

# 四季报春花粉萌发特性研究

胡珂雪,张晓曼,郑云凤

(河北农业大学,河北 保定 071000)

**摘要:**以四季报春(*Primula obconica*)花粉为材料,通过研究硼酸( $H_3BO_4$ )、蔗糖、温度以及时间对四季报春花粉萌发特性的影响来探索四季报春花粉萌发的条件。结果表明,四季报春花粉萌发及花粉管生长所需硼酸最适浓度为0.05%~0.10%,蔗糖最适浓度为10%~15%,温度为25℃,且5 h内花粉萌发及生长速率最快。

**关键词:**四季报春;花粉;萌发率;花粉管生长

**中图分类号:**S682.15

**文献标志码:**A

**文章编号:**1001-7461(2017)02-0170-04

Characteristics of Pollen Germination of *Primula obconica*

**HU Ke-xue, ZHANG Xiao-man, ZHENG Yun-feng**

(Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China)

**Abstract:** *Primula obconica* pollen was used as material to explore the conditions of pollen germination through studying the effects of boric acid ( $H_3BO_4$ ), sucrose, temperature and time on the characteristics of pollen germination. The results showed that the most suitable concentrations of boric acid and sucrose on pollen germination and pollen tube growth were from 0.05% to 0.10% and from 10% to 15%, respectively, the most suitable storage temperature was 25℃, and the rates of pollen germination and growth were the fastest within five hours.

**Key words:** *Primula obconica*; pollen; germination rate; pollen tube growth

花粉活力的研究,对提高花粉在柱头上的萌发生长以及成功完成受精有重要意义,也能为杂交育种过程中选配优良授粉品种提供重要依据<sup>[1-2]</sup>,因此花粉活力是杂交成功的必要前提<sup>[3-4]</sup>。花粉离体萌发试验可以模拟柱头内花粉的萌发情况<sup>[5]</sup>,通过离体萌发来探索利于柱头上花粉萌发的环境条件,能够对杂交过程中产生的授粉受精不良情况起到改善作用,也对克服花期不育、建立人工授粉体系和确立育种技术具有重要意义。近年来,关于报春花属植物之间杂交的相关报道逐渐增多<sup>[6-8]</sup>,但对花粉萌发特性的研究甚少。四季报春(*Primula obconica*)花期长,花量大,花色多样,同藏报春、报春花、欧报春等均是观赏价值较高的园艺化品种,并广泛应用于园林中<sup>[9]</sup>。为了探索四季报春花粉在柱头内的最佳

萌发条件,提高四季报春与其他报春花之间杂交成功的几率,本试验以四季报春为材料,研究硼、蔗糖、温度以及时间对四季报春花粉萌发特性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验以购买的四季报春春曲系列的种子为材料,进行穴盘育苗,定植于直径为10 cm的圆形花盆中。

### 1.2 方法

1.2.1 花粉采集 于盛花期7:00—8:00采集含苞待放的花蕾,放入清水中,待花蕾开放,采集花粉进行试验。

1.2.2 试验处理 硼酸处理:以10%蔗糖和0.8%

琼脂为基本培养基,添加0.00%、0.05%、0.10%、0.15%、0.20%、0.25%的H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>,将采集的花粉用棉棒均匀地撒落在凹槽载玻片的固体培养基上,放置于铺有湿润滤纸的培养皿中,于恒温培养箱内25℃光照培养3 h。

蔗糖处理:以0.1%硼酸和0.8%琼脂为基本培养基,添加0%、5%、10%、15%、20%、25%的蔗糖,培养条件同上。

温度处理:以10%蔗糖、0.1%硼酸和0.8%琼脂为基本培养基,分别置于15℃、20℃、25℃、30℃和35℃的恒温培养箱内光照培养3 h。

时间处理:以10%蔗糖、0.1%硼酸和0.8%琼脂为基本培养基,置于25℃恒温培养箱内,分别光照培养1、2、3、4、5 h和6 h。

然后于光学显微镜下统计花粉的萌发数并测量花粉管的长度,计算花粉萌发率。每重复随机观察3个以上视野,每视野观察花粉粒数在40个以上,花粉管长度长于花粉粒直径视为花粉萌发,测定10根以上花粉管长度,每处理测量花粉管50根以上,3次重复。

$$\text{萌发率} = (\text{已萌发花粉数}/\text{花粉总数}) \times 100\%$$

1.2.3 数据分析 数据采用Excel进行处理,采用SPSS进行显著性分析及相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub> 对四季报春花粉萌发和花粉管生长的影响

