

不同保存温度与干燥处理对掌裂兰花粉活力的影响

陈学达 章容杰 邢 震*

(西藏农牧大学 资源与环境学院, 西藏兰科植物资源研究中心, 西藏高原森林生态教育部重点实验室, 西藏林芝 860000)

摘要 掌裂兰 (*Dactylorhiza hatagirea*) 是地道的食药两用兰科植物“手掌参”的基原植物之一, 具有较好的经济价值与开发潜力, 为探究保存温度与干燥处理对掌裂兰花粉活力的影响, 本文对其进行了 3 种保存温度 (-20 °C、4 °C、25 °C) 与无水硅胶干燥处理, 采用 TTC 染色法测定了保存 30 d、60 d 与 90 d 后的花粉活力。结果表明: 试验范围内, 保存温度与掌裂兰花粉活力呈现负相关, 干燥处理有利于保持掌裂兰花粉活力; 且低温 (-20 °C) 对延缓掌裂兰花粉活力降低效果显著, 但干燥处理仅适用于 30 d 的短期保存。因此, 为保证掌裂兰花粉品质, 建议干燥处理并在 -20 °C 低温冰箱中保存, 保存时长不超过 30 d。

关键词 掌裂兰; 保存温度; 干燥处理; 花粉活力

中图分类号: S682.31

文献标志码: A

文章编号: 2096-4781 (2026) 04-0468-05

DOI: 10.19707/j.cnki.jpa.2026.04.005

Effects of Different Storage Temperatures and Drying Treatments on Pollen Viability of *Dactylorhiza hatagirea*

CHEN Xueda, ZHANG Rongjie, XING Zhen*

(College of Resources and Environment, Orchid Conservation Center of Xizang(OCCX), Xizang Plateau Forest Ecology Key Laboratory of the Ministry of Education, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi, Xizang 860000)

Abstract: *Dactylorhiza hatagirea* as one species of the authentic edible and medicinal orchid "shouzhangshen" has good economic value and development potential. To explore the effect of storage temperature and drying treatment on the pollen vitality of *D. hatagirea*, this study conducted three storage temperatures (-20 °C, 4 °C, 25 °C) and anhydrous silica gel drying treatment on it. The pollen vitality after 30 days, 60 days, and 90 days of storage was determined using the TTC staining method. This result indicates that within the experimental range, the storage temperature is negatively correlated with the pollen vitality of *D. hatagirea*, and drying treatment is beneficial for maintaining the pollen vitality of *D. hatagirea*; and low temperature (-20 °C) has a significant effect on delaying the decrease in pollen vitality of *D. hatagirea*, but drying treatment is only suitable for short-term storage for 30 days. Therefore, to ensure the pollen quality of *D. hatagirea*, it is recommended to dry it and store it in a low-temperature refrigerator at -20 °C for no more than 30 days.

Key words: *Dactylorhiza hatagirea*; Storage temperature; Drying treatment; Pollen viability

