

## 梵净山野生黄连花粉活力研究

贺红早, 罗文敏, 任春光, 张 林, 张 伦\*

(贵州省生物研究所, 贵州 贵阳 550009)

**摘要:** 采用 TTC(2,3,5-氯化三苯基四氮唑)法测定花粉活力,研究了温度、相对湿度、蔗糖含量、硼酸含量等因子对野生黄连花粉活力的影响,以期探索梵净山野生黄连的生殖机制提供理论依据。结果表明,当温度为 26℃、相对湿度为 60%时,梵净山野生黄连花粉活力达最大值(45.9%),比温度 20℃、相对湿度 70%时的花粉活力(10.5%)增加 35.4 个百分点。随着温度和相对湿度的增加或降低,梵净山野生黄连花粉活力均呈下降的趋势。当蔗糖含量 20%、硼酸含量 0.006%时,花粉活力为 93.4%,当蔗糖含量大于或小于 20%,硼酸含量大于或小于 0.006%时,梵净山野生黄连的花粉活力均表现为下降。因此,在梵净山野生黄连开花时,控制温度 26℃、相对湿度 60%,同时喷施 20%蔗糖、0.006%硼酸,可以大大提高黄连的花粉活力。

**关键词:** 黄连; 梵净山; 花粉活力

中图分类号: S567.5<sup>+</sup>2 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)08-0145-03

### Study on Pollen Vitality of *Coptis chinensis* Franch. in Fanjingshan Mountain Area

HE Hong-zao, LUO Wen-min, REN Chun-guang, ZHANG Lin, ZHANG Lun\*

(Guizhou Province Institute of Biology, Guiyang 550009, China)

**Abstract:** In order to find key factors affecting pollen vitality, and to provide a theoretical basis for exploring the reproductive mechanism of *Coptis chinensis* Franch. in Fanjingshan mountain area, the influence of temperature, relative humidity, saccharose and element B on pollen vitality of *Coptis chinensis* Franch. were studied, using TTC (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) test. The results showed when the temperature was 26℃, relative humidity was 60%, pollen vitality reached the maximum (45.9%). Under this condition, pollen vitality was 35.4 percentage points higher than that at 20℃ with relative humidity of 70% (10.5%). Pollen vitality of *Coptis chinensis* Franch. was at a tendency of declining with the temperature and relative humidity increased or decreased. When the concentration of saccharose was 20% and the concentration of H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> was 0.006%, pollen vitality was 93.4%, and it showed a tendency of declining with the concentration of saccharose and H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> increased or decreased. Under temperature of about 26℃ and relative humidity of about 60%, with 20% saccharose and 0.006% H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> as well, pollen viability of *Coptis chinensis* Franch. can be boosted greatly.

**Key words:** *Coptis chinensis* Franch.; Fanjingshan mountain; pollen vitality

黄连(*Coptis chinensis* Franch.)为毛茛科植物,多年生草本,根茎有分枝,形如鸡爪。黄连主要具有清热燥湿、泻火解毒之功效;对湿热痞满、呕吐吞酸、泻痢、

黄疸、高热神昏、心火亢盛、心烦不寐、血热吐衄、目赤、牙痛、痈肿疮、湿疹、湿疮、耳道流脓等具有一定的疗效,是上好的中药材,属国家二级保护渐危种<sup>[1]</sup>。

收稿日期: 2012-02-14

基金项目: 贵州科学院青年基金项目(黔科院 J 合字[2010]001 号)

作者简介: 贺红早(1981-),男,湖南绥宁人,助理研究员,硕士,主要从事植物学研究。E-mail: 195475891@qq.com

\* 通讯作者: 张 伦(1957-),男,贵州安顺人,副研究员,硕士,主要从事作物遗传育种及生物技术研究。

E-mail: zhanglun570617@163.com

国内外对黄连的研究大多侧重于野生资源的调查与经济价值的开发<sup>[2-4]</sup>。在黄连的生育周期中,各年的结实数量相差较大,结实丰年之后,常出现长短不一、结实数量很少的“歉年”,丰歉年的交替出现严重阻碍了黄连的开发和利用进程。然而迄今为止,对野生黄连花粉活力的系统研究尚未见报道。梵净山是野生黄连资源最丰富的地区之一,拟通过对该地区野生黄连花粉活力进行研究,为探索梵净山野生黄连的生殖机制提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究地概况

