

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201602004

引文格式: 李佛莲, 徐海燕, 龚洵, 等. 山玉兰花粉离体萌发和花粉管生长特性的研究 [J]. 广西植物, 2017, 37(4):478-484

LI FL, XU HY, GONG X, et al. Characteristics of pollen germination and pollen tube growth of *Magnolia delavayi* [J]. Guihaia, 2017, 37(4):478-484

山玉兰花粉离体萌发和花粉管生长特性的研究

李佛莲^{1,2}, 徐海燕², 龚洵², 王仕玉^{1*}

(1. 云南农业大学 园林园艺学院, 昆明 650201; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650201)

摘要: 山玉兰 (*Magnolia delavayi*) 是木兰科木兰属的常绿乔木或大型灌木, 是重要的园林造景、庭院绿化素材, 也是重要的育种资源。山玉兰花粉的研究对其杂交育种的成败具有重要影响, 但目前尚未见其花粉活力的相关报道。该研究以新鲜的山玉兰花粉为对象, 采用悬滴培养法分析了温度、光照以及培养液的蔗糖和硼酸浓度对山玉兰花粉萌发的影响。结果表明: (1) 山玉兰花粉萌发时, 最适宜的温度为 27 ℃。(2) 光暗条件下, 山玉兰花粉以浓度为 5% 的蔗糖培养效果最佳, 其萌发率在 16% 以上; 而硼酸浓度则以 0.001% 的培养效果最佳。(3) 蔗糖与硼酸共同作用可有效促进花粉萌发和花粉管生长。其中, 在光照条件下, 以 5.0% 蔗糖 + 0.001% 硼酸为最适宜的培养液, 花粉萌发率达 41.27%, 花粉管长达 281.49 μm; 而在黑暗条件下, 则以 5.0% 蔗糖 + 0.01% 硼酸为最适宜的培养液, 花粉萌发率达 45.71%, 花粉管长达 254.00 μm。该研究结果为进一步开展人工辅助授粉、发掘山玉兰的种质资源工作奠定了基础。

关键词: 山玉兰, 悬滴法, 花粉萌发, 花粉管生长

中图分类号: Q945.34 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)04-0478-07

Characteristics of pollen germination and pollen tube growth of *Magnolia delavayi*

LI Fo-Lian^{1,2}, XU Hai-Yan², GONG Xun², WANG Shi-Yu^{1*}

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

Abstract: *Magnolia delavayi* (Magnoliaceae, *Magnolia*) distributed in Yunnan, southwestern Sichuan and Guizhou. As an evergreen arbor or large shrub plant, *M. delavayi* plays a significant role in garden landscaping and courtyard greening, and is also an important breeding resource. There were report on the pollen germination of *M. delavayi*, which was the key factor to the success of the hybrid breeding. To investigate the optimal cultured conditions of pollen germination and pollen tube growth of *M. delavayi*, the hanging drop method were used to culture fresh pollen grains of *M. delavayi* in liquid culture mediums with different concentrations of sucrose, boric acid under distinct temperature and lightness gradients. The results were as follows: (1) The most suitable temperature of *M. delavayi* was 27 ℃. (2) Under light and dark condition, the pollen germination rate of more than 16%, when the best concentration of sugar culture was 5% and the best concentration of boric acid was 0.001%. (3) Combined action sucrose and boric acid could be effectively promoted the pollen germination and pollen tube growth. The optimum liquid culture medium for pollen germination and pollen tube growth of *M. delavayi* contained 5% sucrose + 0.001% boric acid under light, in which pollen germination rate was 41.27% and the length of pollen tube was 281.49 μm; the appropriate nutrient liquid included 5% sucrose + 0.01% bo-

收稿日期: 2016-07-01 修回日期: 2016-08-03

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2015BAD10B02) [Supported by National Key Technology R & D Program of China(2015BAD10B02)]。

作者简介: 李佛莲 (1991-), 女, 云南楚雄人, 硕士研究生, 研究方向为野生植物资源保护与利用的研究, (E-mail) ml1519877975@163.com。

*通信作者: 王仕玉, 副教授, 研究方向为园艺植物种质资源教学与研究, (E-mail) wsyfg@aliyun.com。

ric acid with pollen germination rate reaching 45.71% and 254.00 μm of the pollen tube length under the dark condition. The results discovered in this study will be useful for further artificial breeding and exploring germplasm resources of *M. delavayi*.

