

楸树等 4 种梓属树种花粉离体培养条件的研究

王改萍, 杨红宁, 倪果果, 彭方仁^①

(南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

摘要: 为筛选出楸树 (*Catalpa bungei* C. A. Mey.) 等 4 个树种花粉离体培养的适宜条件, 以花粉萌发率和花粉管长度为指标, 研究了培养时间、培养温度、液体培养基 pH 值、蔗糖浓度和 PEG-4000 浓度对 2 个楸树花粉样品 (CB-1 和 CB-2) 及滇楸 [*C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour]、黄金树 [*C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelm.] 和梓树 (*C. ovata* G. Don) 花粉离体萌发的影响。实验结果显示, 不同培养时间对楸树的花粉萌发率和花粉管长度均有极显著影响, 培养至 6 h 时花粉萌发率最高 (91.0%), 培养至 6~7 h 时花粉管长度达到最长, 最适培养时间为 6 h。培养温度、液体培养基 pH 值、蔗糖浓度和 PEG-4000 浓度对 4 个树种花粉萌发率和花粉管长度均有明显影响。在 19 °C ~ 36 °C 范围内, 较低或较高的培养温度均对花粉萌发有一定的抑制作用, 适宜各树种花粉离体萌发的培养温度为 24 °C ~ 28 °C; 供试的 4 个树种花粉适宜在弱酸性环境下萌发和生长, 适宜的液体培养基 pH 值为 5.0 ~ 5.6; 在蔗糖浓度为 15 ~ 25 g · L⁻¹ 的液体培养基中, 花粉萌发率及花粉管长度均达到最大值; 液体培养基中添加不同浓度 PEG-4000, 在较短的培养时间 (3 h) 内明显抑制花粉萌发和花粉管生长, 但培养时间延长至 6 h, 添加 5 ~ 25 g · L⁻¹ PEG-4000 对花粉萌发有一定促进作用, 适宜的 PEG-4000 浓度为 20 g · L⁻¹。结果表明, 不同树种甚至同一树种不同种源适宜的花粉离体培养条件有一定的差异, 应根据种类或种源进行适当的调整。

关键词: 楸树; 梓属树种; 离体培养条件; 花粉萌发率; 花粉管长度

中图分类号: Q944.42; S792 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2009)02-0034-09

Study on *in vitro* culture conditions of pollens from four tree species of *Catalpa* Scop. including *Catalpa bungei* WANG Gai-ping, YANG Hong-ning, NI Guo-guo, PENG Fang-ren^① (College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2009, 18(2): 34-42

Abstract: Effects of culture time, culture temperature and pH value, sugar and PEG-4000 concentrations in liquid medium on pollens *in vitro* culture of two *Catalpa bungei* C. A. Mey. samples (CB-1 and CB-2), *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour, *C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelm. and *C. ovata* G. Don were studied using pollen germination rate and pollen tube length as indexes in order to select the best *in vitro* culture conditions of pollen. The results show that culture time has a extremely significant effect on pollen germination rate and pollen tube length of *C. bungei*. After 6 h of culture, the pollen germination rate reaches its peak (91.0%) and the pollen tube length is the longest after 6-7 h of culture, indicating that the best culture time is 6 h. The culture temperature, pH value, sugar and PEG-4000 concentrations in liquid medium exert obvious influence on pollen germination rate and pollen tube length of the four species. Higher or lower temperature in the range of 19 °C - 36 °C has a certain inhibitory effects on pollen germination, and the best culture temperature for all species is 24 °C - 28 °C. The weak acidic environment is favorable for germination and growth of pollens of the four species, and the suitable pH value of liquid medium ranges from pH 5.0 to pH 5.6. The pollen germination rate and pollen tube length reach their peaks when the sugar concentration is 15 - 25 g · L⁻¹. Different concentrations of PEG-4000 added in the liquid medium restrain germination and growth of pollens in a short culture time (3 h), but when the culture time is extended to 6 h, addition of 5 - 25 g · L⁻¹ PEG-4000 promotes pollen germination, in which the proper concentration of PEG-4000 is 20 g · L⁻¹. It is

收稿日期: 2008-09-22

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD24B08); 江苏省高技术项目(BG2006319)

作者简介: 王改萍(1970—), 女, 山西榆社人, 硕士, 讲师, 主要从事林木培育及林木生理生化研究。

^①通讯作者 E-mail: frpeng@njfu.edu.cn

suggested that *in vitro* culture conditions of pollens of different species or even different provenances are not the same, and appropriate adjustments should be done.