梵净山位于贵州省东北部地区西面印江、江口、松桃三县交界处,地理位置处于北纬 $27^{\circ}49'50''\sim 28^{\circ}1'30''$ ,总面积 $567\text{ km}^2$ 。年平均气温 $15\sim 17\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,年降雨量 $1\ 100\sim 2\ 600\text{ mm}$ 。梵净山植物类型多样,有277科795属1 955种,其中,裸子植物有6科14属19种,占全国种类数的9.5%;种子植物144科460属1 155种,占全国种类数的4.6%;苔藓类50科127属245种,占全国种类数的11.1%;蕨类38科85属183种,占全国种类数的7.0%;大型真菌45科123属372种,占全国真菌种数的4.7%。植物区系比较复杂,是一个相当丰富、古老的温带、亚热带植物区系。

### 1.2 材料

梵净山野生黄连花粉从梵净山自然保护区采集获得,TTC(2,3,5-氯化三苯基四氮唑)等化学试剂购自市场。

### 1.3 方法

1.3.1 花粉活力测定 花粉散粉后取样,用TTC法测定花粉的活力。具体方法是:取少许黄连花粉放在干洁的载玻片上,加 $1\sim 2$ 滴0.5%TTC溶液,搅匀后盖上盖玻片,置 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中, $10\sim 15\text{ min}$ 后镜检,凡被染为红色的花粉表明活力强,淡红次之,无色者为没有活力或不育花粉。观察 $2\sim 3$ 张片

子,每片取5个视野,统计花粉的染色率,以染色率表示花粉的活力。花粉活力 $= (\text{被染色花粉数}/\text{花粉总数})\times 100\%$ 。

1.3.2 温度、相对湿度对花粉活力的影响试验 于开花初期在梵净山选择一处长势均匀的野生黄连,带土移栽入贵州省生物研究所梵净山生态站塑料大棚内。对大棚温度设置6个不同水平处理,即: $20$ 、 $22$ 、 $24$ 、 $26$ 、 $28$ 、 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,对大棚相对湿度也设置6个不同水平处理,即: $45\%$ 、 $50\%$ 、 $55\%$ 、 $60\%$ 、 $65\%$ 、 $70\%$ ,不同温度与相对湿度梯度采用交叉处理的方式进行。每个处理设3个重复,每个重复60株,完全随机区组排列。对各处理进行统一管理,待盛花期统一采样,测定花粉活力。

1.3.3 蔗糖、硼酸对花粉活力的影响试验 于开花初期在梵净山选择一处长势均匀的野生黄连作为试验对象,采用叶面喷施的方法,按蔗糖含量设置5个不同水平处理,即: $10\%$ 、 $15\%$ 、 $20\%$ 、 $25\%$ 、 $30\%$ 、 $0(\text{CK})$ ;按硼酸含量设置5个不同水平处理,即: $0.002\%$ 、 $0.004\%$ 、 $0.006\%$ 、 $0.008\%$ 、 $0.010\%$ 、 $0(\text{CK})$ ,不同含量的蔗糖与硼酸采用交叉喷施的方式进行。每个处理设3个重复,每个重复60株,完全随机区组排列,每次处理间隔时间为7d。对各处理进行统一管理,待盛花期统一采样,测定花粉活力。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同温度和相对湿度对花粉活力的影响

成熟的花粉自花药散发出来,在一定的时间内有生命力,即有一定的寿命。由表1可知,温度和相对湿度对梵净山野生黄连花粉活力的影响较大,在相对湿度或温度一定的情况下,随着温度或相对湿度增加,黄连花粉活力均呈先升后降趋势,当温度为 $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 $60\%$ 时,其花粉活力达最大值,为 $45.9\%$ ,比温度 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 $70\%$ 时的花粉活力( $10.5\%$ )增加 $35.4$ 个百分点。

