



李帅,郑民,魏冲.榛树花粉悬浊液各组分的筛选与优化[J].黑龙江农业科学,2022(9):47-50.

榛树花粉悬浊液各组分的筛选与优化

李 帅¹,郑 民²,魏 冲³

(1. 哈尔滨市松北区乐业镇人民政府,黑龙江 哈尔滨 150000; 2. 通河县富林乡康源平欧杂交大果榛农民专业合作社,黑龙江 通河 150999; 3. 通河县农业技术推广中心,黑龙江 通河 150900)

摘要:为研究推广榛树液体授粉技术,解决人工授粉用工量大、效率低的问题,以“达维”(84-254)花粉为材料,应用正交试验,通过测定花粉悬浊液中花粉浓度、花粉生活力,筛选最优榛树花粉悬浊液配方。结果表明,当花粉悬浊液中蔗糖、硼酸、黄原胶、氯化钙分别为 150,0.1,0.4,0.3 g·kg⁻¹时,花粉悬浊液的稳定性与花粉活力最佳。最优的榛树花粉悬浊液配方为榛树应用无人机液体授粉提供了可行性,并可在一定程度上提高授粉效率。

关键词:榛树;花粉悬浊液;液体授粉;组分优化

榛树是一种坚果类经济树种^[1],具有极高的利用价值。榛子的营养价值高、加工用途广泛^[2]。榛树为异花授粉植物,不同品种之间授粉可提高坐果率^[3]。我国东北地区榛子开花时间一般在3月末至4月初^[4],榛子开花后的6 d是榛树有效授粉期,开花后24 h是榛树的最佳授粉时间,此时如遇低温干冷天气,榛子花粉和雌花柱头的活性将受到抑制,无法完成授粉^[5]。平欧榛子是辽宁省经济林研究所以平榛为母本、欧榛为父本,通过杂交选育出的优良抗寒、高产栽培品种。郑金利^[6]研究发现,平欧榛子易发生雄花序越冬抽干现象,严重影响当年的坚果产量,雄花序抽干严重的年份,很可能出现绝产现象,采用人工辅助授粉技术能有效提高榛子坐果率^[6]。目前,榛树人工授粉技术主要有点授法、水插雄花枝法和震动授粉法^[6]。但上述技术存在需要花粉量大、破坏树冠、效率低、用工成本高、受气候条件影响多等弊端^[6-8],难以满足榛子产业大面积发展的需求。

相比点授法、振动授粉法,液体授粉技术效率高、成本低。目前,果农在生产中常用的液体授粉方法是先配制糖尿液,将250 g砂糖溶解于5 kg水中,再加入15 g尿素混匀。另取25 g砂糖加入0.25 kg水和10 g干花粉混匀纱布过滤后加入到已配好的糖尿液中,喷前加入5 g硼酸迅速混匀用背负式喷药器喷洒,该方法较干粉授粉节省花粉,授粉效率高,但仍需要大量人工,而且花粉悬浊液各组分未经筛选优化,无法保证喷洒液滴花

粉浓度均匀和花粉活力。花粉悬浊液常用组分有稳定剂和营养剂两类,稳定剂能增加柱头的湿度利于花粉萌发和花粉管伸长,营养剂能够提高花粉活力,延长授粉受精时间^[9]。苹果^[10-11]、梨^[12-14]、猕猴桃^[15-16]等果树应用液体授粉技术能够提高坐果率、产量以及果实品质。然而,目前榛树等坚果类经济树种的液体花粉授粉技术和花粉悬浊液组分筛选的研究鲜有报道。为此,本试验通过筛选和优化花粉悬浊液配制组分,寻求适合榛树花粉的液体稳定介质,为探索榛树液体授粉技术、提高榛树坐果率,尝试无人机辅助授粉提供实践基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验选择7年生平欧杂交榛子品种“达维”(84-254)花粉作为试验材料。

1.2 方法

1.2.1 花粉样品采集 试验地点位于黑龙江省通河县富林乡太和村康源平欧杂交大果榛农民专业合作社种植示范园。花粉采集、制备及储存参考郑金利^[6]榛树授粉方法,2020年4月在试验地点采集雄花,选取雄花序苞片开裂、肉眼可以看见饱满花药的雄花,轻轻剪下放入密封袋,置于装有冰袋的泡沫箱中带回室内,在干净无油渍的硫酸纸上自然摊晾48 h后,轻轻揉搓雄花,拍打震动,脱离花药,用板刷将花粉清扫集中,去除杂质后收集装瓶密封,尽快放入冰箱冷冻室-18℃保存。

