

# 大花三色堇和三色堇花粉离体萌发的培养基研究

李春燕, 李清斌, 程 振, 于爱霞, 包满珠, 胡惠蓉

(华中农业大学 园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 湖北 武汉 430070)

**摘 要:**研究了不同浓度的蔗糖和硼酸对大花三色堇和三色堇花粉离体萌发的影响, 及大花三色堇不同自交系间花粉萌发的差异。结果表明:蔗糖对花粉离体萌发有着重要的影响, 不同蔗糖浓度下, 花粉萌发率有明显差异, 蔗糖浓度为 30% 和 35% 时, 大花三色堇和三色堇花粉离体萌发率分别达到最高; 添加适量的硼酸有利于离体花粉的萌发, 但不同硼酸浓度下, 花粉萌发率差异不大; 在同样的蔗糖和硼酸浓度下, 不同自交系的大花三色堇的花粉萌发率没有明显差异。

**关键词:**大花三色堇; 三色堇; 花粉离体萌发; 蔗糖; 硼酸

**中图分类号:**S 681.903.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)03-0054-03

大花三色堇(*Viola × wittrockiana* Gams.) 为堇菜科堇菜属多年生草本, 又名蝴蝶花、猫儿脸、鬼脸花等, 为园艺杂交种, 主要亲本有三色堇(*V. tricolor* L.)、黄堇(*V. lutea* Huds.) 及阿尔泰堇菜(*V. altica* Ker Gawl.) 等, 其品种繁多且色彩鲜艳, 花期长且耐寒, 有“花坛皇后”的美誉<sup>[1]</sup>。三色堇原产欧洲, 具有耐寒、早花、多花等优良性状, 为目前园林中广泛栽培应用的大花三色堇的主要杂交亲本之一。

在杂交制种过程中, 父本花粉的产量及质量是确定群体种植比例的主要依据之一<sup>[2]</sup>。所以研究花粉生活力状况, 对提高杂交育种效率有着较高的实际应用价值。王晓鹏等<sup>[3]</sup>采用 35% 蔗糖、200 mg/L 硼酸的液体培养基离体培养大花三色堇花粉, 其花粉萌发率为 56.88%~77.02%; 刘会超等<sup>[4]</sup>采用离体培养法对大花三色堇花粉生活力进行测定, 结果表明花粉萌发的最适培养基为: 20% 蔗糖+0.015% 硼酸, 萌发率达 35.04%。王健<sup>[5]</sup>对大花三色堇最优花粉萌发培养基的筛选结果表明, 在含 35% 蔗糖+NAA 5.0 mg/L 的培养基上花粉萌发率最高为 20%~25%。

该试验以自交多代的大花三色堇和三色堇为试材, 研究不同浓度的蔗糖和硼酸对花粉离体萌发的影响, 及

不同自交系间存在的差异, 为进一步的杂交育种提供可靠的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为高代自交系大花三色堇(*Viola × wittrockiana* Gams.) A、B、C、D 和原种三色堇(*Viola tricolor* L.), 均来自华中农业大学园艺林学学院园艺植物生物学教育部重点实验室。试材于 2009 年 9 月 9 日播种, 10 月 17 日定植于华中农业大学试验基地, 于 2010 年 4 月中旬盛花期上午 8:00~10:00 采集花粉进行萌发试验。

### 1.2 试验方法

选择晴天的上午 8:00~10:00 采摘花蕾放入封口袋内, 每一自交系取花蕾 20 个, 带回实验室。用镊子剥去花萼、花瓣, 取出花粉。然后将花粉均匀撒在凹槽载玻片上, 滴入配制好的培养基, 在 24℃ 恒温条件下光培养 6 h, 然后在 Nikon 光学显微镜下连续观察 3 个不重叠视野, 以花粉管伸长超过花粉纵径 1/2 视野为萌发<sup>[6]</sup>。每个视野花粉数>50, 每个自交系重复 3 次, 所求的花粉萌发率平均值经反正弦转换后采用 SAS 8.0 数据分析软件进行方差分析和多重比较。