不同浓度H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>对四季报春花粉萌发生长的影响表现为显著差异。由表1可知,H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>浓度在0.00%~0.10%之间,花粉萌发率随着H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>浓度的提高而呈上升趋势,并在0.10%时达到最高为24.59%,比对照组0.00%高出14.96%;H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>浓度在0.10%~0.20%之间,花粉萌发率随着H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>浓度的提高而呈迅速下降趋势,表明高浓度的H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>对花粉的萌发发挥了抑制作用。但是,花粉管长度在H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>浓度为0.05%时达到最高值,比对照组0.00%长出9.93 μm,表明H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>对四季报春花粉管生长的促进作用并不明显;在0.05%~0.20%之间,随着H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>浓度的升高而迅速降低,花粉管的生长受到显著抑制,表明高浓度的H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>对花粉管的伸长有明显抑制作用。H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>浓度达到0.25%时,花粉未萌发。研究表明,硼酸在0.05%~0.10%的浓度之间上能够最有效地促进四季报春花粉的萌发以及花粉管的生长。因此,有效促进四季报春花粉萌发生长的硼酸浓度在0.05%~0.10%之间。

表1 硼酸对四季报春花粉萌发和花粉管生长的影响

Table1 Effect of boric acid on pollen germination and pollen tube growth of *P. obconica*

硼酸浓度/%	花粉萌发率/%	花粉管长度/μm
0.00	9.94±0.77b	92.64±4.70a
0.05	19.86±3.95a	101.95±5.14a
0.10	24.59±1.95a	85.40±3.15a
0.15	15.81±1.45ab	41.19±2.47b
0.20	8.50±0.46bc	31.11±1.22b
0.25	0.00±0.00c	0.00±0.00c

注:表中数据为平均值±标准误差;同列相同字母表示0.05水平差异不显著,下同。

### 2.2 蔗糖对四季报春花粉萌发和花粉管生长的影响

不同浓度蔗糖对四季报春花粉萌发生长的影响差异显著。由表2可知,花粉萌发率在5%~10%的蔗糖之间逐渐提高,并在蔗糖浓度10%时达到最大值,比对照组0%高出13.29%,表明5%~10%的蔗糖浓度能够促进花粉的萌发;蔗糖浓度在10%~25%之间,萌发率逐渐下降,表明高浓度的蔗糖对花粉的萌发发挥抑制作用。花粉管长度在蔗糖浓度5%~20%之间呈迅速上升趋势,在20%时达到最高值,比对照组0%长出70.27 μm;浓度超出20%,花粉管长度出现缓慢降低现象。研究结果显示,能够有效促进四季报春花粉萌发生长的蔗糖最适浓度为10%~15%。

表2 蔗糖对四季报春花粉萌发和花粉管生长的影响

Table2 Effect of sucrose on pollen germination and pollen tube growth of *P. obconica*

蔗糖浓度/%	花粉萌发率/%	花粉管长度/μm
0	11.30±3.09bc	69.79±3.46d
5	13.19±0.95b	96.03±4.16cd
10	24.59±1.94a	111.66±5.50bc
15	14.46±1.81b	123.78±5.49ab
20	8.87±0.49bc	140.06±5.26a
25	4.41±0.52c	133.75±7.89ab

### 2.3 温度对四季报春花粉萌发和花粉管生长的影响

温度不同对四季报春花粉萌发生长的影响差异显著。由表3可知,花粉萌发率及花粉管长度在15~25℃之间均呈上升趋势,在25~35℃之间均呈下降趋势,并在25℃时达到最高值,在15℃及35℃时萌发率均为0%,花粉未萌发。由此可知,温度过高或者过低,均会抑制四季报春花粉的萌发。研究结果表明,四季报春花粉萌发生长的最适温度为25℃。

### 2.4 时间对四季报春花粉萌发和花粉管生长的影响

由表4可知,四季报春花粉萌发率及花粉管长度随着时间的递增而逐渐升高,培养1 h后,花粉未萌发;培养1~2 h,花粉萌发率迅速增加,呈上升趋势,并在2 h时,萌发上升速率达到最大值;培养时

间超过 2 h, 花粉萌发上升速率逐渐下降, 萌发率在 4 h 出现缓慢增加现象, 萌发率开始基本保持平稳状态。花粉管长度在培养 1~5 h 内迅速增加, 在 5 h 后花粉管的生长出现缓慢。

