

文章编号: 1000-5692(2004)03-0285-05

黄牡丹花粉萌发特性的研究

李宗艳, 万晓敏, 唐岱, 王锦

(西南林学院 园林学院, 云南 昆明 650224)

摘要: 对黄牡丹的花粉萌发条件的研究结果表明: 4个黄牡丹居群花粉萌发所需pH值表现出两水平分化; 而对硼酸质量浓度的要求则差异不大, 为 $0.07\sim0.08\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; 4居群花粉萌发所需蔗糖质量浓度的差异较大, 表现出蔗糖质量浓度高低与黄牡丹垂直分布呈正相关, 高海拔分布的居群其花粉悬液萌发所需的蔗糖质量浓度达 $140.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。研究还表明在干燥低温($2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右)条件下, 黄牡丹花粉存活时间约为140 d, 较其变异类型存活时间长, 但其花粉萌发力则弱于其变异类型。图4表2参16

关键词: 植物学; 黄牡丹; 花粉; 萌发

中图分类号: Q944.42; S718.3 **文献标识码:** A

植物花粉萌发生物学特性是植物发育生物学领域研究的重要内容。花粉萌发条件、萌发能力的差异直接关系到植物有性繁殖能力及育种价值的评价。花粉粒的萌发是花粉粒吸水后, 体积增大, 内部膨压增加, 使花粉粒内壁沿萌发孔处向外突出, 形成花粉管的过程。花粉粒的萌发启动是一个较复杂的过程。经多种植物花粉的离体萌发研究表明: 花粉离体萌发的基本条件需要有糖源, 矿质元素(如外源 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 等)及硼酸的参与^[1~3]。糖是花粉粒萌发及花粉管壁合成的营养物质^[4]。一般植物花粉萌发的糖质量浓度为 $50\sim200\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; 花粉离体萌发对外源 Ca^{2+} 反应较敏感, Ca^{2+} 可能起胞内信使、调节细胞内酶的活性、促进细胞壁合成和调节细胞膨压等多方面的作用, 胞外 Ca^{2+} 具有调节花粉萌发和花粉管生长的作用^[5~6]。外源硼酸可以刺激花粉萌发和花粉管的伸长。一般硼酸质量浓度为 $0.01\sim0.15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[7]。在适宜的培养基中, 花粉粒萌发情况还受到花粉粒自身状况和环境条件(如温度、湿度)的影响^[8~10]。一般来说, 新鲜花粉粒萌发所需时间短, 萌发率较高; 若是经过干燥脱水的花粉粒, 由于花粉外内壁脱水后收缩, 萌发孔变小, 质地变硬, 导致花粉的透水性下降, 内壁吸水膨胀所需时间延长, 花粉萌发时间也较长, 萌发率可能也会下降。为了提高干燥花粉粒的透水性, 尽快恢复花粉内壁的膨压, 一般可以将花粉粒置于 $0\sim5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下水合处理 $0\sim24\text{ h}$, 但对于黄牡丹 *Paeonia lutea* 的花粉, 这一处理方法仍不能有效地改善花粉的透水性能。借鉴酸碱处理可以改善细胞壁透性的原理, 利用改变溶液的pH值来改善花粉内壁的透水性。从花粉粒的物理特性分析, 花粉外壁耐酸碱, 内壁不耐酸碱。酸碱处理浓度过高易造成花粉内壁溶解, 浓度过低则对内壁的软化效果不好, 花粉粒的透水性得不到改善。在适宜的pH值条件下, 花粉内壁质地会变软, 这可以增加花粉粒的透水性, 有利于花粉的萌发。在花粉粒的萌发过程中, 关于溶液pH值变化如何参与内壁物质新陈

收稿日期: 2003-11-14; 修回日期: 2004-04-29

基金项目: 云南省教育厅青年基金资助项目(0142472)

作者简介: 李宗艳(1974-), 女, 云南文山人, 讲师, 硕士, 从事园林植物教学和研究。E-mail: lizyan 74@yahoo.com.cn

代谢活动的机理, 目前尚不清楚。黄牡丹是产自我国西南的珍稀野生花卉, 花色珍稀, 植株抗性较强, 具有较高的种质资源保存和利用价值。作为原产地的云南省, 目前开展的黄牡丹的应用研究工作尚不多。本研究通过对黄牡丹及其变异类型的花粉萌发的生物学特性进行初探, 为黄牡丹花粉的生殖生物学研究、牡丹品种改良与育种操作、种质库保存及花粉的贮藏提供有关资料^[11]。

