

不同美国山核桃品种花粉萌发与活力研究

朱雪晨, 王改萍*, 彭方仁, 吕 昕

(南京林业大学林学院, 江苏 南京 210037)

摘要:为了分析不同培养条件对美国山核桃花粉生活力的影响,以 4 个不同品种美国山核桃花粉为试验材料,研究了培养时间、培养温度、培养基 pH、蔗糖、硼酸和 PEG-4000 浓度等对花粉离体萌发的影响。结果表明:不同培养时间对美国山核桃花粉的生活力有显著影响,适宜的培养时间为 24 h;适宜的培养温度为 25~30 ℃,温度过高或者过低均会抑制花粉萌发和花粉管生长;适宜的液体培养基 pH 为 5.5,超过此范围均表现为抑制萌发。在一定浓度范围内,蔗糖、硼酸和 PEG-4000 对美国山核桃 4 个品种的花粉萌发和花粉管生长起促进作用,而超过阈值后起抑制作用;培养基组分中以含 20%~25% 的蔗糖、0.03% 的硼酸和 15% 的 PEG-4000 为宜。

关键词:美国山核桃; 品种; 离体培养条件; 花粉萌发率; 花粉管长度

中图分类号: S718

文献标志码: A

文章编号: 1000-2006(2015)04-0001-06

A study on pollen germination and viability in different varieties of *Carya illinoensis*

ZHU Xuechen, WANG Gaiping*, PENG Fangren, LYU Xin

(College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: In order to analyze effects of different culture conditions on pollen vitality, influences of culture time, culture temperature, pH value of culture medium, sugar, boric acid and PEG-4000 concentration on pollen germination were studied by *in vitro* culture of four different *Carya illinoensis* cultivars. The results showed that culture time had extremely significant effect on the pollen germination and the pollen length of *C. illinoensis*. The suitable culture time was 24 h. The culture temperature, pH value, sugar boric acid and PEG-4000 concentrations in liquid medium had obvious influence on pollen viability of the four varieties. The optimum culture temperature for all varieties was 25-30 ℃. The weak acidic environment was favorable for germination and growth of pollens, and the suitable pH value of liquid medium was 5.6. The pollen germination rate and pollen tube length reached their peaks when the sugar concentration was 20%-25%, the concentration of boric acid was over 0.03%; and the concentration of PEG-4000 was over 15%.

Keywords: *Carya illinoensis*; variety; *in vitro* culture condition; pollen germination rate; pollen tube length

美国山核桃 (*Carya illinoensis* (Wangench.) K. Koch) 为胡桃科 (Juglandaceae) 山核桃属 (*Carya*) 落叶乔木,原产于墨西哥北部和美国南部,其果实个大壳薄,产量高,营养丰富,是优良的干果油料树种之一^[1]。我国于 19 世纪末开始种植美国山核桃,引种栽培历史已有 100 多年,目前主要在云南、江苏等地进行种植^[2-3]。

美国山核桃为雌雄异花植物,存在雌雄异熟现象,雌花的可授粉期与雄花的散粉期大多不一致,导致授粉不良,种植园内产量总体偏低。为了达到

美国山核桃高产稳产的目的,需要在雄花散粉期提前收集具有较高活力的花粉进行人工授粉,从而提高结实率,因此花粉生活力的检测在生产中显得尤为重要。目前,对美国山核桃资源收集、生理生化特性及果实品质等方面有较深入的研究^[4-6],但系统研究授粉树花粉活力的报道尚不多见。笔者以 4 个不同品种的薄壳山核桃花粉为材料,利用离体萌发法,研究了不同培养条件对美国山核桃花粉萌发的影响,以期探明制约或促进其花粉萌发的因素,为美国山核桃人工辅助授粉和培育提供理论依

收稿日期: 2015-03-02

修回日期: 2015-05-17

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项项目(201304711); 江苏省林业三新工程项目[Lyss2014(047)]; 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

第一作者: 朱雪晨, 硕士。* 通信作者: 王改萍, 副教授。E-mail: wanggaiping@njfu.edu.cn。

引文格式: 朱雪晨, 王改萍, 彭方仁, 等. 不同美国山核桃品种花粉萌发与活力研究[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2015, 39(4): 1-6.

