

doi:10.11937/bfyy.20170166

不同培养条件对梨花粉萌发的影响

徐莹, 王然, 马春晖

(青岛农业大学 园艺学院, 山东 青岛 266109)

摘要:梨树属于异花授粉植物,生产中主要依靠人工授粉,为探索影响梨花粉萌发的因素。试验选择不同品种梨花粉,在不同温度、糖、pH、生理活性物质和抑制剂等条件下,对花粉的萌发状况进行试验观察。结果表明:外界条件对梨花粉萌发存在明显作用,梨花粉萌发和花粉管生长最适宜条件为 PEG 150 g · L⁻¹、蔗糖浓度 150 g · L⁻¹、甲酸钠 1 g · L⁻¹、果胶酶 0.1 mg · L⁻¹、pH 6.5、培养温度保持 25 ℃ 左右,在此条件下梨花粉的萌发率最高。

关键词:梨花粉;萌发;外界因素

中图分类号:S 661.201 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)18-0021-07

梨属于配子体型自交不亲和果树,大多数品种自花授粉不结实,需要异花授粉才能完成授粉受精^[1]。生产上主要通过配置授粉树来解决梨树授粉问题,但是,随着果园生态环境的破坏,如农药的大量使用,花期昆虫自然传粉受阻,加之花期遭遇低温、阴雨等不良天气,会严重影响梨树的正常授粉,继而使果实的品质和产量均下降,使果农遭受严重的损失。目前在梨树生产上主要靠人工授粉来完成授粉受精,花粉的质量和萌发条件对人工授粉效果十分关键,因此,如何选择和配置花粉是一项十分重要的工作。

为了解决这一生产重大难题,就必须采用人工辅助授粉。液体授粉不仅能够提高人工授粉的效率,而且能够增加果实的产量。在杂交育种和

生产过程中还存在花期不遇的问题,由于花期可能受到阴雨等不良天气的影响,导致授粉率降低造成果树减产,在这种情况下就必须进行人工授粉,确保果实的产量和品质,在生产上经常采用液体喷雾授粉的方式来提高人工授粉的效率,它具有授粉速度快、授粉准确、节省人力等优点。另外,随着梨树栽培环境的改变,如花期打药、气候异常、昆虫减少,传统的栽培模式受到挑战,利用自然授粉来进行梨树授粉的途径受到影响。因此,探索最适宜花粉萌发的外界环境条件,检测花粉生活力,以及高效人工授粉技术等,对梨树生产显得十分重要。一些研究发现,较低浓度的赤霉素、吲哚乙酸及 2,4-D 均能促进花粉萌发,萘乙酸对花粉萌发有抑制作用^[2]。花粉是植物的雄配子体,在有性生殖中具有不可替代的重要作用^[3],其生活力因植物种类的不同而存在巨大差异。对梨花粉萌发能力的强弱进行测定是人工授粉的基础性工作,已有很多研究报道梨花粉萌发率低是造成杂交坐果率低的重要原因之一。

该试验选择“雪花”“雪青”“荏梨”和“鸭梨”等的花粉为试材,在不同外界环境条件下,探索温度、pH、蔗糖、PEG、甲酸钠、糖种类和酶对梨花粉萌发的影响,以期为梨树人工授粉提供参考依据。

第一作者简介:徐莹(1988-),女,硕士研究生,研究方向为果树栽培生理。E-mail:xuying201512@163.com.

责任作者:马春晖(1966-),男,博士,副教授,研究方向为果树栽培生理。E-mail:machunhui2000@163.com.