Key words: *Magnolia delavayi*, hanging drop method, pollen germination, pollen tube growth

山玉兰 (*Magnolia delavayi*) 是木兰科木兰属的常绿乔木或者大型灌木, 分布于云南、四川和贵州的西南部等地, 喜生长于海拔 1 500~2 800 m 的石灰岩山地阔叶林或沟边潮湿的坡地, 具有较高的药用价值和观赏价值, 是珍贵的庭园观赏树种。目前, 对山玉兰的研究主要侧重于系统分类学 (龚洵等, 2003)、细胞学 (龚洵等, 1999) 和繁殖生物学。龚洵等 (1998) 的山玉兰传粉生物学研究报道了其开花过程、雌雄异熟及传粉昆虫, 发现山玉兰耐寒, 在原产地结实率低, 在栽培地 (昆明) 只开花不结果。

花粉品质的好坏和花粉育性直接影响到育种的成败, 花粉生活力是指花粉具有存活、生长、萌发或发育的能力 (Preston, 1991), 是判断花粉品质的重要依据, 对花粉生活力的检测是开展杂交育种工作的前提, 花粉萌发率和花粉管长度是鉴定花粉生活力的两个主要指标 (左丹丹等, 2007; 王钦丽等, 2002)。离体培养提供的花粉萌发条件与花粉在柱头上萌发的条件较为接近, 是目前检测花粉生活力的首选方法 (Stanley & Linskens, 1974; 胡适宜, 1993)。通过该方法已经得到了部分适宜各自地区的木兰科植物花粉离体萌发的培养基, 如河南新乡的广玉兰花粉为 2.0% 蔗糖 + 0.001% 硼酸 (何莉等, 2013)、河南郑州的广玉兰花粉为 15.0% 蔗糖 + 0.01% 硼酸 (刘艳萍等, 2013)、秦皇岛青龙的天女木兰花粉为 10.0% 蔗糖 + 0.1% 硼酸 (王子华等, 2008)、云南昆明的云南含笑花粉为 10.0% 蔗糖 + 0.01% 硼酸 (龚洵等, 2003)。由此可见, 不同地区不同种类的木兰科植物花粉萌发对培养基的要求不同, 目前未见山玉兰花粉萌发的报道。本研究采用悬滴法研究山玉兰花粉在不同蔗糖和硼酸浓度的培养基及不同温度和光暗条件下的萌发情况, 以期筛选出较适宜山玉兰花粉萌发和花粉管生长的培养条件, 为木兰科植物育种及栽培管理提供指导。

1 材料与方 法

1.1 花粉的采集

供试的山玉兰花粉采集于昆明植物园内生长健

壮的成年植株。由于山玉兰的花具有二次开合现象和雌蕊较雄蕊先熟的特点 (龚洵等, 1998), 故采集外轮花被片完全张开而内两轮花被片尚未完全张开的 花朵, 去除花被片, 将雄蕊散落在硫酸纸上, 置于室内干燥处, 待散粉后收集花粉, 放进有硅胶的自封袋中, 置于 -35 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中低温保存。

1.2 花粉离体培养的方法

以研究组多年得出的花粉离体萌发液体培养基 10.0% 蔗糖 + 0.01% 硼酸, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 的环境中培养山玉兰花粉, 花粉不萌发。将温度升至 27 $^{\circ}\text{C}$ 时, 山玉兰的花粉少数萌发, 因此本实验在 27 $^{\circ}\text{C}$ 中培养山玉兰花粉。具体步骤: 滴一滴培养液于盖玻片上, 加入少许花粉与培养液混匀, 凹玻片的凹槽周围涂上少量 50% 的甘油, 于凹槽上方倒转盖玻片, 利用甘油将二者吸引, 置于垫有两层湿润滤纸的培养盒, 分别放在 27 $^{\circ}\text{C}$ 恒温、湿度 50%~80% 的光照和黑暗两种环境的人工气候箱中培养。

1.3 花粉萌发率和花粉管长度的观测

花粉萌发以长出的花粉管长度大于花粉粒直径为标准 (胡适宜, 1993)。每个处理组合随机选取 5 个视野, 每个视野观察 50 粒以上的花粉萌发情况, 观察后花粉的萌发率取 5 个视野的平均。通过 LAS V4.2 软件测量花粉管长度, 测量的花粉管数不少于萌发数的 80%。

每个视野花粉萌发率 (%) = 视野萌发花粉数 / 视野全部花粉数 \times 100%

1.4 培养基组合设计

以培养基中的蔗糖和硼酸为因素, 参考部分木兰科植物的最适液体培养基设置如下浓度梯度: 蔗糖为 0、2.0%、5.0%、8.0%、10.0%、15.0%, 硼酸为 0.000、0.001%、0.010%、0.100%。进行如表 1 所示的培养基组合, 以蒸馏水作对照。分别于光照和黑暗条件下培养花粉, 每隔 2 h 用荧光显微镜 (Lecia DM5500 B) 观察花粉的萌发情况, 到不再萌发为止。

1.5 培养温度的实验

黑暗条件下, 采用 5.0% 蔗糖 + 0.01% 硼酸培养基分别于 22、25、27、28、30 $^{\circ}\text{C}$ 的温度条件下培养花粉, 于 8 h 时观察并记录花粉的萌发情况。

表 1 山玉兰花粉培养基组合

Table 1 Different treatment combinations of media for pollen of *Magnolia delavayi*

