

蔗糖、钙和硼对榆叶梅花粉离体萌发及花粉管生长的影响

杜玉虎, 慕影, 蒋锦标, 杨春玲, 郑爽, 李岩

(辽宁农业职业技术学院 辽宁 营口 115009)

摘要: 研究了不同浓度蔗糖、钙(CaCl_2)和硼(H_3BO_3)对单瓣榆叶梅(*Prunus triloba* var. *simplex*)和重瓣榆叶梅(*Prunus triloba* var. *plena* Dipp.)离体条件下花粉萌发和花粉管生长的影响。结果表明:5%~10%的蔗糖不利于花粉的萌发和花粉管生长,15%~30%的蔗糖能够提高花粉的萌发率和花粉管生长长度,其中25%的蔗糖为最适浓度,单瓣和重瓣榆叶梅相差不大,二者平均花粉萌发率和花粉管长度为38.72%和489.6 μm 。0.01%~0.07%的外源钙可以显著促进榆叶梅花粉的离体萌发和花粉管的生长,0.03%作用最大。0.01%的硼对单瓣榆叶梅,0.01%~0.03%的硼对重瓣榆叶梅花粉萌发和花粉管生长有显著的促进作用,重瓣榆叶梅比单瓣榆叶梅更需要外源硼的补充。

关键词: 榆叶梅;花粉萌发;花粉管生长;蔗糖;钙;硼

中图分类号: S 685.99 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)08-0106-04

榆叶梅(*Prunus triloba* Lindl)属于蔷薇科李属植物,花期早且长、花朵大而艳丽,是一种应用广泛,观赏价值高的园林绿化、彩化树种。采用远缘杂交(Distant hybridization)技术综合利用现有栽培种的优良性状和野生种的抗逆性,是拓宽园艺植物遗传资源范围,种质创新的一条有效途径,广泛受到研究者的重视。目前利用远缘杂交技术在一些园艺植物上已经获得了一些杂种后代,积累一些关于远缘杂交的技术经验,但克服远缘杂交不亲和和杂种不育性仍有大量的技术需要解决。其中花粉能否在远缘柱头上正常萌发和花粉管能否正常生长到胚珠完成受精是远缘杂交成功与否的第一步关键环节^[1]。研究了榆叶梅雄性配子的活力,以及离体培养条件下蔗糖、硼(H_3BO_3)和钙(CaCl_2)对单瓣、重瓣榆叶梅花粉萌发和花粉管生长的影响,为开展榆叶梅远缘杂交的工作提供试验依据。同时也可为提高坐果率和采种量提出有效措施,解决生产上实生繁殖用种量大的问题。

1 材料与方法

1.1 材料

以辽宁农业职业技术学院院内成年期正常开花结果的单瓣和重瓣榆叶梅为材料。于初花期采集即将开放的大蕾期花朵,室内拨出花药,于硫酸纸上,自然荫干24 h,散粉后装入密封小瓶中, -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用。

第一作者简介:杜玉虎(1976),男,河北井陘人,博士,讲师,主要从事园艺教学和果树育种与生殖生理研究工作。E-mail: dyhdyh211@163.com.

通讯作者:蒋锦标。E-mail: lnnzyjiang@sina.com.

收稿日期:2008-02-26

1.2 花粉培养方法及花粉萌发率和花粉管长度的统计

花粉离体培养采用固体培养基法。用胶头滴管吸取液态培养基,在载玻片上滴制成厚度约3 mm的半球形培养基。待培养基凝固后,用毛笔粘取少量花粉均匀弹播于培养基上,然后将播种有花粉的载玻片放入保湿盒中,恒温箱25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养24 h后统计花粉萌发率和花粉管长度,以花粉管长度达花粉粒直径一半以上为萌发标准。花粉萌发率观测100粒,重复3次,花粉管长度统计20根花粉管,重复3次。

1.3 各试验处理

不同蔗糖浓度:5%、10%、15%、20%、25%和30%(均添加1%的琼脂粉);不同钙浓度:25%蔗糖和1%琼脂粉中添加0、0.01%、0.03%、0.05%、0.07%和0.09%的 CaCl_2 ;不同硼浓度:25%蔗糖和1%琼脂粉中添加0、0.01%、0.02%、0.03%、0.04%和0.05%的 H_3BO_3 。

