

戴雨沁,程梦雨,顾佩乾,等. 钙源对梨花粉萌发及花粉管生长的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(19):142-144,155.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.19.031

钙源对梨花粉萌发及花粉管生长的影响

戴雨沁,程梦雨,顾佩乾,薄雨心,陈佳豪,齐开杰,吴巨友,张绍铃,王 鹏

(南京农业大学园艺学院,江苏南京 210095)

摘要:液体授粉是梨园省力化生产的重要技术,然而授粉液配方中硝酸钙是易制爆危险化学品,其购买、储存和应用受到很大限制。为筛选方便易得且可以促进花粉萌发和花粉管生长的钙源,替换梨树授粉液中的硝酸钙,以促进梨树液体授粉技术的推广应用,共选取 8 种不同的钙源,按照相同钙浓度配制梨树授粉液,并从花粉萌发和花粉管生长 2 个方面分析钙源对梨花粉发育的影响。结果表明,培养 4 h 后,以葡萄糖酸钙为钙源时花粉萌发率和花粉管长度分别是硝酸钙为钙源的 1.4 倍和 1.9 倍。柠檬酸钙作用优于硝酸钙,乳酸钙的作用与硝酸钙相近,磷酸二氢钙在促进花粉萌发方面作用明显,但在促进花粉管生长方面作用与硝酸钙处理相近。以氢氧化钙、氯化钙和甘氨酸钙为钙源时,梨花粉萌发率和花粉管长度均明显低于硝酸钙处理。葡萄糖酸钙能明显促进梨花粉萌发和花粉管生长,且方便易得,可以替换梨树液体授粉配方中的硝酸钙。

关键词:梨;液体授粉;钙;花粉萌发;花粉管生长

中图分类号: S661.201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)19-0142-03

梨是自交不亲和植物,自花授粉不能结果,只有经过授粉才能保证应有的产量和品质。梨树授粉在传统上多采用配制授粉树以及昆虫自然传粉的方法,虽然省时省力,但是授粉效果不稳定,遇到不利天气会导致严重减产;近年来多采用人工点授花粉,坐果成功率高,但是用工量大,成本很高^[1]。液体授粉技术不仅授粉速度快,节约花粉,节省人工,还能够增加柱头养分,延长授粉受精时间,较好地解决了梨树授粉难的产业问题,且对促进坐果、提高梨果实品质具有一定的作用^[2-3]。目前该技术已在新疆、甘肃、山西、江苏等梨产区推广应用。

梨树授粉液主成分包括硝酸钙、硼酸、蔗糖和黄原胶。硝酸钙主要提供钙离子(Ca^{2+}),在授粉液中钙离子浓度约 2 mmol/L。 Ca^{2+} 是花粉萌发和花粉管生长必需的物质成分和信号分子。成熟花粉萌发时在萌发孔附近 Ca^{2+} 浓度显著升高,花粉深入柱头后,与花粉尖端接触位置的 Ca^{2+} 浓度显著升高,以满足花粉管生长需要。花粉管中钙离子浓度

存在一定梯度,花粉管尖端钙离子浓度呈现波动变化。授粉液中钙离子浓度过高或过低都会导致花粉萌发和花粉管生长受到抑制^[4-5]。硼是花粉管细胞壁的重要成分,硼酸与细胞壁中鼠李半乳糖醛酸 2 II 结合形成结构性果胶网格,调节细胞壁结构和性质,促进花粉管生长^[6]。授粉液中的蔗糖可以为花粉管生长提供稳定的渗透压和丰富的能量来源。黄原胶作为稳定剂,可以使花粉均匀分散在授粉液中,利于实施喷雾,不堵塞喷头。因此梨树授粉液的 4 种主要成分都有重要作用,缺一不可。

然而,因为授粉液配方中的硝酸钙属于易制爆危险化学品,购买、储存和使用都受到严格管制,严重限制了梨树液体授粉技术的实际应用。因此筛选合适的钙源,替换授粉液中受管制的硝酸钙,改良梨树授粉液的配方,有利于推广省力化栽培技术,降低梨果生产成本,促进梨产业发展。本研究以梨花粉为材料,按照梨树授粉液配方,分别添加硝酸钙、氯化钙、磷酸二氢钙、氢氧化钙、葡萄糖酸钙、乳酸钙、柠檬酸钙和甘氨酸钙等 8 种不同的钙源后,对梨花粉萌发和花粉管生长进行了检测,以研究替换硝酸钙的最佳方案。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用砀山酥梨花粉采自江苏省徐州市,采集