处理组合 Treatment combination	蔗糖浓度 Concentration of Sucrose (%)	硼酸浓度 Concentration of boric acid (%)	处理组合 Treatment combination	蔗糖浓度 Concentration of sucrose (%)	硼酸浓度 Concentration of boric acid (%)
1	0	0.000	13	8.0	0.000
2	0	0.001	14	8.0	0.001
3	0	0.010	15	8.0	0.010
4	0	0.100	16	8.0	0.100
5	2.0	0.000	17	10.0	0.000
6	2.0	0.001	18	10.0	0.001
7	2.0	0.010	19	10.0	0.010
8	2.0	0.100	20	10.0	0.100
9	5.0	0.000	21	15.0	0.000
10	5.0	0.001	22	15.0	0.001
11	5.0	0.010	23	15.0	0.010
12	5.0	0.100	24	15.0	0.100

1.6 数据处理

各处理均重复3次,数据采用SPSS软件进行方差分析和Duncan多重比较,用Excel软件作图。

2 结果与分析

2.1 蔗糖浓度对山玉兰花粉萌发的影响

2.1.1 山玉兰花粉在不同蔗糖浓度培养液中的萌发动态 观察发现,蒸馏水中的花粉,黑暗培养2 h时萌发快速,萌发率达到11.77%,之后萌发停止;而光照条件下花粉缓慢萌发至4 h后停止萌发。在仅含蔗糖的培养液中,除了光照下蔗糖浓度为15.0%中的花粉没有萌发外,其余蔗糖浓度下培养的花粉均有不同程度的萌发。其中,5.0%浓度的蔗糖培养的花粉萌发最快,且以黑暗更利于花粉萌发,2 h时萌发率达到16.75%,8 h时萌发率缓慢上升到20.5% (图1)。黑暗条件下浓度为15.0%的蔗糖悬滴液中的花粉萌发缓慢,花粉萌发持续到4 h时萌发率仅有3.29%,之后不再增加。光照条件下蔗糖浓度分别为2.0%、10.0%悬滴液培养的花粉萌发持续到4 h和6 h后停止,但萌发率均没超过7.00%。而光照条件下蔗糖浓度为8%和黑暗条件下浓度为2.0%、

8.0%、10.0%的悬滴液培养的花粉,在开始培养2 h内萌发较快,萌发率直线上升,但萌发持续至8 h后停止,萌发率分别为10.28%、13.48%、11.31%和9.46%。可见,低浓度的蔗糖有利于山玉兰花粉的萌发,且以黑暗条件下浓度为5.0%的蔗糖较为适宜。

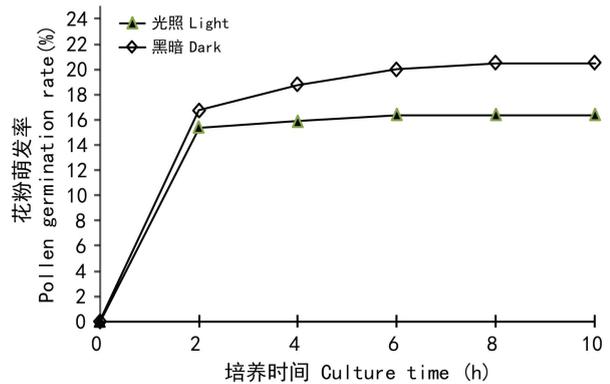


图 1 5%蔗糖培养液中山玉兰花粉萌发率的动态变化
Fig. 1 Dynamic change of pollen germination rate under 5% sugar concentration

2.1.2 蔗糖浓度对山玉兰花粉管生长的影响 观察发现,离体培养8~10 h,部分花粉管先端破裂,因此对山玉兰花粉管的观察以8 h较为适宜。不同浓度的蔗糖培养液培养8 h的山玉兰花粉管在光照条件下的生长长度略低于黑暗条件,但变化趋势一致。光照条件下,5.0%和8.0%蔗糖悬滴液中的花粉管生长较长,分别为112.99 μm 和124.57 μm ;而10.0%的花粉管生长最短,仅为59.11 μm 。黑暗条件,如图2所示,花粉管生长较好的也是5.0%和8.0%的蔗糖悬滴液,分别为148.31 μm 和122.10 μm ,方差分析二者之间无显著差异($P>0.05$)。但浓度为5.0%蔗糖培养的花粉管长度与10.0%、15.0%蔗糖悬滴液中的花粉管长度存在极显著差异($P<0.01$),与另两个浓度处理的花粉管长度差异显著($P<0.05$)。可见,10.0%以上高浓度的蔗糖对花粉管生长有一定的抑制作用,5.0%和8.0%浓度的蔗糖较适宜山玉兰花粉管生长。

2.2 硼酸对山玉兰花粉萌发的影响

2.2.1 山玉兰花粉在硼酸培养液中的萌发动态 仅含硼酸的培养液,在有无光照下培养的山玉兰花粉2 h内均开始萌发。其中,黑暗条件0.001%的硼酸悬滴液培养的花粉萌发最快,2 h萌发率达到