2 结果与分析

2.1 不同浓度蔗糖对榆叶梅花粉离体萌发率及花粉管生长的影响

单瓣和重瓣榆叶梅花粉在不同蔗糖浓度的培养基上,萌发率和花粉管生长长度差异显著。2种类型的榆叶梅花粉萌发率和花粉管生长长度变化趋势相似,随着培养基中蔗糖浓度的升高而增大,达到最高萌发率和最长花粉管生长长度后,随着蔗糖浓度的升高反而下降。榆叶梅的2个类型在蔗糖浓度为20%和25%时,花粉萌发率显著性高于其他蔗糖浓度。其中25%蔗糖浓度最高,单瓣和重瓣榆叶梅平均为:38.85%和38.59%;5%蔗糖浓度最低分别只有:11.11%和11.53%。2个类型榆叶梅均在25%蔗糖浓度的培养基上花粉管生长长度显

著性高于其他蔗糖浓度, 分别为: 513.6 μm 和 465.6 μm ;

5%蔗糖浓度最短分别只有: 188 μm 和 99.6 μm (图1)。

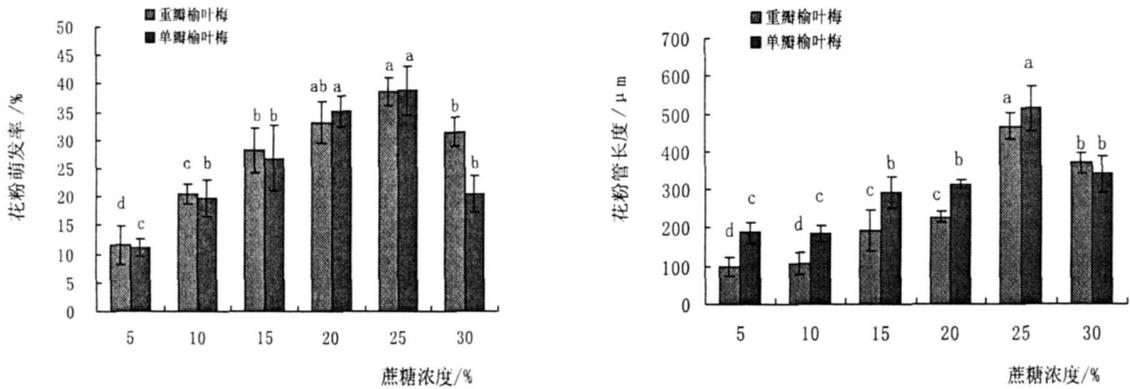


图1 不同蔗糖浓度对榆叶梅花粉离体萌发和花粉管生长的影响

注: a, b, c等字母表示不同处理对同一花粉的影响在 0.05 水平的差异, 下同。

2.2 不同浓度钙对榆叶梅花粉离体萌发率及花粉管生长的影响

单瓣和重瓣榆叶梅花粉在不同钙浓度的培养基上, 萌发率和花粉管生长长度差异显著。2种类型的榆叶梅花粉萌发率和花粉管生长长度随着培养基中钙浓度的增加, 发生相似趋势的变化, 即随着钙浓度的升高而增大, 达到最高值后, 随着钙浓度的升高反而下降。单瓣

榆叶梅在钙浓度为 0.03% 和 0.05% 时, 花粉萌发率显著性高于其他钙浓度, 其中 0.03% 钙浓度最高, 平均为 74.22%; 重瓣榆叶梅在钙浓度为 0.03% 时, 花粉萌发率显著性高于其他钙浓度, 平均为 70.04%。2个类型榆叶梅均在 0.03% 钙浓度的培养基上花粉管生长长度显著性高于其他钙浓度, 分别达到 746.4 μm 和 818.8 μm 。