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-29-07);山东省自然科学基金资助项目(ZR2014CL026);山东省重点研发资助项目(2015GNC110022)。

收稿日期:2017-06-02

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为“雪花”“荏梨”“雪青”和“鸭梨”等梨品种,于2016年4月12日取自于青岛农业大学胶州基地。采集铃铛期的花朵,用镊子去除花丝和花瓣后,将花药放置在室温25℃条件下开药,然后存放于一20℃冰箱中备用。

1.2 试验方法

1.2.1 花粉培养

采用液体培养法,准备好培养皿和载玻片,在培养皿的底部放入3张滤纸,倒入一定量的蒸馏水来维持花粉萌发所需的湿度,将载玻片置于培养皿中,用移液枪吸取一定量的液体培养基,

置于载玻片的凹槽中,用牙签挑取少量花粉,均匀的撒播在培养基上,每个品种3次重复,置于25℃恒温箱中,黑暗培养3h后,置于荧光显微镜下观察花粉,拍照,并统计其萌发率。花粉管的伸长长度大于或等于花粉粒的直径就视其为萌发^[4]。镜检时,每品种观察3个视野,且每视野 ≥ 50 粒花粉,统计萌发率。

1.2.2 试验设计

基本培养基组分^[2,5-6]略有不同,含10%蔗糖、0.03% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、0.02% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.01% KNO_3 和 0.01% H_3BO_3 ,调节pH 6.5左右。试验采用液体培养基,设计7个因素:温度、pH、蔗糖浓度、PEG、甲酸钠、糖种类和果胶酶,其中温度、pH、蔗糖浓度、PEG、甲酸钠各自设置5个处理(表1)。

表1

试验因素和水平

Table 1

Experimental factors and levels

处理 Treatment	试验因素 Test factor				
	温度 Temperature/℃	pH	蔗糖浓度 Sucrose concentration/(g · L ⁻¹)	PEG 浓度 PEG concentration/(g · L ⁻¹)	甲酸钠浓度 Sodium formate concentration/(g · L ⁻¹)
1	10	5.5	0	0	0
2	15	6.0	50	50	1.0
3	20	6.5	100	100	2.0
4	25	7.0	150	150	3.0
5	28	7.5	200	200	4.0

1.3 项目测定

花粉萌发率(%) = 萌发的花粉粒数/花粉粒总数 × 100。

1.4 数据分析

数据利用 Microsoft Office Excel 2010 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同温度对梨花粉萌发率的影响

由图1可知,4种梨品种花粉,在培养温度相同条件下,“雪花”品种梨花粉萌发率高于其它品种,但差异不显著。因此可以得知,培养温度对4种梨品种花粉的萌发率无实质的影响。当温度为10℃时,梨花粉不萌发。在15~25℃,梨花粉的萌发率随培养温度的升高而增加。当温度达到25℃

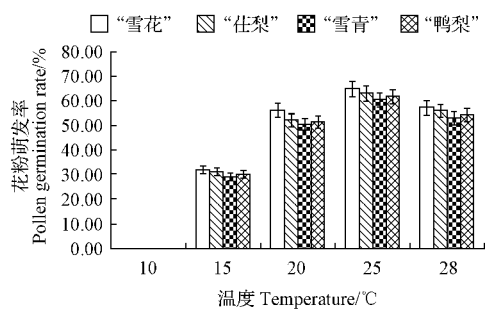


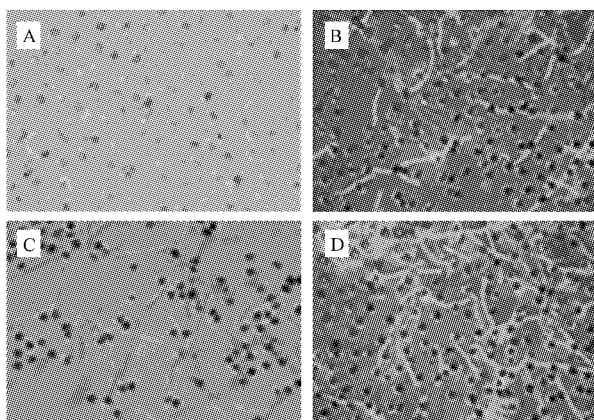
图1 温度对不同品种梨花粉萌发率的影响

Fig. 1 Effect of temperature on the quality of pollen germination rate

时,梨花粉的萌发率最高,约为64.78%。在25~28℃,梨花粉萌发率随温度的升高而降低。表明在15~25℃,温度对梨花粉的萌发具有促进作用,且25℃是梨花粉萌发的最适温度,当温度高