表1 不同温度和相对湿度对花粉活力的影响

%

温度/ $^{\circ}\text{C}$	相对湿度/%					
	45	50	55	60	65	70
20	$15.4\pm 0.5$	$17.8\pm 0.5$	$22.7\pm 0.5$	$28.6\pm 0.7$	$20.4\pm 0.5$	$10.5\pm 0.7$
22	$18.6\pm 0.3$	$23.7\pm 0.4$	$28.7\pm 0.6$	$35.4\pm 0.6$	$25.5\pm 0.4$	$15.7\pm 0.6$
24	$22.2\pm 0.3$	$28.2\pm 0.5$	$36.9\pm 0.7$	$41.8\pm 0.7$	$28.7\pm 0.6$	$25.9\pm 0.7$
26	$28.4\pm 0.2$	$32.5\pm 0.9$	$42.7\pm 0.8$	$45.9\pm 0.6$	$30.9\pm 0.8$	$33.6\pm 0.5$
28	$14.5\pm 0.8$	$30.7\pm 0.4$	$31.9\pm 0.6$	$35.4\pm 0.5$	$25.6\pm 0.7$	$25.6\pm 0.9$
30	$11.8\pm 0.4$	$25.8\pm 0.8$	$28.7\pm 0.5$	$32.1\pm 0.4$	$19.7\pm 0.6$	$18.1\pm 0.4$

Levene 方差齐性检验表明, $P=0.001$ ,按0.05的检验水平,可以认为不同温度、湿度下梵净山野生黄连花粉活力具有显著差异。

### 2.2 不同含量蔗糖和硼酸对花粉活力的影响

硼与花粉形成、花粉活力有密切的关系,一方面,硼能促进花粉对糖等有机物的吸收和代谢,另一

方面,硼参与果胶物质的合成,有利于花粉管壁的形成。一定含量的蔗糖、硼酸能较大程度地提高梵净山野生黄连的花粉活力(表 2),蔗糖 20%、硼酸

0.006%时的花粉活力为 93.4%,较未经蔗糖和硼酸处理的花粉活力(45.9%)增加 47.5 个百分点,即增加 1.03 倍。

表 2 不同含量蔗糖和硼酸对花粉活力的影响 %

硼酸含量/%	蔗糖含量/%					
	0	10	15	20	25	30
0	45.9±0.6	57.5±0.2	62.6±0.3	65.9±0.3	60.5±0.6	50.4±0.3
0.002	58.6±0.4	63.0±0.4	68.6±0.8	75.6±0.5	65.9±0.2	60.9±0.3
0.004	62.1±0.3	68.3±0.6	76.7±0.3	85.5±0.3	70.8±0.5	65.2±0.6
0.006	78.3±0.7	72.8±0.8	82.6±0.5	93.4±0.3	80.5±0.5	73.6±0.7
0.008	64.5±0.2	60.3±0.5	71.5±0.2	85.6±0.5	75.5±0.2	60.5±0.4
0.010	51.3±0.3	55.9±0.7	68.2±0.5	72.9±0.7	69.5±0.3	52.3±0.5

Levene 方差齐性检验  $F=0.444, P=0.510>0.05$ , 可以认为蔗糖、硼酸处理前后梵净山野生黄连花粉活力方差相等。进行方差齐性检验时,  $t=-2.576, P=0.015<0.05$ , 可以认为蔗糖、硼酸处理与非处理的梵净山野生黄连花粉活力是有统计意义的。因此,喷施一定含量的蔗糖、硼酸对梵净山野生黄连花粉活力具有明显的促进作用。

3 结论与讨论

花粉活力的强弱受遗传因素和环境因素的影响<sup>[8]</sup>。在高温、高湿的条件下,花粉的呼吸作用强烈,酶的水解活性增强,代谢作用也随之加强,需要消耗大量的营养物质,而且花粉在高温、高湿的环境中易霉变,因而丧失活力<sup>[9-10]</sup>。另外,湿度过高时,其营养生长延长,花粉表现不出活力。在低温、干燥的环境中,呼吸、代谢作用减弱,花粉亦表现不出活力。

