

文章编号: 1000-3142(2000)04-0367-04

沙田柚花粉低温贮藏的研究

S666.309.3

薛妙男, 刘华英, 饶桂荣, 杨继华

(广西师范大学生物系, 广西桂林 541004)

摘要: 研究了脱水时间、化冻方式和培养基对沙田柚 (*Citrus grandis* var. *shatinyu* Hort.) 花粉低温贮藏后萌发率的影响。结果表明: 贮藏3个月, 6个月期间, 脱水50 min的花粉萌发率最高; 沙田柚花粉低温贮藏的最适合含水量为13.5%。沙田柚花粉适合快速化冻法。在4种培养基中, 萌发率无显著差异, 但花粉管生长不一致。

关键词: 沙田柚; 花粉; 低温贮藏; 自交不亲和; 萌发

中图分类号: Q945.34 **文献标识码:** A

Study on low temperature preservation of shatinyu's pollen

XUE Miao-nan, LIU Hua-ying, RAO Gui-rong, YANG Ji-hua

(Department of biology, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: The effects of the dried time, the ways of thaw and culture mediums on the germination rate of pollen low temperature preservation in *Citrus grandis* var. *shatinyu* Hort. were studied. The results showed that the germination rate of pollens being dried for 50 minutes was the highest during a period of 90 or 180 days' preservation, and that the most suitable moisture for shatinyu's pollen low temperature preservation was 13.5%. It was a suitable method for the stored pollens to be thawed fast. There is no obvious difference of the germination rate in the four culture mediums, however, the pollen tubes grew differently.

Key words: Shatinyu; pollen; low temperature preservation

目前, 花粉原生质体, 生殖细胞, 精细胞的分离已取得了很大进展^[1,2], 而且自交不亲和识别中花粉S基因产物的分离纯化已成为国内外植物生殖生物学研究的一大热点和难点。因此, 给花粉贮藏中生活力的保存赋予了新的意义。沙田柚为配子体自交不亲和植物, 我们用沙田柚花柱中提取纯化的糖蛋白进行了柚类花粉的萌发实验^[3]。沙田柚新鲜花粉萌发率一般在55%左右, 至于对其花粉进行低温贮藏则未见报道。本文探讨了沙田柚花粉低温贮藏的方

收稿日期: 2000-03-26

作者简介: 薛妙男 (1937-), 女, 教授, 从事植物生殖生物学研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (3976007)

法,从而为进一步研究植物自交不亲和花粉识别的机理提供实验材料。

1 材料和方法

1.1 材料

沙田柚花药采自桂林广西柑桔研究所实验地,为 1~5 a 生酸砧树。

1.2 方法

1.2.1 花粉脱水处理 收集当天开花的花药于电热吹风干燥箱中,22℃ 恒温脱水。首先,粗筛选,将花粉脱水 0.5、1、2、3、3.5 h,然后萌发。根据结果,再细划分脱水时间为 30、50、70、90、120 min。脱水后抽气密封,贮藏在-80℃。未脱水的花粉同样条件下贮藏作为对照。

1.2.2 化冻方式 一是快速化冻:40℃ 水浴或室温(25℃)化冻,然后萌发;二是缓慢复苏:将贮藏花粉置于饱和湿度下,相继在 4℃(15 h)和室温(25℃,4 h)复苏,再进行萌发。

1.2.3 培养基 试验了 4 种培养基对贮藏沙田柚花粉活力的影响。培养基(一):15%蔗糖+0.01%硼酸+0.2%明胶;培养基(二):BKS15:15%蔗糖+0.01%硝酸钾+0.02%硫酸镁+0.01%硼酸+0.03%硝酸钙+0.2%明胶;培养基(三):Dickinson:15%蔗糖+0.01%硝酸钾+0.001%硼酸+0.03%硝酸钙+0.2%明胶;培养基(四):0.4 mol/L PEG-400+0.01%硼酸+0.2%明胶。萌发时将花粉抖落在载玻片上,加培养基,使花粉分散均匀,置湿盒中,300℃ 恒温培养。培养基及各种实验用品均经过高温灭菌处理。

1.2.4 花粉萌发率测定 取萌发 8 h 的花粉,碱性品红染色,显微镜下观察,拍照。以花粉管长度大于花粉直径计为萌发,用红血球计数板随机五点计数,统计萌发率。显微测微尺测量花粉管长度。

1.2.5 含水量测定

每个处理样品为 0.3 g 花药,在 105℃ 下恒温 45 min。

表 1 不同脱水时间和贮藏时间花粉的萌发率
Table 1 Germination rate of pollen in different dried and storage time

脱水时间 Dried time (min)	含水量 Pollen- moisture(%)	贮藏时间 Storage time	
		90(d)	180(d)
		萌发率(%) Germination rate	萌发率(%) Germination rate
30	27.3	2.20	0.93
50	13.5	54.79	53.92
70	11.2	41.76	40.66
90	10.5	32.58	32.20
120	8.4	7.92	6.21

2 结 果

2.1 最适含水量的选择结果

粗筛选的结果为脱水 1 h 左右的花粉萌发正常,脱水 2 h 的有少量萌发,其余的不萌发。据此,再细划分脱水时间后的

萌发状况见表 1。显示脱水 50~120 min 的花粉在贮藏 3 个月和 6 个月时都能萌发,但随着脱水时间增加,萌发率下降。其中脱水 50 min 的花粉(含水量 13.5%)萌发率最高,接近于新鲜花粉(萌发率为 55.42%,含水量 47.5%),且萌发整齐,花粉管不膨大,不扭曲(图 1)。因而,其含水量 13.5%为沙田柚花粉低温贮藏的最适含水量。未经脱水处理的对照花粉不萌发。