于 25 ℃, 梨花粉萌发受到抑制。在相同温度条件下, 品种之间花粉发芽率无明显差异。

由图 2 可以明显看出, 培养温度为 15 ℃ 时, 萌发的花粉很少, 当培养温度达到 25 ℃ 时, 视野中大多数的花粉已萌发出花粉管, 因此, 最适梨花粉萌发的温度为 25 ℃。当温度超过 25 ℃ 时, 梨花粉萌发率开始降低, 因此可得知, 温度过高会对梨花粉的萌发产生抑制作用。



注: A. 15 ℃; B. 20 ℃; C. 25 ℃; D. 28 ℃。

图 2 不同温度处理的梨花粉萌发状况

Fig. 2 Pollen germination of different temperature treatment

2.2 不同 pH 对梨花粉萌发率的影响

由图 3 可知, 培养基的 pH 对不同花粉的萌发率影响不大, 但对相同花粉的萌发率却有显著影响。在一定范围内, 花粉的萌发率随 pH 的增大而增加, 当 pH 为 6.5 时, 花粉的萌发率达到最大值, 为 52.5%。当 pH 大于 6.5 时, 梨花粉萌发率急剧下降, 在 pH 为 7.5 时梨花粉萌发率仅为 38.5%。表明梨花粉萌发的最适 pH 为 6.5, pH 过高或过低均会对花粉的萌发有影响。

由图 4 可以看出, 当 pH 为 5.5 时, 萌发的花粉很少, 当 pH 达到 6.5 时, 花粉的萌发达到最大值, 因此, 最适合花粉萌发的 pH 为 6.5。当 pH 超过 6.5 时, 花粉的萌发率开始降低, 因此可以得出, pH 的高低对花粉的萌发具一定的影响。

2.3 不同蔗糖浓度对梨花粉萌发的影响

由图 5 可知, 随着蔗糖浓度的增加, 同一品种间梨花粉萌发率逐步上升。当蔗糖浓度达到

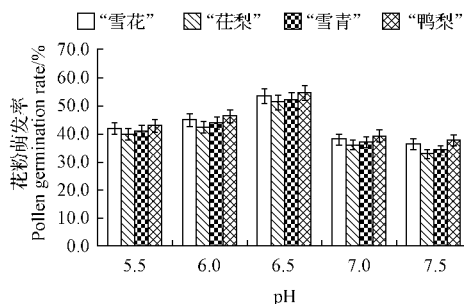
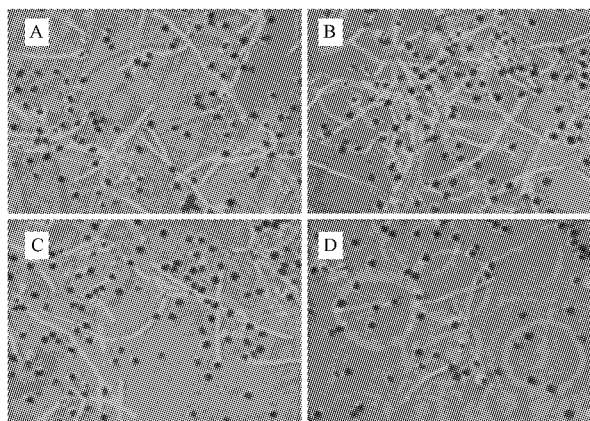