表 3 温度对四季报春花粉萌发和花粉管生长的影响

Table 3 Effect of temperature on pollen germination and pollen tube growth of *P. obconica*

温度/℃	花粉萌发率/%	花粉管长度/μm
15	0.00±0.00b	0.00±0.00b
20	17.30±2.04a	62.45±2.67a
25	24.59±1.95a	109.46±5.13a
30	20.29±1.63a	68.26±6.18a
35	0.00±0.00b	0.00±0.00b

表 4 时间对四季报春花粉萌发和花粉管生长的影响

Table 4 Effect of time on pollen germination and pollen tube growth of *P. obconica*

时间/h	花粉萌发率/%	花粉管长度/μm
1	0.00±0.00b	0.00±0.00d
2	16.65±2.61a	38.91±2.32cd
3	23.89±4.42a	60.47±3.58bc
4	25.59±0.98a	81.94±3.39ab
5	26.23±2.25a	115.37±8.15a
6	26.91±1.38a	121.93±11.70a

表 5 四季报春花粉萌发与培养条件指标间的相关系数

Table 5 Correlation coefficient of the pollen germination and culture condition indices of *P. obconica*

	硼酸浓度	蔗糖浓度	温度	时间
花粉萌发率	-0.231 (0.182)	-0.396** (0.009)	-0.146 (0.496)	0.753** (0.000)
花粉管长度	-0.664** (0.000)	0.534** (0.000)	-0.169 (0.070)	0.685** (0.000)

注: \*\* 表示指标间在 0.01 水平上显著相关; 括号中为显著性值。

## 2.5 各指标间相关性分析

由表 5 可以看出, 四季报春花粉萌发率和花粉管长度均与培养时间呈极显著正相关( $P<0.01$ ), 与硼酸浓度和温度均呈现负相关, 其中花粉管长度与硼酸浓度呈极显著负相关( $P>0.01$ ), 说明四季报春花粉离体培养时时间是最主要的因素, 而较高的硼酸浓度和温度对萌发可能产生不利影响。此外, 四季报春花粉萌发率与蔗糖浓度呈现极显著负相关, 花粉管长度与蔗糖浓度呈现极显著正相关, 表明花粉萌发和花粉管生长可能需要不同浓度的蔗糖, 高浓度的蔗糖不利于促进花粉的萌发, 但有利于促进花粉管的生长。

## 3 结论与讨论

植物体内, 硼作为营养型生长调节物质, 能促进糖的吸收与代谢<sup>[10]</sup>, 增加花粉细胞内游离钙离子浓度, 参与构成果胶物质, 且促进形成花粉管壁<sup>[11]</sup>, 从

而加快花粉的萌发生长, 促进授粉受精作用。目前, 大量研究结果证明, 一定浓度硼酸能够促进花粉的萌发生长<sup>[13]</sup>, 并且花粉萌发生长所需硼酸的浓度根据植物种类不同而有所差异, 如核桃<sup>[13]</sup>、萝卜<sup>[14]</sup>以及海州常山<sup>[15]</sup>的花粉萌发所需硼酸最适浓度分别为 0.001%、0.010%、0.020%。本试验表明, 在蔗糖条件下, 硼酸浓度在 0.05%~0.10% 之间能够有效促进四季报春花粉的萌发生长, 浓度过高会抑制花粉的萌发。相关性分析表明, 花粉萌发率与硼酸浓度呈现负相关, 而花粉管长度与硼酸浓度呈极显著负相关。

蔗糖的存在能够有效地促进花粉的萌发生长, 具体体现在: 蔗糖在花粉萌发生长过程中是主要营养物质, 蔗糖作为碳源可以为花粉代谢和跨膜运输提供能量, 蔗糖为培养环境提供合适的渗透压, 为花粉粒内外环境维持渗透平衡<sup>[16-17]</sup>。花粉的萌发生长状况根据蔗糖浓度的不同而有所差异, 蔗糖浓度在一定合理范围内能够促进花粉的萌发生长, 过高、过低浓度对花粉的萌发伸长均会产生抑制作用<sup>[14,16,18-19]</sup>。大量研究表明, 大多数植物花粉萌发所需蔗糖最适浓度为 10%~15%, 如肉苁蓉<sup>[18]</sup>、黄藤<sup>[19]</sup>、核桃<sup>[13]</sup>、桔梗<sup>[20]</sup>、桃<sup>[21]</sup>以及红山茶<sup>[22]</sup>等花粉萌发所需蔗糖浓度均在 10%~15% 之间。本试验表明, 在有硼的条件下, 蔗糖浓度在 10%~15% 之间, 能够有效促进四季报春花粉萌发生长, 符合大多数植物花粉萌发所需的蔗糖浓度, 相关性分析表明, 花粉萌发率与蔗糖浓度呈现极显著负相关, 而花粉管长度与蔗糖浓度呈现极显著正相关。