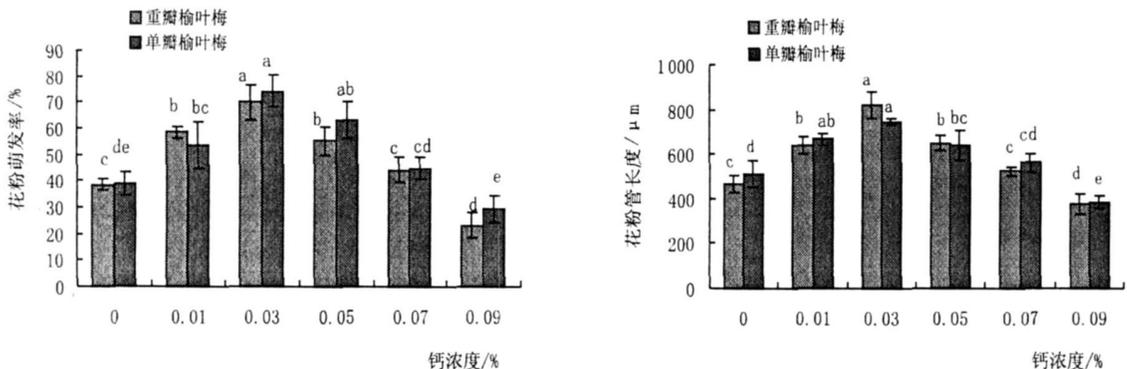


图2 不同钙浓度对榆叶梅花粉离体萌发和花粉管生长的影响

2.3 不同浓度硼对榆叶梅花粉离体萌发率及花粉管生长的影响

适于单瓣和重瓣榆叶梅花粉萌发的硼酸浓度不同。单瓣榆叶梅在 0.01%, 重瓣榆叶梅在 0.02% 时分别达到 71.83% 和 68.14%, 显著高于其他浓度(图3)。

适于单瓣和重瓣榆叶梅花粉管生长的硼酸浓度不同。单瓣榆叶梅在 0.01%, 重瓣榆叶梅在 0.03% 时分别达到 783.2 μm 和 989.6 μm , 显著高于其他浓度。而且适于花粉萌发的浓度不一定适于花粉管生长, 重瓣榆叶梅花粉萌发和花粉管生长最适宜的硼酸浓度分别为 0.02% 和 0.03%(图3)。

2种榆叶梅花粉萌发率和花粉管生长在不同硼酸浓

度的培养基中存在相似的变化趋势, 随着硼酸浓度的升高而增大, 达到最高值后, 又随着硼酸浓度的升高反而下降。

3 讨论

花粉离体萌发需要碳源(蔗糖)、硼酸及矿质元素(如外源 Ca^{2+}) 等营养物质³。蔗糖对花粉萌发和花粉管生长具有重要的作用, 是花粉萌发及花粉管壁合成的主要营养物质来源³; 研究认为低浓度的蔗糖(5%~10%)不利于榆叶梅花粉的萌发和花粉管生长, 较高浓度(15%~30%)的蔗糖有利于花粉萌发率和花粉管生长长度, 其中 25% 为最适浓度。曾利用正交试验设计研究认为, 果梅(李属)花粉萌发的最适蔗糖浓度为 20%¹⁴。但王雪莲等⁵¹ 认为榆叶梅花粉最适萌发蔗糖浓度为

15%，樊新民等^[9]认为榆叶梅花粉在10%的蔗糖培养基萌发率最高，而且萌发率都达到了80%以上。花粉萌发

率受树体营养、环境条件等多种因素的影响，可能是造成不同研究结果的原因。

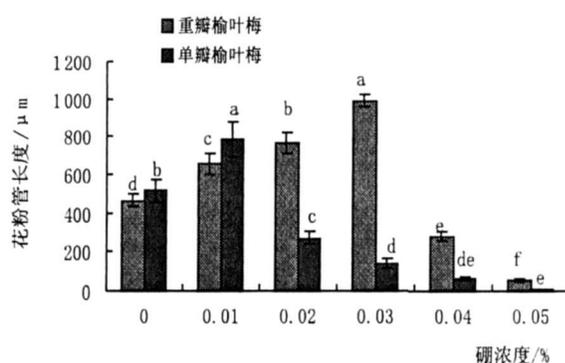
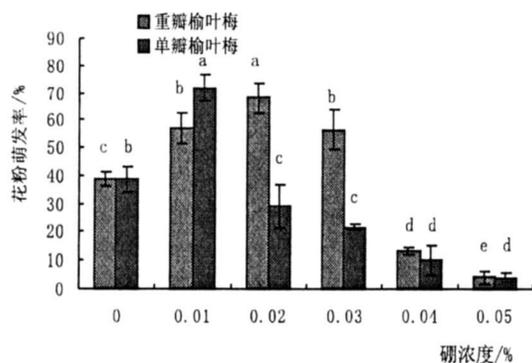


