

阳春砂的开花动态及花粉活力和柱头可授性研究^{*}

彭建明, 李荣英, 李 戈, 王艳芳

(中国医学科学院、中国协和医科大学药用植物研究所云南分所, 云南景洪 666100)

〔摘 要〕目的: 研究阳春砂花粉活力和柱头可授性在开花散粉后的动态变化规律, 为提高阳春砂仁坐果率提供基础资料。方法: 在景洪市基诺族乡、景哈哈尼族乡和药植所云南分所园内选取 10~30 个花序, 观察其的开花动态, 并用悬滴法检测花粉活力 (每次用 3 朵花), 用 MTT 法测定柱头的可授性 (用标记的 10~30 个花序的柱头)。结果: 阳春砂一个花序自第一朵开放到最后一朵开完需要 3~9d。单花花期一般为 1d; 花粉在上午 11:00 以前均保持较高地萌发率, 到中午 11:00 以后花粉活力下降, 18:00 仍有萌发能力; 不同地区柱头可授性差异明显, 花序上部小花柱头可授性比下部小花的高, 不同花期柱头可授性变化不大。结论: 景哈乡阳春砂柱头可授性比基诺乡的高, 云南分所园内橡胶树下为最低。

〔关键词〕阳春砂; 开花动态; 花粉活力; 柱头可授性

中图分类号: R282.2 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2011)06—0011—04

阳春砂 (*Amomum villosum* Lour.) 是一种主要以根状茎 (匍匐茎) 进行无性繁殖的多年生草本植物。在有性繁殖方面, 虽然开花很多, 但结实率却很低, 有的地方甚至出现几乎不结实现象, 严重制约其生产中的利用。就目前所掌握的资料, 阳春砂仁花粉活力、柱头可授性方面的研究报道很少^[1]。本试验以阳春砂为材料, 研究其开花动态, 并分析其结实率低的原因所在, 为揭示阳春砂有性生育规律和栽培利用提供理论依据。

1 研究地点与方法

1.1 研究地区自然概况

西双版纳州 (21°10'~22°40'N, 99°55'~101°50'E), 该地区气候高温多雨、干湿季分明, 四季不明显, 年温差较小, 日温差较大, 兼有大陆性气候和海洋性气候的优点, 年平均温度 18~22℃, 年降水量 1 200~1 900mm 之间。降雨主要集中在 5~10 月 (11 月至次年 4 月为干季)。本项研究设在西双版纳州景洪市基诺族乡巴飘村 (海拔 870m)、景哈哈尼族乡曼么村 (海拔 560m) 和药植所云南分所园内 (海拔 560m) 人工种植的阳春砂。

1.2 研究方法

1.2.1 开花动态的观察

随机选取 30 个花序, 从现蕾开始, 每天观察 1 次, 直到第 1 朵单花开放。每次观测时记录花序内花朵开放的顺序、花序开放持续时间, 单花花朵开放、花瓣伸展、雌雄蕊的变化。2010 年 4 月 11 日—5 月 10 日在云南分所园内进行。

1.2.2 砂仁花粉活力测定

盛花期内随机选择 3d, 每天从田间试验地中取当天开花后不同时间的花, 分别装入磨口瓶密封。花粉活力的检测是用硼酸 (HBO_3) (0.3g)、硝酸钙 ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (0.3g)、硫酸镁 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (0.2g)、硝酸钾 (KNO_3) (0.1g), 配制成 1 000 mL 无机盐基液, 再用此基液配制成浓度为 1%, 2.5%, 5.0%, 7.5%, 10% 和 15% 的蔗糖溶液, 进行花粉萌发对比试验, 确定室温条件下花粉萌发最适宜蔗糖浓度为 10%。用悬滴法做花粉活力测定^[2], 即选取不同发育时期花中的花粉, 在 10% 浓度培养液中室温条件下闭光培养 1h, 然后在显微镜下观察计数。从花药打开前 1h 开始进行, 每小时测定 1 次, 每次取 3

* 基金项目: 云南省自然科学基金面上项目 (NO: 2010CD073)

