

牡丹花粉离体萌发的研究

盖伟玲¹, 盖树鹏²

(1. 青岛农业大学 农学与植保学院, 山东 青岛 266109; 2. 青岛农业大学 生命科学院, 山东 青岛 266109)

摘要: 采用固体培养法研究了 3 个野生牡丹种和 1 个栽培品种的花粉萌发情况。结果表明: 固体培养基上培养 6 h 左右, 牡丹花粉已有较高萌发率, 是调查花粉萌发率的适宜时期。牡丹花粉萌发的适宜条件为 50 mg/L 硼酸、100 g/L 蔗糖、pH 6.5~7.0, 可获得较高的萌发率。

关键词: 牡丹; 花粉萌发; 离体

中图分类号: S 685.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)22-0132-02

牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)是原产中国的特色名花, 雍容华贵, 富丽端庄, 自古以来被尊为“国色天香”、“花中之王”, 也是首选国花^[1]。近年来, 牡丹育种已由自然杂交为主转向人工杂交和远缘杂交。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, 开展牡丹花粉萌发力的研究, 可以为杂交育种提供理论基础。常用的花粉生活力测定方法有花粉萌发和染色观察两大类, 其中花粉萌发法更接近自然实际情况, 而且这种方法还可为远缘杂交和基因转化等技术研究奠定基础。贾文庆^[2]、韩丽^[3]、李宗艳^[4]、王兵益^[5]、蔡祖国^[6]等对牡丹花粉活力进行了测定, 但所用材料主要以滇牡丹和中原牡丹为主, 未涉及紫斑、卵叶牡丹等材料。该研究目的在于优化牡丹花粉萌发力测定方法, 为通过人工杂交培育牡丹新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以杨山牡丹(*Paeonia ostii*)、紫斑(*P. rokki*)、卵叶(*P. qiui*) (采自湖北保康)、鲁荷红(*Paeonia suffruticosa* cv. Luhehong) (采自青岛农业大学品种资源圃)为试验材料。

1.2 试验方法

1.2.1 花粉采集 开花期早上 8:00~9:00 采集花粉。将纸袋套于花朵顶部, 轻轻敲打花茎, 使花粉自然脱落到纸袋中, 阴凉通风处晾干。尽量在无风的天气下采集花粉, 采集动作要轻巧, 避免花粉污染。

1.2.2 花粉萌发时间的测定 花粉采用固体培养法, 以硼酸为 50 mg/L、CaCl₂ 0.04 g/L、蔗糖 100 g/L、pH 7.0 为基本培养条件。取 4 种牡丹花粉, 24℃下培养, 0.5 h 后倒置显微镜 Nikon TE 2000 下统计萌发率, 每隔 1 h 统计 1 次, 记录观测结果。3 次重复, 每重复观察 3 个视野。

1.2.3 培养条件对花粉萌发的影响 硼酸浓度设为 0、0.05、0.08、0.1、0.15、0.2 g/L, 6 个水平, 确定适宜的硼酸浓度; pH 分别为 5.8、6、6.5、7、7.5, 5 个水平, 筛选适宜 pH; 蔗糖浓度范围为 30~150 g/L, 分别为 30、50、80、100、150 g/L, 5 个水平, 探索蔗糖浓度对花粉萌发影响。

2 结果与分析

2.1 牡丹花粉的离体萌发时间

从图 1 可看出, 在花粉接种后 0.5 h 基本无萌发, 从 0.5~1 h 之间花粉开始陆续萌发, 随着时间的增加萌发率逐渐提高, 从 2~5 h 之间为萌发率快速增长的阶段, 培养 6 h 时, 萌发率的增长速度迅速下降, 萌发率趋于稳定。此时, 花粉管长度已达花粉直径 10~20 倍左右, 已影响到萌发率的观测。所以在花粉离体萌发培养测定时, 接种后 6 h 左右镜检, 计算萌发率比较合适。