Key words: *Catalpa bungei* C. A. Mey.; tree species of *Catalpa* Scop.; *in vitro* culture condition; pollen germination rate; pollen tube length

楸树 (*Catalpa bungei* C. A. Mey.) 属紫葳科 (Bignoniaceae) 梓属 (*Catalpa* Scop.) 乔木, 是我国特有的珍贵优质用材树种和著名园林观赏树种, 其材质优良、用途广泛, 自古就有“木王”之美称^[1]。近年来, 不少学者对楸树的生物学特性、种质资源现状、良种选育及繁殖技术等方面开展了较为系统的研究^[2-6], 但自然状态下楸树自交不育, 往往开花不结实, 且扦插生根困难, 造成了楸树繁殖困难、资源相对较少, 但目前对楸树自交不育尚未有系统的研究报告。因此, 研究楸树的自交不育机理, 通过实生繁殖方法增加楸树资源量, 具有现实意义和一定的理论意义。

作者以楸树、滇楸 [*C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour]、黄金树 [*C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelm] 和梓树 (*C. ovata* G. Don) 为实验对象, 研究了不同培养时间和培养条件 [温度、液体培养基 pH、蔗糖浓度以及聚乙二醇 (PEG-4000) 浓度] 对花粉离体培养的影响, 旨在探明影响不同树种花粉萌发和花粉管生长的因素, 为探索楸树自交不育机理提供依据, 并为最终解决楸树的自交不育奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

供试花粉样品共 5 个, 其中 1 号楸树 (CB-1) 花粉采自南京老山林场; 2 号楸树 (CB-2) 花粉及滇楸 (CF)、黄金树 (CS) 和梓树 (CO) 花粉均采自南京林业大学校园内。采集时间为各树种的盛花期 (2008 年 4 月份至 5 月份)。采集时选择即将开放的花蕾, 取出花药, 置于密封塑料袋中, 于 0 °C 冰箱内保存、备用。

1.2 方法

1.2.1 花粉的基本培养方法和观察方法 花粉的离体萌发采用液体培养法。以 Brewbaker 等^[7]的培养基为基本液体培养基, 含有 15 g · L⁻¹ 蔗糖、0.02 g · L⁻¹ MgSO₄、0.01 g · L⁻¹ KNO₃、0.03 g · L⁻¹

Ca(NO₃)₂ 和 0.01 g · L⁻¹ H₃BO₃, pH 5.6。在有凹槽的载玻片上滴加液体培养基, 用大头针取适量新鲜花粉均匀点在液体培养基液面上, 将载玻片放入铺有湿润脱脂棉的加盖培养皿内, 在恒温 (24 °C) 暗光条件下培养。定时用 Nikon YS100 光学显微镜观察花粉萌发及花粉管生长状况, 以花粉管长度超过花粉粒直径作为判定花粉萌发的依据。

1.2.2 最适培养时间的确定方法 以 1 号楸树样品 (CB-1) 的新鲜花粉为实验对象, 用上述基本液体培养基进行培养, 设 3 次重复。于恒温 (24 °C) 暗光条件下连续培养 8 h, 培养期间每小时用光学显微镜观察花粉萌发状况, 共观察 8 次。每次观察时选择 5 个视野, 每个视野中包含花粉数不少于 30 粒, 并测量 50 粒花粉的花粉管长度, 结果取平均值。根据每小时的花粉萌发率和花粉管长度, 确定最适培养时间。