图3 不同硼浓度对榆叶梅花粉离体萌发和花粉管生长的影响

Ca²⁺对启动花粉萌发、调节花粉管生长具有重要调节的作用^[7-9]。并且调节途径有多种，如影响细胞骨架的组装^[10]、分泌小泡的运输和融合^[11]、花粉管顶端的脉冲式生长^[12]、花粉管生长方向调控^[13]等。Ca²⁺浓度的紊乱将会导致花粉管生长受到抑制或完全停止^[14]。0.01%~0.07%的外源钙可以显著促进榆叶梅花粉的离体萌发和花粉管的生长，0.03%作用最大。杜玉虎等^[4]认为外源钙对果梅花粉萌发和花粉管生长具有显著的促进作用。田翠婷等^[15]报道，青杆(*Picea wilsonii*)未萌发的成熟花粉粒中已含有足够量的Ca²⁺可以供给其花粉的萌发和花粉管的早期生长，在花粉离体萌发初期不需要外源的Ca²⁺，而持续生长过程中仍需要外源Ca²⁺的参与。同样在白皮松(*Pinus bungeana*)花粉的离体培养中，生长后期也需外源钙的补充，才能使花粉管正常生长，其钙的最适浓度为0.01%。龚明等^[7]认为，石南松(*Pinus yunnanensis*)花粉已含有使其萌发和花粉管生长所需的Ca²⁺含量，关军锋^[16]在苹果上也有同样的研究结果。因此不同种类植物花粉萌发和花粉管生长是否需要外源钙不同，需要的程度也不同。

硼不仅可增加糖的吸收、运转和代谢，形成花粉管顶端生长依赖的Ca²⁺梯度，还可能作为一种相关因子影响关键酶活性，改变细胞壁的延展性以至影响花粉管细胞壁的构建^[15]。0.01%的硼对单瓣榆叶梅，0.01%~0.03%的硼对重瓣榆叶梅花粉萌发和花粉管生长有显著的促进作用，重瓣榆叶梅比单瓣榆叶梅更需要外源硼的补充。适于果梅花粉离体萌发和花粉管生长的硼浓度为0.01%^[4]，适于青杆花粉离体萌发的硼浓度以0.015%~0.02%合适^[15]。因此开花前期和花期适量施用硼肥利于花粉营养需求的平衡，有益于授粉受精的顺利完成。

参考文献

- [1] 杨红花 卢继承, 李伟, 等. 远缘杂交理论在果树育种实践中的研究进展[J]. 山东农业大学学报, 2006, 37(1): 145-148.
- [2] 孙颖, 孙大业. 花粉萌发和花粉管生长发育的信号转导[J]. 植物学报, 2001, 43(12): 1211-1217.
- [3] Fei S, Nelson E. Estimation of pollen viability, shedding pattern, and longevity of creeping bentgrass on artificial media[J]. Crop Science 2003, 43(6): 2177-2181.
- [4] 杜玉虎 张绍铃, 姜雪婷, 等. 果梅花粉离体萌发及花粉管生长特性研究[J]. 西北植物学报, 2006 26(9): 1846-1852.
- [5] 王雪莲 李宏伟, 徐福军, 等. 榆叶梅花粉贮藏及生活力的测定[J]. 林业科技, 2003, 9(28): 55-57.
- [6] 樊新民 牛建新, 孙爱新, 等. 榆叶梅和海棠花粉萌发率的测定及超低温保存方法[J]. 湖北农业科学, 2004(6): 65-66.
- [7] 龚明, 杨中汉, 曹宗翼. 钙对花粉萌发的启动和对花粉管生长的调节作用(英文)[J]. 北京大学学报(自然科学版), 1995(3): 238-249.
- [8] 范六民 杨弘运, 周嫄. 外源Ca²⁺对烟草花粉管生长和生殖核分裂的调节[J]. 植物学报, 1997, 34(10): 899-904.
- [9] 龚明, 曹宗翼. 钙和钙调素对花粉萌发和花粉管生长的调控[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(5): 321-328.
- [10] Lazzaro M D. Microtubule organization in germinated pollen of the conifer *Picea abies* (Norway spruce, Pinaceae)[J]. American Journal of Botany, 1999, 86(6): 759-766.
- [11] Camacho L, Malho R. Endo/exocytosis in the pollen tube apex is differentially regulated by Ca²⁺ and GTPases[J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(380): 83-92.
- [12] Geitmann A, Cresti M. Ca²⁺ channels control the rapid expansions in pulsating growth of *Petunia hybrida* pollen tubes[J]. Journal of Plant Physiology, 1998, 152(4-5): 439-447.
- [13] Malho R, Read N D, Pais M S, et al. Role of cytosolic free calcium control pollen tube orientation[J]. Plant Journal, 1994, 5(3): 331-341.
- [14] Franklin-Tong V E. Signaling and the modulation of pollen tube growth[J]. Plant Cell, 1999, 11(4): 727-738.
- [15] 田翠婷 吕洪飞, 王锋, 等. 培养基组分对青杆离体花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(1): 47-52.
- [16] 关军锋 马智宏, 张晓敏, 等. Ca²⁺与苹果花粉萌发和花粉管生长的关系[J]. 果树科学, 1999, 16(3): 176-179.