收稿日期:2020-02-03

基金项目:国家自然科学基金(编号:31501715;31772276);现代农业产业技术体系专项资金(编号:CARS29)。

作者简介:戴雨沁(1999—),女,江苏南通人,主要从事梨授粉技术研究。E-mail:1685575356@qq.com。

通信作者:王 鹏,博士,副研究员,主要从事梨授粉受精调控机理研究。E-mail:wangpeng@njau.edu.cn。

大蕾期梨花,打碎后筛取花药留用。花药在 25 ℃干燥 24 h,待花药开裂,花粉散出后,过筛去除花药残渣,用硫酸纸包裹花粉,放入硅胶干燥盒中冻存于 -20 ℃冰箱。

四水合硝酸钙、无水氯化钙、磷酸二氢钙、氢氧化钙、葡萄糖酸钙、乳酸钙、柠檬酸钙、甘氨酸钙、硼酸、蔗糖、黄原胶均使用分析纯试剂。

1.2 试验方法

分别使用四水合硝酸钙、无水氯化钙、磷酸二氢钙、氢氧化钙、葡萄糖酸钙、乳酸钙、柠檬酸钙、甘氨酸钙,按照钙离子浓度 0.5 g/L 配制授粉液,硼酸 0.1 g/L,蔗糖 150 g/L,黄原胶 4 g/L。按照田间使用的授粉液配制方法,不需调节 pH 值。取少量梨精花粉充分分散在授粉液中,放置于恒温振荡培养箱中,25 ℃、100 r/min 培养,每隔 1 h 取液体培养的花粉在显微镜下拍照,观察记录花粉萌发率并测量花粉管长度,每组试验均重复 3 次以上。

2 结果与分析

2.1 不同钙源可以导致授粉液 pH 值变化

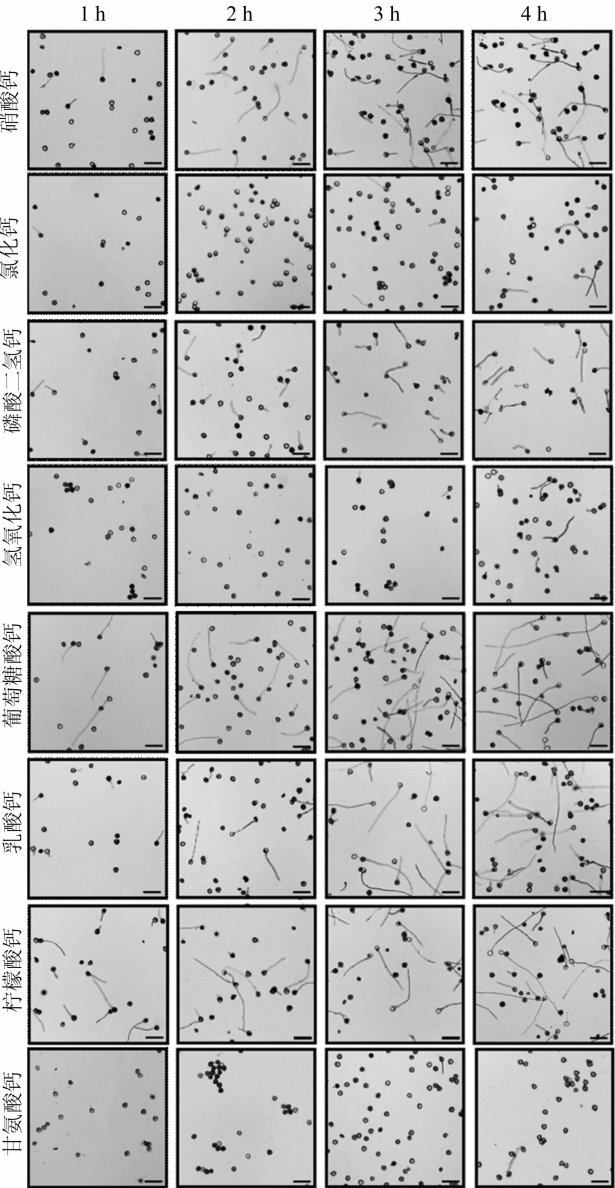
梨花粉萌发和花粉管生长的最适 pH 值是 6.5^[7]。正常情况下,用硝酸钙、硼酸、蔗糖和黄原胶配制的授粉液 pH 值范围 6~7,虽因所用水质不同而有所差异,但仍可以满足梨花粉萌发和花粉管生长的需要,通常不需要调节 pH 值。这一特性便于梨农掌握授粉液配制技术,利于液体授粉技术的推广应用。因此,在筛选可替代硝酸钙的钙源时,不对 pH 值进行额外调整。本研究中使用不同钙盐所配制的授粉液的 pH 值见表 1。可见使用氢氧化钙和甘氨酸钙所配制的授粉液的 pH 值均大于 9,明显偏高;使用磷酸二氢钙所配制的授粉液的 pH 值为 4.78±0.13,明显偏酸性。使用硝酸钙、氯化钙、葡萄糖酸钙、乳酸钙和柠檬酸钙配制的授粉液的 pH 值接近中性,均在 6~7 范围内。