1 试验材料

实验材料来源于大理花甸、中甸那帕海、嵩明梁王山等地的4个不同的黄牡丹居群。居群1和居群2为黄牡丹, 居群3和居群4属于黄牡丹花变异类型。后2个居群的花形态变异(表1)兼有黄牡丹和狭叶牡丹 *Paeonia potaninii* 两者花的性状, 有人认为它们可能是黄牡丹和狭叶牡丹的杂种^[12]。居群1和居群4的分布海拔高度为2 400~2 600 m, 居群2和居群3的分布海拔为2 800~3 100 m。各居群牡丹的花形态如表1所列。当花初开时, 用镊子取出新鲜花药放入硫酸纸袋中, 放在通风干燥处阴干, 再将散出的花粉收集起来放入小瓶中, 置于2℃的冰箱中干燥低温保存^[13]。

2 试验方法

2.1 花粉可染性测定

用质量浓度为5 g·L⁻¹红四唑(TTC)对花粉进行染色测定^[14]。每一样品作4个制片, 每一制片观察5个视野, 根据花粉着色情况计算出花粉生活力的大小。

2.2 花粉萌发测定

花粉离体萌发方法有固体萌发和悬液萌发法。花粉萌发所需要的主要成分有糖、矿质元素和硼酸, 萌发还需适宜的pH值和温度条件。固体萌发基本培养基为9 g·L⁻¹琼脂+矿质元素(0.2 g·L⁻¹ KNO₃+0.1 g·L⁻¹MgSO₄+0.3 g·L⁻¹CaSO₄), pH值设为7.5~8.5之间, 分设7.0, 7.5, 7.8, 8.0, 8.3不同水平; 硼酸质量浓度设为0.05~0.10 g·L⁻¹, 每0.01 g·L⁻¹为一个梯度, 分0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10 g·L⁻¹6个水平; 蔗糖质量浓度设为60~150 g·L⁻¹, 每10 g·L⁻¹为一个梯度, 分10个水平, 每一样作3个重复。悬液萌发法参见[15]。基本培养基除琼脂外, 其余成分及萌发设计与固体萌发一致。萌发条件为(22±2)℃, 自然光照处理。花粉萌发的统计以花粉管长度超过花粉长度的2倍为准, 观察每一样品的15个视野, 统计萌发率, 并随机抽量30个花粉管的长度, 求平均值。

3 结果与讨论

3.1 萌发时间与冷藏的关系

花粉离体萌发所需时间长短与其萌发方式和冷藏处理有关。随着冷藏期的增加, 花粉萌发所需要的时间也会增加; 相同贮藏期的花粉萌发, 悬液萌发时间比固体萌发所需时间短。这主要是花粉粒在液体条件下恢复膨压所需要的时间大大缩短的缘故。黄牡丹新鲜花粉悬液萌发约为3~5 h, 固体萌发时间约为8 h(图1); 低温贮藏(2℃)30 d后, 悬液萌发所需时间为10~12 h, 固体萌发则需要17 h左右; 贮藏60 d左右, 悬液萌发时间为18 h左右, 固体萌发需要23 h左右; 贮藏90 d后, 悬液萌发时间为21 h左右, 固体萌发则需要28 h左右; 贮藏120 d后, 悬液萌发时间为24~26 h, 固体萌发则需要35 h左右(图1)。

表1 4个黄牡丹居群的花形态特征

Table 1 The morphological characters of four populations' flowers of *P. lutea*

类型	花的主要形态特征
居群1	花黄色, 花瓣基部有卵圆状深紫色斑块, 花丝淡黄色
居群2	花色纯黄, 花瓣基部无色斑, 花丝淡黄色
居群3	花黄色, 花瓣基部为卵圆形的紫红色斑块, 花丝红色
居群4	花黄色, 花瓣基部有红色狭长斑块, 花丝淡黄色