1.2.2 稳定剂适宜浓度范围的筛选 试验选择黄原胶作为花粉悬浊液稳定剂。配制0,0.1,0.2,0.3,0.4和0.5 g·kg⁻¹的20 mL黄原胶水溶

收稿日期:2022-05-16

第一作者:李帅(1987—),男,硕士,农艺师,从事经济作物、经济林木的栽培管理研究。E-mail:ethan2015@139.com。

液,分别记为CK和处理1~5。加入0.02 mg 精筛花粉混合制成花粉混悬液,20 ℃恒温箱静置,测定不同浓度黄原胶处理的各花粉悬浮液稳定性,为后续筛选优化稳定剂组分提供适宜浓度水平。

1.2.3 花粉悬浊液组分优化 试验选择不同稳定剂和营养剂,选择适宜的浓度水平,采用4因素3水平正交试验设计,筛选蔗糖(A)、硼酸(B)、黄原胶(C)和氯化钙(D)不同浓度水平组合对榛树悬浊液花粉活力的影响。考虑到正交试验结果可能是正交设计以外的处理组合,验证试验选取最接近的处理组合项与最优组合,比较两个组合花粉悬浊液静置2 h的花粉活力,进一步确认液体花粉悬浊液配方最优组合。

1.2.4 测定项目及方法 花粉悬浊液稳定性调查:在0,1和2 h时间点分别吸取各处理花粉悬浊液的中层液体,采用25×16格(汤麦式)血球计数板,观察红细胞计数区域的5个视野分别计算花粉数量^[17],花粉浓度按照红细胞计数法计算,3次重复取平均值作为该处理的花粉浓度。

花粉活力测定:采用氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法测定花粉染色率作为花粉活力指标^[18-19],吸取2 mL恒温箱静置2 h花粉中层悬浊液,离心弃上清液,加质量分数0.5%的TTC染色液100 μL混匀,吸取到载玻片上,放置恒温箱20 min后,在100×显微镜下观察花粉染色情况。每次观测随机选取5个镜检视野,3次重复。将镜检下呈红色至粉红色的花粉视为有活力花粉,统计每个视野中活花粉粒数与总花粉粒数的百分比计算染色率,作为花粉生活力的评判标准。

1.2.5 数据分析 利用Excel 2017对试验数据进行初步整理,计算出有关指标的平均值和标准差,再利用SPSS 24.0软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 稳定剂的筛选

由表1可以看出,0 h时各处理花粉浓度平均值为397 300个·mL⁻¹,添加黄原胶的处理对于花粉浓度没有显著影响($P>0.05$)。静置1 h后,各处理组花粉浓度出现显著差异($P<0.05$),表明添加黄原胶能够提高花粉悬浊液的稳定性,除空白(CK)对照外,其余处理组花粉混悬液中花粉平均浓度分别为258 000个·mL⁻¹。静置2 h后,各处理花粉浓度平均值为176 800个·mL⁻¹。

黄原胶浓度0.4 g·kg⁻¹(处理4)的花粉悬浊液稳定性最高,且标准差最小;黄原胶浓度0.2 g·kg⁻¹(处理2)和0.3 g·kg⁻¹(处理3)的花粉悬浊液稳定性次之。试验结果表明,添加0.2,0.3和0.4 g·kg⁻¹黄原胶能显著提高花粉悬浊液静置后的稳定性,可以将该浓度范围作为正交试验设计黄原胶浓度的因素水平。

表 1 不同浓度稳定剂对花粉悬浊液稳定性的影响				
处理	花粉浓度/(个·mL ⁻¹)			
	0 h	1 h	2 h	标准差
CK	366666 a	66666 a	0 a	160631
1	383333 a	200000 b	116666 b	113038
2	400000 a	250000 bc	166666 b	103040
3	416666 a	300000 bc	216666 bc	87488
4	416666 a	316666 c	233333 c	85346
5	400000 a	233333 b	150000 b	114934
平均	397300	258000	176800	