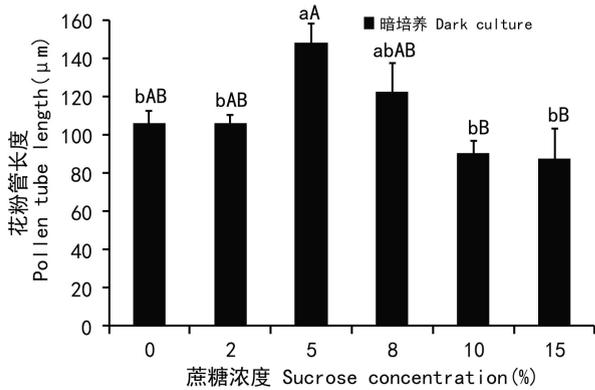


图2 黑暗条件不同浓度蔗糖培养8 h的山玉兰花粉管长度 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。下同。

Fig. 2 Pollen tube length of *M. delavayi* cultured for 8 h under different sugar concentrations in the dark Different small letters represent statistically significant differences ($P < 0.05$); different capital letters represent statistically highly significant differences ($P < 0.01$). The same as below.

生长。

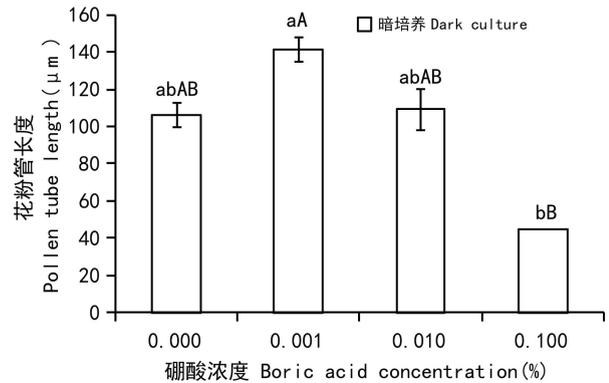


图3 不同浓度硼酸黑暗条件培养8 h的山玉兰花粉管长度

Fig. 3 Pollen tube length of *M. delavayi* cultured for 8 h under different boric acid concentration in the dark

16.12%,并持续缓慢增加至4 h后停止萌发,萌发率为17.04%;其次是蒸馏水和浓度为0.01%的硼酸悬滴液以及光照条件浓度为0.001%的硼酸悬滴液培养的花粉萌发较快,除蒸馏水对照的花粉培养2 h后萌发停止,另外两个处理的花粉持续萌发至4 h停止。光照下蒸馏水培养的花粉培养4 h也停止萌发。而0.1%的硼酸悬滴液培养的花粉萌发率较低,光照和黑暗下分别为2.00%和2.67%;光照下0.01%浓度的硼酸培养的花粉,花粉萌发率为3.94%,均在培养2 h后萌发停止。可见,高浓度的硼酸对山玉兰花粉萌发亦有一定的抑制作用。

2.2.2 硼酸浓度对山玉兰花粉管生长的影响 山玉兰花粉在仅含硼酸的悬滴液中培养8 h,光照条件下的花粉管生长与黑暗条件下的变化一致。光照条件下,浓度为0.01%的硼酸培养的生长最长,达116.26 μm,而浓度为0.1%中的花粉管最短为62.50 μm。黑暗条件如图3所示,浓度为0.001%的硼酸培养的花粉管最长,为141.26 μm;当硼酸浓度扩大十倍时,花粉管长度为109.15 μm,与0.001%的硼酸培养的花粉管生长长度无显著差异($P > 0.05$);浓度增至0.1%时,花粉管生长受抑制,仅为45.00 μm,方差分析表明该浓度下的花粉管长度与其他浓度培养的花粉管长度存在极显著差异($P < 0.01$)。可见,浓度为0.001%和0.01%的硼酸均适宜山玉兰花粉管的

2.3 蔗糖和硼酸组合对山玉兰花粉萌发的影响

对表1的24个处理组合在光照和黑暗条件下培养8 h的花粉萌发率和花粉管长度进行分析,结果如表2所示。光暗条件下,在同一浓度的蔗糖中,硼酸浓度增加到0.001%或0.01%,花粉萌发率和花粉管生长均呈现上升趋势,当硼酸浓度增加到0.1%时,二者明显下降。硼酸浓度一定,光暗条件下,随蔗糖浓度的增加,花粉萌发率和花粉管长度均呈现先快速增加后下降的变化。方差分析结果表明,蔗糖和硼酸混合培养液对山玉兰花粉的萌发影响为光照条件下,花粉萌发率最高是处理组合11(5.0%蔗糖+0.01%硼酸),为42.2%,花粉管均长为226.33 μm;其次是处理组合10(5.0%蔗糖+0.001%硼酸),为41.28%,但其培养的花粉管生长最长,平均为281.49 μm。二者与处理组合12、15中的花粉萌发率无显著差异($P > 0.05$),显著高于处理组合16($P < 0.05$),极显著高于其余处理组合($P < 0.01$);二者的花粉管长度与处理组合12的无显著差异($P > 0.05$),但显著长于处理组合15($P < 0.05$),极显著长于其他处理组合($P < 0.01$)。黑暗条件下,处理组合11(5.0%蔗糖+0.01%硼酸)中的花粉萌发率达到45.71%,极显著地高于其他处理组合中的花粉萌发率($P < 0.01$);同时,培养的花粉管生长达到254.00 μm,与处理组合10中培养生长的花粉管长度差异不显著($P > 0.05$),但显著和极显著长于其余处理组合。由此可见,5.0%蔗糖+0.001%硼酸在光照条件下更适宜山玉兰花粉萌发和花粉管生长;而黑暗