表 1 不同钙源配制授粉液的 pH 值

钙源	pH 值
硝酸钙 Ca(NO ₃) ₂	6.73±0.15
氯化钙 CaCl ₂	6.88±0.05
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	4.78±0.13
氢氧化钙 Ca(OH) ₂	9.75±0.30
葡萄糖酸钙 calcium gluconate	6.59±0.08
乳酸钙 calcium lactate	6.69±0.06
柠檬酸钙 calcium citrate	6.81±0.07
甘氨酸钙 calcium glycine	9.28±0.12

2.2 授粉液中不同钙源对梨花粉萌发率和花粉管生长的影响

分别使用硝酸钙、氯化钙、磷酸二氢钙、氢氧化钙、葡萄糖酸钙、乳酸钙、柠檬酸钙和甘氨酸钙等 8 种不同的钙源,按照相同的钙离子浓度配制授粉液。取梨花粉均匀分散在授粉液中,在 25 ℃、100 r/min 条件下振荡培养。每小时取样进行显微拍照,统计花粉萌发率和花粉管生长长度(图 1)。



图中标尺为 50 μm

图1 在不同钙源的授粉液中培养的梨花粉萌发和花粉管生长状态

结果发现,在不同钙源的授粉液中梨花粉萌发率有明显差异。以硝酸钙配制的授粉液为基准,磷酸二氢钙、葡萄糖酸钙和柠檬酸钙作为钙源时,梨花粉萌发率明显高于硝酸钙;乳酸钙作为钙源时,

梨花粉萌发率与硝酸钙相当;氯化钙、氢氧化钙和甘氨酸钙作为钙源时,花粉萌发率明显低于硝酸钙。其中以磷酸二氢钙为钙源时,梨花粉萌发率最高,可以达到 62%;其次为葡萄糖酸钙,花粉萌发率达到 56%,均明显高于硝酸钙为钙源时的花粉萌发率(约 40%)(图 2-A)。

以不同钙源配制的授粉液对花粉管生长也有明显影响(图 2-B)。以硝酸钙为钙源时梨花粉管 4 h 可以生长 136 μm ,乳酸钙和磷酸二氢钙与硝酸钙的作用相近,花粉管在 4 h 后可分别生长 153 μm 和 123 μm 。葡萄糖酸钙为钙源时授粉液中梨花粉管生长最快,梨花粉管 4 h 可以生长 259 μm ,是硝

酸钙为钙源时的 1.9 倍。柠檬酸钙促进花粉管生长的作用也较强,梨花粉管 4 h 可以生长 196 μm 。氯化钙、氢氧化钙和甘氨酸钙为钙源时,花粉在授粉液中不能正常生长,4 h 后花粉管平均长度低于 40 μm 。

综合花粉萌发率和花粉管生长 2 个方面,葡萄糖酸钙配制的授粉液效果最佳,其次为柠檬酸钙,其促进梨花粉萌发和花粉管生长的效果均优于硝酸钙。另外,试验还发现氢氧化钙、氯化钙和甘氨酸钙作为钙源时,不能促进梨花粉萌发和花粉管的生长,不宜用于授粉液的配制。