据,同时为扩大美国山核桃生产及提高其产量和品质奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验材料为健康的成年美国山核桃品种,种植于江苏南京市六合区雄州镇绿宙薄壳山核桃苗圃园。试验共选择4个品种,分别为‘Pawenn’(‘波尼’)、‘Mahan’(‘马汉’)、‘Stuart’(‘斯图尔特’)和‘Zhongshan 25’(‘钟山25’),均为6年生嫁接树木,已进入结果期。

在美国山核桃散粉盛期(4月下旬至5月上旬),每天8:00采集雄花序,带回实验室后将其平摊在硫酸纸上,置于避风阳光下晾晒24h左右,抖出花粉,过筛、干燥(花粉的含水率控制在4%以下^[4]),之后将花粉装入离心管,放入装有硅胶的密封袋,-20℃条件下保存备用。各品种花粉生活力测定均在保存后14d内完成。

1.2 花粉生活力的测定方法

采用离体萌发法进行花粉活力的测定。参考文献[5]中的花粉液体培养法,基本培养基包括15%的蔗糖、0.02%的 $MgSO_4$ 、0.01%的 KNO_3 、0.03%的 $Ca(NO_3)_2$ 和0.01%的 H_3BO_3 ,pH为5.6。

复水时间:在萌发试验前从-20℃冰箱中取出适量花粉,置于25℃、相对湿度为97%的密闭容器中复水4h^[4]。

花粉培养在黑暗、恒温25℃条件下保湿培养,以单枚接种培养载玻片为重复,每处理设3次重复。在Nikon YS100光学显微镜下观察花粉萌发和花粉管的生长状况。每个玻片随机选取5个不重复的视野,每个视野花粉粒数量不少于50个;以花粉管的长度超过花粉粒直径作为判断花粉萌发的依据,并选取50个萌发花粉粒测定花粉管长度。

利用DT2000图像分析软件统计花粉总数、花粉萌发数和测量花粉管长度。

1.3 最适培养时间及培养条件的确定

利用基本培养基,连续48h对花粉进行培养,并且每隔2、4、6、12、24、48h观察1次花粉萌发状况以确定最适培养时间。每处理设3个重复,培养方法与生活力测定方法相同。

根据试验中确定的最佳培养时间,设置不同的花粉培养条件进行单因素多水平试验,从中筛选出各因素的最适水平。

培养条件包括:温度(10、15、20、25、30、35、40℃);液体培养基pH(5.6、6.5、7.0、8.0);蔗糖质量分数(0、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%);硼酸质量分数(0、0.01%、0.03%、0.05%、0.1%);PEG-4000质量分数(0、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%)。

各处理条件中的培养基均是在基本培养基水平上进行不同pH或不同浓度的调节。每个处理重复3次,统计和观察花粉萌发和花粉管长度,结果取平均值。

1.4 数据处理

数据用Excel 2010统计,采用SPSS19.0进行方差分析(one-way ANOVA)及多重比较(Duncan)。

2 结果与分析

2.1 培养时间和温度对美国山核桃花粉生活力的影响

花粉的萌发过程需要在一定的时间内完成,不同植物的花粉其萌发到最大值时需要时间不同。王改萍等^[6]认为楸树适宜的培养时间为6h,杨尚尚等^[7]认为石榴“泰山红”的花粉萌发率在培养3h即达到最大值;马建伟等^[8]对不同品种云杉花粉的研究发现,粗枝云杉(*Picea asperata*)花粉培养8h才开始萌发,而欧洲云杉(European spruce)花粉6h就开始萌发。在对美国山核桃不同品种花粉的连续培养中发现,其萌发率及花粉管生长均在24h时达到最大值,延长培养达48h后,花粉萌发率显著下降。说明花粉萌发率达到最大值后,若继续培养,会导致部分花粉管破裂,显微观察中萌发花粉粒减少,萌发率降低,而且花粉管长度均值也会随之下降(表1)。此次试验样本最适培养时间要长于前人研究结果,可能是品种的遗传特性影响所致。

方差分析结果表明,培养时间对花粉萌发率和花粉管长度的影响达到显著水平($P<0.05$),花粉萌发率和花粉管长度在培养24h时与其他培养时间下有着极显著差异($P<0.01$);而相同的培养时间下,不同品种花粉的萌发率和花粉管长度也存在显著差异($P<0.05$),这可能与品种的遗传特性有关。因此,适合参试美国山核桃花粉培养的最佳时间为24h。

表 1 不同培养时间和温度下美国山核桃花粉萌发率及花粉管长度

Table 1 Pollen germination rate and pollen tube length of *Carya illinoensis* under different culture time and temperature

