

超低温保存的梅花花药萌发率和授粉后的结实能力

张亚利¹, 陈瑞丹¹, 张波², 刘燕^{1,*}

¹北京林业大学园林学院, 国家花卉工程技术研究中心, 北京 100083; ²中国梅花研究中心, 武汉 430070

摘要: 试验比较梅花花粉和花药超低温保存后的花粉萌发率、授粉结实率和座果率的结果表明:(1)超低温保存花药用室温、自来水冲洗和温水浴3种方法化冻后的花粉萌发率差异不显著。(2)花药超低温保存1 h后的花粉萌发率与新鲜花粉差异不显著。(3)超低温保存1个月和1年的花粉和花药都有授粉结实能力。

关键词: 梅花; 花粉; 花药; 杂交; 超低温保存

Pollen Germination and Fruit-bearing Ability after Anthers Cryopreservation of *Prunus mume* Sieb. et Zucc.

ZHANG Ya-Li¹, CHEN Rui-Dan¹, ZHANG Bo², LIU Yan^{1,*}

¹National Floriculture Engineering Research Center, College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; ²China Mei Flower Research Center, Wuhan 430070, China

Abstract: The paper studied on the pollen germination rate, setting rate and fruit set rates in hybridization after pollen and anthers cryopreservation of *Prunus mume*. Results indicated: (1) there was no significant difference among thawing at room temperature, by running water or warm water (35 °C) after anthers cryopreservation. (2) Pollen germination rate of cryopreserved anthers for 1 hour was similar with the fresh pollen. (3) After 1 month or 1 year's storage in liquid nitrogen, the cryopreserved pollen and anthers could be used in hybridization successfully.

Key words: *Prunus mume*; pollen; anther; hybridization; cryopreservation

关于植物花粉超低温保存的报道已很多, 但花药超低温保存的研究较少。Bowes (1990)研究结果显示, 超低温保存的花药与花粉萌发率没有显著差异。我们实验室采用花粉的收集—锡纸包装—冻存管保存—投入液氮—自来水冲洗化冻方法实现了梅花花粉的超低温保存(刘燕和张亚利 2004; Zhang 和 Liu 2004)。但在梅花花粉超低温保存过程中, 花粉的获取耗费大量的人力和时间, 并会造成花粉的浪费。另外, 花药含水量高是否可以实现超低温保存还不清楚。因此, 本文进一步探讨梅花花药超低温保存的技术和效果, 以期找到一个合适的保存梅花花粉的方法。

材料与方 法

实验所用梅花(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)品种于 2004~2005 年采自武汉梅花品种资源圃, 主要来自真梅系江梅型、宫粉型及朱砂型品种(陈俊愉 1989)。花粉和花药的收集采用我实验室(刘燕和张亚利 2004)的方法, 初花期和盛花期采集的大

蕾放入硫酸纸袋或牛皮纸信封中带回当地实验室, 从花蕾中取出花药后放在铺有硫酸纸的培养皿内, 置于室温灯光下。花药开裂后, 一部分取花粉进行花粉超低温保存实验, 另一部分花药直接进行花药超低温保存试验。

花粉生活力的测定采用离体萌发法(刘燕和张亚利 2004)并稍作修改。培养液选用 15% 蔗糖 + 0.1% 硼酸, 于 18 ± 1 °C 的人工气候室中培养 4 h。花粉萌发以花粉管长度超过花粉直径的 2 倍为标准。每处理重复 4 次, 每个重复随机选取 5 个视野统计萌发数, 以 4 个重复的均值为花粉萌发率。

花粉和花药的含水量测定采用烘干法, 烘干温度为 120 °C, 烘干时间 45~60 min, 反复 2~3 次, 直至恒重。花粉含水量按(花粉鲜重 - 花粉

收稿 2007-01-29 修定 2007-04-12
资助 高等学校博士学科点专项科研基金(20050022002)。
* 通讯作者(E-mail: yanliu_beijing@yahoo.com.cn; Tel: 010-82376017-601)。