图 3 pH 对梨花粉萌发率的影响

Fig. 3 Effect of pH on pollen germination rate



注: A. pH 5.5; B. pH 6.0; C. pH 6.5; D. pH 7.0。

图 4 不同 pH 处理的梨花粉萌发状况

Fig. 4 Pollen germination of different pH treatment

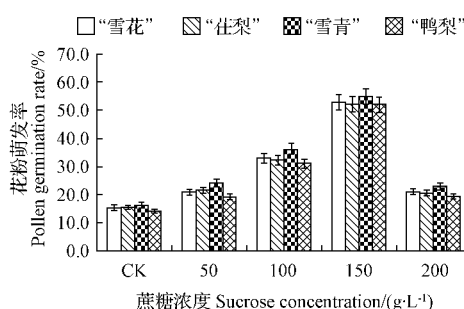


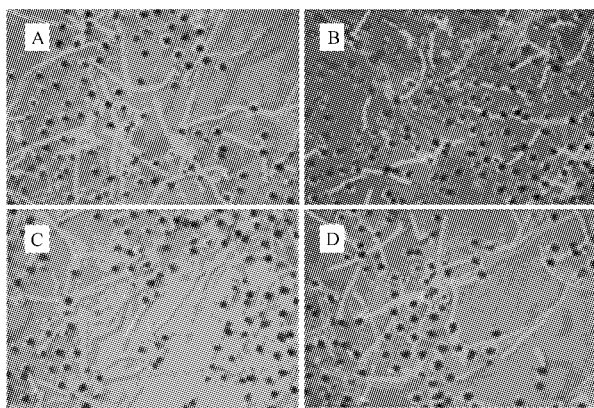
图 5 蔗糖对梨花粉萌发率的影响

Fig. 5 Effect of sucrose concentration on pollen germination rate

150 g · L⁻¹, 花粉的萌发率达到最大值, 为 52.1%, 是对照的 1.65 倍; 但浓度达 200 g · L⁻¹ 时, 便对梨花粉萌发有强烈的抑制作用, 梨花粉萌发率急剧下降为 20% 以下。表明梨花粉萌发的最适蔗

糖浓度为 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

由图 6 可以明显看出,培养液中蔗糖浓度为 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,萌发的花粉很少,因为此时花粉缺乏萌发所必需的营养物质,影响花粉的正常生长。当培养液中蔗糖浓度达到 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,视野中大多数的花粉粒已萌发出花粉管,因此,最适宜梨花粉萌发的蔗糖浓度为 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,此时蔗糖浓度既能够供给花粉正常萌发所需要的营养物质,又能营造一个适合花粉粒正常生长的渗透压。当蔗糖浓度超过 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,视野中萌发的花粉粒明显减少,因为此时由于培养液浓度过高会造成花粉细胞失水,从而影响花粉的正常萌发。



注:A~D.蔗糖浓度分别为 50、100、150、200 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note: A~D. Sucrose concentration is 50, 100, 150, 200 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

图 6 不同蔗糖浓度处理的梨花粉萌发状况

Fig. 6 Pollen germination of different concentrations of sucrose

2.4 不同 PEG 浓度对梨花粉萌发率的影响

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,提高膜的柔软程度和通透性,从而促进花粉的萌发和花粉管的伸长,在马铃薯等植物上曾有相似的报告^[7-8],由图 7 可知,在一定范围内,梨花粉的萌发率随 PEG 浓度的升高而增加,当 PEG 浓度为 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,4 种花粉的萌发率均达到最大值,约为 52.5%,当 PEG 浓度大于 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,花粉的萌发率随浓度的增加而降低。表明梨花粉萌发的最适 PEG 浓度为 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