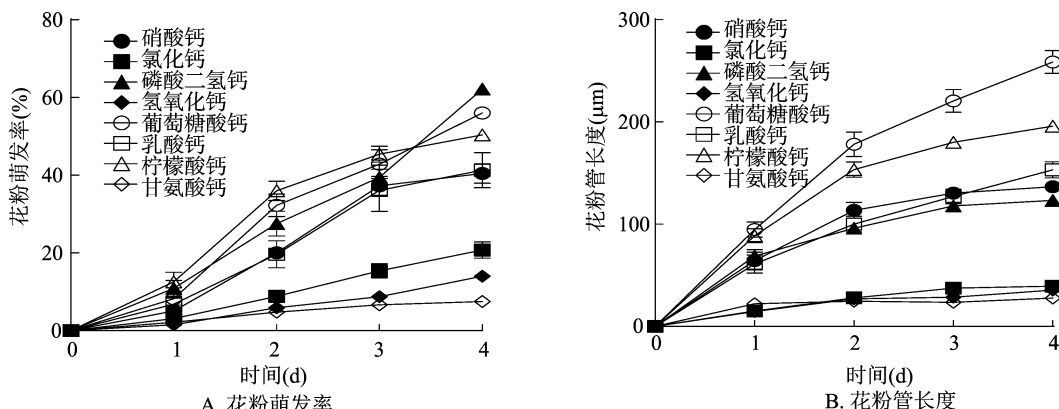


图2 在不同钙源的授粉液中培养的梨花粉萌发率和花粉管长度统计

3 讨论

3.1 pH 偏高会抑制梨花粉萌发和花粉管生长

梨花粉萌发和花粉管生长的最适 pH 值是 6.5,授粉液 pH 值 6~7 时,促进花粉萌发和花粉管生长的效果最佳,pH 值高于 8.0,梨花粉萌发率和花粉管生长均受到显著抑制,会造成液体授粉失败^[7-8]。氢氧化钙和甘氨酸钙配制的授粉液 pH 值均高于 9.0,试验发现以之为钙源时花粉萌发和花粉管生长均受到明显抑制。以磷酸二氢钙配制的授粉液 pH 值为 4.78 ± 0.13 ,试验发现磷酸二氢钙为钙源时较硝酸钙对梨花粉萌发率有更明显的促进作用,但是对梨花粉管生长的促进作用与硝酸钙差异不明显。磷酸二氢钙在水中溶解度较小,仅为 18 g/L (20 $^{\circ}\text{C}$),不易配制溶液,不推荐用于授粉液配制。

3.2 授粉液中氯离子抑制花粉萌发和花粉管生长

花粉管生长不需要氯离子(Cl^{-})^[9], Cl^{-} 对花粉管生长有抑制作用^[10]。在本试验中,授粉液中 Ca^{2+} 浓度为 2.12 mmol/L,以 CaCl_2 为钙源时,授粉

液中 Cl^{-} 的浓度为 4.24 mmol/L。试验结果表明, CaCl_2 为钙源时花粉管生长受到明显抑制,培养 4 h 后,梨花粉管长度为 39 μm ,仅为硝酸钙配制授粉液时花粉管长度的 28%,因此 CaCl_2 不宜用于授粉液配制。

3.3 葡萄糖酸钙是一种易得易用的梨树授粉液钙源

试验结果表明,葡萄糖酸钙和柠檬酸钙作为钙源对梨花粉萌发和花粉管生长的促进作用优于硝酸钙。葡萄糖不仅可以作为能量物质,还是参与花粉管生长调控的信号分子^[11],本试验中葡萄糖酸钙促进花粉萌发和花粉管生长的作用明显,培养 4 h 后,以葡萄糖酸钙为钙源时梨花粉萌发率和花粉管长度分别是硝酸钙为钙源时的 1.4 倍和 1.9 倍。葡萄糖酸钙易溶于沸水,溶解度可达 200 g/L,梨树授粉液中 Ca^{2+} 浓度为 2.12 mmol/L,葡萄糖酸钙用量为 9 g/L。葡萄糖酸钙作为一种食品添加剂易于获得质量稳定、纯度高的产品,价格便宜,容易购买,

(下转第 155 页)

培苗的生长,具体原因还有待进一步研究。

褐化是山药组培过程中存在的普遍现象,也是限制一些山药品种开展组培研究工作的重要因素。黄玉吉等研究表明,添加 2.0 mg/L 活性炭及 100 mg/L 抗坏血酸,山药茎段基本不褐变,出芽率高^[9]。刘金英等研究表明,添加 AC、VC 和 PVP 等抗氧化剂,仅有 AC 能有效地抑制褐变,但 AC 对试管苗生长有较大的影响^[4]。本试验研究发现,在诱导阶段添加 AC 有助于减轻褐化,促进萌芽和生长,但在增殖阶段添加 AC 的组培苗则以生根和茎叶生长为主,影响增殖率,研究结果和刘金英等的报道结果有相似之处。

组培苗的移栽成活率是关系组培苗能否在生产中推广应用的关键^[10],山药组培苗移栽成活率的高低除与品种、移栽基质有关外,移栽种植的大棚环境也至关重要。本试验初期在简易大棚中种植,加上南方春季气温变化无常,移栽成活率受天气影响较大,成活率较低。温度低,组培苗生根慢、易霉烂;温度高,组培苗叶片易萎蔫枯死,不但移栽成活率低,且成活的苗因受损严重,质量较差,后期需要较长时间缓苗,收获的一级种薯产量低。通过对比试验发现,采用进口泥炭与珍珠岩混合基质(比例为 2:1)在可温控的大棚内移栽,组培苗的成活率可以大大提高,加上适宜的管理,基本可以达到 95% 以上。此外,组培苗收获的一级种薯大小差异较大,大的块茎可达 200 g,和普通薯块种植的大小差不多,小的仅有 20 g 左右,这种差异与组培苗质

