

文章编号: 1003-8701(2015)02-0092-05

葡萄花粉不同贮藏条件下生活力的鉴定

李桂荣, 朱自果, 鲁晓晓, 蔡祖国

(河南科技学院园艺园林学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 本试验以有核葡萄品种和无核葡萄品种的新鲜干燥花粉为材料, 每个品种分别贮藏于 25℃、5℃、0℃、-20℃、-40℃ 条件下, 采用蔗糖 200 g/L + 硼酸 50 mg/L + 琼脂 8 g/L 的同一固体培养基作为营养基质, 进行花粉离体培养。结果表明: 刚开始贮藏时不同品种之间的花粉生活力存在明显的差异, 其中有核葡萄品种的花粉生活力高于无核葡萄品种, 并且不同温度下贮藏的花粉其生活力随着贮藏时间的延长均呈下降的趋势, -20℃、-40℃ 贮藏条件下的花粉生活力下降速度较缓慢, 25℃ 贮藏条件下的花粉生活力下降速度较迅速。

关键词: 葡萄; 花粉生活力; 贮藏条件

中图分类号: S663.1

文献标识码: A

DOI: 10.16423/j.cnki.1003-8701.2015.02.024

Determination of Grape Pollen Viability under Different Storage Conditions

LI Gui-rong, ZHU Zi-guo, LU Xiao-xiao, CAI Zu-guo

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Henan

Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: Fresh and dried pollen of seeded and seedless grape cultivars were used as material in the experiment and they were stored at 25℃, 5℃, 0℃, -20℃ and -40℃. Using the same solid medium of sucrose 200 g/L + boric acid 50 mg/L + agar 8g/L as nutrient medium, pollen germination in vitro culture was conducted. The results showed that there were obvious differences in pollen viability between different cultivars at the beginning of storage, and pollen viability of seeded grape cultivars was higher than that of seedless grape cultivars. As storage time extended, pollen viability of different temperature storage treatments decreased, and the pollen viability of -20℃ and -40℃ treatments decreased slowly, while pollen viability stored at 25℃ decreased rapidly.

Key words: Grape; Pollen viability; Storage conditions

葡萄为葡萄科(Vitaceae)葡萄属(Vitis L.), 多年生落叶藤本植物, 是世界上最古老的果树之一。葡萄在我国南北方均有广泛栽培, 近年来随着我国果树产业的发展, 其已跃升成为发展速度最快的果树种类之一。葡萄因其果实形态美观, 风味可口, 营养价值高等特点深受广大消费者欢迎。并且近年来随着人们生活水平的不断提高, 无核葡萄在鲜食和制干上显示出愈来愈重要的作用, 在国际市场中销售量最大、最受人们喜爱。杂交育种是葡萄选育新品种的主要方法之一, 在优质无核葡萄新品种的选育过程中, 更是育种工

作者应用最多的一种手段, 且大多以有核品种为母本与无核品种杂交^[1]。而花粉生活力是确保杂交育种成功的一个重要条件, 花粉生活力的高低直接影响其授粉、受精乃至坐果, 因此在进行杂交育种工作之前, 都必须要了解花粉的生活力^[2-3]; 并且在选育无核葡萄的杂交育种中, 还涉及到根据其花粉生活力高低来进行父母本选择的问题。另外, 由于不同葡萄品种的花期经常不一致, 在葡萄杂交育种过程中, 常涉及不同葡萄品种间花粉萌发率的高低以及同一葡萄品种花粉萌发率随贮藏条件变化的问题^[4-5]。目前, 有关花粉生活力及贮藏条件的研究较多^[6-12], 但葡萄花粉生活力的测定及贮藏条件研究还不是太多^[13-15], 尤其是关于有核与无核葡萄品种花粉生活力的测定及贮藏条件的对比研究比较少, 本试验主要研究了不同贮藏

收稿日期: 2014-10-17

基金项目: 国家自然科学基金(31340015)

作者简介: 李桂荣(1974-), 女, 回族, 博士, 副教授, 从事园艺植物育种与生物技术教学与科研工作。

温度和时间对不同葡萄品种花粉生活力的影响及有核与无核不同葡萄品种花粉生活力的对比,以期为有核与无核葡萄花粉的贮藏及在杂交育种选育适宜的父本提供一定的参考依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验材料于2013年5月13日取自中国农业科学院郑州果树研究所,有核葡萄品种为芳香拉查基、泽玉、京秀、郑州早红、瑞比尔;无核葡萄品种为希姆劳德、京紫晶、立川无核、8611、8612,共10个品种。