收稿日期: 2011—08—04 修回日期: 2011—09—07

作者简介: 彭建明 (1964~), 男, 云南景洪人, 副研究员, 主要从事热带药用植物栽培技术研究和推广工作。

朵花，每朵花做 2 个片，每个片计数 3 个视野。花粉萌发率 (%) = (已萌发的花粉数目/花粉粒总数) × 100，每次计算观察结果的平均数。实验于 2010 年 4 月 28 ~ 30 日及 5 月 22 ~ 30 日 7:00 ~ 18:00 在云南分所园内及基诺乡巴飘村田间试验样地中进行。

1.2.3 柱头可授性检测

用 MTT 法测定柱头的可授性^[5]。具体方法是：在阳春砂初花期、盛花期、末花期，同一地块随机选取 10 ~ 30 个花序，挂牌标记。每天采标记花序开花后不同时间的花朵柱头，置于凹面载片的凹陷处，每个样品各加 10 ~ 20μLMTT 蔗糖溶液 (100mgMTT 溶解在 5mL50g/L 蔗糖溶液中)，充分浸透每个柱头，约 30min 后观察柱头的颜色变化。若柱头颜色呈蓝紫色，则显示柱头有活力，具有可授性；若柱头颜色不变，则显示柱头无活力，已失去可授性。实验于 2011 年 5 月 5 ~ 26 日 8:00 ~ 17:00 在基诺族乡巴飘村、曼哈乡曼么村及云南分所园内及田间试验地中进行。

2 结果与分析

2.1 开花生物学特性

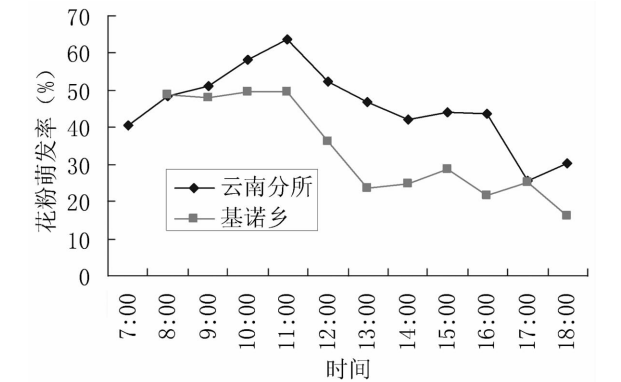
花期随各地气温高低而异，从 4 月中旬至 6 月上旬，花序从匍匐茎上抽出，每个花序有小花 5 ~ 19 朵。花序的开花次序为自下而上开放，每天开放 1 至 5 朵不等，通常为 1 ~ 3 朵。一般一个花序自第一朵开放到最后一朵开完需要 3 ~ 9d。单花花期一般为 1d。低海拔景哈哈尼族乡砂仁植株的花于下午 13:00 以后花瓣开始萎焉，第二天花瓣已基本将雌雄蕊包住。而较高海拔基诺族乡砂仁植株的花于下午 14:00 以后花瓣开始萎焉，萎焉程度较轻，第二天花瓣仍张开。表 1 是观察统计 30 个花序开花的天数与花序数及小花朵数的关系。

表 1 砂仁开花天数与花序数及小花朵数的关系							
开花天数/天	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d
花序数/个	1	1	6	6	11	3	2
小花朵数/朵	10	9	78	75	137	44	28

2.2 花粉活力检测结果

花粉离体萌发实验结果发现，阳春砂的花粉上午 11:00 以前均保持较高的萌发率，到中午 11:00

以后花粉活力下降，18:00 仍有萌发能力 (图 1)。基诺族乡砂仁花粉离体萌发实验中观察到，从 11:00 以后萌发率开始下降，但到第二天上午 8:00 萌发率又上升为 31.6%，原因是从花药完全爆裂后到上午 11:00，花粉散出被传粉昆虫带走，下午的花粉只能从花粉囊中刮取，花粉的成熟度降低，萌发率也降低。