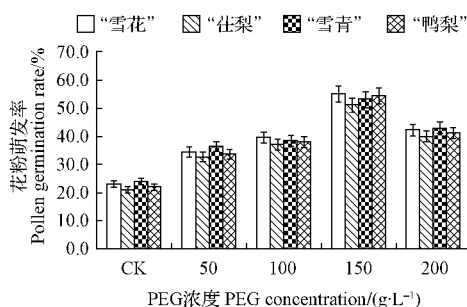
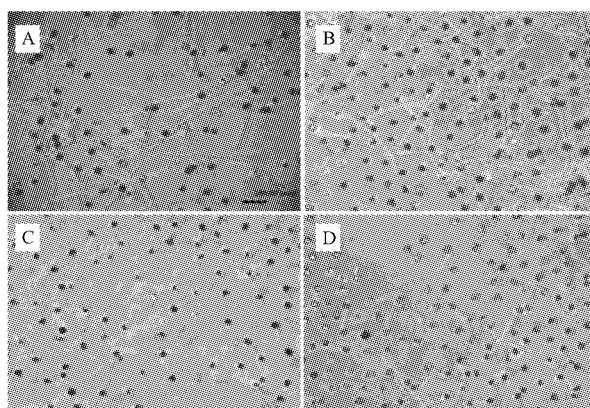


图 7 不同浓度 PEG 处理对梨花粉萌发率的影响

Fig. 7 Effect of PEG concentration on pollen germination rate

由图 8 可以看出,含 PEG 培养基中花粉的萌发明显高于对照的萌发,且当 PEG 的浓度为 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,花粉的萌发率达到最高,因此,梨花粉萌发的最适 PEG 浓度为 $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



注:A~D. PEG 浓度分别为 0、50、100、150 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note: A~D. PEG concentration is 0, 50, 100, 150 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

图 8 不同浓度 PEG 处理的梨花粉萌发状况

Fig. 8 Pollen germination of different concentrations of PEG

2.5 不同甲酸钠浓度对梨花粉萌发率的影响

由图 9 可知,随着甲酸钠浓度的升高,花粉的萌发率逐渐降低,当甲酸钠的浓度为 $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,“雪青”和“鸭梨”不萌发,“雪花”和“荏梨”的花粉萌发率约为 1%,当甲酸钠浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时萌发率较对照稍低,甲酸钠对“雪花”和“鸭梨”的抑制作用较明显,低浓度的甲酸钠能够促进疏花,减少劳动成本。表明最适合梨花粉萌发

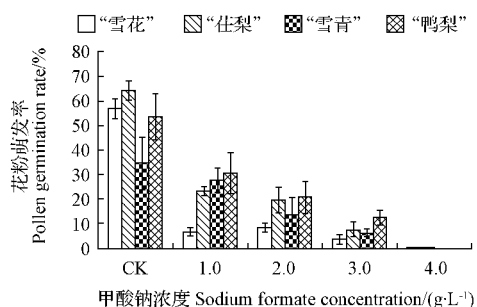
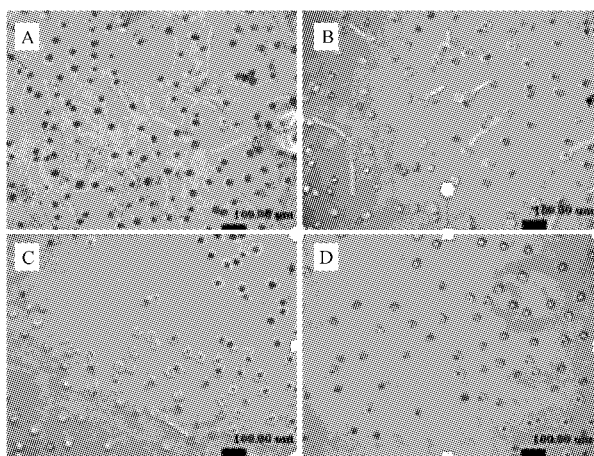


图 9 不同浓度甲酸钠处理对梨花粉萌发率的影响

Fig. 9 Effect of different concentration of sodium formate on pollen germination rate

的甲酸钠浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

从图 10 可以看出,甲酸钠浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,花粉的萌发率高于其它浓度,当甲酸钠浓度为 $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,花粉几乎不萌发。因此,在生产上,液体授粉时可加入 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甲酸钠,以便达到疏花的效果,节省人力。