收稿日期: 2025-09-11

作者简介: 陈学达 (1994-), 男, 汉族, 黑龙江七台河人, 硕士, 助教。研究方向: 主要从事兰科植物种质资源与遗传育种方面的研究。

通信作者: 邢 震 (1973-), 男, 汉族, 江苏南京人, 博士, 教授。研究方向: 主要从事西藏野生观赏植物种质资源与遗传育种方面的研究。

基金项目: 林芝市林草局委托项目: 10 种野生林下资源培育与示范; 林学重点学科建设: YJSSJD2025-06 西藏农牧学院拉萨南北山造林实践基地。

花粉是植物繁殖器官的重要组成部分之一，也是一类携带着成套单倍体核基因组等遗传信息的植物种质资源，其不仅可以用于地质学、植物学、生态学及古气候等方面的科学研究，更是在植物育种、遗传多样性保护及农业生产中具有重要意义^[1]。然而，花粉是否具有活力，很大程度上影响着花粉在科学研究与育种生产中作用的发挥，因此，对花粉进行何种处理以及如何保存花粉才能保持其活力，是植物花粉研究中的科学问题。目前，花粉活力影响因素研究主要集中在保存环境的温度、相对湿度等方面，其中，保存温度是其保存条件中的热点，尤其是近些年在各类植物资源中开展的超低温保存研究^[2]。花粉活力检测方法分为直接和间接两大类，直接检测方法主要有受精力测定法、活体萌发法、离体萌发法；间接检测方法主要为TTC染色法、醋酸洋红染色法、联苯胺染色法等^[3]。直接检测方法虽相对客观准确，但是操作程序复杂且结果受培养环境因子影响较大；而间接检测方法因其具有操作便捷且结果相对准确的特点（尤其是TTC染色法）被广泛应用于花粉活力检测。

掌裂兰（*Dactylorhiza hatagirea*）隶属于兰科（Orchidaceae）掌裂兰属（*Dactylorhiza*），分布于我国黑龙江、吉林、内蒙古、宁夏、甘肃、青海、新疆、四川西部和西藏东南部，生于海拔600~4 100 m的山坡、沟边灌丛下或草地中^[4]，因其地下形似手掌状的肉质根具有食药价值而面临着大肆采挖致危风险^[5]。本文以掌裂兰花粉为研究对象，测定其在不同温度下（4℃、-20℃、25℃）、是否干燥处理条件下，不同保存时长的花粉活力变化，探究其花粉保存的适宜温度与处理方式，旨在为掌裂兰后续的育种实践等提供指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在林芝市色季拉山同一掌裂兰居群（海拔3 719 m）中，于盛花期随机选取30朵盛放单花，收集到60枚花粉块，当日带回实验室备用。

1.2 试验设计

将收集的花粉混匀后随机选取3枚花粉块进行初始花粉活力测定，剩余花粉等量分装入6支50 ml离心管内，其中3支填满硅胶干燥剂。选取实验室内常见的3种恒定温度：4℃医用冰箱、-20℃低温冰箱和25℃组培室（遮光）作为保存环境，每个温度条件下，分别放置1支填满无水硅胶的离心管（干燥处理）和1支未填硅胶的离心管（无干燥处理），保存30 d、60 d和90 d后，从每个离心管内随机取出3枚花粉块进行活力测定。

1.3 花粉活力检测

采用TTC染色法检测花粉活力。操作步骤如下：取出花粉块后混匀搅碎，置于载玻片上，滴上0.5% TTC染剂后制成玻片，室温下染色20 min，每个玻片观察3个视野，分别计算花粉活力，平均后进行分析。计数时，被染成红色的花粉视为具有活力，未被染色的视为没有活力的花粉。花粉活力计数公式如下：

$$\text{花粉活力(\%)} = (\text{被染色花粉数} / \text{观察视野内花粉总数}) \times 100\% \quad (1)$$

2 结果与分析

2.1 不同保存温度对花粉活力的影响

试验结果如图1所示, 25℃温度下, 干燥处理花粉在保存30 d时花粉活力($68.96\% \pm 3.80\%$)较初始花粉活力($79.14\% \pm 4.51\%$)降低10.18%, 保存60 d与90 d时花粉活力均为0%; 在4℃温度下, 保存30 d时花粉活力($74.47\% \pm 4.12\%$)较初始花粉活力降低4.67%; 保存60 d时花粉活力($8.22\% \pm 1.36\%$)较初始花粉活力降低70.92%; 保存90 d时花粉活力($2.01\% \pm 0.42\%$)较初始花粉活力降低77.13%; 在-20℃温度下, 保存30 d时花粉活力($75.71\% \pm 3.20\%$)较初始花粉活力降低3.43%; 保存60 d时花粉活力($28.97\% \pm 1.30\%$)较初始花粉活力降低50.17%; 保存90 d时花粉活力($11.17\% \pm 1.57\%$)较初始花粉活力降低67.97%。

