

不同无性系蔗茅抽穗开花特性的观察和花粉贮藏条件的研究

李富生^{1,2,*} 林位夫¹ 何顺长²

¹中国热带农业科学院橡胶栽培研究所, 农业部热带作物栽培生理学重点开放实验室, 儋州 571737; ²云南农业大学甘蔗研究所, 昆明 650201

摘要 来源于较低海拔地区的3个蔗茅无性系的抽穗期较短, 来源于较高海拔(大于1500 m)地区的16个蔗茅无性系的抽穗期较长, 且抽穗期与原产地海拔呈显著负相关($r=-0.827^{**}$)。蔗茅的这一特性在集中种植后仍能相对稳定地表现出来。蔗茅花粉量较多, 花粉发育良好。在自然条件下, 蔗茅新鲜花粉仅能存活1 h左右; 而经低温(10℃)硅胶干燥2 h后贮藏于-80℃条件下, 其生活力保持可超过360 d。蔗茅贮藏花粉生活力的下降比率与花粉含水量呈显著正相关($r=0.933^{**}$); 含水量降至10%以下的花粉在低温中贮藏时才能保持较高生活力。

关键词 蔗茅; 甘蔗; 抽穗期; 花粉贮藏; 杂交育种

Observation of Heading and Flowering Characteristics of Various Clones of *Erianthus fulvus* and Studies on Pollen Storage Conditions

LI Fu-Sheng^{1,2,*}, LIN Wei-Fu¹, HE Shun-Chang²

¹Key Laboratory of Tropical Crops Physiology, Ministry of Agriculture, Research Institute of Rubber Cultivation, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737; ²Research Institute of Sugarcane, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201

Abstract The heading period of three *Erianthus fulvus* clones from lower altitude was short, whereas the heading period of other sixteen clones from higher altitude (1500 m above sea level) was long. It was negatively correlated with altitude of original place ($r=-0.827^{**}$), and was relatively stable for each clone even when they were grown at the same area. The *E. fulvus* produced abundant grains pollen and developed very well. The fresh pollen of *E. fulvus* was alive just about 1 h under natural condition, but it would survive more than 360 d when it was dried 2 h by silica gel at a lower temperature (10℃) and stored below -80℃. The viability of the stored pollen was positively correlated with the pollen moisture content ($r=0.933^{**}$). When the pollen moisture content descended below 10% and stored under a lower temperature, its higher viability was recorded.

Key words *Erianthus fulvus*; sugarcane; heading time; pollen storage; cross breeding

甘蔗近亲繁殖系数大和遗传基础狭窄, 是目前我国甘蔗育种工作中的“瓶颈”^[1]。因此, 发掘利用具有优异遗传性状的种质资源, 扩大甘蔗遗传多样性, 提高甘蔗育种效率, 实属当务之急。

蔗茅是甘蔗亚族(Saccharinae)、蔗茅属(*Erianthus*)内的一个野生种, 原产于热带、亚热带和温带^[2], 主要分布于我国的云南、贵州、四川、湖北、陕西、西藏等地, 印度北部、尼泊尔、巴基斯坦也有分布^[2~7]。蔗茅的茎秆锤度(brix)普遍较高, 最高可达22%, 具有与甘蔗近似的茎秆储藏蔗糖的遗传基础^[8]; 其适应性广, 在较高海拔、较低温度的气候条件和干旱贫瘠的荒坡上均能生长, 甚至在石壁岩缝和成土母质上也可以见到蔗茅, 表现出极强的抗寒、抗旱和耐

瘠能力^[9]。若能利用蔗茅的这些特异性状培育出甘蔗新品种, 则对我国旱地甘蔗面积大(80%以上)和一些地区甘蔗海拔分布高的生产实际应用有一定的意义。

自然条件下, 蔗茅开花较早(7月中旬~9月下旬)^[8,9]。而甘蔗却是难开花的作物, 即便是在适宜的环境条件下(引变日照时数约为12.5 h), 甚至

收稿 2004-06-28 修定 2004-12-06

资助 云南省自然科学基金(2001C0015Q)。

致谢 云南农业大学农学院教师何丽莲、杨生超、杨清辉, 农学本科99级学生陈红芬和代云芬、00级学生潘晓光以及甘蔗研究所技术工人何中祥、何立等参加了部分研究工作。

*E-mail: lfs810@sina.com, Tel: 0871-5227726

是进行人工光周期诱导,其开花时间仍然较晚(10月下旬以后)^[10]。两者的花期不遇问题给杂交育种工作带来困难。本文对蔗茅的抽穗开花规律和花粉贮藏技术进行了探索,以期能为其在甘蔗杂交育种中的有效利用提供参考。