注: A~D. 甲酸钠浓度分别为 $1.0, 2.0, 3.0, 4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note: A—D. Sodium formate concentration is $1.0, 2.0, 3.0, 4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

图 10 不同浓度甲酸钠处理的梨花粉萌发状况

Fig. 10 Pollen germination of different concentrations of sodium formate

2.6 不同糖种类对梨花粉萌发率的影响

从图 11 可以看出,在含糖的培养基中,4 种梨花粉的萌发率均低于 30%,蔗糖培养基的梨

花粉萌发率最高,大约为对照的 2.6 倍,葡萄糖约为对照的 1.8 倍,梨花粉的萌发率为蔗糖>葡萄糖>果糖,表明蔗糖更适于花粉的萌发。

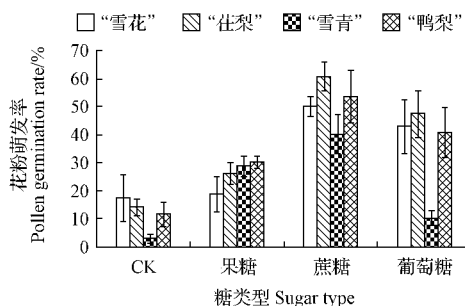
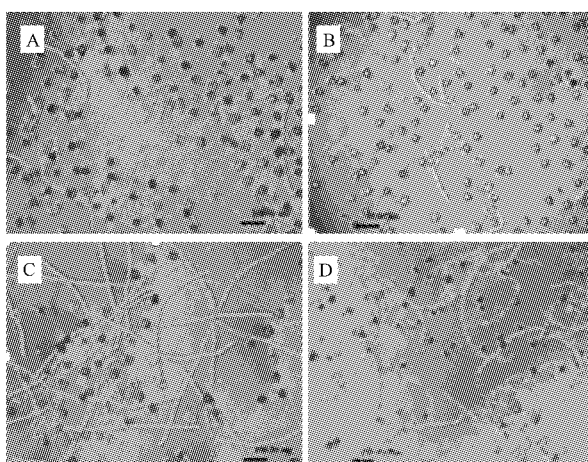


图 11 不同糖种类对梨花粉萌发率的影响

Fig. 11 Effect of different sucrose types on pollen germination rate

由图 12 可以看出,对照花粉的萌发粒数最少,萌发较多的是蔗糖和葡萄糖,果糖萌发的也相对较少,因此,蔗糖更适合花粉的萌发。



注: A. 对照; B. 果糖; C. 蔗糖; D. 葡萄糖。

Note: A. CK; B. Glucose; C. Fructose; D. Sucrose.

图 12 不同糖种类的梨花粉萌发状况

Fig. 12 Pollen germination of different sucrose types

2.7 果胶酶对梨花粉萌发率的影响

在培养基中加入 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的果胶酶,由图 13、14 可以看出,加入果胶酶的萌发率高于对照的萌发率,在这 4 种花粉中,“荏梨”萌发率稍高一些,所以,在液体授粉时,除了加入矿质元素外,还应加入少量的酶,以提高花粉的萌发率。

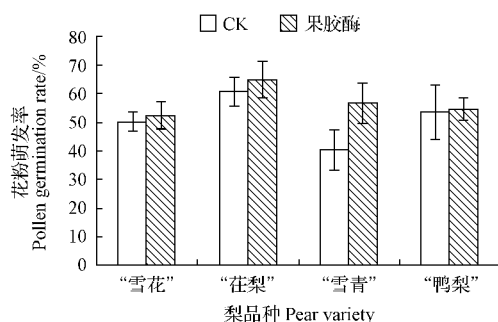
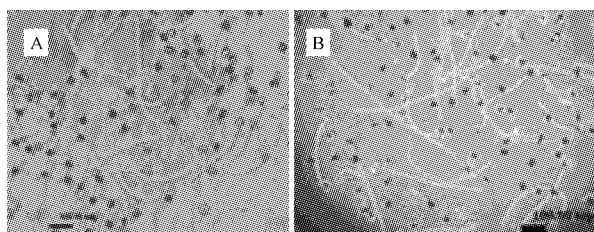