Effects of Sucrose, Boron and Calcium on in Vitro Pollen Germination and Pollen Tube Growth of *Prunus triloba* Lindl

DU Yu-hu, QI Ying, JIANG Jin-biao, YANG Chun-ling, ZHENG Shuang, LI Yan
(Liaoning Agricultural Vocation Technical College, Yingkou, Liaoning 115009, China)

Abstract: The effects of the different concentrations of sucrose, calcium and boron on pollen germination and pollen tube growth of *Prunus triloba* var. plena Dipp. and *Prunus triloba* var. simplex were investigated. The results showed that 5% ~ 10% of sucrose was not conducive to pollen germination and pollen tube growth, while the concentrations at 15% ~ 30% could improve. The optimum concentration of sucrose was 25%, both average pollen germination and pollen tube length for 38.72% and 489.6 μ m. 0.01% to 0.07% of exogenous calcium can significantly promote the pollen germination and pollen tube growth of *Prunus triloba* in vitro, 0.03% of the largest. 0.01% of boron on *Prunus triloba* var. simplex and 0.01% to 0.03% of boron on *Prunus triloba* var. plena Dipp. pollen germination and pollen tube growth of a significant role in promoting, suggested that the *Prunus triloba* var. plena Dipp. more needs boron than *Prunus triloba* var. simplex.

Key words: *Prunus triloba* Lindl; Pollen germination; Pollen tube growth; Boron; Calcium; Sucrose

选用植保机械要考虑十个问题

1 要了解防治对象(病虫害)的危害特点及施药方法和要求。例如病、虫在植物上的发生或危害的部位,药剂的剂型、物理性状及用量,喷洒作业方式(喷粉、喷雾、烟雾剂等),喷雾是常量、低量或超低量等,以便选择植保机械类型。

2 了解防治对象的田间自然条件及所选植保机械对它的适应性。例如田块的平整及规划情况,是平原还是丘陵,旱作还是水田,果树的大小、株行距及树间空隙,考虑所选机具在田间作业及运行的适应性,以及在果树间的通过性能。

3 了解作物的栽培及生长情况。例如作物的株高及密度,喷药是苗期,还是中后期,要求药剂覆盖的部位及密度,果树树冠的高度及大小,所选植保机械的喷洒(撒)部件的性能是否能满足防治要求。

4 购买的喷雾机械用于喷洒除草剂,需配购适用于喷洒除草剂的有关附件如狭缝喷头、防滴阀、集雾罩等。

5 了解所选植保机械在作业中的安全性。例如有

无漏水、漏药,对操作人员的污染,对作物是否会产生药害。

6 根据经营模式及规模,以及经济条件如分户承包还是集体经营,防治面积大小与要求的生产率,购买能力及机具作业费用(农药、供水、燃料或电费、人工费等)的承担能力,以确定选购人力机械还是动力机械以及机械的大小。

7 产品是否经过质量检测部门的检测并且合格。产品有无获得过推广许可证或生产许可证,并了解其有效期。

8 产品及生产厂家的信誉好否,产品质量是否稳定,售后服务好否,产品是否曾获得过能真正反映质量的奖项,是否曾获优质奖。

9 到相同生产条件的作业单位了解打算购买的机械的使用情况,以作参考。

10 选定好机型后,购买时应按装箱单检查包装情况是否完好,随机技术文件与附配件是否齐全。