表 2 光暗条件不同培养基培养 8 h 的山玉兰花粉萌发率和花粉管长度
Table 2 Pollen germination rate and pollen tube length of *M. delavayi* under different sugar and boric acid concentrations cultured for 8 h under light and dark conditions

处理组合 Treatment combination	花粉萌发率 Pollen germination rate (%)		花粉管长度 Pollen tube length (μm)	
	光培养 Light culture	暗培养 Dark culture	光培养 Light culture	暗培养 Dark culture
1	6.47 ± 1.10efghEF	11.77 ± 1.87cdefgCDEF	88.82 ± 3.96 efDEF	105.87 ± 6.51 cdefBCD
2	10.55 ± 2.95efghDEF	17.04 ± 1.06 bcdefBCDE	68.21 ± 4.38 efEFG	141.26 ± 6.22 bcdeBC
3	3.94 ± 1.73 fgEF	11.17 ± 1.92cdefghCDEF	116.25 ± 15.94 deCDE	109.15 ± 11.00cdefBCD
4	2.67 ± 1.76 gh EF	2.00 ± 1.15 gh F	62.50 ± 3.23 efgEFG	45.00 ± 0.00 fgDE
5	5.61 ± 1.09 efgh EF	11.83 ± 1.77 cdefgCDEF	109.90 ± 9.96 deCDEF	106.04 ± 4.21 cdefBCD
6	14.77 ± 4.08 defCDEF	27.99 ± 3.75 b B	125.51 ± 7.16 cde CDE	156.96 ± 8.88 bcdBC
7	22.73 ± 2.94 cdBCD	19.47 ± 4.1 bcdeBCD	119.53 ± 4.56 cde CDE	173.43 ± 9.96 bcABC
8	13.40 ± 1.8 defgDEF	11.93 ± 2.72cdefghCDEF	185.12 ± 8.53 bc BC	131.38 ± 7.50 bcdeBCD
9	16.36 ± 0.68 deCDE	20.50 ± 3.57 bcd BCD	112.99 ± 13.65de CDE	148.31 ± 9.71bcde BC
10	41.28 ± 3.54 a A	26.83 ± 1.83 b B	281.49 ± 13.90 a A	199.41 ± 16.96 ab AB
11	42.20 ± 6.47 a A	45.71 ± 6.14 a A	226.33 ± 14.00ab AB	254.00 ± 14.85 a A
12	36.75 ± 5.82 ab A	6.14 ± 1.25 fgh DEF	226.47 ± 8.43 ab AB	127.33 ± 15.64cde BCD
13	10.28 ± 2.76efghDEF	11.31 ± 0.79cdefghCDEF	124.57 ± 14.80cdeCDE	122.10 ± 15.07 cdeBCD
14	10.77 ± 1.83efghDEF	22.28 ± 1.94 bcBC	123.08 ± 13.98cdeCDE	126.72 ± 9.83 cdeBCD
15	32.11 ± 2.78 abcAB	27.14 ± 5.17 bB	213.05 ± 10.56 bAB	173.05 ± 15.71 bcABC
16	28.11 ± 6.50 bcABC	8.27 ± 2.44 efghCDEF	118.50 ± 8.38 cdeCDE	82.50 ± 20.16 efCD
17	6.67 ± 1.10 efghEF	9.46 ± 1.81 defghCDE	59.11 ± 3.68 efgEFG	90.73 ± 6.11 defCD
18	9.58 ± 0.42 efghDEF	18.67 ± 2.90 bcdeBCD	94.55 ± 8.60 eDEF	119.69 ± 13.10cde BCD
19	8.00 ± 2.26 efghDEF	10.33 ± 2.33 defghCDEF	175.43 ± 21.3bcdBCD	176.63 ± 15.98 bcABC
20	3.33 ± 0.91 fghEF	2.38 ± 0.36 ghEF	91.81 ± 11.60 eDEF	126.14 ± 8.62 cdeBCD
21	0.00 ± 0.00 hF	3.29 ± 0.31 gh EF	0.00 ± 0.00 gG	87.50 ± 15.68 def CD
22	0.00 ± 0.00 hF	8.16 ± 0.96 efgh CDEF	0.00 ± 0.00 gG	86.25 ± 7.37 def CD
23	0.33 ± 0.33 hF	0.67 ± 0.41 gh F	25.00 ± 25.00 fg FG	93.33 ± 47.02 def CD
24	0.00 ± 0.00 hF	0.00 ± 0.00 gh F	0.00 ± 0.00 g G	0.00 ± 0.00 g E