处理 treatment	花粉萌发率/% germination rate				花粉管长度/ μm pollen tube length				
	‘波尼’ ‘Pawenn’	‘马汉’ ‘Mahan’	‘斯图尔特’ ‘Stuart’	‘钟山 25’ ‘Zhongshan 25’	‘波尼’ ‘Pawenn’	‘马汉’ ‘Mahan’	‘斯图尔特’ ‘Stuart’	‘钟山 25’ ‘Zhongshan 25’	
t/h	2	4.0 \pm 1.6Ed	11.2 \pm 2.4De	11.2 \pm 3.6Ce	19.2 \pm 2.8Dd	115.6 \pm 8.6Be	121.4 \pm 6.4Bc	120.1 \pm 5.0Bc	118.1 \pm 2.6Bc
	4	10.0 \pm 3.3DEc	19.8 \pm 3.1Cd	18.0 \pm 1.9Bd	26.4 \pm 4.4Dc	101.6 \pm 11.7Bbc	116.4 \pm 2.8Bc	131.3 \pm 2.2Bbc	131.7 \pm 1.1Bbc
	6	13.6 \pm 4.8CDe	28.6 \pm 4.2Bc	23.6 \pm 3.0Be	31.8 \pm 6.4Cc	121.1 \pm 4.2Bbc	146.7 \pm 5.3Bbc	155.8 \pm 6.1Bbc	140.4 \pm 5.7Bbc
	12	20.2 \pm 2.2BCb	36.0 \pm 3.4Ab	43.2 \pm 4.7Ab	43.8 \pm 7.1BCb	134.5 \pm 7.6Bb	171.7 \pm 8.6Bb	183.4 \pm 2.4Bb	148.74 \pm 8.0Bb
	24	44.4 \pm 6.5Aa	52.2 \pm 4.8Aa	58.4 \pm 4.8Aa	53.4 \pm 5.0Aa	203.71 \pm 7.3Aa	263.6 \pm 4.7Aa	286.0 \pm 2.0Aa	317.4 \pm 9.6Aa
T/ $^{\circ}\text{C}$	48	23.4 \pm 2.1Bb	39.0 \pm 3.8Ab	47.0 \pm 2.5Ab	42.6 \pm 3.4ABb	206.6 \pm 5.2Aa	253.6 \pm 9.6Aa	284.2 \pm 9.0Aa	292.2 \pm 10.0Aa
	10	9.8 \pm 2.1Dd	10.4 \pm 1.7Cd	12.8 \pm 1.7De	14.2 \pm 1.6Dd	62.6 \pm 7.1De	72.3 \pm 4.6De	81.2 \pm 5.8Cd	84.5 \pm 7.6Cd
	15	16.0 \pm 1.2Cc	16.6 \pm 2.0Cc	20.8 \pm 1.8BCd	21.6 \pm 2.6Cc	82.6 \pm 7.9Cd	87.0 \pm 2.8dDe	97.8 \pm 5.3Ccd	94.9 \pm 4.01Cd
	20	24.6 \pm 2.5Bb	25.0 \pm 2.3Bb	25.0 \pm 4.3Be	38.2 \pm 4.6Bb	98.3 \pm 14.3BCc	102.3 \pm 10.2Bd	103.3 \pm 14.8Ccd	112.5 \pm 10.7Cd
	25	47.0 \pm 3.2Aa	51.2 \pm 6.1Aa	56.4 \pm 3.6Aa	61.2 \pm 3.9Aa	203.7 \pm 7.3Aa	263.4 \pm 7.8Aa	286.0 \pm 11.9Aa	317.4 \pm 9.6Aa
	30	43.4 \pm 4.3Aa	47.6 \pm 4.0Aa	51.4 \pm 1.7Ab	59.4 \pm 3.3Aa	200.0 \pm 8.0Aa	218.4 \pm 4.8Ab	282.9 \pm 11.9Aa	285.5 \pm 9.4Ab
	35	15.8 \pm 4.3Cc	14.4 \pm 7.1Ccd	16.0 \pm 4.6CDe	25.2 \pm 3.5Cc	113.5 \pm 7.3Bb	119.4 \pm 8.0BCc	149.8 \pm 11.6Bb	168.9 \pm 7.9Be
	40	8.0 \pm 2.1Dd	10.0 \pm 3.0Cd	13.2 \pm 2.5De	11.2 \pm 2.3Dd	89.8 \pm 6.6Ccd	111.4 \pm 4.4BCcd	113.7 \pm 12.0Cc	114.1 \pm 10.1Cd

注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。下同。

Note: Bars with the different lower and upper case letters were significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$. The same below.