2.2 硼酸对牡丹花粉萌发率的影响

硼酸是牡丹花粉萌发所必需的, 当不加硼酸时, 4 种牡丹花粉萌发率都很低。加入硼酸后, 花粉萌发率明显增加(图 2)。随着硼酸浓度的增加, 牡丹花粉萌发率呈上升趋势。紫斑牡丹、卵叶牡丹在硼酸浓度为 50 mg/L 时, 萌发率最高, 之后略有下降; 杨山牡丹、鲁荷红在硼酸 50 mg/L 已有较高的萌发率, 之后略有升高, 至 150 mg/L 时达最大值, 但差异不显著。因此, 牡丹花粉离体萌发的适宜硼酸浓度为 50 mg/L。

2.3 不同 pH 下的牡丹花粉萌发力

从图 3 可看出, 在一定的 pH 范围内, 随着 pH 的升高, 4 种牡丹花粉萌发率呈上升趋势, 当超过一定值后, 花粉萌发率有所下降。杨山牡丹花粉在 pH 6.5 时达最

第一作者简介: 盖伟玲(1971-), 女, 本科, 实验师, 现从事牡丹栽培和育种工作。E-mail: yllhgc@163.com。

通讯作者: 盖树鹏(1974-), 男, 博士, 副教授, 现从事牡丹遗传育种和分子生物学研究工作。E-mail: spgai@qau.edu.cn。

基金项目: 山东省良种产业化资助项目(鲁科农社字[2007]217号)。

收稿日期: 2010-09-06

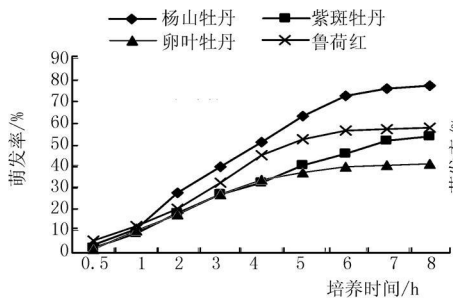


图1 不同培养时间对牡丹花粉萌发力影响

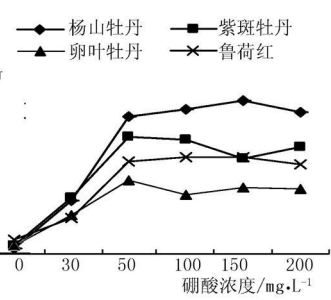


图2 硼酸对牡丹花粉萌发力影响

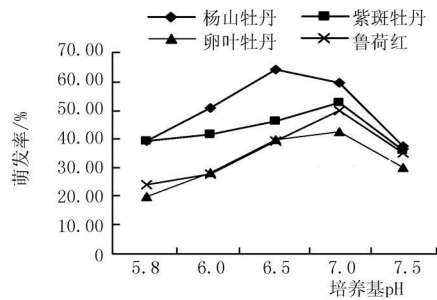


图3 pH 对牡丹花粉萌发力影响

大值,之后下降。其它3种牡丹花粉在 pH 7.0 时达最大值,当 pH 7.5 时萌发力有所下降。在进行牡丹花粉离体萌发时,pH 6.5~7.0 较为适宜。

2.4 蔗糖对牡丹花粉萌发力的影响

蔗糖作为培养基中的必需成分,是花粉离体萌发所必需的。随着蔗糖浓度的增加,4种牡丹花粉表现出先上升后下降的趋势,当蔗糖浓度为 100 g/L 时,4种牡丹花粉萌发率达最高值。当蔗糖浓度升高到 150 g/L 时,4种牡丹花粉萌发率下降。可能是过高的蔗糖浓度,导致花粉脱水而影响了花粉萌发(图4)。100 g/L 蔗糖进行牡丹花粉培养,可获得较高的萌发率。