### 1.3 试验设计

1.3.1 不同浓度的蔗糖对花粉萌发的影响 以大花三色堇 C 自交系和三色堇为材料, 培养基配方中蔗糖浓度设 0、20%、25%、30%、35%、40% 共 6 个水平, pH 6.0。

1.3.2 不同浓度的硼酸对花粉萌发的影响 在找出大花三色堇和三色堇各自最优蔗糖浓度的基础上, 硼酸浓度设 0、0.01%、0.02%、0.03%、0.04% 共 5 个水平, pH 6.0, 研究不同浓度的硼酸对花粉萌发的影响。

1.3.3 不同自交系大花三色堇花粉萌发的比较 在大花三色堇最佳蔗糖和硼酸浓度下, 比较 4 个不同自交系

**第一作者简介:**李春燕(1984-), 女, 在读硕士, 研究方向为园林植物遗传育种与生物技术。E-mail: chunyan-li1@163.com。

**通讯作者:**胡惠蓉(1970-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为园林植物栽培与生理生态。E-mail: huhuirong@mail.hzau.edu.cn。

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(30972020); 农业部 948 资助项目(No. 2003-Z36); 华中农业大学科技创新基金资助项目(2008XCX013); 华中农业大学博士科研启动费资助项目(52204-07025)。

**收稿日期:**2010-11-25

A、B、C、D的花粉萌发情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 蔗糖浓度对大花三色堇和三色堇花粉萌发的影响

由表1可知,不同蔗糖浓度间,花粉离体萌发率有显著差异。当蔗糖浓度为0时,大花三色堇和三色堇花粉萌发率为0,随着蔗糖浓度的增加,二者的花粉萌发率也随之增加,说明蔗糖可促进花粉的离体萌发。蔗糖浓

度为30%时,大花三色堇花粉的萌发率达到最大值,为4.16%;蔗糖浓度为35%时,三色堇花粉的萌发率达到最大值,为12.01%。之后,随着蔗糖浓度的增加,二者花粉的萌发率却逐渐降低,说明高浓度的蔗糖抑制了花粉萌发生长。由此可以得出,大花三色堇花粉离体萌发最适蔗糖浓度为30%,三色堇花粉离体萌发最适蔗糖浓度为35%。

表1 不同蔗糖浓度下大花三色堇和三色堇花粉萌发率

蔗糖浓度/%	0	20	25	30	35	40
大花三色堇	0.00±0.00c	2.33±1.25ab	2.52±0.29ab	4.16±1.82a	1.81±0.39bc	0.74±0.29bc
三色堇	0.00±0.00d	1.22±0.36cd	4.26±0.37bc	5.04±1.55b	12.01±0.48a	4.23±1.11bc

注:同一行中不同小写字母表示在0.05水平上存在显著差异。下同。

### 2.2 硼酸浓度对大花三色堇和三色堇花粉萌发的影响

大花三色堇在蔗糖浓度为30%、三色堇在蔗糖浓度为35%的基础上研究硼酸浓度对花粉萌发的影响。由表2可知,培养基中缺硼不利于花粉的萌发,花粉萌发率显

著低于其它处理水平,但是随着硼酸浓度的增加,花粉的萌发率呈现先上升后下降的趋势,但差异不显著,因此浓度为0.01%~0.04%的硼酸均有利于大花三色堇和三色堇花粉的萌发。

表2 不同硼酸浓度下大花三色堇和三色堇花粉萌发率

硼酸浓度/%	0	0.01	0.02	0.03	0.04
大花三色堇	4.16±1.82 b	8.12±1.12 a	8.19±1.38 a	7.22±0.73 a	6.58±2.10 a
三色堇	12.01±0.48 b	56.28±1.44 a	55.91±0.43 a	53.39±0.17 a	48.99±1.82 a

由表1、2还可看出,相同的离体培养基中,大花三色堇的花粉萌发率均比三色堇小。大花三色堇(6.9%)和三色堇(45.3%)的花粉萌发率存在显著差异。

### 2.3 大花三色堇不同自交系花粉萌发比较

该试验在30%蔗糖+0.02%硼酸的离体培养基上测定不同大花三色堇高代自交系的花粉萌发率。由图1可知,不同的大花三色堇自交系,其花粉萌发率是不相同的,但差异不显著。萌发率最高的是开紫色花的自交系D,其次是开黄色花的自交系C,而开白色花的自交系A和B均较低。