花粉培养温度对花粉生活力有着重要影响,温度过高会造成花粉失活死亡,影响植物的繁殖效率;温度过低会导致花粉管生长缓慢,在花粉管到达胚囊前,胚囊已失去了受精能力。研究发现:32 $^{\circ}\text{C}$ 是棉花 (*Gossypium hirsutum* L.) 花粉萌发的最适宜温度^[9];凯特杏的为 20 $^{\circ}\text{C}$ ^[10];楸树的为 25 $^{\circ}\text{C}$ ^[6]。美国山核桃花粉在 25~30 $^{\circ}\text{C}$ 范围内萌发率均表现良好,但超过或低于此温度会使花粉活力降低(表 1)。

方差分析结果表明:花粉萌发率和花粉管长度在不同的培养温度时均存在极显著差异 ($P < 0.01$);相同温度条件下,不同品种的薄壳山核桃花粉萌发率和花粉管长度也存在显著差异 ($P < 0.05$)。以上结果表明,温度过低或者过高都会影

响到花粉生活力,25~30 $^{\circ}\text{C}$ 是参试各品种薄壳山核桃花粉离体萌发的适宜培养温度。

2.2 培养基 pH 对美国山核桃花粉离体萌发的影响

大量的研究表明,花粉活力在弱酸性或中性偏酸性条件下能保持较高水平,如:石榴‘泰山红’花粉适宜的 pH 为 7.0^[6];转基因白桦 (*Betula platyphylla*) 在 pH 为 6.0~6.5 时花粉萌发率较高,高于或者低于这个 pH 范围,花粉萌发率迅速下降^[11];凯特杏最适花粉萌发的 pH 为 6.0^[10];而沙田柚培养液中 pH 为 5.6 时花粉萌发率最高^[12]。该研究结果表明,美国山核桃花粉萌发适宜的 pH 为 5.5,与沙田柚花粉近似,表明其在弱酸性条件 (pH 为 5.5) 时萌发率及花粉管长度都表现为最好。

表 2 液体培养基 pH 对不同品种美国山核桃花粉萌发率及花粉管长度的影响

Table 2 Effects of pH values of liquid medium on pollen germination rate and pollen tube length of *C. illinoensis*

pH	花粉萌发率/% germination rate				花粉管长度/ μm pollen tube length			
	‘波尼’ ‘Pawenn’	‘马汉’ ‘Mahan’	‘斯图尔特’ ‘Stuart’	‘钟山 25’ ‘Zhongshan 25’	‘波尼’ ‘Pawenn’	‘马汉’ ‘Mahan’	‘斯图尔特’ ‘Stuart’	‘钟山 25’ ‘Zhongshan 25’
5.5	53.0 \pm 3.5Aa	53.2 \pm 3.3Aa	59.6 \pm 4.8Aa	62.0 \pm 4.1Aa	106.1 \pm 4.6Aa	114.5 \pm 13.5Aa	167.5 \pm 11.9Aa	209.9 \pm 12.9Aa
6.5	40.4 \pm 1.7Bb	43.4 \pm 1.7Bb	46.4 \pm 5.2Bb	50.2 \pm 2.8Bb	93.9 \pm 4.7Bb	98.6 \pm 3.2Bb	130.5 \pm 12.2Bb	159.0 \pm 7.2Bb
7.0	23.2 \pm 3.7Cc	26.2 \pm 4.3Cc	27.2 \pm 3.6Cc	33.0 \pm 3.5Cc	61.6 \pm 3.6Be	85.4 \pm 5.7BCc	106.0 \pm 7.9BCc	122.8 \pm 4.7BCc
8.0	10.6 \pm 3.4Dd	13.0 \pm 3.4Dd	13.6 \pm 2.0Dd	15.8 \pm 3.6Dd	37.9 \pm 9.7Cd	56.2 \pm 6.5Cd	83.2 \pm 5.3Cd	87.7 \pm 5.7Cd

方差分析结果也表明,在相同 pH 条件下,不同品种的薄壳山核桃花粉其萌发率和花粉管长度之间存在显著差异 ($P < 0.05$),且同一品种花粉在

不同 pH 条件下的花粉萌发率和花粉管长度也存在极显著差异 ($P < 0.01$)。因此,薄壳山核桃花粉的液体培养基适宜 pH 为 5.5。

2.3 培养基蔗糖浓度对美国山核桃花粉离体萌发的影响

蔗糖是花粉萌发的能量来源,同时维持外界环境一定的渗透压以避免花粉粒及花粉管破裂。研究表明,最适宜于石榴‘泰山红’花粉萌发的蔗糖质量分数为10%^[7],沙田柚适宜的蔗糖质量分数为15%^[12];而安晓芹等^[13]对不同杏品种的研究中