条件下较适宜的培养基为 5.0%蔗糖 + 0.01%硼酸。同时,相关性分析得到光暗条件下山玉兰花粉萌发率和花粉管的生长长度的相关系数分别为 0.84 和 0.83,均大于 0.515,即二者呈极显著的正相关关系。

2.4 温度对山玉兰花粉萌发的影响

山玉兰花粉在 5.0%蔗糖 + 0.01%硼酸培养液于黑暗条件下不同温度中培养 8 h 的花粉萌发率和花粉管长度如图 4 所示。温度从 22 °C 升至 27 °C 时,花粉快速萌发,萌发率直线上升,27 °C 时达到最

高,为 45.67%;超过 27 °C,花粉萌发受到抑制,萌发率直线下降。30 °C 时,花粉萌发最少,仅有 2.94%。方差分析显示,25 °C 和 27 °C 的花粉萌发率差异不显著 ($P>0.05$),但与 28 °C 和 30 °C 的花粉萌发率均存在极显著差异 ($P<0.01$)。22~25 °C 的花粉管缓慢增长,二者间差异不显著 ($P>0.05$)。27 °C 时花粉管快速生长,且长度最长为 254.13 μm ,之后花粉管的生长随温度升高而被逐步抑制,30 °C 时花粉管仅有 49.82 μm 。方差分析表明,27 °C 时花粉管长度极

显著高于其它温度下的花粉管长度($P < 0.01$)。因此,最适宜山玉兰花粉的萌发和花粉管生长的温度是 27 °C。

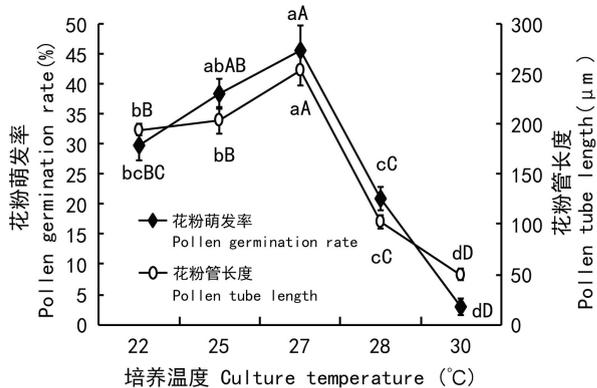


图 4 不同温度下山玉兰花粉的萌发率和花粉管长度
Fig. 4 Pollen germination rate and pollen tube length of *Magnolia delavayi* at different temperatures

3 讨论与结论

蔗糖和硼酸是培养花粉离体萌发的基础,蔗糖为花粉萌发和花粉管形成提供必需的碳源和能量,调节花粉粒内外渗透压平衡(Fei & Nelson, 2003)。蔗糖浓度的高低对花粉离体萌发有着重要的影响,在山玉兰花粉离体萌发实验中,当培养液的蔗糖浓度在 0~5.0% 的范围内,花粉萌发率和花粉管生长的长度随着蔗糖浓度的升高而增加;当蔗糖浓度在 5.0%~15.0% 的范围内,花粉萌发率和花粉管生长的长度随着蔗糖浓度的升高反而降低,结果表明,山玉兰花粉萌发的最佳蔗糖浓度 5.0%,且培养液的蔗糖浓度高于 5.0% 时会抑制花粉萌发和花粉管生长。周坚和樊汝汶(1994)报道的鹅掌楸和北美鹅掌楸花粉离体萌发的最适蔗糖浓度也为 5.0%,但天女木兰(王子华等,2008)、云南含笑(龚洵等,2003)花粉离体萌发最适的蔗糖浓度为 10.0%,灰木莲(招礼军等,2014)花粉离体萌发最适的蔗糖浓度为 15.0%。可见,不同植物的花粉离体萌发适宜的蔗糖浓度不同,这可能与不同植物花粉的花粉壁对蔗糖浓度形成的渗透压的适应能力不同有关。