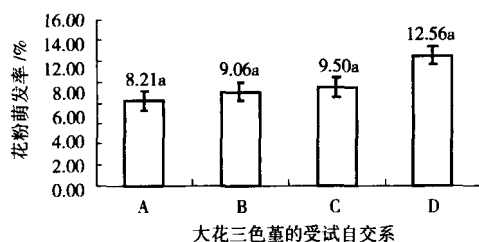


图1 大花三色堇不同自交系花粉萌发的比较

## 3 讨论

### 3.1 蔗糖浓度对花粉萌发的影响

Loverine认为,在花粉的萌发及花粉管的生长过程中,蔗糖既可以提供营养,提供花粉萌发的能量,也可以维持外界环境一定的渗透压,但是高浓度的蔗糖会改变花粉管细胞膜的透性,导致代谢物和离子泄露,反而对萌

发不利<sup>[7]</sup>。国内研究也表明,蔗糖对花粉的萌发有着重要的作用,在培养基中可以维持花粉与培养液之间的渗透平衡<sup>[8]</sup>。通过试验可知,大花三色堇和三色堇的花粉萌发受蔗糖浓度的影响很大,二者的花粉萌发率随蔗糖浓度的增加呈现先上升后下降的趋势。在蔗糖浓度为30%和35%时,大花三色堇和三色堇花粉萌发率分别达到最高。以后,随着蔗糖浓度的增加,花粉萌发受到抑制,但仍比不加蔗糖的萌发率高,这与百合<sup>[9]</sup>、唐菖蒲<sup>[10]</sup>、金娃娃萱草<sup>[11]</sup>一致。所以,大花三色堇和三色堇花粉离体萌发的最适蔗糖浓度分别为30%和35%。

### 3.2 硼酸浓度对花粉萌发的影响

目前的研究表明,硼酸对促进花粉萌发和花粉管伸长的作用机理是其能够增加花粉对糖的吸收、运转和代谢,形成糖硼酸复合体,增加氧的吸收,并促进构成花粉管膜的成分—果胶物的合成<sup>[12]</sup>。许多关于硼酸对花粉萌发的报道认为,一定浓度的硼酸促进花粉的萌发和花粉管的生长。吴开志等<sup>[13]</sup>提到,硼作为微量元素,是桃桃花粉萌发必需的一种营养物质,对花粉的萌发有显著的促进作用,硼酸的最适质量浓度为10~20 mg/L。赵宏波等<sup>[14]</sup>提到,硼酸对菊花花粉萌发率没有显著影响,但能显著提高花粉管的质量,花粉管长度适中、较直且粗。张春宇等<sup>[15]</sup>提到,硼酸浓度对球果堇菜的花粉萌发有着显著的影响,当浓度为15 mg/L时,花粉萌发率达到89.53%,当升至25 mg/L时,萌发率仅为11.80%。该试

验结果表明,含蔗糖的培养基中加入硼酸后大花三色堇和三色堇花粉的萌发率急剧上升,但是浓度 0.01%~0.04%的硼酸对花粉萌发率没有显著影响,但考虑到经济效益,二者花粉离体萌发最适硼酸浓度为 0.01%。

### 3.3 大花三色堇不同自交系及三色堇的花粉萌发比较

试验结果表明,大花三色堇和三色堇的花粉萌发率有显著的差异,可能是因为大花三色堇自交多代后较纯合,存在退化的问题,而三色堇属野生种,其抗性以及对环境的适应性较强,花粉保持了较高的活力。这与赵宏波等<sup>[14]</sup>提到的野生菊比栽培菊的花粉生活力强一致。大花三色堇的不同自交系的花粉在相同萌发条件下,其萌发率是不相同的,但是差异不显著。王健<sup>[5]</sup>选用 21 个品种或自交系测定了花粉萌发率,得出不同品种间是有明显差异的,并且开紫色花和黄色花的品种萌发率高于其它品种,这与该试验结果相一致。其中就有着很玄妙的规律,有艳丽花色的品种的花粉生活力和遗传力一般都较浅色花色品种强,这对物种的繁衍及在地球上的保存有着重要的意义。王晓鹏等<sup>[3]</sup>离体培养大花三色堇花粉萌发率为 56.88%~77.02%,远高于该试验数据。究其原因,一是不同品种的花粉萌发率是不同的,二是该研究采用的大花三色堇高代自交系存在退化的问题,而前者用的是园艺杂交种,花粉生活力显然比较旺盛。