发现,不同品种适宜的蔗糖浓度不同,质量分数变化范围为10%~20%。对美国山核桃的研究表明,蔗糖质量分数在20%~25%为宜,低于此质量分数时,萌发率较低,而一旦超过25%时,各品种花粉管长度即下降,再增加时则会大幅下降(表3)。推测其原因,可能低浓度时提供花粉能量不足,而高浓度蔗糖又影响花粉粒细胞的水分平衡。

表3 液体培养基中蔗糖、硼酸及PEG-4000对不同品种美国山核桃花粉萌发率及花粉管长度的影响

Table 3 Effects of different concentrations of sugar, H₃BO₃ and PEG-4000 in liquid medium on pollen germination rate and pollen tube length of *C. illinoensis*

处理/% treatment	花粉萌发率/% germination rate				花粉管长度/ μm pollen tube length				
	‘波尼’ ‘Pawenn’	‘马汉’ ‘Mahan’	‘斯图尔特’ ‘Stuart’	‘钟山25’ ‘Zhongshan 25’	‘波尼’ ‘Pawenn’	‘马汉’ ‘Mahan’	‘斯图尔特’ ‘Stuart’	‘钟山25’ ‘Zhongshan 25’	
蔗糖 sugar	0	1.4±0.5De	2.8±0.8De	4.2±1.3De	7.0±3.1Ee	32.9±6.0Ee	40.5±2.0Ff	56.8±6.8Ef	61.2±6.7Fe
	5	5.8±1.3Dd	7.4±1.7Dd	9.6±2.3Dd	11.4±2.3Ee	42.5±3.9Ee	45.8±3.8Ff	59.6±2.9Ef	65.8±4.9Fe
	10	18.6±2.3Cc	21.0±2.9Cc	23.4±3.3Cc	25.0±4.3Dd	71.9±10.2Dd	73.8±6.7Ee	88.8±5.4De	96.7±3.1Ed
	15	29.8±6.1Bb	34.0±2.6Bb	37.0±3.4Bb	36.2±6.0Cc	154.2±14.7Cc	162.7±7.7Cc	184.1±5.5Cc	180.6±15.6Cc
	20	49.6±3.6Aa	59.2±3.1Aa	62.4±3.4Aa	70.2±2.0Aa	277.7±7.5Aa	297.7±10.2Aa	314.9±10.7Aa	323.9±8.0Aa
	25	50.2±2.4Aa	56.0±2.2Aa	63.0±2.3Aa	67.4±2.1Aa	261.1±6.3Bb	270.7±6.6Bb	286.6±11.4Bb	292.4±8.0Bb
	30	32.6±5.0Bb	36.0±3.5Bb	39.0±3.5Bb	43.2±3.6Bb	151.7±7.5Cc	148.9±3.9Dd	171.9±4.8Cd	189.3±6.6Dc
	35	18.4±2.7Cc	21.8±2.8Cc	24.6±5.1Cc	22.8±4.1Dd	66.4±6.0Dd	69.1±6.8Ee	82.9±5.0De	92.0±6.4Ed
硼酸 H ₃ BO ₃	40	6.2±2.3Dd	8.0±2.9Dd	8.4±2.1Dd	10.0±5.4Ee	36.0±5.9Ee	40.3±1.8Ff	53.0±4.6Ef	58.1±3.3Fe
	0	37.8±1.9Cc	40.6±2.9Bb	47.0±4.9Be	48.8±5.9Cc	145.6±10.2Cc	142.3±2.8Cc	153.2±11.2Cc	161.4±3.1Bc
	0.01	49.2±4.7Bb	46.8±6.3Bb	55.4±4.2Bb	58.2±4.7Bb	166.4±6.1Bb	171.7±8.3Bb	181.5±10.4Bb	184.1±4.1Bb
	0.03	62.8±2.6Aa	74.4±5.4Aa	75.4±5.3Aa	81.6±4.7Aa	214.2±7.4Aa	244.4±4.6Aa	267.1±9.5Aa	285.1±2.8Aa
	0.05	38.8±1.6Cc	43.2±3.3Bb	51.8±3.1Bbc	49.8±4.1Bc	173.6±8.2Bb	175.7±5.8Bb	180.9±10.2Bb	189.0±5.1Bb
PEG	0.10	15.4±4.3Dd	21.4±4.9Cc	24.4±6.3Cd	29.6±5.2Dd	97.7±9.3Dd	100.6±5.3Dd	100.0±8.9Dd	107.0±8.8Cd
	0	33.8±4.3Cd	37.2±4.3Dd	40.4±3.2Dd	43.8±3.1Cc	105.2±8.7Ee	108.9±9.1Dd	115.6±10.7Dd	126.2±8.9De
	5	39.6±4.2Cc	43.8±3.4Cc	46.2±4.7CDc	51.4±4.0CBc	193.3±7.7Cc	218.9±4.4BCbc	260.9±10.4BCbc	261.0±2.6BCd
	10	47.8±3.1Bb	52.8±4.8Bb	54.6±3.2Bb	56.6±3.6Bb	197.6±2.8Cc	226.6±9.9BCbc	277.9±12.1BCb	303.5±4.7Bc
	15	64.2±3.6Aa	68.8±2.8Aa	70.2±2.4Aa	73.2±4.0Aa	375.3±9.0Aa	389.0±2.5Aa	411.7±7.5Aa	456.6±6.7Aa
	20	48.8±4.4Bb	53.0±3.5Bb	52.0±4.5Bcb	54.0±3.9Bb	334.3±3.9Bb	368.8±3.5Aa	393.2±7.1Aa	422.8±10.5Ab
25	35.6±3.0Ccd	39.6±1.9CDcd	40.8±3.3Dd	44.0±3.9Cc	194.9±9.3Cc	252.2±6.5Bb	283.0±9.9Bb	301.3±6.8Bc	
30	18.4±2.9De	21.0±3.1Ee	24.4±4.9Ee	27.8±7.6Dd	163.4±1.2Dd	197.3±6.8Cc	233.7±5.1Cc	233.4±3.3Cd	