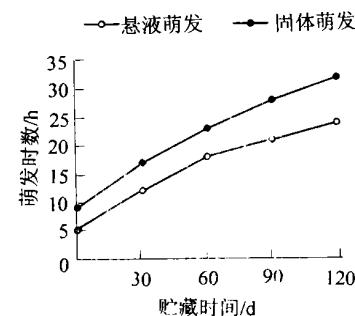


图1 冷藏对花粉萌发时间的影响

Figure 1 Effect of cold storage treatment on pollen germinating time

3.2 pH 值变化对花粉萌发的影响

黄牡丹花粉孢粉壁较厚, 花粉经干燥后仍保持良好的外观形态, 呈长椭圆形。在适宜的 pH 值溶解液中, 干燥花粉粒内壁经软化吸水膨大后呈现透明圆球形, 若 pH 值不适宜, 即使有适宜的蔗糖和硼酸浓度, 花粉粒内壁透水性不能很快恢复, 花粉粒仍长时间不萌发, 并可见它在溶液中形态仍为长椭圆形。实验结果表明, 4 个黄牡丹居群花粉萌发所需 pH 值分为 2 类: 花瓣无斑的居群 2 花粉粒萌发适宜的 pH 值为 7.5; 其余的 3 个居群的花粉粒萌发适宜的 pH 值为 8.3 (图 2)。在测试中有 2 个居群 (居群 1 和居群 2) 的花粉粒萌发对 pH 值高度敏感, 只有在适宜的条件下才会萌发; 只有居群 3 和居群 4 的花粉在 pH 8.0~8.3 之间都可萌发, 但花粉萌发率随 pH 值的变化而变化。在花粉贮藏 4 个月时进行萌发测试, 结果表明: 当 pH 8.3 时, 萌发率达最大, 居群 3 和居群 4 分别为 44.39% 和 39.39%; pH 8.0 时, 萌发率分别为 41.6% 和 14.85% (图 3)。pH 值对花粉萌发时间和萌发率的影响, 主要是通过调控花粉粒吸水过程实现的。而不同物种花粉内壁物质组成及结构的差异是决定其耐受 pH 值范围大小的关键。黄牡丹居群起源复杂, 遗传变异大, 植株具有多种表现型, 可能导致居群间花粉在物质组成和结构上差异大, 因而出现 pH 值的分化。黄牡丹变异类型居群 3 和居群 4 花粉粒萌发 pH 值范围变宽, 可能是黄牡丹变异类型花粉在物质组成和结构方面发生了很大的改变, 导致花粉内壁适宜的 pH 值范围增大, 表现出其花粉萌发对 pH 值的敏感度降低的现象。

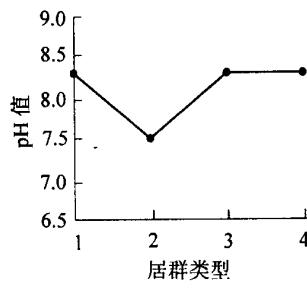


图 2 黄牡丹居群花粉萌发的适宜 pH 值

Figure 2 The proper pH value of pollen germination of *P. lutea* populations

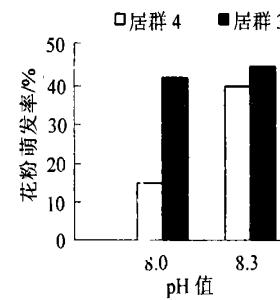


图 3 居群 3 和居群 4 花粉萌发率随 pH 值的变化

Figure 3 The pollen germinating rates of population 3 and 4 with pH value

3.3 蔗糖和硼酸质量浓度对花粉萌发的影响

4 个黄牡丹居群花粉萌发所需的蔗糖和硼酸质量浓度的实验结果表明: 4 个居群花粉萌发所需的蔗糖质量浓度差异较大。居群 2 和居群 3 花粉萌发所需要的蔗糖质量浓度最高, 为 $140 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 居群 1 所需质量浓度最小, 为 $80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 居群 4 为 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。从结果反映出一个变化趋势: 黄牡丹居群花粉萌发所需要的蔗糖质量浓度与居群的垂直分布有关, 高海拔分布的居群萌发时所需的蔗糖质量浓度较低海拔分布的要高些, 如那帕海居群花粉萌发的蔗糖质量浓度为 $140 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 较大理花甸居群高 $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 这可能是由于植株在高海拔地长期生长, 抗寒力提高后导致体内可溶性糖积累量增加有关。4 个居群花粉萌发所需要的硼酸质量浓度差异不大, 黄牡丹居群 2 和居群 3 萌发的硼酸质量浓度约为 $0.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 另 2 个居群所需的质量浓度为 $0.07 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.4 花粉萌发率与生活力