量、组培苗成活率及后期田间管理有直接关系,同时也可以看出组培苗一级种薯的产量还有很大的提升空间。经组培复壮后的种薯田间长势优于未组培的种薯,表现为植株地上部生长势强、分枝较多、枝叶繁茂、抗病能力增强。一级种薯第 2 年种植产量与对照相比,产量可提高 20% 左右,薯皮颜色鲜黄(图 1-F),薯肉质地更紧实。

参考文献:

- [1] 贡树铭. 药食同源的枸杞和山药[J]. 医古文知识, 2000(3): 16-17.
- [2] 李明军, 张峰, 陈明霞, 等. 怀山药病毒病的研究[J]. 中草药, 2003, 34(11): 3-5.
- [3] 向发云, 曾祥国, 韩永超, 等. ‘蕲山药’离体再生及试管微块茎的形成[J]. 中国农学通报, 2014, 30(10): 111-117.
- [4] 刘金英, 徐有明, 李双来, 等. 佛手山药组织培养的研究[J]. 植物研究, 2006, 26(3): 323-328.
- [5] 张晓丽, 王医鹏, 刘雯, 等. 铁棍山药试管苗快繁培养基的优化[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2013, 41(2): 123-126.
- [6] 李明军. 怀山药茎段愈伤组织的诱导与多芽体的形成[J]. 华北农学报, 2000, 15(2): 85-88.
- [7] 夏赞, 谭文丽, 陈银华, 等. 参薯组织培养快繁技术[J]. 热带生物学报, 2012, 3(3): 271-275.
- [8] 严华兵, 龚明霞, 董伟清, 等. 山薯组培苗继代培养基配方筛选[J]. 广西农业科学, 2010, 41(8): 758-761.
- [9] 黄玉吉, 陈菁瑛, 万学锋, 等. 山药组织培养研究[C]//全国第 8 届天然药物资源学术研讨会, 2008: 224-227.
- [10] 杜尚广. 脚板薯的组织培养与快速繁殖研究[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(6): 39-42.
- [11] J. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1998, 49: 481-500.
- [7] 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.
- [8] 王鹏, 曹鹏, 齐开杰, 等. 水质对梨树液体授粉的花粉萌发率的影响[J]. 中国南方果树, 2018, 47(2): 145-147.
- [9] Messerli M, Smith P J, Lewis R C, et al. Chloride fluxes in lily pollen tubes: a critical reevaluation[J]. The Plant Journal, 2004, 40(5): 799-812.
- [10] Breygina M A, Matveeva N P, Ermakov I P. The role of Cl⁻ in pollen germination and tube growth[J]. Russian Journal of Developmental Biology, 2009, 40(3): 157-164.
- [11] Hirsche J, García Fernández J M, Stabentheiner E, et al. Differential effects of carbohydrates on arabidopsis pollen germination[J]. Plant & Cell Physiology, 2017, 58(4): 691-701.
- [12] 食品添加剂 葡萄糖酸钙: GB 15571—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.

(上接第 144 页)

方便存储,没有食品安全隐患^[12],本试验表明其对梨花粉萌发和花粉管生长有明显的促进作用,是替换硝酸钙的优化选择。

参考文献:

- [1] 王兆龙, 王义菊, 姜福东, 等. 梨不同授粉措施的研究进展[J]. 烟台果树, 2019, 146(2): 3-4.
- [2] 齐开杰, 陶书田, 吴巨友, 等. 梨树省力化液体授粉技术[J]. 中国南方果树, 2017, 46(3): 168-169.
- [3] 魏树伟, 冉昆, 王宏伟, 等. 液体授粉技术对梨坐果和果实品质的影响[J]. 落叶果树, 2017, 49(5): 16-17.
- [4] 盛仙永, 胡正海. Ca²⁺、pH 在花粉及萌发花粉管生长中的作用研究进展[J]. 西北植物学报, 2005, 25(1): 194-199.
- [5] 柴梦颖, 李秀根, 张绍铃. 梨授粉受精影响因素研究进展[J]. 中国果树, 2005(5): 51-53.
- [6] Blevins D G, Lukaszewski K M. Boron in plant structure and function