

沙芥花粉萌发特性和柱头可授性的研究

黄修梅¹, 郝丽珍^{1*}, 胡宁宝¹, 赵清岩¹, 张进文¹, 王六英², 田志来¹

(¹ 内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019; ² 内蒙古农业大学生态环境学院, 呼和浩特 010019)

摘要: 用培养基发芽法研究沙芥花粉萌发特性; 用人工异株授粉法和联苯胺—过氧化氢法测定柱头可授期。结果表明: 沙芥花粉萌发的最佳培养基是 20%蔗糖 + 0.001%硼酸 + 0.5%琼脂; 花粉能够萌发的温度范围为 15~38℃, 最适萌发温度为 25℃; 从花蕾充分膨大期至开花后 16 h 花粉活力较强, 开花后 48 h 花粉基本无活力; 花粉储藏的适宜条件为低温 (4℃), 储藏期为 7 d。柱头可授期为开花前 48 h 至开花后 96 h, 开花后 24~72 h 可授性强。

关键词: 沙芥; 花粉; 萌发特性; 柱头可授性; 温度; 培养基

中图分类号: S 63 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2008) 10-1473-06

Pollen Germination Characteristic and Stigma Receptivity of *Pugionium cornutum*

HUANG Xiu-mei¹, HAO Li-zhen^{1*}, HU Ning-bao¹, ZHAO Qing-yan¹, ZHANG Jin-wen¹, WANG Liu-ying², and TAN Zhi-lai¹

(¹ College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China; ² College of Ecology and Environment, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China)

Abstract: Pollen germination characteristic of *Pugionium cornutum* (L.) Gaertner was evaluated by germination method on culture medium, its stigma receptivity was estimated by the hand cross-pollination and benzidine - H₂O₂ method. The results showed the optimal pollen germination of *P. cornutum* was on the culture medium added 20% sucrose, 0.001% boric acid and 0.5% agar. The effective temperature of pollen germination was from 15℃ to 38℃ and the optimal temperature was 25℃. The pollen germination rate was very higher from the biggest bud stage to 16 h after blooming, and the pollen viability was disappeared 48 h after blooming. The suitable condition of storing pollen was low temperature (4℃), and storing period was 7 d. The stigma of *P. cornutum* had receptivity from 48 h before blooming to 96 h after blooming, the strong receptivity in 24 - 72 h after blooming.

Key words: *Pugionium cornutum*; pollen; germination characteristic; stigma receptivity; temperature; medium

传粉是种子植物有性生殖的重要环节, 其过程始于花药开裂及成熟花粉散出。携带着雄配子或其前体的花粉粒暴露在干燥的条件下, 必须在具有活力时到达适宜的接收柱头, 才能确保受精过程顺利进行, 因此开花前后不同时间的花粉活力与柱头可授性变化已引起不少学者的关注 (Kalinganire et al, 2000; 刘林德等, 2001, 2004; Reed, 2004; Manivel et al, 2005; 马书荣, 2005)。

收稿日期: 2008 - 05 - 12; 修回日期: 2008 - 08 - 25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30460080, 30260067); 内蒙古科技攻关项目 (20050305, 20060202); 内蒙古自然科学基金项目 (2001108020501, 200308020513); 内蒙古人才基金项目

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: haolizhe@public.hh.nm.cn)

沙芥 [*Pugionium comutum* (L.) Gaertner] 为十字花科沙芥属二年生草本植物, 生长在典型草原气候带的半固定或流动沙地上 (马毓泉, 1990; 赵一之, 1999), 一年生植株 (图版, A) 生长旺盛, 组织柔嫩, 营养丰富, 处于产品主要收获期 (梅双喜等, 1999; 郝丽珍等, 2004); 二年生植株 (图版, B) 以收获种子为主, 前期叶片也可采食, 集菜用、药用、饲用和防风固沙多种功能为一体。沙芥花期为 6 月 25—7 月 30 日, 正值沙漠高温季节 (黄修梅, 2007)。因此研究其花粉萌发特性和柱头可授性, 不仅对掌握沙芥在高温、干旱的沙漠环境中正常开花结籽繁衍后代的生物学特性有重要的意义, 还可从生殖角度探讨其适应沙漠恶劣条件的自我保护机理, 为今后沙芥的引种栽培、杂交育种等研究提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 研究地点