1.2.3 不同培养条件的设置和花粉培养方法 以 4 个树种的 5 个花粉样品为实验材料, 以上述基本液体培养基和培养条件为基础, 调整液体培养基中的蔗糖浓度和聚乙二醇 (PEG-4000) 浓度及 pH 值, 并设置不同的培养温度, 进行单因素多水平实验, 从中筛选出各因素的最适水平。

培养温度设置为 19 °C、24 °C、28 °C、32 °C 和 36 °C; 液体培养基 pH 值设置为 pH 5.0、pH 5.6、pH 6.5、pH 7.0 和 pH 8.0, 用稀盐酸及氢氧化钠溶液调节; 蔗糖浓度共设定 9 个水平, 分别为 0、5、10、15、20、25、30、35 和 40 g · L⁻¹。各处理组的新鲜花粉在上述培养条件下连续培养 6 h 后, 按上述方法统计和观察花粉萌发率和花粉管长度, 每处理 3 次重复, 结果取平均值。

液体培养基中聚乙二醇 (PEG-4000) 浓度共设定 8 个水平: 5、10、15、20、25、30、35 和 40 g · L⁻¹, 以不添加 PEG-4000 的基本液体培养基为对照, 在上述培养条件下连续培养, 并分别在培养至 3 和 6 h 时按上述方法统计和观察花粉萌发率, 在培养至 6 和 24 h 时按上述方法统计和观察花粉管长度, 每处理设 3 次重复, 结果取平均值。

1.3 数据处理

应用 DT2000 图像分析软件统计花粉总数和花粉萌发数,采用 SAS 统计软件进行方差分析。

2 结果和分析

2.1 培养时间对楸树花粉离体萌发的影响

在不同培养时间楸树(CB-1)花粉的萌发率和花粉管长度见表1。由表1可见,楸树花粉的萌发率和花粉管长度在不同培养时间均有明显差异。花粉在培养2 h后开始萌发,但萌发率较低(19.6%);培养至3 h时萌发率急剧增加,达到78.5%;之后,随培养时间延长,花粉萌发率逐渐增加,培养至6 h时花粉萌发率达到最高(91.0%);培养6 h后花粉萌发率逐渐下降,培养至8 h时花粉萌发率降至82.5%。

在8 h的培养时间内,楸树花粉管长度的变化趋势与花粉萌发率相似,也随培养时间延长呈现先增加后降低的趋势。培养至6 h时花粉管长度达到340.7 μm ,培养至7 h时花粉管长度达到最高(345.0 μm),但这2个时间段内的花粉管长度差异极小。

方差分析结果表明,培养时间对花粉萌发率及花粉管长度的影响达到极显著水平($P < 0.01$)。根据不同培养时段内楸树花粉的萌发率和花粉管长度,确定楸树花粉离体培养的最适时间为6 h。

表1 不同培养时间内楸树的花粉萌发率和花粉管长度($\bar{X} \pm SD$)
Table 1 Pollen germination rate and pollen tube length of *Catalpa bungei* C. A. Mey. in different culture times ($\bar{X} \pm SD$)

培养时间/h Culture time	花粉萌发率/% Pollen germination rate	花粉管长度/ μm Pollen tube length
1	0	0
2	19.6 \pm 2.6	30.0 \pm 7.1
3	78.5 \pm 4.9	139.9 \pm 7.8
4	79.0 \pm 5.7	181.2 \pm 2.6
5	81.7 \pm 4.9	247.7 \pm 10.0
6	91.0 \pm 4.2	340.7 \pm 9.0
7	90.0 \pm 7.1	345.0 \pm 11.2
8	82.5 \pm 3.5	304.1 \pm 7.2