干重)/花粉鲜重×100%计算。

花药和花粉超低温保存的操作流程为:收集花药/花粉 锡纸包装 冻存管保存 投入液氮化冻。化冻采用室温(15~18℃)、自来水(15~18℃)和温水浴(35℃)3种方法。然后测定花粉萌发率。

杂交授粉的母本为北京林业大学梅菊圃中生长的杏梅系品种‘淡丰后’,父本为武汉梅花品种资源圃的真梅系品种,采集后立即以液氮保存带回北京,保存不同时间(1个月和1年)后用于杂交试验。液氮保存的父本在杂交授粉当天采用自来水冲洗化冻,母本于开花前1d去雄涂抹100 mg·L⁻¹赤霉素,授粉套袋1周后去掉杂交袋,每间隔10~15d统计座果率,6月底~7月初采收果实。结实率(%)=成熟果实数/授粉花朵数。

数据采用SPSS软件进行方差分析, $P=0.05$ 。

结果与讨论

1 超低温保存后梅花花粉和花药的花粉萌发率

从图1可见,超低温保存的7个品种中,除品种‘六瓣梅’以外,其他6个品种花粉超低温保存后的萌发率均高于新鲜花粉和花药超低温保存后的花粉萌发率。方差分析结果显示,花粉超低温保存后的萌发率显著高于新鲜花粉和超低温保存花药的花粉萌发率,但新鲜花粉萌发率和花药超低温保存后的花粉萌发率之间差异不显著。梅花花粉超低温保存后,花粉萌发率升高现象与前人在魔芋(张玉进等2000)、牡丹(陶清波2003),

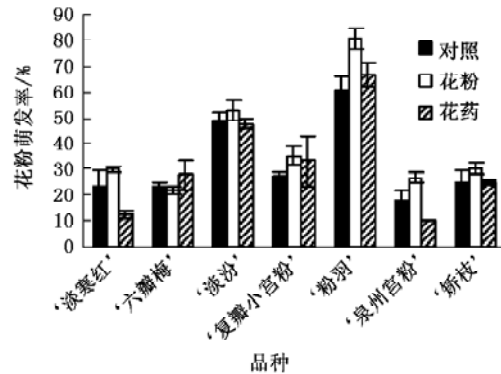


图1 花粉和花药超低温保存后的花粉萌发率
Fig.1 Pollen germination rate after pollen and anthers cryopreservation

芍药(尚晓倩2005)花粉超低温保存后得到的结果是一致的。此外,随着保存时间的延长和反复冻存次数的增加,超低温保存花药的花粉萌发率有降低的趋势,保存1个月的部分品种花粉萌发率大幅度降低,保存1年的部分品种则已完全丧失生活力。2 不同化冻方法对花药和花粉超低温保存后的花粉萌发率的影响

由表1可见,(1)超低温保存后,从7个梅花品种花药中获取的花粉都能萌发。除了‘淡寒红’和‘泉州宫粉’这2个品种的花粉萌发率降低以外,其余5个品种超低温保存后的花粉萌发率基本上保持不变。(2)7个品种的花药含水量在12.1%~20.6%之间时,3种化冻方法的花粉萌发率都未下降,但花粉或花药含水量在30%左右时,部分品种的萌发率明显降低,如‘淡寒红’

表1 不同化冻方法对超低温保存梅花花药的花粉萌发率的影响

Table 1 The effect of different thawing methods on pollen germination rate of cryopreserved anthers