1.2 花粉的采集

在葡萄的初花期选择生长健壮的植株,随机取下发育正常的花序,分别装入保鲜袋,再放入装有冰袋的保温箱内带回实验室。除去花序顶部发育较差的花蕾后,取出花药,放在垫有硫酸纸的培养皿中,及时剔除其中的杂质和破裂的花药,然后将培养皿放置在阴凉干燥处自然阴干,室温条件下,经一定时间后花粉开裂,待花粉完全散出干燥后倒入研钵中研磨,经过花粉筛除去杂质后,收集备用。

1.3 花粉的贮藏条件

将收集好的每个品种的花粉均分为5等份,分别装入花粉瓶中,将瓶口用封口膜密封,将密封好的花粉瓶分别放入装有100 mL/L氯化钙的干燥器中保存,标记后分别置于25℃、5℃、0℃、-20℃、-40℃条件下遮光贮藏。贮藏时间分别为5、10、15、20、25 d。

1.4 试验方法

采用离体萌发法测定花粉萌发率。每个处理都按蔗糖200 g/L+硼酸50 mg/L+琼脂8 g/L浓度比例的固体培养基作为营养基质,进行不同品种、不同贮藏条件下葡萄花粉的离体萌发培养以测定其花粉的生活力。每个品种贮藏前测定其新

鲜干燥花粉的萌发率,贮藏后每隔5d取出贮藏的花粉进行生活力的测定,以花粉萌发率作为花粉生活力的指标^[4]。

1.4.1 花粉的培养

按上述配方配置培养基,pH值调至6.0,将配好的培养基倒入干净的培养皿中,待培养基冷却凝固后用棉签蘸取少量花粉,均匀撒播在培养基表面,并在显微镜下观察是否撒播均匀,若花粉分布均匀,再将垫有湿润滤纸的培养皿盖盖在其上,最后贴上标签写明品种、处理、播种时间,置于25℃条件下的恒温培养箱内避光培养。每个处理设置3个重复。

1.4.2 观察及记录结果

培养8 h后,在10×20倍光学显微镜下观察花粉萌发情况,统计萌发率,每个处理随机观察3个视野,每个视野不少于50粒花粉,记录每个视野的花粉萌发粒数和花粉总粒数,并拍照,之后计算3个视野花粉萌发率,取平均值作为该处理下的花粉萌发率。花粉萌发标准以花粉管长度超过花粉粒直径的1/2为萌发花粉。花粉萌发率的计算公式:花粉萌发率(%)=(视野中萌发花粉粒数/视野中花粉总粒数)×100%。试验采用Microsoft office Excel 2003和DPS7.05软件统计和分析数据。

2 结果与分析

2.1 有核葡萄品种与无核葡萄品种的花粉生活力

由图1可知,贮藏前有核葡萄品种的花粉平均萌发率分别为郑州早红50.41%、芳香拉查基46.22%、瑞比尔43.04%、泽玉40.35%、京秀24.13%;无核葡萄品种的花粉平均萌发率分别为希姆劳德26.51%、京紫晶31.09%,其中立川无核、8611、8612三个无核品种均有花粉但其花粉萌发率为0。贮藏前各品种的花粉萌发顺序依次为:郑州早红>芳香拉查基>瑞比尔>泽玉>京紫晶>希姆劳德>京秀>立川无核、8611、8612。

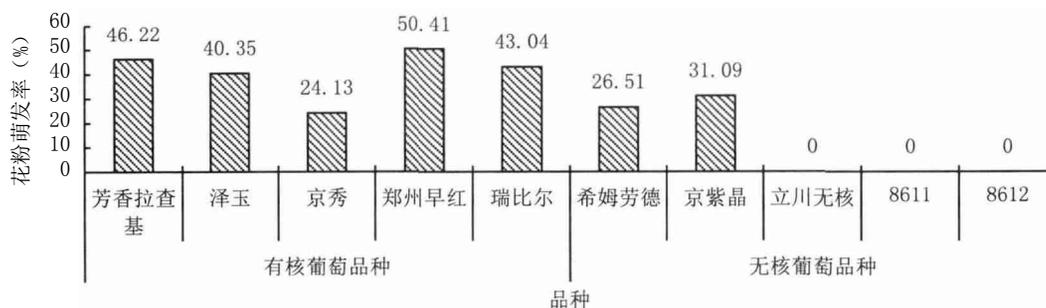


图1 有核葡萄品种与无核葡萄品种新鲜花粉生活力的比较

2.2 不同贮藏时间对葡萄花粉生活力的影响

由表1,在贮藏5 d、10 d、15 d、20 d、25 d后,不同贮藏温度下各品种的花粉萌发率的情况,总的来说其花粉萌发率都是随着贮藏时间的增加而逐渐下降,但不同品种的花粉其萌发率下降的幅度有所差异。同样的贮藏时间、贮藏温度下有核葡萄品种的耐贮藏能力要比无核品种的好些。同