材料与方法

以19份不同地理来源的蔗茅(*Erianthus fulvus*=*Erianthus rufipilus*)无性系为材料,观察其抽穗开花特性,选用其中的昆明蔗茅无性系6株(丛)作为花粉供体,研究其花粉贮藏技术。这些材料均种植于云南农业大学甘蔗资源圃。

连续3年观察19份蔗茅无性系的抽穗开花情况。从7月中旬开始,以最先抽穗的蔗茅无性系花穗抽出剑叶5 cm的日期作为初始抽穗日期,观察、记录各无性系花穗完全抽出所经历的天数,记为抽穗期;在各无性系的抽穗期内,观察其开花情况,并按开花顺序划分出不同的开花类型。根据蔗茅的不同开花类型,在其盛花期内(8月中旬~9月中旬),剪取单株穗茎(带叶片)置于光线充足的室内进行清水养茎,于晴朗的上午7:00~9:00采粉。轻轻抖动花穗,用洁净光滑的白色画报纸收集花粉,去除花药壁等杂质后,将花粉均匀摊平集中于画报纸的固定区域(半径分别为1、2、3、4 cm的同心圆)内评级,分为“无、少、中、多、很多”5级。

测定花粉可育率时,将收集到的19份蔗茅无性系花粉分别撒在载玻片上,滴少许碘液,置于显微镜下检查。凡花粉粒呈球形且被染成蓝褐色的视为可育花粉;而呈三角形或皱缩且未被染色的视为不可育花粉。连续观察3个视野,最后统计花粉可育率。

测定花粉含水量时,将收集到的昆明蔗茅无性系花粉转移到洁净干燥的培养皿内,摊平,进行不同干燥处理(常温下自然干燥0、0.5、1、2 h和10℃下硅胶干燥0、0.5、1、2 h),然后用MA100型红外水分测定仪(德国Sartorius)测定各处理花粉的含水量。

用培养法检测不同干燥处理的蔗茅花粉生活力,即:在涂有薄薄一层培养液(100 mL蒸馏水+15 g蔗糖+0.05 g硼酸+0.03 g硝酸钙+0.01 g硝酸

钾+0.02 g硫酸镁+0.5 g琼脂)^[11]的载玻片上均匀撒上蔗茅花粉,湿润环境下培养5 h,置于显微镜下观察花粉的萌发情况。每个处理连续观察3个视野,最后统计出各处理的花粉萌发率。将干燥处理后的昆明蔗茅无性系花粉转入洁净干燥的1.5 mL塑料离心管中,置于冰箱中进行不同低温处理(0、-20、-80℃)的贮藏试验,每隔10、30、60、120、240、360 d用培养法测定各处理花粉的生活力。

实验结果

1 蔗茅抽穗开花特性的种内差异

从表1可以看出,不同蔗茅无性系的抽穗期、开花类型、花粉量、花粉可育率、花粉萌发率存在着明显的种内差异。来源于较低海拔的3个蔗茅无性系(YAU-II 91/6、YAU-II 91/14、YAU-II 91/15)的抽穗期较短;而来源于较高海拔(大于1500 m)的其它蔗茅无性系的抽穗期则较长。相关分析表明,抽穗期与原生长地海拔呈显著负相关($r=-0.827^{**}$)。

蔗茅的开花类型大致可分为5类:(1)全穗抽出后开花;(2)抽穗2/3即开花;(3)抽穗1/2即开花;(4)抽穗1/3即开花;(5)穗刚抽出即开花。其中以类型(4)最多,占47.4%。

蔗茅花粉量较多,花粉发育良好,但花粉萌发率较低,且花粉可育率与花粉萌发率之间没有明显的相关,说明花粉的碘液染色率只能反映花粉的发育成熟和饱满程度,而不能作为花粉活性的标准,因为即使是失活的花粉,只要有淀粉物质存在也可被碘液染色。