对贮藏 120 d 的花粉的离体萌发测试和生活力的测定 (表 2) 结果表明: 居群 1 和居群 2 的花粉生活力较高, 分别为 63.70% 和 62.86%, 但其花粉萌发率只有 30.85% 和 34.41%, 在所有的存活的花粉中只有 48.43% 和 54.74% 是具有萌发能力的。而居群 3 和居群 4 的花粉活力虽然不高, 分别为 56.54% 和 53.33%, 但它们比居群 1 和居群 2 的花粉有较高的萌发率, 在所有的存活花粉中有 78.51% 和 73.86% 的具有萌发能力。这也说明了低温干燥贮藏对居群 1 和居群 2 花粉萌发力影响较大, 尽管在此条件下它们的花粉能保证有一定的存活率。从内在因素分析, 植株结实率高低与其花粉的生活力, 尤其是与萌发力和受精力密切相关。结实率高的植株其花粉生活力一定高, 其萌发力和受

精力必强。关于黄牡丹的实际结籽率, 从黄牡丹的引种栽培情况来看, 居群1和居群2的植株结籽较少, 有的心皮不发育或发育不良; 而居群3和居群4的植株心皮发育较整齐, 每一心皮中约有2~3枚种子, 后者结籽率比前者高。这一事实也基本反映出其变异类型花粉萌发力和受精力较黄牡丹强。

表2 花粉在贮藏120 d时的萌发率

Table 2 The pollen germinating rate under 120 days storage

居群	pH值	悬液萌发配方	花粉萌发率/%	花粉活力/%	花粉管长度/ μm
1	8.3	80 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖+0.07 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸+矿质元素	30.85	63.70	481.23
2	7.5	140 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖+0.08 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸+矿质元素	34.41	62.86	589.59
3	8.3	140 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖+0.08 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸+矿质元素	44.39	56.54	681.89
4	8.3	100 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖+0.07 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸+矿质元素	39.39	53.33	585.39

3.5 花粉活力与贮藏时间的关系

分别在花粉冷藏30, 60, 90, 120和140 d时, 通过TTC染色测定其生活力变化。研究结果表明: 花粉活力随着贮藏时间的增加不断下降。各居群间花粉活力在贮藏90 d前差异小。

在贮藏30 d时, 花粉平均着色百分率为85%左右。贮藏60 d时, 活力百分比平均为80%左右。贮藏90 d时, 平均活力百分比为71%左右。在贮藏120 d后, 各居群花粉活力差异逐渐变大, 居群1和居群2的花粉活力百分比分别为63.70%和62.86%, 居群3和居群4分别为56.54%和53.33%。贮藏140 d时, 居群3和居群4的花粉生活力降至50%以下, 居群1和居群2的花粉生活力降为55.17%和53.92% (图4)。若用花粉生活力大于50%的时间段作为衡量花粉存活时间的标准^[4], 黄牡丹花粉存活力较其变异类型强, 在2℃左右的干燥冷藏条件下, 黄牡丹花粉存活时间约为140 d, 其变异类型花粉存活时间约为120 d。

4 结论

通过比较4个黄牡丹居群花粉离体萌发条件及其耐贮性的差异, 结果反映出: 有利于花粉离体萌发的硼酸质量浓度范围为0.07~0.08 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 居群间花粉萌发所需要的蔗糖质量浓度差异较大, 总体表现出蔗糖质量浓度大小与居群的分布海拔成正相关的趋势; 对于恢复干燥花粉内壁膨压有利的pH值, 黄牡丹的各居群间表现出较大的差异。居群1和2的花粉内壁对pH值高度敏感, 适宜范围小, 居群1的适宜pH值为8.3左右, 居群2适宜的pH值为7.5; 而黄牡丹变异类型居群3和居群4则有稍广的pH值适宜范围, 为8.0~8.3。4个居群花粉的耐贮性能存在一定的差异。在2℃干燥低温的短期贮藏条件下, 4个居群花粉活力下降较小, 居群间差异不大; 但在同条件的中期贮藏过程中, 黄牡丹花粉比其变异类型具有更强的保持活力的能力, 耐贮性能较好。