早在 1993 年 Matoh 的研究表明硼酸能使酸性果胶转变成酯化果胶,而酯化果胶存在于花粉管顶端,硼酸有助于提高花粉管顶端的延展性。同时,杨

晓东等(1999)研究发现硼会影响花粉管壁形成和延伸关键酶的活性而改变花粉管细胞壁多糖网状结构,从而影响花粉管壁的建造。而本研究在最适的蔗糖浓度 5.0% 中加入 0.001% 或 0.01% 硼酸,花粉萌发率最高上升了 25%,花粉管长度最长增长了 168 μm。刘超会等(2011)报道的紫玉兰花粉在 2.0% 的蔗糖中加入 0.001% 的硼酸,萌发率达 90.57%;张亚利等(2006)报道的二乔玉兰花粉在 5.0% 蔗糖中加入 0.01% 或 0.1% 的硼酸,萌发率均在 70% 以上;刘艳萍等(2013)报道的广玉兰花粉在 15.0% 蔗糖加入 0.01% 的硼酸,萌发率达 84.34%。可见,蔗糖与硼酸共同作用可有效地促进花粉萌发和花粉管生长。同时,硼酸还能诱导花粉萌发过程中胞质游离 Ca^{2+} 的极性分布以促进花粉萌发(李玉春,2008)。本研究山玉兰花粉在适宜浓度的蔗糖和硼酸培养液得到最高萌发率为 45.71%,但花粉萌发和花粉管生长是一个极其复杂的过程,受到各种因素如 Ca^{2+} 、PEG 等影响,为进一步了解山玉兰花粉的萌发特性,则相关因子的影响有待在此基础上进一步研究。

花粉离体萌发不仅需要适宜的培养基,还需要适宜的培养环境。不同植物的花粉萌发对温度的敏感性不同,天女木兰(王子华等,2008)、紫玉兰(江丽等,2015)花粉最适萌发温度为 25 °C,含笑(叶利民,2012)花粉最适萌发温度为 28 °C,而本研究得到山玉兰花粉最适萌发温度为 27 °C,且高温严重抑制花粉的萌发,故在山玉兰杂交授粉时,可选择在中午进行,充足的日照和温度有利于花粉的萌发和花粉管生长。本研究在有光照条件下培养花粉,黑暗下花粉的萌发率略高于光照,而花粉管的生长则相反,但二者差异不显著。然而,山玉兰的花存在雌雄异熟和二次开合的现象(龚洵等,1998),在初次开合时,雌蕊便已成熟,且花瓣未完全张开时花部器官形成小室(Ishida, 1996)。这些均为授粉后柱头上的花粉萌发营造了黑暗的环境,故推测黑暗环境对山玉兰的生殖生长存在一定的影响,具体有待进一步研究。

本研究得到山玉兰花粉在 27 °C 的 5.0% 蔗糖和 0.001% 或 0.01% 硼酸下培养,花粉萌发率均在 40% 以上,花粉生活力达到育种要求,但昆明栽培的山玉兰开花后大量落果。可见,山玉兰的生殖生长还存在其他因素的影响。为了进一步充分发掘山玉兰的园林观赏潜力,有必要对山玉兰生殖生物学相关的

如授粉方式、授粉最佳时间、花粉在柱头及花柱中的生长情况以及其栽培地与原产地环境因子等方面开展进一步研究。

参考文献:

- FEI S, NELSON E, 2003. Estimation of pollen viability, shedding pattern, and longevity of creeping bent grass on artificial media. [J]. *Crop Sci*, 43(6): 2177-2181.
- GONG X, ZHANG GL, PAN YZ, 2003. A study on the pollen germination of *Michelia yunnanensis* [J]. *J Wuhan Bot Res*, 21(4): 346-350. [龚洵, 张国莉, 潘跃芝, 2003. 云南含笑花粉萌发研究 [J]. *武汉植物学研究*, 21(4): 346-350.]
- GONG X, LU YX, ZHANG YP, et al, 1999. Discovery of 3-7 ovules in one carpel of *Magnolia delavayi* [J]. *Acta Bot Yunnan*, 21(2): 173-176. [龚洵, 鲁元学, 张彦萍, 等, 1999. 山玉兰中3-7个胚珠的发现 [J]. *云南植物研究*, 21(2): 173-176.]
- GONG X, WU QA, LU YX, et al, 1998. Pollination biology of cultivated *Magnolia delavayi* [J]. *Acta Bot Yunnan*, 20(1): 89-93. [龚洵, 武全安, 鲁元学, 等, 1998. 栽培红花山玉兰的传粉生物学 [J]. *云南植物研究*, 20(1): 89-93.]
- HU SY, 1993. Experimental methods in plant embryology (I) determination of pollen viability [J]. *Chin Bull Bot*, 10(3): 60-62. [胡适宜, 1993. 植物胚胎学实验方法(一)花粉生活力的测定 [J]. *植物学通报*, 10(3): 60-62.]
- HE L, ZHANG HZ, JIA WQ, 2013. Pollen viability and its storage method of *Magnolia grandiflora* [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 41(4): 164-166. [何莉, 张华珍, 贾文庆, 2013. 广玉兰花粉生活力测定及贮藏方法研究 [J]. *江苏农业科学*, 41(4): 164-166.]
- ISHIDA K, 1996. Beetle pollination of *Magnolia praecocissima* var. *borealis* [J]. *Plant Spec Biol*, 11: 199-206.
- JIANG L, YU LX, CAO YZ, et al, 2015. *In vitro* pollen germination and effects of simulated precipitation and temperature on flowering of *Magnolia liliflora* Desr [J]. *J Anhui Agric Univ*, 42(6): 943-948. [江丽, 俞丽霞, 曹英芝, 等, 2015. 紫玉兰花粉离体萌发及模拟降水、温度对其开花的影响 [J]. *安徽农业大学学报*, 42(6): 943-948.]
- LIU HC, JIA WQ, GUO YY, 2011. The determination of *Magnolia liliflora* pollen viability and its storage method [J]. *J Guizhou Agric Sci*, 39(7): 188-191. [刘会超, 贾文庆, 郭艳艳, 2011. 紫玉兰花粉的生活力测定及贮藏方法 [J]. *贵州农业科学*, 39(7): 188-191.]
- LIU YP, YAN Z, ZHOU L, et al, 2013. Pollen germination condition and pollen viability of *Magnolia grandiflora* [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 41(1): 180-181. [刘艳萍, 晏增, 周玲, 等, 2013. 广玉兰花粉萌发条件及其生活力的研究 [J]. *江苏农业科学*, 41(1): 180-181.]
- LI YC, 2008. The effect of Ca^{2+} and Ca^{2+} inhibitors on *Magnolia soulangeana* Soul.-Bod. pollen germination [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University. [李玉春, 2008. Ca^{2+} 及其拮抗剂对二乔玉兰花粉萌发的影响 [D]. 南京: 南京林业大学.]
- PRESTON RE, 1991. The Intrafloral phenology of *Streptanthus tortuosus* (Brassicaceae) [J]. *Am J Bot*, 78(8): 1044-1053.
- STANLEY RG, LINSKENS HF, 1974. Pollen: Biology, biochemistry, management [M]. Springer-Verlag: 37.
- MATOH T, ISHIGAKI K, OHNO K, et al, 1993. Isolation and characterization of boron-polysaccharide complex from radish roots [J]. *Plant Cell Physiol*, 34(4): 639-642.
- WANG QL, LU LD, WU XQ, et al, 2002. Pollen preservation and its viability test [J]. *Chin Bull Bot*, 19(3): 365-373. [王钦丽, 卢龙斗, 吴小琴, 等, 2002. 花粉的保存及其生活力测定 [J]. *植物学通报*, 19(3): 365-373.]
- WANG ZH, ZHANG FJ, QIN SP, et al, 2008. Pollen morphology and viability of *Magnolia sieboldii* [J]. *J Trop & Subtrop Bot*, 16(6): 551-556. [王子华, 张风娟, 秦素平, 等, 2008. 天女木兰花粉形态特征及其生活力 [J]. *热带亚热带植物学报*, 16(6): 551-556.]
- YE LM, 2012. Effects of temperature, sucrose and boric acid on pollen germination of *Michelia figo* [J]. *Chin Wild Plant Resour*, 31(2): 41-43. [叶利民, 2012. 温度、蔗糖和硼酸对含笑花粉离体萌发的影响 [J]. *中国野生植物资源*, 31(2): 41-43.]
- YANG XD, SUN SQ, LI YQ, 1999. Boron deficiency causes changes in the distribution of major polysaccharides of pollen tube wall [J]. *Acta Bot Sin*, 41(11): 1169-1176. [杨晓冬, 孙素琴, 李一勤, 1999. 硼缺乏导致花粉管细胞壁多糖分布的改变 [J]. *植物学报*, 41(11): 1169-1176.]
- ZUO DD, MING J, LIU C, et al, 2007. Advance in technique of plant pollen viability [J]. *J Anhui Agric Sci*, 35(16): 4742-4745. [左丹丹, 明军, 刘春, 等, 2007. 植物花粉生活力检测技术进展 [J]. *安徽农业科学*, 35(16): 4742-4745.]
- ZHOU J, FAN RW, 1994. Tests of quality and development of pollen tubes in *Liriodendron* (Magnoliaceae) [J]. *Sci Silv Sin*, 30(5): 405-411. [周坚, 樊汝汶, 1994. 鹅掌楸属两种植物花粉品质和花粉管生长的研究 [J]. *林业科学*, 30(5): 405-411.]
- ZHAO LJ, LONG YN, ZHU LQ, et al, 2014. Germination rate and viability of *Manglietia glauca* pollen [J]. *Guangxi For Sci*, 43(4): 405-408. [招礼军, 龙永宁, 朱栗琼, 等, 2014. 灰木莲花粉的萌发率和生活力 [J]. *广西林业科学*, 43(4): 405-408.]
- ZHANG YL, TIAN ZK, LIU Y, 2006. Preservation methods of pollen of *Magnolia soulangeana* Soul.-Bod. [J]. *J Trop & Subtrop Bot*, 14(4): 318-320. [张亚利, 田振坤, 刘燕, 2006. 二乔玉兰花粉贮存条件的比较研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 14(4): 318-320.]