方差分析结果表明,不同品种间和不同蔗糖浓度处理间的花粉管长度均存在极显著差异($P < 0.01$),但是蔗糖质量分数为20%和25%的两个处理间的花粉萌发率差异不显著($P > 0.05$)。综上,20%是适合各品种薄壳山核桃花粉萌发和花粉管生长适宜的蔗糖质量分数。

2.4 培养基硼酸浓度对美国山核桃花粉离体萌发的影响

硼酸可以促进蔗糖的吸收和代谢,与蔗糖结合能提高花粉的萌发率。陈文涛等^[14]的研究发现,适宜质量浓度的硼酸对枣(Chinese jujube)花粉萌发率和花粉管生长具有显著促进作用,硼酸质量浓

度为15.0 mg/L时,花粉萌发率和花粉管长度达到最大值;唐荣平等^[15]认为1%的硼酸最为适宜;黄家兴等^[10]认为0.04%的硼酸适宜花粉萌发;杨尚尚等^[7]的研究表明0.005%的硼酸处理下石榴花粉萌发效果最佳。此次试验结果中,适合各品种美国山核桃花粉萌发和花粉管生长的硼酸质量分数最适为0.03%(表3),与文献[10]的结果相近。

方差分析结果表明,不同品种间的花粉萌发率和花粉管长度存在显著差异($P < 0.05$),不同硼酸浓度处理间的花粉萌发率和花粉管长度存在极显著差异($P < 0.01$)。综上认为,适合不同品种美国山核桃花粉萌发和花粉管生长的硼酸质量分数为

0.03%。

2.5 培养基 PEG-4000 浓度对美国山核桃花粉离体萌发的影响

PEG 是一种惰性物质,能较长久地维持花粉膨压。有研究认为 20% 的 PEG-4000 可明显促进沙田柚花粉的萌发^[12];5%~25% 的 PEG-4000 均能促进丽江山慈姑(*Iphigenia indica*)花粉的萌发,但 10% 的处理效果最好^[15];董易等^[16]认为,5% PEG-4000 最适宜荷兰水仙花粉萌发;而笔者发现,适合美国山核桃花粉萌发的 PEG-4000 质量分数为 15%(表 3)。

方差分析结果表明,同一 PEG-4000 浓度下不同品种间的花粉萌发率差异不显著($P>0.05$),但不同品种间的花粉管长度差异显著($P<0.05$),说明花粉管长度对 PEG-4000 浓度变化更为敏感。不同 PEG-4000 浓度处理间各品种的花粉萌发率达到极显著差异($P<0.01$),花粉管长度均达到了显著差异($P<0.05$)。综上可知,低浓度的 PEG-4000 对各品种美国山核桃花粉萌发率及花粉管长度具有促进作用,高浓度时则表现为抑制。因此适合不同品种美国山核桃花粉管生长的 PEG-4000 质量分数为 15%~20%。