2 干燥处理对蔗茅花粉生活力的影响

从表2可以看出:(1)贮藏前的蔗茅花粉生活力随干燥时间的延长而降低,在自然条件下蔗茅花粉生活力仅能保持1 h左右,而在低温(10℃)硅胶干燥2 h后蔗茅花粉仍能保持较高的生活力;(2)蔗茅花粉含水量随干燥时间延长而降低,而硅胶干燥比自然干燥能更快地降低蔗茅花粉含水量;(3)不论贮藏前的花粉萌发率是大是小,凡含水量大的蔗茅花粉在0℃下贮藏10 d后基本或完全丧失活性,只有较低含水量(9.2%~13.8%)的花粉才能保持较高生活力。相关分析表明,贮藏花粉

表1 不同蔗茅无性系的抽穗开花特性
Table 1 The characteristics of heading and flowering of various clones of *Erianthus fulvus*

无性系 ¹⁾	原生长地及海拔 /m	抽穗期/d	开花类型	花粉量分级	花粉可育率/%	花粉萌发率/%
YAU87/21	西藏林芝, 2 150	32	抽穗 1/3 即开花	中	93.1	19.8
YAU87/22	西藏林芝, 2 150	32	穗刚抽出即开花	多	87.5	25.0
YAU87/23	西藏东久, 2 200	43	抽穗 1/3 即开花	多	98.4	29.4
YAU90/4	西藏察隅, 2 650	31	全穗抽出后开花	中	95.0	14.5
YAU90/6	西藏察隅, 1 940	55	抽穗 1/3 即开花	中	42.3	30.2
YAU90/24	西藏察隅, 1 580	58	抽穗 2/3 即开花	少	80.0	15.1
YAU90/28	西藏察隅, 1 820	51	抽穗 1/3 即开花	中	87.7	11.4
YAU90/29	西藏察隅, 1 660	62	穗刚抽出即开花	中	35.2	20.0
YAU90/30	西藏察隅, 1 600	53	抽穗 1/3 即开花	少	68.0	40.0
YAU90/31	西藏察隅, 1 600	57	穗刚抽出即开花	多	75.8	17.2
YAU87/29	云南昆明, 1 890	53	抽穗 1/3 即开花	很多	88.0	31.3
YAU90/43	云南中甸, 1 840	61	抽穗 2/3 即开花	多	71.8	36.2
YAU-I 91/4	四川西昌, 1 800	34	抽穗 1/3 即开花	多	73.1	21.5
YAU-I 91/8	四川西昌, 2 700	20	抽穗 1/3 即开花	中	70.6	17.5
YAU-I 91/9	四川昭觉, 2 400	29	穗刚抽出即开花	多	83.1	19.8
YAU-I 91/11	四川昭觉, 1 800	43	抽穗 1/3 即开花	很多	98.0	39.2
YAU-II 91/6	陕西城固, 520	9	抽穗 1/2 即开花	中	70.8	8.3
YAU-II 91/14	陕西凤县, 1 030	17	穗刚抽出即开花	很多	92.8	12.9
YAU-II 91/15	陕西宝鸡, 600	3	全穗抽出后开花	中	91.0	9.5

1) YAU 为云南农业大学的英文缩写。

表2 不同干燥处理的蔗茅花粉生活力
Table 2 The pollen viability of *Erianthus fulvus* in different dried treatments

处理	花粉含水量/%	贮藏前的 花粉萌发率/%	0℃下贮藏10 d后的 花粉萌发率/%	花粉生活力 下降比率/%
新鲜花粉	0 h	46.4	43.8	100
自然干燥	0.5 h	31.6	29.3	100
	1 h	20.5	7.2	100
	2 h	15.6	0	100
	硅胶低温干燥	0.5 h	27.3	5.6
	1 h	13.8	28.5	10
	2 h	9.2	26.3	2

生活力的下降比率与花粉含水量呈显著正相关($r = 0.933^{**}$), 说明快速将花粉含水量降低至10%以下是贮藏的花粉保持活性的关键。

3 不同温度下贮藏的蔗茅花粉生活力变化

将经过低温硅胶干燥2 h后含水量降至10%以下且具有较高生活力(30%~40%)的蔗茅花粉进行不同贮藏处理的结果表明, 在不同贮藏温度下, 蔗茅花粉生活力随着贮藏时间的延长而发生不同的变化(表3)。0℃条件下蔗茅花粉生活力随着贮藏时间的延长而呈明显下降的趋势; -20℃条件下