注:不同字母表示在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

2.2 榛树花粉悬浊液组分优化结果

2.2.1 正交试验结果 根据稳定剂添加量的筛选结果,正交试验设计选取黄原胶0.2,0.3和0.4 g·kg⁻¹三个水平(表2),正交试验各处理的花粉染色率平均值见表3。

表 2 榛树花粉液组分优化试验的正交设计				
水平	因素			
	蔗糖(A)	硼酸(B)	黄原胶稳定剂(C)	氯化钙(D)
1	50	0.1	0.2	0.1
2	150	0.2	0.3	0.2
3	250	0.3	0.4	0.3

表 3 正交试验结果					
处理	蔗糖(A)	硼酸(B)	黄原胶(C)	氯化钙(D)	染色率/%
1	1	1	1	1	44.60
2	1	2	2	2	36.66
3	1	3	3	3	41.72
4	2	1	2	3	52.25
5	2	2	3	1	48.83
6	2	3	1	2	43.87
7	3	1	3	2	51.13
8	3	2	1	3	49.17
9	3	3	2	1	43.82

2.2.2 最优组合筛选 极差分析结果显示(表 4),以 TTC 法花粉染色率作为花粉活力评价指标,极差大小为 $R_A > R_B > R_D > R_C$,4 个因素对榛树花粉活力的影响主效应依次是蔗糖>硼酸>氯化钙>黄原胶。蔗糖因素列: $k_2 > k_3 > k_1$,硼酸因素列: $k_1 > k_2 > k_3$,黄原胶因素列 $k_3 > k_1 > k_2$,氯化钙因素列: $k_3 > k_1 > k_2$,综上可以得出,榛树花粉悬浊液组分正交试验最优组合结果为 A2B1C3D3。

表 4 花粉生活力的极差分析

指标	染色率/%			
	蔗糖(A)	硼酸(B)	黄原胶(C)	氯化钙(D)
k1	40.991	49.324	45.879	45.751
k2	48.316	44.889	44.243	43.886
k3	48.042	43.136	47.227	47.712
R	7.325	6.188	2.984	3.826

方差分析结果(表 5)显示,蔗糖和硼酸对榛树花粉生活力达到极显著影响,钙离子和黄原胶因素对花粉活力的影响不显著,该结果与极差分析的结果相一致。综合极差分析、方差分析的结果可以得出,榛树花粉悬浊液的最优组合为 A2B1C3D3。

表 5 正交试验方差分析

因素	偏差平方和	自由度	均方	F 值
蔗糖(A)	310.321	2	155.161	12.015
硼酸(B)	183.152	2	91.576	7.091
黄原胶(C)	40.175	2	20.088	1.556
氯化钙(D)	65.909	2	32.955	2.552
误差	232.447	18	12.914	

注: $F_{0.01}(2,18)=6.013$; $F_{0.05}(2,18)=3.554$ 。

2.2.3 验证试验 为验证最优组合对花粉活力的影响,选取正交设计表中的 A2B1C2D3(处理 4)设置一组试验进行比较,结果显示 A2B1C3D3 的花粉染色率为 54.17%,高于正交试验的 A2B1C2D3(处理 4)组合花粉的染色率。据此,榛树花粉悬浊液的最优组合确定为 A2B1C3D3,即蔗糖 150 g·kg⁻¹ + 硼酸 0.1 g·kg⁻¹ + 0.04% 黄原胶 0.4 g·kg⁻¹ + 氯化钙 0.3 g·kg⁻¹。

3 讨论

研究发现 4 种组分对榛树花粉活力影响的主效应由高到低依次为蔗糖>硼酸>氯化钙>黄原胶,说明榛树花粉悬浊液中营养组分对液体授粉

的影响大于稳定剂组分,极差分析结果进一步说明各组分最优浓度水平各不相同,花粉液的液体组分是液体授粉技术成功与否的关键,该结论与徐安糠等^[19]研究的油茶液体花粉悬浊液组分结果相一致。