沙芥种株的培育地点选在内蒙古农业大学科技园区试验田, 试验所用种子采自毛乌素沙漠自然生境区, 试验时间为 2005 年和 2006 年的 6—7 月 (沙芥盛花期)。

1.2 沙芥花粉萌发特性的研究

1.2.1 不同培养基培养花粉萌发试验

采用培养基发芽法 (邹琦, 2000)。从 5 株种株上采集即将开放的大花蕾或初放的花朵, 分别剥离花粉混匀后, 播种在已经准备好的培养基上。

培养基采用蔗糖与硼酸组合, 根据一般植物花粉萌发的需要 (蔗糖浓度为 5% ~ 20%, 硼酸浓度为 0.001% ~ 0.015%) 设计蔗糖浓度为 0、5%、10%、15%、20% 和 25%, 硼酸浓度为 0.01% 和 0.001%, 琼脂为 0.5%。每个处理重复 3 次。

置于 25℃ 培养箱中培养 24 h 后, 在 Olympus 显微镜下分别统计 3 个不同视野的花粉萌发率, 并用测微尺测量花粉管长度。

每个样本数量为 10, 随机取样, 3 次重复。

1.2.2 不同温度下花粉萌发试验

将沙芥花粉播于筛选的最佳培养基 (20% 蔗糖 + 0.001% 硼酸) 上, 分别置于 12、15、20、25、30、35、38 和 40℃ 培养箱中, 培养 2 h 和 24 h 后, 在 Olympus 显微镜下统计花粉萌发率和花粉管长度, 筛选出花粉萌发的温度范围和最适温度。

1.2.3 单花不同开放时间的花粉萌发试验

采集花蕾充分膨大期, 开花后 1、3、6、16、24、36 和 48 h 的花朵, 剥离花粉混匀后, 播于最佳培养基 (20% 蔗糖 + 0.001% 硼酸) 上, 置于最佳温度 (25℃, 培养箱), 24 h 后在 Olympus 显微镜下统计花粉萌发率和花粉管长度。

1.2.4 花粉储藏试验

采集经筛选确定活力最强时期的花粉, 分别储于室内 (28℃ 左右) 和冰箱 (4℃)。每天取少量花粉培养, 播于最佳培养基 (20% 蔗糖 + 0.001% 硼酸) 上, 置于最佳温度 (25℃, 培养箱), 24 h 后 Olympus 显微镜下统计花粉萌发率和花粉管长度。

1.3 沙芥柱头可授性的研究

1.3.1 人工异株授粉法

将未散粉的大花蕾, 去雄套袋, 在开花后 1、16、24、48、72 和 96 h, 进行人工异株授粉后套袋, 每个处理 3 株, 不少于 50 个花朵, 15 d 后统计结实率。

1.3.2 联苯胺—过氧化氢法

采集开花前 48、24 h 和开花后 1、16、24、48、72 和 96 h 的柱头, 在凹面载玻片中放入体积比

为 1%联苯胺 3%过氧化氢 水 =4 11 22 的反应液 (Dafnia, 1992), 将柱头浸入其中, 如具可授性, 则柱头周围呈现蓝色并有大量气泡出现。

2 结果与分析

2.1 沙芥花粉的萌发特性

2.1.1 沙芥花粉萌发的适宜培养基

沙芥花粉在蔗糖与硼酸不同配比的培养基上萌发率不同 (图 1)。

当硼酸浓度为 0.001% 和 0.01% 时, 沙芥花粉在无蔗糖和 5% 蔗糖的培养基上不萌发, 之后随蔗糖浓度的升高萌发率升高, 当蔗糖浓度达到 20%, 萌发率达到最高。

在能够萌发的蔗糖浓度范围内, 当蔗糖浓度相同时, 0.001% 硼酸的培养基花粉萌发率比 0.01% 硼酸高。因此沙芥花粉萌发的最佳培养基是 20% 蔗糖 + 0.001% 硼酸。