营养是花芽分化以及花器官形成与生长的物质基础<sup>[12-13]</sup>,其中,碳水化合物对花芽的形成尤为重要,它是合成其他物质的碳源和能源。硼以硼酸( $H_3BO_3$ )的形式被植物吸收,高等植物体内硼的含量较少。植株各器官间硼的含量以花最高,花中又以柱头和子房含量较高,硼与花粉形成、花粉管萌发和受精有密切关系<sup>[13]</sup>。硼对花粉管的萌发有一定的促进作用,一般情况下,花粉的硼是不足的,给予适宜含量的硼处理能有效提高花粉的活力<sup>[14]</sup>。缺硼时花药花丝萎缩,花粉母细胞不能向四分体分化。但硼作为一种微量元素,在植物体内亦不能过量,当硼过量时,会抑制蛋白酶和肽酶活性,从而导致蛋白质和多肽合成速度下降,从而影响和抑制花粉活力<sup>[15]</sup>。

本研究结果表明:(1)当温度为 26℃、相对湿度为 60%时,梵净山野生黄连花粉活力达最大值,为 45.9%,比温度 20℃、相对湿度 70%时的花粉活力(10.5%)增加 35.4 个百分点。之后,随着温度和相对湿度的增大或降低,花粉活力均呈下降的趋势。(2)当蔗糖含量 20%、硼酸含量 0.006%时,梵净山野

生黄连的花粉活力最大,为 93.4%,当蔗糖含量大于或小于 20%,硼酸含量大于或小于 0.006%时,花粉活力逐渐下降。(3)在梵净山野生黄连开花时,控制温度在 26℃,相对湿度在 60%,同时喷洒 20%的蔗糖、0.006%的硼酸,可以大大提高黄连的花粉活力,对半人工栽培具有重要的指导意义。

参考文献:

[1] 傅立国. 中国植物红皮书——稀有濒危植物(第 1 册) [M]. 北京: 科学出版社, 1992.

[2] 贺善安. 中国珍稀植物 [M]. 上海: 上海科学出版社, 1998.

[3] Lee D U, Kang Y J. Effects of 13-alkyl-substituted berberine alkaloids on the expression of COX-II, TNF- $\alpha$ , NOS and L-12 production in LPS-stimulated macrophages [J]. Life Sciences, 2003, 73(11): 1401-1412.

[4] 黄骥. 云南黄连的生物学、生态学特性与地理分布研究 [J]. 云南植物研究, 2004, 26(3): 255-256.

[5] 张浩, 陈钧, 晁若冰, 等. 黄连属植物愈伤组织诱导及生物碱产生 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(8): 465-467.

[6] 陈瑛, 李先恩, 张军. ABA 促进黄连种子萌发 1 例 [J]. 中国中药杂志, 1993(3): 15-16.

[7] 潘声旺, 王海洋. 制约黄连产业化发展的因素及发展对策——以石柱县为例 [J]. 西南农业大学学报: 社会科学版, 2004, 2(4): 56-58.

[8] 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学(下册) [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1984.

[9] 贾文庆, 刘会超. 垂丝海棠花粉生活力测定的研究 [J]. 广东农业科学, 2007(1): 32-34.

[10] 贾文庆, 刘会超, 姚连芳. 紫薇花粉萌发特性研究 [J]. 西北林学院学报, 2007, 22(6): 18-20.

[11] Olay A, Jeffree C E, Yeornan M. Somatic embryogenesis in cultured immature kernels of Pistachio, *Pistacia vera* L. [J]. Plant Cell Reports, 1995, 15(3/4): 192-195.

[12] 李勇军, 王玲, 马继琼, 等. 魔芋花粉的保存研究 [J]. 西南农业学报, 2010, 23(4): 1202-1205.

[13] 王忠. 植物生理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.

[14] Ferguson L, Beede R, Buckner R, et al. California pistachio root-stock trials; 1996 crop year report [R]. California Pistachio Industry Annual Report Crop Year, 1996: 60-62.

[15] Lopez E, Vansuyt G, Foureroy P et al. Accumulation of a 22 kD protein and its mRNA in the leaves of *Raphanus sativus* in response to salt stress or water deficit [J]. Physiol Plant, 1994, 91: 605-614.