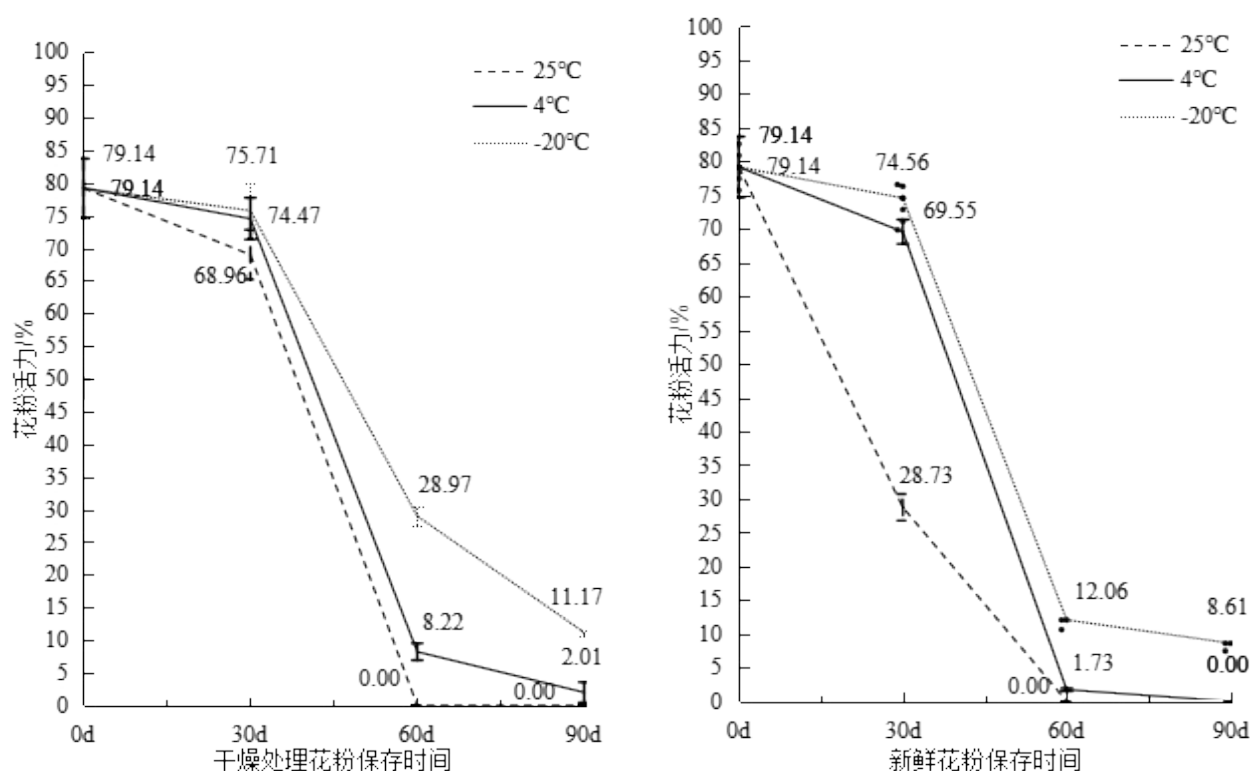


图1 不同保存温度下掌裂兰花粉活力变化图

Fig.1 Changes in pollen vitality of *D. hatagirea* under different storage temperatures

未经过干燥处理的掌裂兰花粉在25℃温度下, 保存30 d时花粉活力($28.73\% \pm 1.98\%$)较初始花粉活力降低50.41%, 保存60 d与90 d时花粉活力均为0.00%; 在4℃温度下, 保存30 d时花粉活力($69.55\% \pm 1.81\%$)较初始花粉活力降低9.59%; 保存60 d时花粉活力($1.73\% \pm 0.22\%$)较初始花粉活力降低了77.41%; 保存90 d时花粉活力降低为0.00%; 在-20℃温度下, 保存30 d时花粉活力($74.56\% \pm 4.72\%$)较初始花粉活力降低4.58%; 保存60 d时花粉活力($12.06\% \pm 1.44\%$)较初始花粉活力降低67.08%; 保存90 d时花粉活力($8.61\% \pm 1.15\%$)较初始花粉活力降低70.53%。