图 13 果胶酶处理对梨花粉萌发率的影响

Fig. 13 Effect of pectinase treatment on pollen germination rate



注: A. 对照; B. 果胶酶处理。

Note: A. CK; B. Pectinase.

图 14 果胶酶处理的梨花粉萌发状况

Fig. 14 Pollen germination of pectinase treatment

3 讨论与结论

试验表明,温度对梨花粉的萌发有较大的影响。梨花粉正常萌发的最低温度约为 15℃,当外界温度低于 15℃时,梨花粉极少萌发,甚至不萌发。当温度高于 25℃时,梨花粉萌发率开始降低。最适合梨花粉萌发的外界温度是 25℃。这与沈晓岚等^[9]研究相一致。由于春季外界温度变化较大,在生产上进行液体喷雾授粉时,应选择合适的天气进行,利于梨花粉完成正常的受精,尽可能达到梨花粉的最大萌发率,以提高坐果率,提高产量和增加品质。液体喷雾授粉由于授粉面积大,喷粉集中准确,能够有效节省人力,提高授粉效率等优点,得到越来越多的认可。配制喷粉液的同时,调节 pH 尤为重要。当培养基中含有适量的矿物质及蔗糖等组分和适宜的 pH 条件下,梨花粉才能正常萌发。一般适于梨花粉萌发的 pH 为 6.0~6.5,过酸过碱均会抑制梨花粉的萌

发。试验结果表明,梨花粉正常萌发的最适 pH 为 6.5。所以在配制喷粉液时,应调试其 pH 在 6.5 左右。蔗糖对梨花粉的萌发具有极其重要的作用,均会对花粉产生影响,其浓度过低时,蔗糖浓度过高或过低,花粉会因为外界液体浓度过低而失水萎缩。其浓度过高时,花粉会因外界环境过高而吸水涨破。蔗糖还可以为梨花粉的萌发生长提供营养物质。梨花粉萌发的最适蔗糖浓度为 150 g·L⁻¹,浓度过高或过低均会造成梨花粉萌发率降低,这与吴开志等^[10]、张绍铃等^[11]的研究结果较为一致。因此在配制喷粉液时,应保证蔗糖的浓度为 150 g·L⁻¹左右。PEG 是一种高分子渗透剂,能够提高梨花粉内膜的通透性,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^[12]。该试验指出,PEG 能够提高梨花粉萌发率,最适 PEG 浓度为 150 g·L⁻¹,因此,在液体授粉中,适量添加花粉生理活性物质,对提高授粉效果具有一定的作用。该试验的创新点是果胶酶和不同浓度甲酸钠处理,在培养基中加入果胶酶和甲酸钠,相关报道很少。甲酸钠是一种抑制剂,能够抑制花粉的萌发和花粉管的伸长,在培养基中加入的浓度不宜过高,当甲酸钠浓度达到 4.0 g·L⁻¹时,花粉几乎不萌发,当浓度为 1.0 g·L⁻¹时,为对照的 50% 以上,稍低于对照的萌发率,因此,配置培养基时,加入 1.0 g·L⁻¹的甲酸钠,能有效的控制花粉的萌发率,为以后的生产中疏花提供了有效方法,大大减少了劳动力,节约劳动成本。果胶酶是一种生理活性物质,在培养基中加入 0.1 mg·L⁻¹的果胶酶,萌发率高于对照,能有效提高花粉萌发率。该试验可为以后的花粉离体培养,为液体授粉技术提供参考依据。