2.1.2 沙芥花粉萌发的适宜温度

沙芥花粉萌发率、花粉管长度与培养温度密切相关。

由图 2 可见, 当花粉培养 2 h 时, 12℃ 处理未见花粉萌发; 15~30℃, 随温度的升高花粉萌发率升高, 花粉管生长速度加快。

培养 24 h, 12℃ 花粉萌发率仅为 2%、花粉管长度为 11.83 μm; 40℃ 花粉萌发率为 7.04%, 花粉管长度仅为 3.00 μm, 说明高温促进花粉的萌发而不利于花粉管的伸长, 低温不利于花粉的萌发却利于花粉管的伸长。

结合花粉萌发率和花粉管长度两个指标, 认为花粉萌发的温度范围为 15~38℃, 最适萌发温度为 25℃。

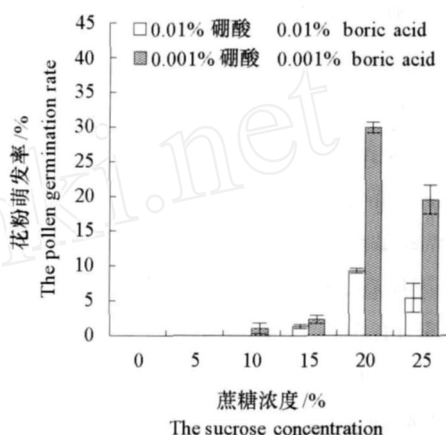


图 1 不同蔗糖和硼酸配比的培养基对沙芥花粉萌发率的影响

Fig 1 Effect of the different concentration of sucrose and boric acid on pollen germination rate of *P. cornutum*

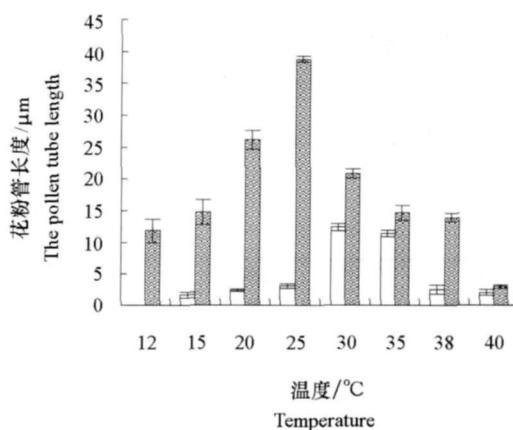
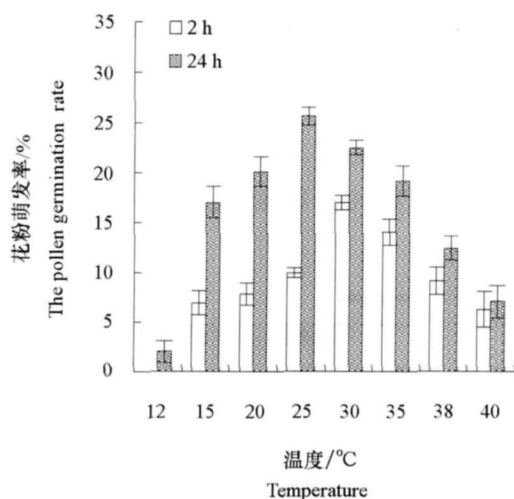


图 2 不同温度下培养 2 h 和 24 h 沙芥花粉萌发率和花粉管长度的变化

Fig 2 The pollen germination rate and pollen tube length of *P. cornutum* in the different temperature after 2 h and 24 h

2.1.3 沙芥花粉活力最旺盛的时期

不同开花时间的花粉萌发率不同 (图 3)。花蕾充分膨大期 (11: 00—15: 00) 至开花后 16 h (翌日 8: 00) 花粉萌发率较高 (29.2% ~ 31.8%), 之后迅速下降, 开花后 24 h 降至 11.2%, 开花后 48 h 仅为 2.2%, 开花 72 h 已采集不到花粉。这表明, 从花蕾充分膨大到花后 16 h 是花粉生活力最强的时期。

2.1.4 储藏温度和时间对沙芥花粉萌发的影响

沙芥花粉在 28℃ 条件下储藏 1 d, 萌发率从 45.8% 降至 11.5%, 2 d 降至 1.7%, 3 d 萌发力完全丧失 (图 4)。同一批花粉储藏在 4℃ 冰箱中, 2 d 花粉萌发率变化不大, 仍维持在 40% 以上; 7 d 下降至 11.4%; 10 d 降至 2.9%。储藏相同天数, 低温储藏的花粉管长度比室温储藏的长。