品种	含水量/%	新鲜花粉萌发率/%	超低温保存后不同化冻方法的花粉萌发率/%		
			15~18 室温	15~18 自来水	35 温水浴
‘淡寒红’	24.6	23.5±6.00	8.9±2.49	12.5±1.79	15.8±1.88
‘六瓣梅’	20.6	23.0±2.12	21.5±3.20	27.6±5.72	20.0±2.36
‘淡粉’	12.1	49.2±3.11	44.1±2.85	47.7±1.75	44.1±5.33
‘复瓣小宫粉’	34.8	27.0±1.37	30.7±6.45	33.0±1.0	12.1±1.63
‘粉羽’	20.2	60.4±5.76	66.1±4.12	66.4±4.65	59.0±1.21
‘泉州宫粉’	32.1	18.1±3.76	2.9±0.83	9.9±0.17	3.9±1.99
‘矫枝’	31.2	24.9±4.70	17.3±2.42	25.0±0.59	25.2±0.96

试验在武汉梅花品种圃实验室进行,尽量保证室温和自来水温度一致,保存时间为1h。花药含水量为室温(15~18℃)放置10~12h的测定结果。

和‘泉州宫粉’花药超低温保存后花粉萌发率明显降低。(3)方差分析表明,花药超低温保存后用3种方法化冻的花粉萌发率差异不显著。

3 超低温保存的花药和花粉授粉结实率和座果率

表2显示,液氮中保存不同时间的梅花花药和花粉都有受精结实的能力。在杂交对比的4个品种中,‘粉润江梅’超低温保存花药和花粉的结实率分别为16.8%和17.9%,差异不明显。‘淡晕宫粉’的结实率为15.6%,略高于超低温保存花药的结实率(12.8%)。但‘淡粉’和‘人面桃花’的结实率均略高于超低温保存花粉的结实率。从上述结果来看,经超低温保存的花粉和花

药其杂交效果并没有显著差异。但梅花花药和花粉超低温保存的最长年限和可用年限以及超低温保存1年以上的花药是否仍然有萌发和杂交结实能力等尚待进一步研究。

此外,超低温保存花药和花粉与座果率也有关系。从图2可见,除了‘人面桃花’座果率不断下降以外,其他3个品种在杂交授粉后第1个月(4月份),座果率迅速下降,出现第一次落果高峰,5月份的座果率基本不变,6月份以后出现第2次落果高峰,座果率再次下降,果实进入成熟期后出现第3次落果高峰。这与陈瑞丹(2003)的结果基本上一致。

表2 超低温保存的花粉和花药杂交授粉后结实率

Table 2 The setting rates of cryopreserved pollen and anthers in hybridization

品种	保存时间	花粉萌发率/%	授粉花数	结实数	结实率/%
‘粉润江梅’(花药)	1个月	59.6	238	40	16.8
‘粉润江梅’(花粉)	1个月	59.0	234	42	17.9
‘淡粉’(花药)	1个月	42.2	187	22	11.8
‘淡粉’(花粉)	1个月	60.7	260	25	9.6
‘淡晕宫粉’(花药)	1年	39.6	258	33	12.8
‘淡晕宫粉’(花粉)	1年	20.5	244	38	15.6
‘人面桃花’(花药)	1年	13.0	110	17	15.4
‘人面桃花’(花粉)	1年	15.4	138	14	10.1