每种植物花粉只有在适宜温度和时间内才能进行更好的萌发和生长。本试验结果显示, 四季报春花粉萌发生长最佳培养条件是 25°C 下培养 5 h, 过高或者过低的温度以及过长或过短的时间均会阻碍花粉的萌发生长。相关性分析表明, 花粉萌发率和花粉管长度与温度均呈负相关, 花粉萌发率和花粉管长度与时间均呈极显著正相关。培养时间过长花粉管会逐渐破裂<sup>[15,20,22]</sup>, 本试验过程中未观察到, 多长时间之后花粉管开始破裂需进行下一步研究。

本试验探索了硼酸、蔗糖、温度及时间对四季报春花粉萌发的影响, 研究结果表明, 4 种因素均对花粉萌发和花粉管的生长均有一定的促进或抑制作用。经相关性分析后发现, 花粉萌发率和花粉管长度与时间均呈极显著正相关, 表明花粉离体培养时间是影响四季报春花粉萌发的最主要的因素。此外, 植物生长调节剂也对花粉萌发起到了促进作用, 但是是否对四季报春花粉萌发起到了促进作用, 需要进一步的试验研究。

## 参考文献:

- [1] 刘平,薛慧智,邹向阳,等.枣、酸枣授粉生物学基础研究[J].果树学报,2004,21(3):224-228.  
LIU P,XUE H Z,ZHOU X Y,*et al.* Study on the biological of pollination in Chinese jujube *Zizyphus jujuba* and wild jujube (*Z. spinosa*) [J]. Journal of Fruit Science, 2004, 21 (3) : 224-228. (in Chinese)
- [2] 姜雪婷,杜玉虎,张绍铃,等.梨43个品种花粉生活力及4种测定方法的比较[J].果树学报,2006,23(2):178-181.  
JIANG X T,DU Y H,ZHANG S L,*et al.* Pollen viability of 43 pear cultivars and comparison of testing methods[J]. Journal of Fruit Science, 2006, 23 (2) : 178-181. (in Chinese)
- [3] 谢深喜,罗先实,吴月嫦,等.GA<sub>3</sub>、2,4-D、B和蔗糖对梨花粉生活力及花粉生长速度的影响[J].果树学报,2004,21(4):289-294.  
XIE S X,LUO X S,WU Y C,*et al.* Pollen viability of asian pear and effect of PGR,B and sucrose on germination and pollen tube development[J]. Journal of Fruit Science, 2004, 21 (4) : 289-294. (in Chinese)
- [4] 刘燕,张亚利.梅花花粉超低温保存研究[J].北京林业大学学报,2004(Supp. 1):22-25.  
LIU Y,ZHANG Y L.Pollen cryopreservation of *Prunus mume* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2004(Supp. 1):22-25. (in Chinese)
- [5] 陈文涛,袁德义,张日清,等.硼及植物生长调节剂对枣花粉萌发的影响[J].江西农业大学学报,2013,35(3):496-501.  
CHEN W T,YUAN D Y,ZHANG R Q,*et al.* Effects of boric acid and plant growth regulators on pollen germination in *Zizyphus jujuba* Mill [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2013, 35 (3) : 496-501. (in Chinese)
- [6] 梁树乐.我国西南地区部分野生报春的引种与杂交育种研究[D].北京:北京林业大学,2006.
- [7] 刘晶.小报春杂交育种与制种技术[D].北京:北京林业大学,2014.
- [8] 唐星林,刘艳梅,潘会堂,等.小报春与岩生报春种间杂交亲和性研究[J].西北植物学报,2014,34(2):0270-0275.  
TANG X L,LIU Y M,PAN H T,*et al.* Intergeneric cross-compatibility between *Primula forbesii* and *Primula saxatilis* [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 34 (2) : 0270-0275. (in Chinese)
- [9] 梁树乐,张启翔.大理苍山报春花资源调查[J].莱阳农学院学报,2004,21(1):63-65.  
LIANG S L,ZHANG Q X. Investigation on resources of the *Primula* L. in the Cangshan Mountains of Dali [J]. Journal of Laiyang Agricultural College, 2004, 21 (1) : 63-65. (in Chinese)
- [10] 潘瑞炽.植物生理[M].北京:高等教育出版社,2001:31,260.
- [11] 郭光明,张福锁,尚忠林,等.硼对百合花粉萌发过程中细胞内游离钙离子的影响[J].中国农业大学学报,2002,7(5):32-37.  
GUO G M,ZHANG F S,SHANG Z L,*et al.* Effects of boron on cytosolic Ca<sup>2+</sup> in germinating pollen grain cells of *Lilium davidi* dutchartre [J]. Journal of China Agricultural University, 2002, 7 (5) : 32-37. (in Chinese)