2.2 不同培养条件对梓属不同树种花粉离体萌发的影响

2.2.1 培养温度对花粉离体萌发的影响 在不同温度下培养6 h后,梓属4个树种5个新鲜花粉样品花粉萌发率和花粉管长度分别见表2和表3。

由表2可见,不同培养温度对花粉的萌发率有明显影响。在19 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,各样品的花粉萌发率为31%~61%,平均为42.3%,其中黄金树的花粉萌发率最高,滇楸的花粉萌发率最低;在24 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,各样品的花粉萌发率提高至83.8%~90.8%,其中梓树的花粉萌发率最高,5个样品的花粉萌发率平均为87.4%;在28 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,各样品的花粉萌发率为86.5%~88.5%,差异较小,花粉萌发率平均为87.7%,与24 $^{\circ}\text{C}$ 处理组的花粉萌发率几乎相等;在32 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,各样品的花粉萌发率明显降低(17.5%~43.3%),平均仅为33.4%,为28 $^{\circ}\text{C}$ 处理组的38.1%;在36 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,各样品的花粉萌发率最低(5.3%~14.0%),平均仅为9.3%,为28 $^{\circ}\text{C}$ 处理组的10.6%。结果显示,培养温度低于28 $^{\circ}\text{C}$,随温度升高花粉萌发率提高;培养温度高于28 $^{\circ}\text{C}$,随温度升高花粉萌发率下降。

不同培养温度对花粉管长度也有显著影响(表3),这种影响与培养温度对花粉萌发率的影响基本一致。当培养温度为19 $^{\circ}\text{C}$ 时,各样品的花粉管长度为98.9~272.0 μm ,平均为155.5 μm ,其中1号楸树样品花粉管长度最长,梓树的最短;当培养温度为24 $^{\circ}\text{C}$ 时,花粉管长度明显增加,各样品的花粉管长度为340.7~146.9 μm ,平均长度为214.2 μm ,比19 $^{\circ}\text{C}$ 条件下增加了37.7%;当培养温度为28 $^{\circ}\text{C}$ 时,花粉管长度基本达到最长(138.3~344.6 μm),平均为216.6 μm ,仅比24 $^{\circ}\text{C}$ 处理组略有提高;当培养温度为32 $^{\circ}\text{C}$ 时,花粉管长度明显比28 $^{\circ}\text{C}$ 处理组的短,为66.1~135.7 μm ,平均为96.2 μm ,仅为28 $^{\circ}\text{C}$ 处理组的44.4%;当培养温度为36 $^{\circ}\text{C}$ 时,花粉管长度最短(86.9~32.0 μm),平均为60.8 μm ,仅为28 $^{\circ}\text{C}$ 处理组的28.1%。表明:在19 $^{\circ}\text{C}$ ~28 $^{\circ}\text{C}$ 范围内,花粉管长度随培养温度升高而明显增加;而在28 $^{\circ}\text{C}$ ~36 $^{\circ}\text{C}$ 范围内,花粉管长度随培养温度升高而显著下降。

由表2和表3还可以看出,在同一培养温度下,不同树种甚至同一树种不同产地样品花粉萌发率和花粉管长度有显著差异($P < 0.05$),这一方面与不同样品花粉活力差异有关,另一方面也与不同树种花粉对温度的敏感性有关。另外,在较低温度(19 $^{\circ}\text{C}$)下各样品的花粉萌发率和花粉管长度均高于较高温度(32 $^{\circ}\text{C}$ 和36 $^{\circ}\text{C}$)下,说明供试各树种花粉对低温的适应性高于对高温的适应性。

方差分析结果表明,不同培养温度间的花粉管长度差异达到极显著水平 ($P < 0.01$),但不同树种间的花粉萌发率仅在 1 号楸树样品 (CB-1) 和黄金树间存在显著差异 ($P < 0.05$),其他树种间差异不

显著 ($P > 0.05$)。说明花粉管长度较花粉萌发率对培养温度更敏感。研究结果表明,高温和低温均不利于梓属各供试树种的花粉萌发和花粉管生长, $24\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 是各树种花粉离体培养的适宜温度。

表 2 不同培养温度对梓属不同树种花粉萌发率的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 2 Effect of different culture temperatures on pollen germination rate of different tree species of *Catalpa* Scop. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