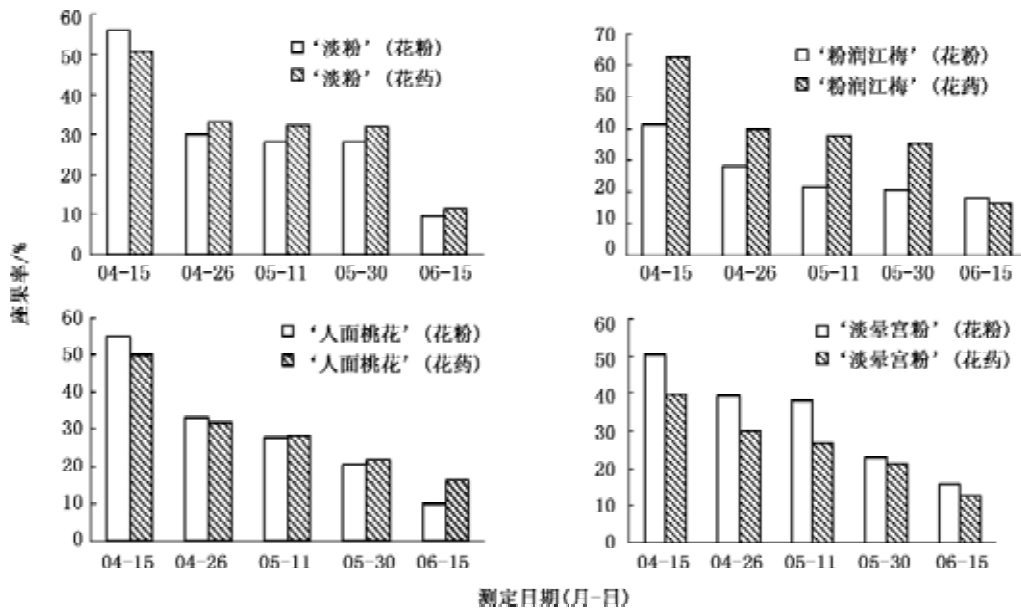


图2 超低温保存的花粉和花药杂交授粉后的座果率

Fig.2 The fruit set rates of cryopreserved pollen and anthers after hybridization

进行花粉或花药超低温保存的主要目的之一是为了满足杂交育种工作的需要。石思信和田玥(1989)、石思信等(1996)认为含水量适宜的玉米花粉超低温保存1~2年后其授粉结实能力与未做超低温保存的差异不显著。Crisp和Grout(1984)研究花椰菜花粉的结果也表明冻存前后结实率没有差异,但冻存的花粉其收获的种子生活力降低,萌发率迅速丧失。Rajasekharan和Ganeshan(1994)认为超低温对枸桔花粉花粉生活力基本上没有影响,但其杂种后代的再生能力较低。从本文结果来看,超低温保存1年的梅花花药仍然有萌发率和授粉结实能力。据此我们认为在梅花杂交育种工作中,可以根据使用时间以及用途选择梅花资源的保存方式,以满足梅花研究领域的不同需要。

参考文献

- 陈俊愉(1989). 中国梅花品种图志. 北京: 中国林业出版社
- 陈瑞丹(2003). 梅花杂交育种及其胚培养的研究. 北京林业大学 [博士论文]
- 刘燕, 张亚利(2004). 梅花花粉的超低温保存研究. 北京林业大学学报, 26 (增刊): 22~25
- 尚晓倩(2005). 芍药花粉超低温保存研究. 北京林业大学 [硕士论文]
- 石思信, 田玥(1989). 玉米花粉超低温保存一年后的结实能力. 见: 马缘生主编. 作物种质资源保存技术. 北京: 学术书刊出版社, 79~85
- 石思信, 张志娥, 肖建平(1996). 玉米花粉超低温长期保存后遗传稳定性的研究. 作物学报, 22 (4): 409~413
- 陶清波(2003). 牡丹花粉超低温保存研究. 北京林业大学 [硕士论文]
- 张玉进, 张兴国, 刘佩瑛(2000). 魔芋花粉的低温和超低温保存. 园艺学报, 27 (2): 139~140
- Bowes SA (1990). Long-term storage of narcissus anthers and pollen in liquid nitrogen. Euphytica, 48: 275~278
- Crisp P, Grout BW (1984). Storage of broccoli pollen in liquid nitrogen. Euphytica, 33: 819~823
- Rajasekharan PE, Ganeshan S (1994). Freeze preservation of rose pollen in liquid nitrogen: fertility, viability and fertility status after long-term storage. Hort Sci, 69 (3): 565~569
- Zhang YL, Liu Y (2004). Pollen cryopreservation of *Prunus mume*. Cryobiology, 49 (3): 328