本研究中,花粉活力在蔗糖浓度范围为 50~150 g·kg⁻¹ 时随浓度升高而提高,当浓度达到 250 g·kg⁻¹ 时反而会降低,该结论与袁宝东^[20]对平榛花粉离体培养研究中得出的结论相一致,可能原因是蔗糖作为营养组分能够提高花粉生活力,也有助于花粉附着柱头萌发,但过高的蔗糖水平会提高花粉细胞内外的渗透压平衡,导致花粉粒迅速脱水、质壁分离,抑制花粉的活性。榛树花粉悬浊液中硼酸的最佳浓度与其他种类果树花粉活力最适硼酸浓度差异较大,例如火龙果^[21]花粉萌发需要硼酸的最适浓度是 70 mg·L⁻¹,苹果^[22]花粉萌发最适宜硼酸浓度为 0.3 g·kg⁻¹,油橄榄^[23]花粉萌发的最佳硼酸浓度为 0.2 g·kg⁻¹。前人研究表明钙离子有助于花粉萌发和花粉管伸长^[24],因此本研究选择了氯化钙作为花粉悬浊液组分,极差分析结果表明硼酸对花粉生活力影响要大于氯化钙,该结果与油茶^[19]花粉液配方的研究结果一致。张绍玲等^[24]研究影响梨花粉萌发和花粉管生长的培养基组分认为花粉内存在较多钙离子,而缺乏硼类化合物,导致硼因素对花粉活力的影响显著高于胞外钙离子。

本研究应用黄原胶作为榛树花粉悬浊液稳定剂组分并筛选得到最适浓度水平。前人研究发现,琼脂加热溶解后再放置室温条件下会发生结块,野外条件难以做到精确配制,进而影响花粉悬浊液的稳定性^[25]。本研究选择了黄原胶替代琼脂,黄原胶水溶性高,冷水可溶,方便配制无需加热溶解,有利于野外作业。研究进一步发现,当黄原胶浓度低于 0.2 g·kg⁻¹ 时,花粉悬浊液稳定性没有显著提高,浓度达到 0.4 g·kg⁻¹ 时能够显著改善花粉悬浊液的稳定性,同时花粉活力并未受到显著影响,更高浓度 0.5 g·kg⁻¹ 则会降低花粉悬浊液稳定性,这与前人发现高浓度的琼脂对花粉悬浊液的稳定性效果较差的研究结果相近^[19]。稳定剂浓度过低达不到增稠作用,而过高会导致花粉悬浊液过于黏稠或者稳定剂吸水膨胀成胶团,不利于形成悬浊液,也不便于喷施。生产中应遵循现配现用、即配即喷的原则,尽量在 2 h 内将配制好的花粉悬浊液进行喷施,且喷施过程中要

不断摇匀,使花粉粒分布均匀,花粉液滴能更充分地接触雌花柱头。

植物授粉效果直接影响结实率和产量,而不同组分的花粉悬浊液授粉效果存在差异,且不同植物品种间最优花粉悬浊液组分也存在差异^[22]。下一步研究将对榛树花粉悬浊液最优组分的田间应用效果进行验证,筛选适宜多种榛树品种花粉悬浊液的广谱配方,通过比较振动授粉法和液体授粉法分析榛树液体授粉效应,并探索利用无人机进行榛树液体授粉技术的可行性。

4 结论

本研究表明,添加 0.2,0.3 和 0.4 g·kg⁻¹ 黄原胶能显著提高花粉悬浊液静置后的稳定性。正交试验表明,对榛树花粉活力的影响主效应依次是蔗糖>硼酸>氯化钙>黄原胶。榛树花粉悬浊液组分正交试验最优组合结果为 A2B1C3D3,即榛树花粉悬浊液的最优组合为蔗糖 150 g·kg⁻¹ + 硼酸 0.1 g·kg⁻¹ + 黄原胶 0.4 g·kg⁻¹ + 氯化钙 0.3 g·kg⁻¹。

参考文献:

[1] 张宇和,柳彦,梁维坚. 中国果树志板栗榛子卷[M]. 北京:中国林业出版社,2005.

[2] 解明. 杂交榛子丰产栽培技术[J]. 北方果树,2011(4):54-57.

[3] 张智慧,闫洪英,林爱国,等. 长春地区平欧大果榛子栽培技术[J]. 吉林林业科技,2018,47(5):42-43,45.

[4] 郑万钧. 中国树木志:第一卷[M]. 北京:中国林业出版社,1983.