Ca²⁺ 的作用是启动花粉的萌发^[7,8]。适宜的 pH 可改变花粉粒内壁的透水性,利于花粉孔的扩张。随着 pH 的升高,牡丹花粉萌发率有升高的趋势,这与张绍玲等的研究结果一致^[9]。当 pH 达到 7.5 时,花粉萌发率下降,这可能与花粉的物理性质有关。花粉外壁耐酸碱,内壁不耐酸碱,碱处理过高会造成花粉内壁溶解,浓度过低则对内壁软化效果不好,可见只有使用适宜的 pH 才能增加花粉粒的透水性,提高花粉萌发力。蔗糖可为植物生长及花粉萌发提供必需的碳源,同时也是重要的渗透调节物质。在一定浓度范围内,随着蔗糖浓度的增加花粉萌发率也随之增加,超过 100 g/L 后,花粉萌发率迅速下降,这与贾文庆等的结果一致^[2]。高浓度的蔗糖可能导致细胞脱水,影响花粉的萌发和花粉管伸长。

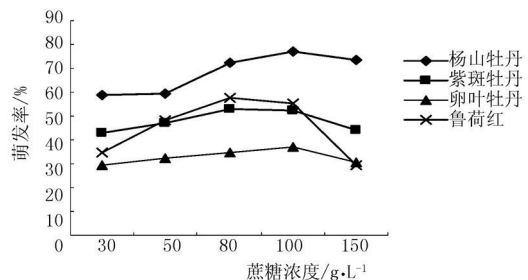


图4 蔗糖对牡丹花粉萌发力影响

参考文献

[1] 王莲英. 中国牡丹品种图志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997.
[2] 贾文庆, 刘宇, 李占明, 等. 牡丹花粉活力测定[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(17): 4294-4296.
[3] 韩丽, 张秀新, 王新建, 等. 牡丹花粉活力测定方法的研究[J]. 中国农学通报, 2008, 24(5): 379-382.
[4] 李宗艳, 万晓敏, 唐岱, 等. 黄牡丹花粉萌发特性的研究[J]. 浙江林学院学报, 2004, 21(3): 285-289.
[5] 王兵益, 王伟, 丁开宇. 滇牡丹花粉贮藏方法的探索[J]. 云南大学学报(植物学专辑), 2001, 23: 109-110.
[6] 蔡祖国, 毕忠松, 赵一鹏. 矮牡丹花粉萌发特性研究[J]. 广东农业科学, 2009(7): 56-58.
[7] 姚成义, 赵洁. 钙和硼对蓝猪儿草花粉萌发及花粉管生长的影响[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(1): 1-7.
[8] 汤红明, 徐东青, 徐根娣, 等. 植物花粉萌发的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(24): 6436-6438, 6440.
[9] 张绍玲, 陈迪新, 康琅, 等. 培养基组分及 pH 值对梨花花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 西北植物学报, 2005, 25(2): 225-230.

3 讨论

花粉离体培养需要选择适当的培养基, 包括足够量的矿物质及糖类组分和适宜的 pH。硼酸是花粉萌发所必需的, 当培养基中不存在硼酸时, 4 种花粉的萌发率都很低, 仅为 3% 左右。硼酸通过作用于质膜上的 Ca²⁺ 通道使 Ca²⁺ 进入细胞内, 从而使胞内游离的 Ca²⁺ 浓度增加, 而

Study of the Pollen Germination *in vitro* in Tree Peony

GAI Wei-ling¹, GAI Shu-peng²

(1. College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109; 2. College of Life Science, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Three wild tree peony species and one cultivar were used to establish a suitable pollen germination system in tree peony. The results showed that the culturing for 6 h in solid medium, the pollens germination rate was close to their maximum, which was feasible time to analysis the germination rate. The result showed that the optimal solid culture medium was boric acid 50 mg/L, sugar 100 g/L, pH 6.5~7.0.

Key words: tree peony; pollen germination; *in vitro*