉的生活力仍可达到1.72%, -20℃不遮光的萌发率也有0.69%。因此,花粉的贮藏低温遮光条件下,其生活力能够维持较好,核桃花粉适于在-20℃遮光条件下贮藏。

2.4 不同核桃品种花粉生活力的比较 由表2可知,维纳平均花粉生活力极显著高于香玲和当地核桃($P < 0.01$);丰辉平均花粉生活力极显著高于对照当地核桃($P < 0.01$);元丰平均花粉生活力显著高于香玲和当地核桃($P < 0.05$);维纳与丰辉,丰辉与元丰,香玲与当地核桃的平均花粉生活力差异不显著($P > 0.05$);当地核桃的花粉生活力较低,仅为3.9%,而维纳的花粉生活力是当地核桃的3.15倍。

表1 不同温度光照条件下花粉生活力的比较

时间	2 d	5 d
A5	5.17 aA	1.72 aA
A6	3.18 bB	0.69 bB
A3	2.43 cC	0 cC
A4	1.63 dC	0 cC
A1	1.53 dC	0 cC
A2	1.48 dC	0 cC

注:同一行不同小写字母表示5%差异水平;大写字母表示1%差异水平。

表2 不同核桃品种花粉生活力比较

编号	品种	花粉萌发率平均值//%	
1	维纳	12.3 a	A
2	丰辉	8.5 ab	A
3	元丰	6.9 b	AB
4	香玲	5.3 bc	B
5	当地核桃	3.9 c	B

注:同一行不同小写字母表示5%差异水平;大写字母表示1%差异水平。

3 结论与讨论

3.1 结论 研究结果表明,固体培养基测定的花粉生活力高于液体培养基,分析可能是在液体培养基中,花粉由于吸收水分,重量增加,沉积在培养基底部,由于空气含量较少,影响花粉粒呼吸,导致花粉萌发率低,或是辅助物质在不同培养中扩散速度不同造成的;并且在观察的过程中,发现固体培养基播种后花粉粒的位置固定,便于观察计数,而液体培养基由于观察过程中花粉粒在培养基中深浅不一,随着培养基移动,难于计数。所以固体培养基较为适合测定花粉的生活力,这与赵长星等的研究结果相同。

国内外研究表明,在花粉萌发和花粉管的伸长过程中,蔗糖不仅提供花粉萌发所需能量,还提供营养,也可以维持花粉与培养基成分之间的渗透平衡,蔗糖浓度过低过高均不适合花粉萌发,高浓度的蔗糖会改变花粉管细胞膜的透性,使得花粉质壁分离,抑制花粉萌发伸长,过低花粉壁破裂内含物散出。通过试验可知,对于核桃花粉生活力的测定,以蔗糖浓度为2.5%最为适合。

研究发现,低温遮光条件对于花粉的贮藏有利,并且温度越低,越利于花粉的保藏,低温能延长花粉的贮藏期限,原因是低温降低了花粉的酶活性和呼吸强度。因此为了能够更好地贮藏花粉,在生产过程中,根据生产需要,确定合理的贮藏低温,以利于核桃产品生产过程中,核桃树的授粉受精,

(上接第368页)

定,而在高温和碱性条件下稳定性较差,在碱性环境中乌饭效果丧失。乌饭色素不宜在高温和碱性环境中保存。该研究为乌饭色素的开发利用奠定了理论基础。

参考文献

- [1] 杜鹃,吴津蓉,石秀花. 玫瑰色素的化学成分研究[J]. 食品研究与开发,2012,33(4):137-143.
- [2] 蓝德均,崔旭梅. 大叶红草色素水提取工艺优化及色素环境稳定性研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(26):13095-13096.
- [3] 曾庆祝,陈陆欣,方细绢,等. 苋菜红色素提取工艺及稳定性研究[J]. 广州大学学报:自然科学版,2012,11(4):25-30.
- [4] 方樟彩,徐国华,钱超,等. 辣椒红色素制备新工艺研究[J]. 高校化学

以期生产出高质量高产量的产品,近年来的研究表明,在超低温(-180~-270℃)下,花粉的生活力可以长期贮藏,大多数植物的花粉在-20℃下即可保持其生活力。

试验结果表明,维纳的花粉生活力最高,其次是丰辉,元丰,香玲,当地核桃最低,这不仅与各品种对培养条件的适应性有关,更多的是核桃品种自身的生长发育等条件相关,能够真实的反映出维纳在庆阳当地条件下的种植优势。

3.2 讨论 研究过程中发现,随着花粉贮藏时间的延长以及花粉发芽试验培养时间的延长,花粉的萌发率下降,内容物散出率上升,但二者并没有直接的联系,其根本原因是蔗糖浓度过低,分析花粉内容物散出的具体原因可能是:(2)花粉贮藏一段时间后,培养时由于内外渗透压不平衡导致花粉粒,膨胀破裂;(2)花粉在培养基中培养一段时间后,培养过程中,培养基失水导致的;(3)可能由于花粉粒萌发孔的相关原因。具体原因有待于进一步进行试验认真研究分析。

目前对于核桃花粉生活力的测定研究较多,但对相关理论的研究较少,对于影响花粉贮藏的外部环境因素研究较多,但对花粉的内部因素的影响研究不多,以后可以从这两个方面进行试验设计,进行相关研究。在试验的过程中,由于培养基的失水问题,培养的时间一般较少,以后研究中可以从这方面入手进行研究,培养时间的适当延长,可以观察到更多的花粉发芽,提高试验的精确度。

参考文献

- [1] 许忠. 实生核桃树与嫁接核桃树的花粉生活力的对比测定[J]. 科技情报开发与经济,2011,21(2):197-198.
- [2] 刘程宏,宋尚伟,张芳明. 果树花粉生活力检测研究进展[J]. 河南农业科学,2011,40(10):13-16.
- [3] 顾亚东,张华丽,张西西. 非洲凤仙花粉萌发条件及花粉活力研究[J]. 北方园艺,2011(6):65-67.
- [4] 刘会超,贾文庆,郭艳艳. 紫玉兰花粉的生活力测定及贮藏方法[J]. 贵州农业科学,2011,39(7):188-191.
- [5] 郝娟娟,冯建元,丁雨龙,等. 不同种源乌饭树树叶营养成分比较[J]. 林业科技开发,2010,24(3):105-107.
- [6] 王立,张雪彤,姚惠源. 乌饭树树叶及其提取物对视网膜光损伤的保护作用[J]. 西安交通大学学报:医学版,2006,27(3):285-287.
- [7] 章海燕,王立,张晖. 乌饭树树叶不同提取物抑菌作用的初步研究[J]. 粮食与食品工业,2010,17(1):34-37.
- [8] 张琳,李宝国,付红伟,等. 乌饭树叶黄酮苷类成分研究[J]. 中国药学杂志,2009,44(23):1773-1776.
- [9] 杨晓东,肖珊美,徐友生,等. 乌饭树叶挥发油的GC-MS分析[J]. 生物质化学工程,2008,42(2):23-26.
- [10] 王立,姚惠源. 大孔吸附树脂纯化乌饭树树叶黑色素的研究[J]. 天然产物研究与开发,2006,18(1):20-24.