2.2 化冻方式对花粉萌发率的影响

-80℃ 储存 30 d,花粉快速化冻后萌发率比缓慢复苏的高,而室温快速化冻与水浴化冻

间无差异 ($P>0.05$)。其后的萌发都采用室温快速化冻方式。

2.3 不同培养基中的萌发情况

如表 3 所示, -80°C 贮藏 30 d, 在 4 种培养基中, 花粉的萌发率接近, 但花粉管长度表现出 2 个特点: 一是脱水 50 min 的花粉管长度比脱水 70 min 的要长; 二是在培养基(一)中花粉管长得较长, 而在培养基(二)、(三)中则长得较整齐。

3 讨论

花粉含水量是影响其贮藏的重要因素之一。不同植物其花粉贮藏时的最适含水量



图 1 示脱水 50 min 贮藏于 -80°C 180 d 的萌发花粉。X200
Fig. 1 The germinated pollens being dried for 50 minutes during a period of 180 days' preservation at -80°C . X200

表 2 化冻方式对花粉萌发率的影响

Table 2 Effects of thaw way on germination rate of pollen

化冻方式 Ways of thaw	脱水时间 Dried time					
	50 (min)			70 (min)		
	花粉总数 Total of pollen	萌发粒数 Number of germination	萌发率(%) Germination rate(%)	花粉总数 Total of pollen	萌发粒数 Number of germination	萌发率(%) Germination rate(%)
室温化冻 Thawed in room temperature	282	156	55.32	298	124	41.61
水浴化冻 Thawed in water bath	269	142	52.79	244	105	43.03
缓慢复苏 Thawed gradually	203	88	43.35	341	125	36.66

表 3 花粉在不同培养基中的萌发率及花粉管长度

Table 3 Germination rate of pollen and length of pollen tubes

培养基 Culture mediums	脱水时间 Dried time			
	50 (min)		70 (min)	
	萌发率(%) Germination Rate(%)	花粉管长度(μm) Length of pollen tubes(μm)	萌发率(%) Germination rate(%)	花粉管长度(μm) Length of pollen tubes(μm)
培养基(一) Culture medium(one)	63.91	2.72 ± 0.72	45.58	2.28 ± 0.67
培养基(二) Culture medium(two)	53.69	1.66 ± 0.44	43.48	1.43 ± 0.30
培养基(三) Culture medium(three)	52.38	1.63 ± 0.35	40.35	1.43 ± 0.30
培养基(四) Culture medium(four)	50.00	1.79 ± 0.44	44.64	1.45 ± 0.46

平均数 \pm SD; Means \pm SD (N=50)

差异很大^[4,5]。本文采取先粗筛选后细化分脱水时间的步骤来选择沙田柚花粉低温贮藏的最适含水量, 方法是可行的。我们认为沙田柚花粉低温贮藏的适宜含水量为 11.2%~13.5%, 最适含水量为 13.5%, 且在一定范围内贮藏时间对其萌发率无显著影响。

化冻方式是影响花粉低温贮藏后正常萌发的另一因素。实验表明, 沙田柚花粉适宜快速

化冻,与一些植物成熟花粉低温贮藏后的表现是一致的^[5]。

比较4种培养基,在BKS15和Dickinson中花粉管生长受到一定延滞,推测花粉低温贮藏后,对一些离子如钾,镁离子等有些敏感,自身生理状态的调整需要的时间就稍长些。

沙田柚花粉萌发率低是遗传因素和外界因素共同作用的结果。通过实验观察,找到了沙田柚花粉低温贮藏的一种简单可行的方法,能较好保存其生活力,可为今后沙田柚花粉的原生质体分离和S基因产物分离纯化提供实验材料。

参考文献:

- [1] Tanaka L, C Kitazuma, M Ito. The isolation and culture of lily pollen protoplasts [J]. *Plant Sci.*, 1987, 50: 205~211
- [2] 成小飞,李文钊. 白榆生活精细胞分离和保存的研究 [J]. *植物学报*, 1998, 40 (2): 122~125
- [3] 陈腾士,杨小华,薛妙男. 沙田柚花柱蛋白对花粉管生长的影响 [J]. *广西植物*, 1998, 18 (2): 160~164
- [4] 张连学,常维春,魏云洁等. 人参、西洋参花药超低温保存对花粉存活的影响 [J]. *植物学通报*, 1993, 10 (1): 58~59
- [5] 胡晋,郭长根. 超低温 (-196 °C) 贮藏杂交水稻恢复系花粉的研究 [J]. *作物学报*, 1996, 22 (1): 72~77

《广西植物》1998年的被引半衰期及其 在全国各类科技期刊中的位置

范文田

(西南交通大学,四川成都 610031)

期刊的被引半衰期是指该刊上历年发表的论文在某一年内被统计源刊所引用的次数中,较新的一半是在最近多长的一段时间内发表的平均数。一般来说,此值越大,表明该刊上发表的论文时效性较长,即多年前发表的论文仍在被大量引用,从而也说明该刊的影响更为深远。因此,被引半衰期是衡量一种期刊老化速度的一种指标,从而也是目前被有关部门用作衡量和评价科技期刊质量的一项重要指标。

现据中国科技信息研究所1999年10月公布的统计数据表明,继续入选为该所中国科技论文统计源刊的《广西植物》杂志,1998年的被引半衰期为8.4年,位居该所当年入选的全国1286种科技论文统计源刊的第29名,而在40种“生物”类专业的统计源刊中名列第12位。