参考文献

- [1] 徐国华,吴华清,张绍铃. 中国梨品种 S 基因型鉴定的初步研究[J]. 西北植物学报, 2004, 24(10): 1861-1865.
- [2] 张绍铃,高付永,陈迪新,等. 植物生长调节物质对丰水梨花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 西北植物学报, 2003, 23(4): 586-591.
- [3] 张振铭,胡化广,孟伟. 不同品种梨花粉萌发的研究[J]. 安徽农业科学, 2009(13): 5941-5942.
- [4] RODRIGUEZ-RIANO T, DAFNI A. A new procedure to

assess pollen viability[J]. Sexual Plant Reproduction, 2000, 12(4):241-244.

[5] 冯建文,邹养军,董军,等.‘嘎拉’苹果花粉萌发中培养基组分和培养条件优化[J].西北农业学报,2016(11):1643-1649.

[6] CHEN D,ZHANG S. Effects of polyamines and polyamine synthesis inhibitor on *in vitro* pollen germination and tube growth in pears[J]. Journal of Fruit Science, 2002, 19(6):377-380.

[7] ŘÍHOVÁ L, TUPÝ J. Optimization of conditions for *in vitro* pollen germination and tube growth in potatoes[J]. International Journal of Plant Sciences, 1996, 157(5):561-566.

[8] SHI D Q, YANG W C. Pollen germination and tube growth

[J]. Advances in Botanical Research, 1997, 48(1-3):1-52.

[9] 沈晓岚,王炜勇,俞信英.不同培养条件对凤梨花粉离体萌发的影响[J].浙江农业科学,2008(2):168-169.

[10] 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.

[11] 张绍铃,陈迪新,康琅,等.培养基组分及 pH 值对梨花粉萌发和花粉管伸长的影响[J].西北植物学报,2005,25(2):225-230.

[12] 吴旺泽,王蒂,王清,等.马铃薯脱外壁花粉的制备与人工萌发[J].园艺学报,2005,32(1):39-43.

Effects of Different Culture Conditions on Germination of Pear Pollen

XU Ying, WANG Ran, MA Chunhui

(College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Pear belongs to the cross-pollination plant, it mainly relies on artificial pollination in the production, to explore the influencing factors of pear pollen germination, this experiment selected different varieties of pear pollen, and the condition (sugar, pH, physiological active substances, and other conditions) of pollen germination in different temperature were observed. The results showed that the outside conditions obviously effected the germination of pear pollen, pear pollen germination and pollen tube growth was the most suitable conditions for $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ PEG, $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose, $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sodium formate, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ pectinase, pH 6.5, culture temperature kept at 25°C or so, under the condition, the pear pollen had the highest germination rate.

Keywords: pear (*Pyrus* spp.) pollen; germination; outside condition

农业部、财政部关于创建国家 现代农业产业园名单(第一批)的公示

信息广角

为贯彻落实中央农村工作会议、中央 1 号文件、《政府工作报告》、全国春季农业生产暨现代农业产业园建设工作会议精神和国务院领导同志指示,农业部、财政部启动了国家现代农业产业园申请创建和遴选评审工作,经过县(市、区)申请、省级推荐、实地核查、现场答辩等公开竞争选拔程序,并按程序报批后,现就遴选出的创建国家现代农业产业园名单(第一批)公示如下:

1. 四川省眉山市东坡区现代农业产业园; 2. 浙江省慈溪市现代农业产业园; 3. 黑龙江省五常市现代农业产业园; 4. 黑龙江省庆安县现代农业产业园; 5. 江苏省泗阳县现代农业产业园; 6. 浙江省诸暨市现代农业产业园; 7. 山东省金乡县现代农业产业园; 8. 江西省信丰县现代农业产业园; 9. 湖北省潜江市现代农业产业园; 10. 贵州省水城县现代农业产业园; 11. 广西壮族自治区横县现代农业产业园。

(摘自:农业部官网)