影响花粉离体萌发的因素较多,该试验仅初步探讨了蔗糖和硼酸对大花三色堇和三色堇花粉离体萌发的影响,钙、聚乙二醇等其它因素对花粉离体萌发的影响还有待于深入研究。

### 参考文献

- [1] 张其生,包满珠,胡惠蓉,等. 大花三色堇育种研究进展[J]. 植物学报, 2010,45(1):128-133.
- [2] 程金水. 园林植物遗传育种学[M]. 北京:中国林业出版社,2000:128-140.
- [3] 王晓鹏,孙晓梅. 三色堇花粉生活力最佳测定方法的筛选[J]. 安徽农业科学,2008,36(7):2756-2769.
- [4] 刘会超,贾文庆,穆金艳. 三色堇花粉生活力测定及贮藏方法的研究[C]. 河南省细胞生物学学会第二届会员代表大会暨学术研讨会论文摘要集,2009:18.
- [5] 王健. 三色堇杂交育种、RAPD 标记辅助育种及组织培养的研究[D]. 武汉,华中农业大学,2005:31-33.
- [6] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2000:240-242.
- [7] Loverine P T, Peter K. Relationship between pollen germination and sucrose[J]. Ann Rev Plant Mol Biol,1997,48:461-491.
- [8] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2001:260.
- [9] 年玉欣,罗凤霞,张颖,等. 测定百合花粉生命力的液体培养基研究[J]. 园艺学报,2005,32(5):922-925.
- [10] 黄蓓丽,耿兴敏,胡凤荣,等. 唐菖蒲花粉离体萌发的液体培养基研究[J]. 安徽农业大学学报,2009,36(4):593-597.
- [11] 王玲,祝朋芳,毛洪玉. 不同培养基及不同贮藏条件对金娃娃萱草花粉生命力的影响[J]. 西北林学院学报,2009,24(3):95-97.
- [12] 曾襄. 果树生理学[M]. 北京:北京农业大学出版社,1992:172-173.
- [13] 吴开志,肖千文,廖运洪,等. 核桃花粉离体萌发的培养基研究[J]. 果树学报,2008,25(6):941-945.
- [14] 赵宏波,陈发棣,房伟民. 栽培小菊和几种菊属植物花粉离体萌发研究[J]. 南京农业大学学报,2005,28(2):22-27.
- [15] 张春宇,阮燕晖,孙晓梅. 球果堇菜花粉离体萌发的研究[J]. 辽宁农业科学,2007(3):38-39.

## Study on Culture Medium for *in vitro* Pollen Germination of *Viola × wittrockiana* Gams. and *Viola tricolor* L.

LI Chun-yan, LI Qing-bin, CHENG Zhen, YU Ai-xia, BAO Man-zhu, HU Hui-rong

(College of Horticulture and Forestry Sciences, Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070)

**Abstract:** Effects of different concentration of sucrose and boric acid on pollen germination *in vitro* of *Viola × wittrockiana* Gams. and *Viola tricolor* L. were studied and the difference of pollen germination of different inbred lines of Pansy. The results showed that sucrose on pollen germination *in vitro* had an important impact, with different concentrations of sucrose, the pollen germination rates were significantly different, When the sucrose concentration was 30%, the pollen germination rate *in vitro* of *Viola × wittrockiana* Gams. was highest, When the sucrose concentration was 35%, the pollen germination rate *in vitro* of *Viola tricolor* L. was highest; Adding the appropriate amount of boric acid was beneficial to the pollen germination *in vitro*, but with different concentrations of boric acid, there was little different in pollen germination rate; In the same germination condition, there were no significant difference in the pollen germination rate with different inbred lines of Pansy.

**Key words:** *Viola × wittrockiana* Gams.; *Viola tricolor* L.; pollen germination; sucrose; boric acid