温度/ $^{\circ}\text{C}$ Temperature	各样品花粉萌发率/% Pollen germination rate of different samples				
	CB-1	CB-2	CF	CS	CO
19	41.5 ± 2.1	31.5 ± 4.2	31.0 ± 3.5	61.0 ± 4.2	46.3 ± 3.2
24	83.8 ± 3.2	88.0 ± 3.5	86.0 ± 2.8	88.5 ± 3.5	90.8 ± 4.6
28	86.5 ± 2.1	87.5 ± 2.1	88.5 ± 10.6	88.5 ± 2.1	87.5 ± 2.1
32	30.5 ± 4.9	33.5 ± 4.2	17.5 ± 2.1	43.3 ± 4.6	42.3 ± 1.8
36	7.8 ± 3.2	5.3 ± 4.6	12.5 ± 3.5	14.0 ± 3.5	7.0 ± 1.4

¹⁾CB: 楸树 *Catalpa bungei* C. A. Mey.; CF: 滇楸 *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour; CS: 黄金树 *C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelm.; CO: 梓树 *C. ovata* G. Don.

表 3 不同培养温度对梓属不同树种花粉管长度的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 3 Effect of different culture temperatures on pollen tube length of different tree species of *Catalpa* Scop. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

温度/ $^{\circ}\text{C}$ Temperature	各样品花粉管长度/ μm Pollen tube length of different samples				
	CB-1	CB-2	CF	CS	CO
19	272.0 ± 4.9	117.4 ± 2.4	122.5 ± 3.0	166.8 ± 2.3	98.9 ± 3.3
24	340.7 ± 13.3	177.3 ± 4.2	172.3 ± 2.9	233.7 ± 2.8	146.9 ± 3.4
28	344.6 ± 5.8	178.8 ± 2.3	183.9 ± 4.0	237.4 ± 4.6	138.3 ± 2.3
32	106.4 ± 3.7	75.2 ± 2.7	97.8 ± 2.2	135.7 ± 3.5	66.1 ± 2.4
36	76.5 ± 3.0	32.0 ± 0.8	86.9 ± 2.4	65.3 ± 2.2	43.5 ± 3.5

¹⁾CB: 楸树 *Catalpa bungei* C. A. Mey.; CF: 滇楸 *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour; CS: 黄金树 *C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelm.; CO: 梓树 *C. ovata* G. Don.

2.2.2 液体培养基的不同 pH 值对花粉离体萌发的影响 在不同 pH 值的液体培养基中梓属 4 个树种 5 个新鲜花粉样品花粉萌发率和花粉管长度分别见表 4 和表 5。

由表 4 可见,液体培养基的 pH 值对花粉萌发率有明显影响。当 pH 值为 5.0 和 5.6 时,各树种的花粉萌发率较高(均在 86% 以上)且差异较小,花粉萌

发率的平均值分别为 87.4% 和 87.8%;当 pH 值为 6.5 时,各树种的花粉萌发率均小于 60%,平均花粉萌发率为 53.4%;而 pH 值为 7.0 时,各树种的花粉萌发率显著降低,平均花粉萌发率为 32.8%;而 pH 值达到 8.0 时,花粉萌发率最低,平均为 9.7%。实验结果显示,在 pH 5.6 ~ pH 8.0 范围内,随液体培养基 pH 值的提高,各树种的花粉萌发率逐渐降低。

表 4 液体培养基的不同 pH 值对梓属不同树种花粉萌发率的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 4 Effect of different pH values of liquid medium on pollen germination rate of different tree species of *Catalpa* Scop. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

pH	各样品花粉萌发率/% Pollen germination rate of different samples				
	CB-1	CB-2	CF	CS	CO
pH 5.0	86.5 ± 2.1	88.5 ± 3.5	86.0 ± 4.2	88.5 ± 4.9	87.5 ± 2.1
pH 5.6	86.0 ± 2.8	87.5 ± 2.1	88.0 ± 2.8	89.5 ± 2.1	88.0 ± 2.8
pH 6.5	54.0 ± 4.2	53.0 ± 3.5	44.0 ± 3.5	58.0 ± 4.2	58.0 ± 4.2
pH 7.0	36.0 ± 4.2	23.5 ± 4.9	28.5 ± 4.9	37.5 ± 3.5	38.5 ± 4.2
pH 8.0	12.5 ± 4.2	10.5 ± 2.1	6.8 ± 4.6	14.0 ± 4.2	4.5 ± 4.2

¹⁾CB: 楸树 *Catalpa bungei* C. A. Mey.; CF: 滇楸 *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour; CS: 黄金树 *C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelm.; CO: 梓树 *C. ovata* G. Don.