样贮藏25 d后,不同温度下有核葡萄品种的花粉萌发率大多数可达20%~30%,无核葡萄品种京紫晶的花粉萌发率已下降至10%以下,在25℃条件贮藏25 d后无核葡萄品种的花粉萌发率已经为0。因此,从整个花粉萌发情况来看,有核葡萄品种的花粉萌发率要比无核品种的萌发率高些,即其花粉的生活力要高于无核葡萄品种。

表1 不同贮藏时间不同葡萄品种花粉萌发

贮藏时间	贮藏温度	郑州早红	芳香拉查基	瑞比尔	泽玉	京秀	希姆劳德	京紫晶
5 d	25℃	30.53	32.49	30.53	28.90	15.57	18.05	8.52
	5℃	40.57	36.43	31.35	34.09	19.19	24.67	15.83
	0℃	39.15	38.94	34.27	33.24	20.52	26.25	16.27
	-20℃	43.97	44.19	39.97	36.47	21.79	23.24	23.69
	-40℃	46.04	45.07	41.08	36.95	22.46	20.25	21.88
10 d	25℃	26.04	21.62	26.04	27.63	12.13	10.44	2.80
	5℃	38.13	29.49	29.51	29.78	17.79	18.72	10.98
	0℃	37.99	33.68	31.69	33.30	18.63	18.72	13.49
	-20℃	39.16	39.49	39.16	33.38	21.14	19.58	22.69
	-40℃	39.16	38.39	39.16	33.90	20.16	16.67	20.21
15 d	25℃	17.29	20.97	17.29	20.74	10.92	3.35	0.83
	5℃	30.85	27.55	26.22	26.05	15.58	15.21	10.91
	0℃	33.01	30.17	30.71	27.05	16.09	15.02	8.80
	-20℃	34.83	34.38	37.85	28.61	20.24	18.88	15.83
	-40℃	36.03	34.46	36.03	30.21	21.74	15.48	16.20
20 d	25℃	13.55	16.93	14.10	17.99	8.99	2.01	0
	5℃	24.06	24.58	22.06	25.08	14.17	11.90	3.74
	0℃	26.39	28.54	26.39	25.40	15.85	13.53	8.52
	-20℃	26.85	28.64	32.92	31.90	16.43	16.78	13.79
	-40℃	30.47	32.30	33.47	29.13	18.02	7.21	14.29
25 d	25℃	9.41	15.69	7.38	13.79	7.64	0	0
	5℃	19.38	22.13	21.41	22.46	13.73	9.12	3.27
	0℃	21.24	25.12	22.60	24.76	14.54	13.51	6.68
	-20℃	23.23	25.82	28.24	25.16	13.75	11.45	3.86
	-40℃	26.55	29.97	29.88	26.53	15.22	6.55	7.71

2.3 不同贮藏温度对葡萄花粉生活力的影响

由表2可知,有核葡萄品种刚开始贮藏时,每个品种的花粉萌发率都相对较高,但随着贮藏时间的延长,其花粉萌发率均呈现下降趋势。25℃条件下贮藏时,随着贮藏时间的延长其花粉生活力下降的幅度较大,在贮藏10 d后每个品种的花粉萌发率都下降了近一半;甚至在贮藏25 d后京秀、郑州早红、瑞比尔三个品种花粉的平均萌发率下降到10%以下,分别为7.64%、9.41%、7.38%,由此可见,25℃条件下贮藏有核品种花粉效果较差。但如若短时间内进行花粉贮藏,其效果还是比较理想的,而且比较方便。相比较而言,5℃、0℃条件下贮藏的花粉随着贮藏时间的增加,其生

活力下降的速度相对较缓慢些,贮藏25 d后其花粉平均萌发率可以保持在14.54%~25.12%。

当有核葡萄品种花粉贮藏-20℃、-40℃的低温条件下时,随着贮藏时间的增加,各品种花粉的萌发率呈缓慢下降趋势,其下降幅度相对25℃、5℃、0℃贮藏条件下的花粉萌发率而言较小,且在贮藏25 d以后其花粉的萌发率多数都保持在20%以上,芳香拉查基可保持在29.97%,瑞比尔可保持在29.88%。由此可见,在此低温条件下,其贮藏效果都比较好,适于长时间贮藏花粉。