3 讨论

美国山核桃大多自交不育,因此,了解花粉生活力的影响因素对提高人工授粉率及结实率显得非常重要,而花粉萌发状况取决于培养条件和培养基组分等外部因子。

相关的研究表明,不同树种其花粉萌发时间存在较大的差异,有的在 2 h 左右即开始萌发^[6],有的则需要几天时间才可以完成萌发^[17],而此次试验最适培养时间为 24 h,此时美国山核桃各品种花粉萌发率及花粉管长度均达到最大值,培养时间再延长,活力下降。温度是制约花粉萌发的又一重要因子,适宜的培养温度一般在 20~25 °C^[10],但也有品种超过 30 °C 时萌发率最高^[9];美国山核桃适宜培养温度在 25~30 °C 范围内,温度过高或过低均会抑制花粉活力。研究表明,植物的花粉大多适于弱酸至中性环境条件^[18],该试验中发现美国山核桃最佳的液体培养基为弱酸性条件(pH 为 5.5),高于此 pH 时花粉萌发率下降显著。不同植物花粉对培养基中蔗糖、硼酸、PEG-4000 浓度的需求差异较大。尾叶紫薇最适蔗糖质量分数为 10% 左右^[19],短柄樱桃(*Cerasus pseudocerasus*)则适于 30% 左右的蔗糖^[20]。该试验中,美国山核桃花

粉适宜的蔗糖质量分数在 20%~25% 范围。硼酸浓度变异亦较大,矮牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr. var)花粉萌发时适宜的硼酸质量分数为 0.004 5%^[21],但适合美国山核桃的硼酸质量分数为 0.03%,高于矮牡丹。相关研究中,PEG-4000 最适质量分数变动范围在 5%~20%^[15-16],此次试验也表明,PEG-4000 质量分数在 5%~20% 时,均促进花粉萌发和花粉管生长,但继续增加,表现为抑制花粉萌发,因此参试品种适合的 PEG-4000 质量分数为 15%。

参考文献(References):

- [1] 熊新武, 习学良, 范志远, 等. 3 个美国山核桃优良品种的生物学特性调查[J]. 西部林业科学, 2006, 35(3): 81-86.
Xiong X W, Xi X L, Fan Z Y, et al. Investigation of biological characteristics of three superior varieties of *Carya illinoensis* [J]. Journal of West China Forestry Science, 2006, 35(3): 81-86.
- [2] 张日清, 吕芳德. 薄壳山核桃在原产地分布、引种栽培区划及主要栽培品种分类研究概述[J]. 经济林研究, 2002, 20(3): 53-55.
Zhang R Q, Lu F D. Pecan distribution cultural regionalization and cultivar classification in USA [J]. Economic Forest Researches, 2002, 20(3): 53-55.
- [3] 凌骅, 黄坚钦, 温国胜, 等. 5 种美国山核桃苗叶片光合生理特性比较[J]. 林业科学, 2014, 50(8): 174-178.
Ling H, Huan J Q, Wen G S, et al. Comparison of leaf photosynthetic physiological characteristics in vivo *Carya illinoensis* varieties [J]. Science Silvae Sinicae, 2014, 50(8): 174-178.
- [4] 张瑞, 李洋, 梁有旺, 等. 薄壳山核桃花粉离体萌发和花粉管生长特性研究[J]. 西北植物学报, 2013, 33(9): 1916-1922.
Zhang R, Li Y, Liang Y W, et al. *In vitro* pollen germination and tube growth characteristics in Pecan (*Carya illinoensis*) [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(9): 1916-1922.
- [5] Brewbaker J L, Kwack B H. The essential role of calcium in pollen germination and pollen tube growth [J]. American Journal of Botany, 1963, 50(9): 859-865.
- [6] 王改萍, 彭方仁, 徐涛, 等. 几种不同楸树花粉萌发率的测定及花粉超低温保存方法[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2008, 32(5): 123-126.
Wang G P, Peng F R, Xu T, et al. Studies on pollen germination and cryopreservation method in different species of *Catalpa* [J]. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition, 2008, 32(5): 123-126.
- [7] 杨尚尚, 苑兆和, 李云, 等. 石榴‘泰山红’的花粉萌发生物学特性[J]. 林业科学, 2013, 49(10): 48-53.
Yang S S, Yuan Z H, Li Y, et al. Biological characteristics of pollen germination of ‘Taishanhong’ pomegranate [J]. Science Silvae Sinicae, 2013, 49(10): 48-53.
- [8] 马建伟, 王军辉, 张守攻, 等. 云杉花粉的贮藏及萌发研究[J]. 林业科学研究, 2012, 25(3): 302-307.
Ma J W, Wang J H, Zhang S G, et al. Study on storage and bourgeoning of spruce pollen [J]. Forest Research, 2012, 25(3): 302-307.
- [9] Kakani V G, Reddy K R, Koti S, et al. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in re-