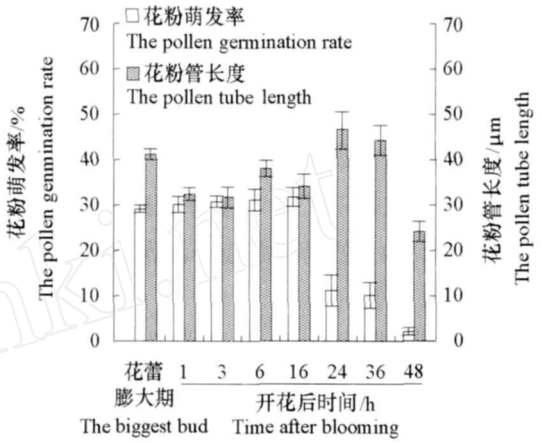


图 3 沙芥不同开花时间花粉萌发率与花粉管长度的变化

Fig 3 The pollen germination rate and tube length of *P. cornutum* on the different blooming time

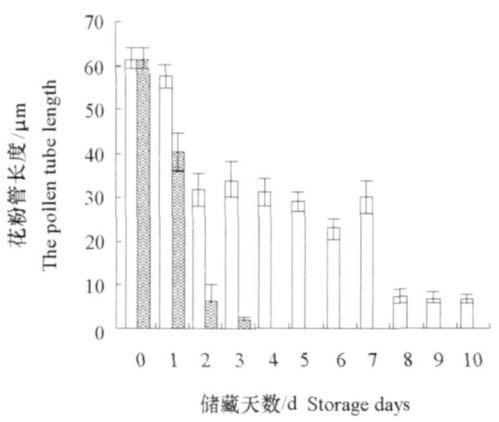
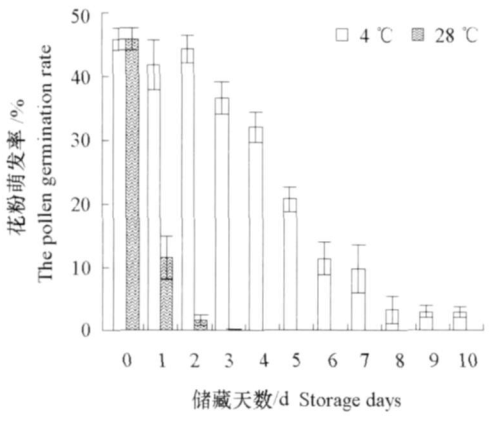


图 4 不同储藏条件对沙芥花粉萌发率和花粉管长度的影响

Fig 4 The pollen germination rate and pollen tube length of *P. cornutum* in the different storing condition

2.2 柱头可授性

用人工异株授粉法研究沙芥株头可授性, 开花后 1~96 h 均有结实, 但结实率以开花后 48 h 最高, 24 h 次之, 72 h 再次之, 开花后 120 h 柱头萎蔫, 无法再授粉 (表 1; 图版, C)。

表 1 沙芥柱头可授性检测结果

Table 1 Test for stigma receptivity of *P. cornutum*

| 开花时期 Blooming time | 时间 /h Time | 人工异株授粉法结实率 / % Emasculation, bagged, hand cross-pollination | 联苯胺—过氧化氢法可授性 The way of benzidine - H ₂ O ₂ receptivity |
|------------------------|---------------|--|--|
| 开花前 Before blooming | 48 | - | + |
| | 24 | - | + |
| 开花后 After blooming | 1 | 22.5 | + |
| | 12 | 20.0 | + |
| | 24 | 36.7 | ++ |
| | 48 | 38.7 | ++ |
| | 72 | 26.3 | ++ |
| | 96 | 13.8 | + |
| | 120 | - | +/- |

注: +表示柱头具有可授性; ++表示柱头具有强可授性; +/-表示部分柱头具有可授性, 部分柱头不具有可授性。
Note: + means stigmas have receptivity; ++ means stigmas have high receptivity; +/- means some stigmas have receptivity, some haven't