供试的5个无核葡萄品种中,立川无核、8611、8612三个无核品种有花粉但其花粉萌发率为0。由表2可知,希姆劳德和京紫晶2个无核葡

萄品种,在不同贮藏温度下,随着贮藏时间的延长,其花粉萌发率呈下降趋势。贮藏前希姆劳德和京紫晶2个无核品种的新鲜花粉萌发率分别为26.51%、31.09%,但其在25℃条件下贮藏15 d后的花粉萌发率均低于5%,京紫晶的花粉生活力甚至已接近0;5℃、0℃贮藏温度下其花粉萌发率下降的幅度较25℃贮藏温度下缓慢,-20℃、-40℃贮

藏条件下的花粉萌发率下降的速度最为缓慢。由此可见,无核葡萄品种与有核葡萄品种的花粉在贮藏温度随贮藏时间的变化上很相似,-20℃、-40℃低温条件下贮藏无核葡萄品种花粉效果较好,5℃、0℃贮藏条件下效果次之,25℃条件下贮藏花粉效果较差。

表2 不同贮藏温度下不同葡萄品种花粉的萌发

%

品种	贮藏温度	0 d	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d
郑州早红	25℃	50.41	30.53	26.04	17.29	13.55	9.41
	5℃	50.41	40.57	38.13	30.85	24.06	19.38
	0℃	50.41	39.15	37.99	33.01	26.39	21.24
	-20℃	50.41	43.97	39.16	34.83	26.85	23.23
	-40℃	50.41	46.04	39.16	36.03	30.47	26.55
芳香拉查基	25℃	46.22	32.49	21.62	20.97	16.93	15.69
	5℃	46.22	36.43	29.49	27.55	24.58	22.13
	0℃	46.22	38.94	33.68	30.17	28.54	25.12
	-20℃	46.22	44.19	39.49	34.38	28.64	25.82
	-40℃	46.22	45.07	38.39	34.46	32.30	29.97
瑞比尔	25℃	43.04	30.53	26.04	17.29	14.10	7.38
	5℃	43.04	31.35	29.51	26.22	22.06	21.41
	0℃	43.04	34.27	31.69	30.71	26.39	22.60
	-20℃	43.04	39.97	39.16	37.85	32.92	28.24
	-40℃	43.04	41.08	39.16	36.03	33.47	29.88
泽玉	25℃	40.35	28.90	27.63	20.74	17.99	13.79
	5℃	40.35	34.09	29.78	26.05	25.08	22.46
	0℃	40.35	33.24	33.30	27.05	25.40	24.76
	-20℃	40.35	36.47	33.38	28.61	31.90	25.16
	-40℃	40.35	36.95	33.90	30.21	29.13	26.53
京秀	25℃	24.13	15.57	12.13	10.92	8.99	7.64
	5℃	24.13	19.19	17.79	15.58	14.17	13.73
	0℃	24.13	20.52	18.63	16.09	15.85	14.54
	-20℃	24.13	21.79	21.14	20.24	16.43	13.75
	-40℃	24.13	22.46	20.16	21.74	18.02	15.22
希姆劳特	25℃	26.51	18.05	10.44	3.35	2.01	0
	5℃	26.51	24.67	18.72	15.21	11.90	9.12
	0℃	26.51	26.25	18.72	15.02	13.53	13.51
	-20℃	26.51	23.24	19.58	18.88	16.78	11.45
	-40℃	26.51	20.25	16.67	15.48	7.21	6.55
京紫晶	25℃	31.09	8.52	2.80	0.83	0	0
	5℃	31.09	15.83	10.98	10.91	3.74	3.27
	0℃	31.09	16.27	13.49	8.80	8.52	6.68
	-20℃	31.09	23.69	22.69	15.83	13.79	3.86
	-40℃	31.09	21.88	20.21	16.20	14.29	7.71

3 结论与讨论

花粉的贮藏温度和湿度是影响花粉贮藏时间

长短的主要因素。花粉在高温、高湿的情况下,酶的水解活性增强,代谢作用亦随之加强,并且进行着强烈的呼吸作用,消耗大量养分,且易被

微生物感染发霉变质而丧失萌发率。花粉贮藏过程中,保持较低的环境湿度,可以使其代谢受到抑制,酶活性减弱,呼吸作用降低,使花粉活力维持较长时间,贮藏花粉的寿命往往与环境相对湿度呈负相关^[16-18]。本试验研究表明,-20℃、-40℃贮藏条件下葡萄干燥花粉的贮藏效果最好,随着贮藏时间的延长,花粉生活力逐渐降低,主要原因是花粉内养分逐渐消耗,酶活性逐渐降低;在25℃条件下花粉生活力下降最为迅速,主要原因是贮藏温度较高,花粉内酶活性较强,代谢作用加快,过度消耗花粉内贮藏的养分;而5℃、0℃条件就处于二者之间,是短期贮藏最为理想便捷的贮藏方式。