参考文献:

- [1] 姚成义, 赵洁. 钙和硼对蓝猪耳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.
- [2] 孙颖, 孙大林. 花粉萌发和花粉管生长发育的信号传导[J]. 植物学报, 2001, 43(12): 1211~1217.
- [3] 杨小冬, 孙素琴, 李一勤. 硼缺乏导致花粉管细胞壁多糖分布的改变[J]. 植物学报, 1999, 41(11): 1169~1176.
- [4] 张绍铃, 平国伸. 梨花柱与糖蛋白对离体花粉萌发及花粉管生成影响[J]. 园艺学报, 2000, 27(4): 251~256.
- [5] 关军锋, 马智宏, 张晓敏, 等. Ca^{2+} 与苹果花粉萌发和花粉管生长的关系[J]. 果树科学, 1999, (3): 176~179.
- [6] 范六民, 杨弘远, 周端. 外源 Ca^{2+} 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): 889~904.
- [7] 程金水. 园林植物遗传育种学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000.

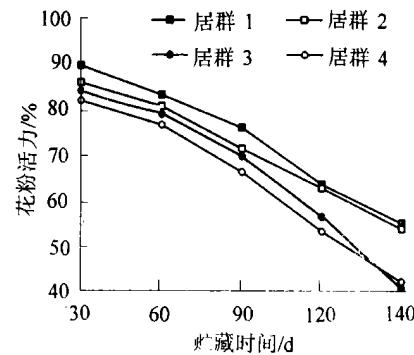


图4 花粉活力与贮藏时间的关系

Figure 4 The relations between pollen vitality and storage time

- [8] 周蕴薇, 杜平, 栾海燕, 等. 翠南报春生长及花粉发育特性的初步研究[J]. 林业勘查设计, 2002, (3): 56—57.
- [9] 潘晓芳, 秦彦梅. 黄皮花粉萌发研究[J]. 广西农业生物科学, 2001, (3): 182—185.
- [10] 曲复宁, 林涛, 王炳硕, 等. 苹果花粉贮藏和授粉能力测定[J]. 中国果树, 1997, (1): 3—5.
- [11] 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—373.
- [12] 李嘉珏. 中国牡丹与芍药[M]. 北京: 中国林业出版社, 1999.
- [13] 刘武林. 花粉的采集、贮藏和生活力的测定[J]. 植物学通报, 1985, 3(3): 8—12.
- [14] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [15] 胡适宜. 植物学实验方法(一) 花粉生活力的测定[J]. 植物学通报, 1993, 10(2): 60—62.
- [16] Kumar A, Chowdhury R K, Dahaiya O S. Pollen viability and stigma receptivity in relation to meteorological parameters in pearl millet [J]. *Saed Sci Technol*, 1995, 23: 147—156.

Study of pollen germination characteristic of *Paeonia lutea*

LI Zong-yan, WAN Xiao-min, TANG Dai, WANG Jing

(School of Landscape Architecture, Southwest Forestry College, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: The findings of the conditions for the pollen germination of *Paeonia lutea* showed that pH values needed by four different *Paeonia lutea* populations took on two level differentiation. There was no much difference among four samples in the concentrations of boric acids, which were about $0.07 \sim 0.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. There was significant difference in the concentrations of cane sugars in different samples. There was a positive correlation between the values of sugar concentrations and the altitudinal distribution. The concentration of sugar needed by the pollen germination of population in high altitudinal zone was $140 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. The study also showed that in the dry and low-temperature (about 2°C) conditions, the pollen of *Paeonia lutea* could survive for about 140 d, which was longer than its variation. However, its pollen germinability was lower than its variation. [Ch, 4 fig. 2 tab. 16 ref.]

Key words: botany; *Paeonia lutea*; pollen; germination