注：云南分所花粉萌发试验时间为 4 月 28 ~ 30 日，基诺族乡为 5 月 28 ~ 30 日，日萌发率为 3d 观察的平均数。

图 1 阳春砂花粉活力日变化

2.3 柱头可授性检测结果

阳春砂开花后不同天数的花朵柱头浸入含有 MTT 反应液的凹面载玻片中，结果发现，可授性强的柱头全部染成蓝紫色，可授性较弱的柱头部分染色，而无活力的柱头不变色 (图 2)。观测方法简单方便，能够观测出不同时期柱头可授性的动态变化。



注：右边 2 个柱头为全部染色，左上为部分染色，左下为不变色。

图 2 MTT 染色阳春砂柱头

表 2 砂仁不同部位花朵柱头可授性检测

指标	顶部		中部		基部	
	柱头数	百分率	柱头数	百分率	柱头数	百分率
	/个	/%	/个	/%	/个	/%
全部染色	13	50	9	40.9	7	29.2
部分染色	1	3.8	0	0	5	20.8
不变色	12	46.2	13	59.1	12	50
柱头数	26	100	22	100	24	100

注：5 月 11 ~ 12 日，在景哈乡曼么村砂仁地中，选基部、中部、顶部开花花序各 10 个挂牌标记。

从表 2 可以看出，砂仁基部的花朵柱头可授性强的比例为 29.2%，随着开花时间的延长，顶部花柱头可授性强的比例达 50%，而无活力的柱头下降为 46.2%。

在阳春砂初花期（5 月上旬），可授性强的柱头为 36.4%，可授性较弱的柱头为 27.2%，无活力的柱头为 36.3%。随着开花时间的延长，可授性强的柱头没有大的变化，为 35.7%，可授性较弱的柱头减少，而无活力的柱头增加为 60.7%。从不同花序上柱头可授性检测结果，可以解释不同果序座果多、少或不结果的原因（见表 3）。

表 3 不同花序上柱头可授性检测（基诺乡 2008 年种植分株苗）

时间	花序 编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	合计	百分率/%
初 花 期	小花数	7	8	8	9	9	6	8	8	8	6	77	—
	全部染色	3	4	1	3	5	4	1	2	4	1	28	36.4
	部分染色	2		5	2	2	1	3	2	1	3	21	27.2
	不变色	2	4	2	4	2	1	4	4	3	2	28	36.4
末 花 期	小花数	4	8	6	6	6	7	3	5	5	6	56	—
	全部染色	2	1	3	4	2	2	0	2	2	2	20	35.7
	部分染色					1				1		2	3.6
	不变色	2	7	3	2	3	5	3	3	2	4	34	60.7

种植在云南分所园内橡胶树下的阳春砂，可授性强的柱头比例为 10% 左右，而无活力的柱头比例达 82.8% ~ 92.5%（见表 4）。

表 4 柱头可授性检测（云南分所园内 2008 年种植分株苗）

指标	初花期		末花期	
	柱头数/个	百分率/%	柱头数/个	百分率/%
全部染色	6	10.3	3	7.5
部分染色	4	6.9	0	0
不变色	48	82.8	37	92.5
总数	58	100	40	100

3 讨论

砂仁花的形态结构较特殊，不易自然授粉，是典型的虫媒植物。雌雄蕊半包于唇瓣内，花柱夹在花药之间，柱头高于花药，花粉很难落到柱头上，

花粉表面有刺状突起，彼此容易粘连。因此，在传粉昆虫不多的情况下，自然结实率仅 5% ~ 8%，产量很低。试验证明长泰砂仁花粉粒发育不受年龄大小及阴蔽度强弱影响，花粉粒一般萌发率高达 86.59% ~ 99.08%，当前生产上存在结果率低与花粉萌发率似无关系^[4]。本研究表明，阳春砂花粉从上午 7:00 ~ 18:00 期间均保持较高活力，到第二天上午 8:00 还可保持较高的萌发率（31.6%）。