[5] 李宁,苏淑钗,陆小辉,等. 人工授粉受精时间对榛子坐果率的影响[J]. 南方农业学报,2014,45(11):2009-2013.

[6] 郑金利. 榛园的授粉技术[J]. 北方果树,2019(2):17.

[7] 王兆龙,王义菊,姜福东,等. 梨不同授粉措施的研究进展[J]. 烟台果树,2019(2):3-4.

[8] 井赵斌,何周林,张俊芳,等. 猕猴桃授粉技术理论与实践[J]. 西北园艺,2020,272(2):24-29.

[9] 白雪. 猕猴桃高效液体授粉技术研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2018.

[10] 李芬,张金子,柳尚燕,等. 苹果花期喷花粉悬浊液授粉试验[J]. 河北果树,2007(2):3.

[11] 冯建文. 嘎拉喷雾授粉悬浮液最佳配方的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2016.

[12] 魏树伟,冉昆,王宏伟,等. 液体授粉技术对梨坐果和果实品质的影响[J]. 落叶果树,2017,49(5):16-17.

[13] 赵红亮,孙共明. 白皮酥梨液体授粉效果试验[J]. 山西果树,2018(4):1-2,4.

[14] 无人机安全高效授粉技术成功破解库尔勒香梨生产难题[J]. 中国食品学报,2020,20(9):101.

[15] 陈建业,李占红,宁玉霞. 猕猴桃液体授粉花粉液制备技术研究[J]. 中国农学通报,2014,31(7):86-90.

[16] 熊丙全. 猕猴桃授粉方式筛选[J]. 北方园艺,2019(3):74-77.

[17] 赵先贵,肖玲. 花粉浓度测定方法的研究[J]. 西北林学院学报,1995,10(1):52-54,58.

[18] 胡适宜. 植物胚胎学实验方法(一):花粉生活力的测定[J]. 植物学通报,1993,10(2):60-62.

[19] 徐安糠,陆欢欢,晏巧,等. 油茶花粉液配方初探[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版),2021,38(6):129-136.

[20] 袁宝东. 平榛花粉活力测定方法比较[J]. 防护林科技,2017(3):24-25.

[21] 匡石滋,田世尧,段冬洋,等. 火龙果液体授粉组合的优化及其效应研究[J]. 热带作物学报,2016,37(1):70-74.

[22] 魏小娟,郭长安,杨莉芳,等. 液体授粉对苹果坐果率及果实的影响[J]. 河北果树,2010(3):4-5.

[23] 芦娟,苏瑾,姜成英,等. 不同浓度的糖、硼、钙对油橄榄花粉萌发的影响[J]. 经济林研究,2017,35(1):103-107.

[24] 张绍铃,陈迪新,康琅,等. 培养基组分及 pH 值对梨花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 西北植物学报,2005(2):20-25.

[25] 雷雨,黄飞毅,段继华,等. 茶树花粉悬浊液组分的筛选及优化[J]. 茶叶通讯,2020,47(4):588-592.

Screening and Optimization of Hazelnut Pollen Suspension

LI Shuai¹, ZHENG Min², WEI Chong³

(1. People's Government of Leye Town, Songbei District, Harbin 150000, China; 2. Tonghe County Fulin Township Kangyuan Hazel Farmers' Cooperative, Harbin 150999, China; 3. Agricultural Technology Extension Center of Tonghe County, Harbin 150900, China)

Abstract: In order to study and popularize liquid pollination technology of hazelnut, to solve the problem of large labor and low efficiency of artificial pollination. Pollen of Dawei (84-254) was used as material, the optimal formulation of pollen suspension of hazelnut was screened by orthogonal test through measuring the pollen concentration and pollen viability in pollen suspension. The results showed that when the concentration of sucrose, boric acid, xanthan gum and calcium chloride in pollen suspension was 150, 0.1, 0.4 and 0.3 g·kg⁻¹, respectively, the stability and viability of pollen suspension were the best. The optimal formulation of hazelnut pollen suspension provided feasibility for the application of UAV (unmanned aerial vehicle) liquid pollination to hazelnut and improved pollination efficiency to a certain extent.

Keywords: hazel tree; pollen suspension; liquid pollination; optimizing components