

# 蔗糖和 PEG 对山茶花花粉离体萌发的影响

张 涛, 黄 敏  
(重庆师范大学 生命科学院, 重庆 400047)

**摘 要:**以山茶花为材料, 研究不同浓度的蔗糖和 PEG 对茶花花粉离体萌发的影响。结果表明: 添加适当浓度的蔗糖和 PEG 有利于山茶花花粉的萌发和花粉管的生长, 但是随着浓度的升高对花粉的萌发有一定抑制作用。当蔗糖浓度为 20 g/L、PEG 浓度为 15 g/L 时花粉的萌发率最高。

**关键词:** 山茶花; 花粉萌发; 蔗糖; PEG  
**中图分类号:** S 685.14 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)01-0101-02

茶花, 又称山茶花(*Camellia japonica* L.), 是我国传统的十大名花之一, 也是世界的名贵花木之一。山茶花的花期一般为 1~3 个月, 始花温度 2℃, 属典型的冬、春花卉, 有着重要观赏价值<sup>[1]</sup>。研究发现, 人工辅助授粉或杂交授粉是常规育种研究中培育新品种的重要途径, 而花粉采集、贮藏以及生活力检测是人工授粉的重要环节, 因此, 开展山茶花花粉生活力的研究, 可以为杂交育种提供理论基础。花粉生活力的测定方法常用的有: 花粉萌发、核及原生质染色、酶测试及荧光染色法<sup>[2-3]</sup>。其中花粉萌发法更接近自然实际情况, 而且这种方法还为以克服不亲和性为目的的试管受精和通过花粉进行基因转移等新技术研究奠定基础。

目前关于山茶花的离体萌发没有太多的相关报道, 魏岩等报道 5%、10% 的 2 种蔗糖浓度培养液对山茶花粉萌发的影响差异不显著, 而不同的硼酸浓度对山茶花粉的萌发有极其显著的影响<sup>[4]</sup>。试验旨在研究蔗糖和

PEG 对山茶花花粉离体萌发和花粉管生长的影响, 为开展山茶花的人工授粉及新品种培育提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以重庆师范大学校园内山茶花为试验材料, 在早晨 9:00 采集新开放的花蕾, 剥取花药, 盛于培养皿中, 置于人工气候室 25℃培养, 使其开裂, 置 4℃冰箱中保存备用。

### 1.2 方法

**1.2.1 培养基** 花粉培养基以不同浓度蔗糖和 PEG-4000 为主要成分, 组合设计出 8 种培养液, 即 50 mg/L  $H_3BO_4$  + 10 mg/L  $MgSO_4$  + 20 g/L 蔗糖 + 不同浓度 PEG-4000 (5、10、15、20 g/L); 50 mg/L  $H_3BO_4$  + 10 mg/L  $MgSO_4$  + 15 g/L PEG-4000 + 不同浓度蔗糖 (5、10、20、40 g/L), 用以研究蔗糖和 PEG-4000 对山茶花花粉离体萌发和花粉管生长的影响。

**1.2.2 花粉的提取** 取即将散粉的山茶花花药置于 1.5 mL 离心管中, 为了降低花粉发育时期不同给试验造成的误差, 每个离心管中置 10 枚采自不同小花的花药。在离心管中分别加入等量的 8 种液体培养基, 用镊子夹破花药, 释放出花粉粒。

第一作者简介: 张涛(1971-), 男, 博士, 教授, 主要从事遗传及细胞生物学研究工作。E-mail: zht2188@126.com.  
收稿日期: 2008-08-10

## Preliminary Research on Embryo Culture of Peony Seed

LIU Hui-chao<sup>1</sup>, LIU Lei<sup>2</sup>, JIA Wen-qing<sup>1</sup>, BAI Zhi-chuan<sup>2</sup>

(1. Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang Henan 453003, China; 2. Southwest University, Chongqing 400716, China)

**Abstract:** Dormant effects of treatment with different concentration of GA<sub>3</sub> on peony seeds were studied. The germination ratio was 52.6% when peony seeds were treated by 500 mg/L GA<sub>3</sub> for 48h. The four kinds of medium were studied, 1/2MS + Ca<sup>2+</sup> was the basic medium of embryo culture. The best medium of embryo culture was 1/2MS + GA<sub>3</sub>0.5 mg/L.

**Key words:** Peony; Mature embryo; Culture in vitro

1.2.3 花粉萌发率和花粉管长度的测定 称 1 g 琼脂加水溶化, 定容至 100 mL, 用玻棒蘸少许琼脂涂布在载玻片上, 取适量含有花粉的液体培养基滴于涂有琼脂上, 然后将载玻片放置于垫有湿滤纸的培养皿中, 在 25℃ 的恒温箱中孵育, 培养 2 h 后在数码显微镜(10×10)下观察并拍照, 测定花粉萌发率和花粉管长度。当花粉管的长度大于花粉粒的直径时, 花粉粒被认为萌发。每个玻片观察 3~5 个视野, 统计萌发率, 3 次重复, 每次所统计的花粉粒数目不少于 100 粒。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度蔗糖对花粉萌发率和花粉管生长的影响