用联苯胺—过氧化氢法检测沙芥柱头可授性，从开花前 48 h 至开花后 96 h 柱头均有可授性，开花后 120 h 部分柱头具有可授性，部分柱头变黄，已无可授性。开花后 24 ~ 72 h 可授性最强，具有较强的过氧化物酶活性，与人工异株授粉法检测结果基本一致。表明沙芥柱头具有强可授性时期为开花后 24 ~ 72 h。



图版说明：A. 一年生自然生境沙芥；B. 二年生自然生境沙芥种群；C. 沙芥开花不同时间的花朵（从左至右，第一排依次为：开花、花后 1 h、24 h，第二排依次为花后 48 h、72 h、96 h、120 h）。

Explanation of plates: A. One-year old *P. comutum* in the natural habitat; B. Two-year old *P. comutum* in the natural habitat; C. The *P. comutum* flower in different blooming time (from left to right, the first line: blooming, after blooming 1 h, after blooming 24 h; the second line: after blooming 48 h, 72 h, 96 h, 120 h).

3 讨论

3.1 沙芥花粉萌发特性的生态学意义

沙芥花粉最适萌发温度为 25℃，而在 35℃ 和 38℃ 的萌发率分别为最适萌发温度下的 75% 和 50%，说明沙芥对高温适应性较强。沙芥花期在 7 月中旬，正值沙漠高温季节，在毛乌素沙漠野生沙芥种群盛花期观测到，12:00—14:00，沙芥花蕾处于充分膨大期，地表温度为 40 ~ 45℃；16:00—20:00，开始开花并于 20:00 之前开放完毕，地表温度为 26.8 ~ 36.2℃（黄修梅，2007），即从沙芥花粉散出到开花后 16 h 花粉活力最高时期是沙漠温度偏低时期，因此沙芥在高温（35 ~ 38℃）下花粉萌发率较高，自花蕾充分膨大期至开花后 16 h 花粉生活力较强，是沙芥适应沙漠恶劣高温条件、繁衍后代、自身保护的机理之一。

3.2 沙芥花粉萌发特性和柱头可授性与授粉的关系

沙芥从花蕾充分膨大期（当日 12:00）到开花后 16 h（翌日 8:00）花粉活力一直较高，随后急剧下降；花粉在室温下可储藏 1 d，在低温下（4℃）可储藏 7 d。所以人工授粉应选用开花后 16 h 之内花粉；结合沙芥开花日动态，采集花粉应该选择下午；需要短期保存花粉时应选用低温（4℃），储期不超过 7 d。

柱头可授期是花朵成熟过程中的一个重要时期，它能在很大程度上影响开花不同阶段的传粉成功率等。不同植物的柱头可授期所持续的时间从几小时到十几天不等。对沙芥来说，柱头在开花前 48 h 到开花后 96 h 均有可授性，以开花后 24 ~ 72 h 较强，另外沙芥在下午开放的花朵，中午以后就开始闭花散粉，所以去雄应该选择上午，授粉应该选择在开花后第 2 ~ 3 天的下午。

References

- Dafnia 1992 Pollination ecology New York: Oxford University Press 59 - 89.
Hao Li-zhen, Zhai Sheng, Jia Jin 2004 Study on the nutrition rule and leaf dissection of *Pugionium comutum*. China North Acta Agriculture