蔗茅花粉生活力在贮藏120 d后显著降低; -80℃条件下贮藏的蔗茅花粉生活力变化比较平稳, 贮藏360 d后仍能保持较高活力。说明贮藏的蔗茅花粉活性随着温度的降低而延长。

讨 论

从本文结果中可以得到如下概念:

(1) 3个来源于较低海拔的蔗茅无性系抽穗较早, 其它来源于较高海拔(大于1 500 m)的蔗茅无性系抽穗较迟, 表明较低海拔地区温度较高, 导

表3 不同温度下贮藏的蔗茅花粉生活力
Table 3 The pollen viability of *Erianthus fulvus* at
different stored temperatures

贮藏温 度/°C	贮藏时间/d					
	10	30	60	120	240	360
0	35.7	33.3	23.5	16.8	0	0
-20	31.5	32.3	30.6	31.5	18.5	10.2
-80	37.4	34.6	34.5	37.8	28.3	30.5

致蔗茅生育期缩短; 而较高海拔地区温度较低, 导致蔗茅生育期延长, 但随着海拔的进一步升高, 温度不断降低, 蔗茅只有在最低温度来临之前完成其抽穗、开花、结实的全部生育过程, 物种才能够得以保存和延续, 所以, 其生育期反而又相对缩短。这可能是最早生长于较高海拔(1 500~2 000 m)^[9]的蔗茅在向较低海拔或更高海拔地区扩散时所形成的生态适应性, 这一特性在集中种植后仍能相对稳定地表现出来, 在甘蔗杂交育种中可加以选择和利用。

(2) 蔗茅花粉量较多, 花粉发育良好, 可以作为父本在甘蔗杂交育种中加以利用。但其有多种开花类型和“边抽穗边开花”的特性给花粉收集带来困难, 同时, 这也可能是导致收集到的花粉萌发率普遍不高的原因之一。花粉萌发率受温度、湿度、光照、培养基等多种因素的影响^[12], 以此作为花粉生活力的判断指标仍需要进一步研究。

(3) 蔗茅花粉在自然条件下仅能存活1 h左右, 而经低温(10°C)硅胶干燥处理2 h后贮藏于-80°C下可延长其生活力达360 d, 说明快速降低花粉含

水量至10%以下能较长时间地保持贮藏的花粉活性。这与Tai^[13]在割手密花粉贮藏中的研究结果基本上一致。

(4) 蔗茅花粉贮藏条件的结果可能有助于解决蔗茅和甘蔗花期不遇的问题, 从而为其属间远缘杂交提供了一条值得考虑并加以利用的途径。

参考文献

- 1 陈如凯. 现代甘蔗育种的理论与实践. 北京: 中国农业出版社, 2003. 1~18
- 2 广东省植物研究所. 海南植物志(第4卷). 北京: 科学出版社, 1977. 450
- 3 李永康. 贵州植物志(第5卷). 成都: 四川民族出版社, 1988. 579
- 4 耿以礼. 中国主要植物图说(禾本科). 北京: 科学出版社, 1959. 748~784
- 5 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第5册). 北京: 科学出版社, 1980. 183
- 6 吴征镒. 西藏植物志(第5卷). 北京: 科学出版社, 1987. 317
- 7 Miller JD, Tai PYP. Use of plant introductions in sugarcane cultivar development. CSSA Special Publication, 1992, (20): 137~149
- 8 萧凤回, 李富生, 何丽莲等. 甘蔗近缘野生种蔗茅(*Erianthus rufipilus*)的研究. 甘蔗, 1996, 3(2): 1~6
- 9 He SC, Yang QH, Xiao FH et al. Collection and description of basic germplasm of sugarcane (*Saccharum* complex) in China. Int Sugar Jnl, 1999, 101(1201): 23~28
- 10 彭绍光. 甘蔗育种学. 北京: 农业出版社, 1990. 98~159
- 11 周耀辉, 黄启尧. 用培养法测定甘蔗花粉生活力. 甘蔗, 1994, 1(2): 10~12
- 12 何红, 甘海鹏. 甘蔗及其近缘属植物花粉低温贮藏试验初报. 广西甘蔗, 1990(2): 10~12
- 13 Tai PYP. Low temperature preservation of *Saccharum* pollen. Proc ISSCT, 1989, (20): 865~870