由此可见, 无论掌裂兰花粉是否经过无水硅胶干燥处理, 3种保存温度下保存90 d内均呈现持续下降

趋势，由 0 d ~ 90 d 的花粉活力差值判断，下降趋势 25 ℃ > 4 ℃ > -20 ℃。这表明随着保存温度的降低，掌裂兰花粉活力的保持效果相对较好；试验范围内，-20 ℃ 低温对延缓掌裂兰花粉活力降低的效果最为明显。

2.2 干燥处理对花粉活力的影响

研究结果表明（如图 2），在 25 ℃ 温度下，保存 30 d 时，未经过干燥处理的掌裂兰花粉活力较经过干燥处理的掌裂兰花粉活力低 40.23%，保存 60 d 和 90 d 时，两种处理的花粉活力均为 0.00%。在 4 ℃ 温度下，保存 30 d 时，未经过干燥处理的花粉活力较经过干燥处理的花粉活力低 4.92%，保存 60 d 时，未经过干燥处理的花粉活力较经过干燥处理的花粉活力低 6.49%，保存 90 d 时，经过干燥处理的掌裂兰花粉活力仍有 2.01%，但未经过干燥处理的掌裂兰花粉已经全部丧失活力；在 -20 ℃ 温度下，保存 30 d 时，未经过干燥处理的掌裂兰花粉活力较经过干燥处理的掌裂兰花粉活力仅低 1.15%，保存 60 d 时，未经过干燥处理的掌裂兰花粉活力较经过干燥处理的掌裂兰花粉活力低 16.91%，保存 90 d 时，未经过干燥处理的掌裂兰花粉活力较经过干燥处理的掌裂兰花粉活力低 2.56%。

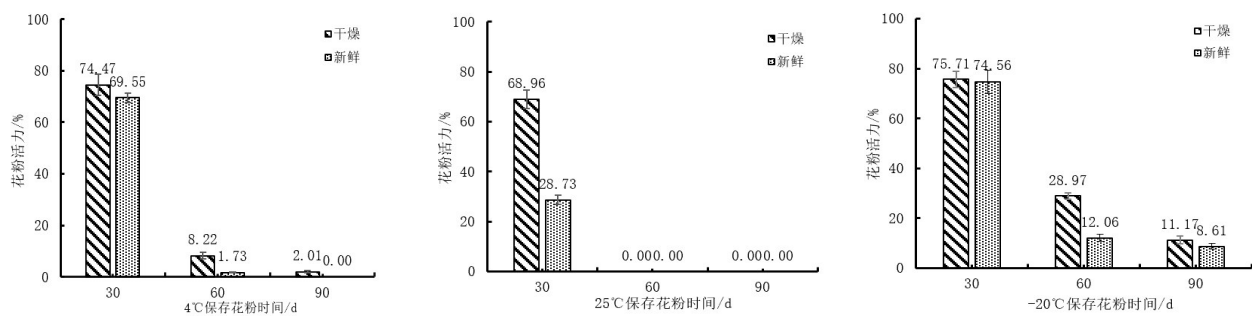


图2 干燥处理在不同保存温度花粉活力变化图

Fig.2 Changes in pollen vitality during drying treatment under different storage temperatures

由以上结果可见，无论在何种保存温度与保存时长下，干燥处理组的掌裂兰花粉活力均高于未干燥组，这表明干燥处理对掌裂兰花粉活力具有一定保持作用。

2.3 双因素方差分析

对保存温度与干燥处理进行双因素方差分析结果可见（如表 1），在保存 30 d 和 60 d 时，保存温度对掌裂兰花粉活力的保持效果极其显著；在保存 90 d 时，保存温度对掌裂兰花粉活力的保持效果具有显著性。保存 30 d 时，无水硅胶干燥处理对掌裂兰花粉活力的保持效果极其显著；温度与干燥处理的交互作用在保存 30 d 时极其显著。

表 1 保存温度与干燥处理双因素方差分析 P 值表

Tab.1 P-value table of two factor analysis of variance for storage temperature and drying treatment

因素		保存温度	干燥处理	温度+干燥
保存天数/d	30	0.000***	0.000***	0.000***
	60	0.000***	0.024*	0.127
	90	0.018*	0.614	0.935