过去，很多研究采用联苯胺 - 过氧化氢法测定柱头的可授性^[5-6]，2010 年采用此方法并不能快速准确地测定出阳春砂仁柱头可授性的变化，对观测结果的准确性具有一定影响，认为该方法不利于观测阳春砂仁柱头的可授性。2011 年使用 MTT 法不仅能够观测出不同开花天数花朵柱头可授性的变化，而且不易将柱头本身颜色与反应后的蓝色相混淆，可授性强的柱头全部染成蓝紫色，可授性较弱的柱头部分染色，而无活力的柱头不变色，用于阳

春砂柱头可授性观测更加直观。

阳春砂为姜科多年生草本浅根系植物，对干旱敏感。每年 10 月至次年 2 月为花芽分化期，2~5 月为花芽萌发花序形成期。在西双版纳地区每年 11 月到次年 2 月为雾凉季，空气湿度大，对阳春砂生长的影响不大；3~4 月为干热季，空气和土壤湿度降低，气温较高而降雨量少。我们测定了阳春砂高产（景哈乡）和低产（基诺乡）地区土壤在旱季土壤水分的变化情况。景哈乡土壤质地为壤土，保水性好，在花芽分化期（1 月 20 日~2 月 10 日）土壤含水量与基诺乡（砂壤土）差异不大，而在花芽生长的关键期（2 月 10 日~5 月 20 日）土壤含水量高于基诺乡（砂壤土）8~10 个百分点。不同居群的阳春砂，因土壤含水量的高低，影响了柱头活力，从而影响座果率。本研究表明，种植在云南分所园内橡胶树下的阳春砂，因土壤干燥，一些小花打不开，无活力的柱头比例高于基诺乡，基诺乡又高于景哈乡，因此我们认为在传粉昆虫较多的情况下，生殖生长期土壤水分缺乏可能是

导致砂仁低产的主要原因之一。提高阳春砂柱头活力的技术措施，有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 郭本森, 陈耀武, 汪婉芳. 绿壳砂仁和阳春砂仁开花结实生物学特性的初步研究 [J]. 云南植物研究, 1980, 2 (4): 459-467.

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

[3] Rodriguez-Riano T, Dafni A. A new procedure to assess pollen viability [J]. Sexual Plant Reproduction, 2000, 12 (4): 241-244.

[4] 福建省经济植物研究所南药组. 长泰砂仁花粉活力的初步观察 [J]. 亚热带植物科学, 1977, (2): 5-11.

[5] 刘林德, 张洪军, 祝宁. 刺五加花粉活力和柱头可授性的研究 [J]. 植物研究, 2001, 21 (3): 375-379.

[6] 红雨, 刘强, 韩岚. 芍药花粉活力和柱头可授性的研究 [J]. 广西植物, 2003, 23 (1): 90-92.

(编辑: 岳胜难)

Study on the Flowering Dynamics Pollen Viability and Stigma Receptivity of *Amomum villosum*

PENG Jian-ming, LI Rong-ying, LI Ge, WANG Yian-fang
(Yunnan Branch, Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences, Jinghong Yunnan 666100, China)

[ABSTRACT] Objective: Testing the dynamic changes of pollen viability and stigma receptivity after flowering, to provide a basis information on increasing fruit set of *Amomum villosum*. Method: Selecting 10-30 flowers in an inflorescence in Jingha village, Jinuo village and under robber-forest of Yunnan Branch, Institute of medicinal Plant, observed floral dynamic, detected pollen viability with the hanging drop method (three flowers each time) and stigma receptivity with the MTT method (10-30 Stigmas each time). Result: The Inflorescence flowering since the first flower opening to the last one in an inflorescence of *Amomum villosum* takes 3 to 9 days. the life span of a flower is generally 1 day; Pollen viability in the morning before 11:00 am maintain a high germination rate, then the pollen viability decrease after 11:00 am, the pollen viability still has some germination rate till 6:00 pm; Stigma receptivity of different regions is significantly different, flower stigma receptivity of the upper Inflorescence is higher than the lower part of Inflorescence. stigma receptivity has no change in different flowering period. Conclusion: stigma receptivity from high to low is followed by Jingha village, Jinuo village and under robber-forest of Yunnan Branch, Institute of medicinal Plant.

[KEY WORDS] amomun villosum; floral dynamics; pollen viability; stigma receptivity