- sponse to high temperature[J]. *Annals of Botany*, 2005, 96: 59-67.
- [10] 黄家兴, 吴杰, 安建东, 等. 凯特杏花粉的离体培养及影响因素分析[J]. *西北植物学报*, 2008, 28(1): 52-58.
Huang J X, Wu J, An J D, et al. Factors influencing pollen germination and tube growth of *Prunus armeniaca* L. *in vitro* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(1): 52-58.
- [11] 钱晶晶, 曾凡锁, 王晓凤, 等. 培养基组分、激素及pH值对转基因白桦花粉萌发的影响[J]. *生物技术通报*, 2008(6): 106-109.
Qian J J, Zeng F S, Wang X F, et al. Effects of medium components and pH on pollen germination of transgenic birch (*Betula platyphylla* Suk.) [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2008(6): 106-109.
- [12] 莫花浓. 沙田柚与离体萌发芽花粉管的培养研究[J]. *玉林师范学院学报*, 2006, 27(5): 83-85.
Mo H N. Studying on cultivating the isolated pollen tube of grapefruit [J]. *Journal of Yulin Teachers College*, 2006, 27(5): 83-85.
- [13] 安晓芹, 廖康, 殷惠娟, 等. 4个杏品种花粉离体萌发及花粉管生长动态[J]. *新疆农业大学学报*, 2013, 36(1): 33-37.
An X Q, Liao K, Yin H J, et al. Research on germination *in vitro* pollen and tube growth dynamics of 4 apricot cultivars [J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2013, 36(1): 33-37.
- [14] 陈文涛, 袁德义, 张日清, 等. 硼及植物生长调节剂对枣花粉萌发的影响[J]. *江西农业大学学报*, 2013, 35(3): 496-501.
Chen W T, Yuan D Y, Zhang R Q, et al. Effects of boric acid and plant growth regulators on pollen germination in *Zizyphus jujuba* Mill. [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2013, 35(3): 496-501.
- [15] 唐荣平, 杨永红, 苏汉林, 等. 丽江山慈姑花粉生活力研究[J]. *西南农业学报*, 2009, 22(1): 153-155.
Tang R P, Yang Y H, Su H L, et al. Study on pollen viability of *Iphigenia indica* [J]. *Journal of Southwest China Agricultural Sciences*, 2009, 22(1): 153-155.
- [16] 董易, 马晓红, 沈强, 等. 荷兰水仙花粉萌发和花粉贮藏性[J]. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 2012, 30(5): 24-29.
Dong Y, Ma X H, Shen Q, et al. Study on pollen germination and preservation of *Narcissus pseudonarcissus* [J]. *Journal of Shanghai University: Agricultural Science*, 2012, 30(5): 24-29.
- [17] 胡君艳, 李云, 孙宇涵, 等. 银杏花粉生活力测定及贮藏方法的优化[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(5): 148-153.
Hu J Y, Li Y, Sun Y H, et al. Optimization of the pollen vitality identification and storage methods of *Ginkgo biloba* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(5): 148-153.
- [18] 杜玉虎, 张绍玲, 姜雪婷, 等. 果梅花粉离体萌发及花粉管生长特性研究[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(9): 1846-1852.
Du Y H, Zhang S L, Jiang X T, et al. Characteristics of pollen germination and pollen tube growth of *Prunus mume in vitro* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(9): 1846-1852.
- [19] 王晓玉, 徐婉, 胡杏, 等. 尾叶紫薇开花及花粉萌发研究[J]. *浙江农林大学学报*, 2012, 29(6): 966-970.
Wang X Y, Xu W, Hu X, et al. Florescence and pollen germination in *Lagerstroemia caudate* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2012, 29(6): 966-970.
- [20] 李永强, 郭卫东, 李志军, 等. 中国樱桃不同品种开花生物学特性及花粉萌发研究[J]. *浙江农业学报*, 2009, 21(5): 495-499.
Li Y Q, Guo W D, Li Z J, et al. Research on biological characteristics of flowering and pollen germination of Chinese cherry cultivars [J]. *Acta Agriculture Zhejiangensis*, 2009, 21(5): 495-499.
- [21] 贾文庆, 张少伟, 刘露颖, 等. 不同培养基和贮藏方法对矮牡丹花粉萌发的影响[J]. *西南农业学报*, 2013, 26(1): 338-341.
Jia W Q, Zhang S W, Liu L Y, et al. Effects of different culture conditions and storage methods on pollen germination of dwarf peony [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 26(1): 338-341.

(责任编辑 郑琰燚)