供试10个葡萄品种中,虽得出有核葡萄品种的花粉生活力要高于无核葡萄品种,但所测得的新鲜花粉萌发率都不是太高,如萌发率最高的郑州早红也只有50.14%,并且立川无核、8611、8612三个无核品种有花粉但其花粉萌发率为零,显微镜观察发现立川无核花粉形态干瘪,形状皱缩不规则,8611和8612两个无核品种的花粉则是圆形饱满,发育正常的,可能属于花粉败育^[19-20],具体原因还有待研究。另外,也有葡萄花粉萌发率随着时间变化却有短时间升高或者不变的趋势,如有核品种泽玉和无核品种京紫晶,在-20℃贮藏条件下,泽玉在贮藏20d时其花粉生活力高于15d,京紫晶则是在这两个时间段内的花粉生活力呈持平状态,这可能是因为在每次测花粉萌发率时,将密封的瓶盖打开,使其与空气接触,改变了瓶内的湿度和氧气浓度,增强了花粉的代谢,使其活力短时间内增加;也可能是因为冷热交替,刺激了花粉的萌发;还有可能是品种自身的遗传基因所决定的,具体原因有待进一步研究。

参考文献:

[1] 贺普超. 葡萄学[M]. 北京:中国农业出版社,1999:49.

- [2] 任秋萍,张斌斌.不同保存温度对几个梨品种花粉生活力的影响[J].北方园艺,2008(3):3-5.
- [3] 尹佳蕾,赵惠恩.花粉生活力影响因素及花粉贮藏概述[J].中国农学通报,2005,21(4):110-113,193.
- [4] 王钦丽,卢龙斗,吴小琴,等.花粉的保存及其生活力测定[J].植物学通报,2002,19(3):365-373.
- [5] 徐跃进,胡春根.园艺植物育种学[M].北京:高等教育出版社,2007:23-85.
- [6] 宋尚伟,闫锋,蔡艳婷,等.桃品种‘八月香’花粉的超低温保存[J].植物生理学通讯,2007,43(1):181-183.
- [7] 赵彩平,刘娜,韩明玉,等.不同贮藏温度对桃花粉生活力的影响[J].北方园艺,2010(12):50-52.
- [8] 刘会超,贾文庆,刘露颖,等.不同条件对迎春花粉生活力的影响[J].广东农业科学,2011(6):55-57.
- [9] 张亚利,曾宪宝,晏晓兰,等.梅花花粉生活力的测定和比较[J].湖北农业科学,2005(6):84-86.
- [10] 刘自刚.不同贮藏温度对桔梗花粉生活力及授粉结实能力的影响[J].热带植物学报,2011,32(5):956-959.
- [11] 马杰.不同贮藏温度和时间对桃花粉生活力的影响[J].吉林农业科学,2013,38(5):73-76.
- [12] 孙爱芹,韩斌,彭建营,等.不同枣品种花粉生活力及贮藏方法研究[J].中国农学通报,2010,26(1):166-168.
- [13] 杨瑞,郝燕,王发林,等.葡萄花粉生活力测定[J].甘肃农业大学学报,2007,42(2):47-50.
- [14] 薛新伟,马作虎,武龙龙,等.葡萄花粉贮藏试验[J].农业信息与科技,2012(22):18-19,31.
- [15] 李桂荣,朱自果,蔡祖国,等.火焰无核葡萄花粉离体萌发试验[J].西北林学院学报,2012,27(1):93-97.
- [16] 朱军.遗传学[M].北京:中国农业出版社,2002:112-113.
- [17] 潘瑞炽.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2001:257-259.
- [18] 宋红霞,侯璐芬,张光星,等.贮藏温度和湿度对胡萝卜花粉生活力的影响[J].上海农业学报,2011,27(1):65-67.
- [19] 牛立新,张延龙.中国野生葡萄花粉形态学研究[J].园艺学报,2000,27(5):361-363.
- [20] 刘倩,周蓓蓓,张其林,等.葡萄雄性不育种质特性及其花粉败育的细胞学研究[J].果树学报,2010,27(4):514-520.