注：0.01 < P ≤ 0.05 为显著*；0.001 < P ≤ 0.01 极显著**；P ≤ 0.001 极其显著***。

分析表明,在0~90 d内,保存温度对于掌裂兰花粉的保存作用具有持续效果;而在0~30 d内,干燥处理对掌裂兰花粉的保存具有较好效果,这说明干燥处理仅适用于掌裂兰花粉的短期保存。

3 讨论

花粉活力从根本上是由其植物种类、花粉类型及其遗传特性所决定的^[6],并受保存环境条件影响。自然条件下花粉活力周期普遍较短,如掌裂兰的自然花粉活力在其开花第2天便达到最高峰,而后在不超过10 d内持续降低为0%^[7]。然而,在植物育种与农业生产中又经常面临着花期不遇、杂交不亲和等现实问题,因而需要调控花粉保存环境来保持花粉活力。其中,在保存温度方面,竹叶兰^[8]、聚石斛^[9]、桃叶卫矛^[10]等花粉保存技术研究结果均证实温度降低普遍有利于花粉活力保持。本研究也发现,降低保存温度对于掌裂兰花粉活力的保持具有显著效果,这可能是低温能够降低花粉内各类酶活性,从而延缓花粉活力丧失。同时,相关研究表明,保存环境相对湿度与花粉活力也具有相关性,如兰科植物白及花粉活力与其保存环境的相对湿度呈负相关^[11];而在保存前将花粉块用无水硅胶阴干24 h,有利于延缓大花蕙兰花粉活力降低^[12]。本研究中,干燥处理掌裂兰花粉,也达到了同样的效果。

4 结论

综上所述,通过探究保存温度与干燥处理对掌裂兰花粉活力影响的结果发现,保存温度与掌裂兰花粉活力呈现负相关性,低温对保持掌裂兰花粉活力具有显著效果,使用无水硅胶进行干燥处理仅对掌裂兰花粉30 d内的短期保存具有明显效果,因此,试验范围内,为保证掌裂兰花粉品质,建议干燥处理并放置在-20℃低温保存,保存时长不超过30 d。

参考文献:

- [1] 刘晓娜,王培国,贾鸿昌,等.植物花粉保存技术研究进展[J].植物遗传资源学报,2025,26(09):1708-1718.
- [2] 张亚利,尚晓倩,刘燕.花粉超低温保存研究进展[J].北京林业大学学报.2006,28(4):139-147.
- [3] 王钦丽,卢龙斗,吴小琴,等.花粉的保存及其生活力测定[J].植物学通报.2002,9(3):365-373.
- [4] Chen Xinqi, Liu Zhongjian, Guanghua Zhu, et al. Flora of China [M]. Beijing: Science Press.2006.
- [5] 索南邓登,陈卫东,林鹏程.青藏高原野生濒危药用植物掌裂兰的生境及濒危因素分析[J].广西植物.2019,39(9):1166-1179.
- [6] 王慧,张从合,黄艳玲,等.植物花粉影响因素和保存方法研究进展[J].中国农学通报,2023,39(3):49-54.
- [7] 章容杰.色季拉山掌裂兰繁殖生物学及种子非共生萌发研究[D].林芝:西藏农牧大学.2025.
- [8] 夏春英,谢小敏,刘江枫,等.竹叶兰花粉离体萌发及其贮藏特性[J].森林与环境学报,2019,39(5):454-459.
- [9] 邓茜玫,郑宝强,郭欣,等.聚石斛花粉生活力及贮藏的研究[J].林业科学研究,2014,27(5):657-661.
- [10] 李万义,孔鑫,韩亚洁,等.桃叶卫矛花粉超低温保存[J].江苏农业科学,2018,46(10):144-148.
- [11] 黄春球,宋天顺,李明静,等.白芨花粉活力测定与花粉保存[J].北方园艺,2011(03):182-184.
- [12] 张晓莹,傅巧娟,赵福康,等.大花蕙兰花粉贮藏及立体萌发研究[J].浙江农业学报.2019,31(9):1502-1508.