由表 1 可知, 不同浓度的蔗糖对山茶花花粉萌发率具有显著的影响。当培养基蔗糖浓度在 5 g/L 时, 花粉的萌发率为 28.6%, 随蔗糖浓度的增加花粉萌发率也逐渐升高, 当蔗糖浓度升至 20 g/L 时, 花粉萌发率达到最高, 为 42.9%, 但随着蔗糖浓度的继续增加而花粉萌发率呈逐渐下降趋势, 当蔗糖浓度为 40 g/L 时, 萌发率仅为 25.2%, 明显低于 20 g/L 时的花粉萌发率, 说明高浓度蔗糖对山茶花花粉的萌发具有一定的抑制作用。在观察花粉萌发率的同时测量了花粉管的长度, 当蔗糖浓度为 20 g/L 时, 花粉管的长度最大, 为 190 μm。上述结果表明, 山茶花花粉萌发和花粉管正常生长的最适宜蔗糖浓度是 20 g/L。

表 1 蔗糖对山茶花花粉萌发和花粉管生长的影响

浓度/g · L <sup>-1</sup>	5	10	20	40
花粉萌发率/%	28.6	32.4	42.9	25.2
花粉管长度/μm	162.6	175.2	190.0	171.2

### 2.2 不同浓度 PEG 对花粉萌发和花粉管生长的影响

由表 2 可知, 当 PEG 浓度为 5 g/L 时花粉的萌发率为 24.8%, 随着 PEG 浓度的升高花粉的萌发率也逐渐升高, 当浓度达到 15 g/L 时, 花粉的萌发率最高, 为 39.9%。但当 PEG 的浓度继续升高时花粉的萌发率呈下降趋势, 因此, 山茶花花粉萌发的最适宜 PEG 浓度为 15 g/L。PEG 浓度对花粉管的生长也有一定的影响, 当浓度为 5 g/L 时, 花粉管的长度仅为 148.8 μm, 当浓度为 15 g/L 时, 花粉管的长度最大, 为 174.5 μm, 表明花

粉管正常生长的最适 PEG 浓度为 15 g/L。

表 2 PEG 对山茶花花粉萌发和花粉管生长的影响

浓度/g · L <sup>-1</sup>	5	10	20	40
花粉萌发率/%	24.8	31.2	39.9	31.1
花粉管长度/μm	148.8	159.9	174.4	158.6

## 3 讨论

蔗糖是许多植物花粉离体培养所必需的重要营养成分, 一般认为蔗糖对花粉的萌发具有两个方面的作用: 一是为花粉的萌发和花粉管的生长提供营养, 二是维持培养环境的渗透压。该研究结果表明, 培养基中蔗糖浓度过低或过高均不利于山茶花花粉的离体萌发, 其原因可能是蔗糖浓度过高会造成花粉细胞质壁分离, 从而影响花粉的萌发, 而蔗糖浓度适宜时, 花粉内外的渗透压才能保持平衡, 从而可维持山茶花花粉正常的生活力, 有利于萌发。PEG 是一种高分子渗透剂, 能使花粉内膜结构发生变化, 改变膜表面的电荷, 使膜的柔软程度和通透性提高, 从而促进花粉萌发和花粉管生长。赵宏波等发现 200 g/L 的 PEG 对梅花花粉离体萌发的效果最好, 但过高或过低均不利于花粉的萌发<sup>[5]</sup>。试验中我们还发现当 PEG 为 15 g/L 时对山茶花花粉的萌发效果最好, 过高过低都不利于花粉的萌发。

培养基组分及其浓度对花粉离体萌发有很大影响通过研究发现 50 mg/L H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub> + 10 mg/L + MgSO<sub>4</sub> + 20 g/L 蔗糖 + 15 g/L PEG-4000 的培养基利于山茶花花粉的萌发, 但萌发率均在 40% 左右, 可能是由于山茶花花粉的萌发还需其它营养成分或植物生长调节剂的参与, 这还有待深入研究。

### 参考文献

- [1] 李云, 任继雄, 甘元发等. 赤霉素处理对山茶花开放的促进作用[J]. 北方园艺, 2007(5): 120-121.
- [2] 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 19(3): 365-370.
- [3] 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.
- [4] 魏岩, 雷庆峰. 山茶花粉萌发试验[J]. 北方园艺, 1998(1): 16-17.
- [5] 赵宏波, 房伟民, 陈发棣. 梅花花粉离体萌发和花粉管生长研究[J]. 广西植物, 2007 27(3): 393-396.

## Effects of Sucrose and PEG on Pollen Germination of *Camellia* in vitro

ZHANG Tao, HUANG Min

(College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

**Abstract:** The effects of different concentrations of sucrose and PEG on pollen germination of *Camellia* was studied. The results showed that the appropriate amount of PEG and sucrose were conducive to the pollen germination and pollen tube growth. But with the increased concentration of them, it will inhibit pollen germination. The highest pollen germination rate was recorded at the concentration of 15 g/L PEG and 20 g/L of sugar.

**Key words:** *Camellia*; Pollen germination; Sucrose; PEG