- Sinica, 19 (4): 66 - 69. (in Chinese)
- 郝丽珍, 翟 胜, 贾 晋. 2004. 沙芥营养生长规律及叶片解剖结构的研究. 华北农学报, 19 (4): 66 - 69.
- Huang Xiu-mei. 2007. Studies on the pollination biology of *Pugionium comutum* (L.) [M. D. Dissertation]. Hohhot: InnerMongolia Agricultural University. (in Chinese)
- 黄修梅. 2007. 沙芥 [*Pugionium comutum* (L.)] 传粉生物学研究 [硕士论文]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学.
- Kalinganire A, Harwood C E, Slee M U, Simons A J. 2000. Floral structure, stigma receptivity and pollen viability in relation to protandry and self-incompatibility in Silky Oak (*Grevillea robusta* A. Cunn.). Annals of Botany, 86 (1): 133 - 148.
- Liu Lin-de, Zhang Hong-jun, Zhu Ning, Shen Jia-heng. 2001. Pollen viability and stigma receptivity of *Eleutherococcus Senticosus* (Araliaceae). Bulletin of Botanical Research, 21 (3): 375 - 380. (in Chinese)
- 刘林德, 张洪军, 祝 宁, 申家恒. 2001. 刺五加花粉活力和柱头可授性的研究. 植物研究, 21 (3): 375 - 380.
- Liu Lin-de, Zhang Ping, Zhang Li, Chen Lei, Gao Yu-bao. 2004. Pollen viability, stigma receptivity and pollinators of *Weige laflorida*. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 24 (8): 1431 - 1434. (in Chinese)
- 刘林德, 张 萍, 张 丽, 陈 磊, 高玉葆. 2004. 锦带花的花粉活力、柱头可授性及传粉者的观察. 西北植物学报, 24 (8): 1431 - 1434.
- Manivel P, Vinod Kumar, Thakur K C, Pandey S K. 2005. Stigma receptivity and pollination success in potato (*Solanum tuberosum* L.). The Indian Journal of Genetics & Plant Breeding, 65 (2): 149 - 150.
- Ma Shu-rong. 2005. Studies on pollination biology of *Catharanthus roseuse* [Ph. D. Dissertation]. Haerbin: Northeast Forestry University: 45 - 53. (in Chinese)
- 马书荣. 2005. 长春花传粉生物学的研究 [博士论文]. 哈尔滨: 东北林业大学: 45 - 53.
- Ma Yu-quan. 1990. Flora inner mongolia 2nd volume. Hohhot: InnerMongolia People's Publish House: 612 - 616. (in Chinese)
- 马毓泉. 1990. 内蒙古植物志. 第 2 卷. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社: 612 - 616.
- Mei Shuang-xi, Pan Xiao-hui, Hou Zhen-fu. 1999. Study on the chemical substance of *Pugionium comutum*. China Medicine Journal, 34 (6): 366 - 367. (in Chinese)
- 梅双喜, 潘晓晖, 侯振富. 1999. 沙芥化学成分的研究. 中国药学杂志, 34 (6): 366 - 367.
- Reed S M. 2004. Self-incompatibility and time of stigma receptivity in two species of *Hydrangea*. HortScience, 39 (2): 312 - 315.
- Zhao Yi-zhi. 1999. A taxological revision and floristic analysis of the genus *Pugionium*. Journal of InnerMongolia University: Acta Scientiarum Naturalium Universitatis NeMongol, 30 (2): 197 - 199. (in Chinese)
- 赵一之. 1999. 沙芥属的分类校正及其区系分析. 内蒙古大学学报: 自然科学版, 30 (2): 197 - 199.
- Zou Qi. 2000. The experiment direction of plant physiology. Beijing: Chinese Agriculture Publishing House. (in Chinese)
- 邹 琦. 2000. 植物生理学试验指导. 北京: 中国农业出版社.

欢迎订阅 2009 年《农产品加工·学刊》

《农产品加工·学刊》是由农业部农产品加工局重点支持的中国农产品加工业专业媒体, 是中国科技核心期刊、中国期刊全文数据库全文收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计刊源期刊、中文科技期刊数据库收录期刊和科技部万方期刊数据库收录期刊。

《农产品加工·学刊》与中国技术市场协会、中国农学会农产品贮藏加工分会、中国农业工程学会农产品加工与贮藏分会、中国机械工程学会包装与食品工程分会、中国农业机械学会农副产品加工机械分会合办, 以农产品加工的科研人员、大专院校教师、在读博士生和硕士生为主要读者群和作者群, 以推进农产品加工业技术进步为己任, 为从事农产品开发研究和推广应用的科研人员提供学术交流和成果转让平台。设有专题论述、试验研究、工艺探讨、分析测试、技术装备、应用推广、学科创新、行业资讯、互动平台等栏目。

每期定价 8 元/册, 全年 12 期, 共 96 元。邮发代号: 22 - 19, 各地邮局均可订阅。

地址: 山西省太原市双塔东街 124 号闻汇大厦 B 座 2102 号; 邮编: 030012;

电话: 0351 - 4606085; E-mail: ncpjgkx@163.com; 联系人: 蒲晓鸥。