- [12] 符碧.尿素和硼及生长调节剂对荔枝花粉萌发与生长的影响[J].云南师范大学学报:自然科学版,2001,21(3):62-65.
- [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.  
WU K Z,XIAO Q W,LIAO Y H,*et al.* Study on culture medium for walnut pollen germination *in vitro* [J]. Journal of Fruit Science, 2004, 21 (3) : 224-228. (in Chinese)
- [14] 赵艳玲,龚义勤,柳李旺,等.萝卜离体花粉萌发与花粉管生长影响因子研究[J].江苏农业科学,2007(1):88-91.
- [15] 林燕青,杨秀莲,王良桂.海州常山花粉活力测定及其萌发条件[J].东北林业大学学报,2015,43(5):93-122.  
LIN Y Q,YANG X L,WANG L G. Pollen activity determination and germination conditions of *Clerodendrum trichotomum* Thunb[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2015, 43 (5) : 93-122. (in Chinese)
- [16] 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生长的影响[J].西北植物学报,2005,25(2):225-230.  
ZHANG S L,CHEN D X,KANG L,*et al.* Effects of medium components and pH on pollen germination and tube growth in pear [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2005, 25 (2) : 225-230. (in Chinese)
- [17] 刘羸男,周丹,刘玮,等.不同培养基及贮藏条件对山梅花属植物花粉生活力的影响[J].东北林业大学学报,2011,39(12):47-79.  
LIU Y N,ZHOU D,LIU W,*et al.* Effects of different culture media and storage condition on pollen viability of *Philadelphus* [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2011, 39 (12) : 47-79. (in Chinese)
- [18] 牛东玲,宋玉霞,郭生虎,等.肉苁蓉花粉活力测定研究[J].中草药,2004,35(6):679-682.  
NIU D L,SONG Y X,GUO S H,*et al.* Studies on pollen viability of *Cistanche deserticola* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2004, 35 (6) : 679-682. (in Chinese)
- [19] 陈和明,尹光天,胡哲森,等.黄藤花粉萌发与低温贮藏研究[J].西北植物学报,2006,26(7):1395-1400.  
CHEN H M,YIN G T,HU Z S,*et al.* Germination and low-temperature storage of *Daemonorops margaritae* pollens [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26 (7) : 1395-1400. (in Chinese)
- [20] 刘自刚,呼天明,杨亚丽,等.桔梗花粉萌发与花粉管生长研究[J].植物研究,2011,31(3):271-276.  
LIU Z G,HU T M,YANG Y L,*et al.* Pollen germination and growth of *Platycodon grandiflorum* [J]. Bulletin of Botanical Research, 2011, 31 (3) : 271-276. (in Chinese)
- [21] 杜纪红,叶正文,苏明申,等.桃花粉离体萌发和花粉管生长特性研究[J].西北植物学报,2011,31(1):0064-0071.  
DU J H,YE Z W,SU M S,*et al.* Characteristics of pollen Germination and pollen tube growth of peach *in vitro* [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31 (1) : 0064-0071. (in Chinese)
- [22] 叶欣,谢云,茹华莎.浙江红山茶花粉萌发与贮藏特性研究[J].西北林学院学报,2016,31(1):103-106.  
YE X,XIE Y,RU H S. Pollen germination and storage of *Camellia chekiangoleosa* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2016, 31 (1) : 103-106. (in Chinese)
- [23] 康国斌,周凤珍,周利辉.西瓜两性花及其花粉的育性[J].北京农业科学,1996,14(3):37-39.