表5 液体培养基的不同 pH 值对梓属不同树种花粉管长度的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾Table 5 Effect of different pH values of liquid medium on pollen tube length of different tree species of *Catalpa* Scop. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

pH	各样品的花粉管长度/ μm Pollen tube length of different samples				
	CB-1	CB-2	CF	CS	CO
pH 5.0	335.5 \pm 4.5	178.3 \pm 6.0	166.8 \pm 5.7	232.5 \pm 3.6	143.9 \pm 4.0
pH 5.6	342.9 \pm 3.4	177.4 \pm 5.2	183.3 \pm 9.9	239.9 \pm 5.4	144.0 \pm 4.4
pH 6.5	216.4 \pm 3.7	105.5 \pm 3.6	119.9 \pm 0.8	199.9 \pm 2.9	112.5 \pm 2.9
pH 7.0	158.1 \pm 3.1	79.3 \pm 2.8	74.0 \pm 3.7	121.0 \pm 2.7	94.4 \pm 3.5
pH 8.0	95.5 \pm 4.6	39.4 \pm 2.6	37.4 \pm 4.5	53.7 \pm 2.5	41.9 \pm 2.7

¹⁾ CB: 楸树 *Catalpa bungei* C. A. Mey.; CF: 滇楸 *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour; CS: 黄金树 *C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelmann; CO: 梓树 *C. ovata* G. Don.

液体培养基的 pH 值对花粉管长度也有明显影响,其影响趋势与花粉萌发率基本一致。当 pH 值为 5.0 和 5.6 时,各树种花粉管长度的平均值分别为 211.4 和 217.5 μm ,且差异较小;当 pH 值大于 5.6 时,随 pH 值的提高,花粉管长度逐渐降低,但不同树种降幅差异较大;当 pH 值为 6.5 时,花粉管长度明显降低,平均值为 150.8 μm ,其中楸树(CB-1 和 CB-2)和滇楸降幅较大,黄金树和梓树降幅较小;当 pH 值为 7.0 时,花粉管长度平均值又降至 105.4 μm ,其中楸树(CB-1 和 CB-2)和梓树的降幅相对较小,而滇楸和黄金树的降幅相对较大;当 pH 值为 8.0 时,各树种花粉管长度最短,平均值仅为 53.6 μm ,仅为 pH 5.6 处理组的 24.6%。

方差分析结果表明,不同树种间的花粉萌发率和花粉管长度存在极显著差异($P < 0.01$),不同 pH 值处理间的花粉管长度差异达到极显著水平($P < 0.01$),但不同处理间花粉萌发率差异未达到显著水平($P > 0.05$),表明液体培养基的 pH 值变化对花粉

管长度的影响效应大于花粉萌发率。研究结果表明,用于梓属各供试树种离体花粉培养的液体培养基适宜的 pH 范围为 pH 5.0 ~ pH 5.6。

2.2.3 液体培养基中不同蔗糖浓度对花粉离体萌发的影响 蔗糖在培养基中起着维持花粉与培养基之间的渗透平衡作用,同时也作为营养和能量来源供花粉管生长之需。液体培养基中不同蔗糖浓度对 4 个树种 5 个新鲜花粉样品离体萌发的影响分别见表 6 和表 7。

由表 6 可见,液体培养基中的蔗糖浓度对花粉萌发率有较大的影响。在 0 ~ 15 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内,随蔗糖浓度升高,花粉萌发率逐渐提高;在 15 ~ 25 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内,随蔗糖浓度升高,花粉萌发率小幅波动,总体上呈现缓慢降低的趋势;在 25 ~ 40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围,随蔗糖浓度升高,花粉萌发率大幅降低。当蔗糖浓度达到 15 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,花粉萌发率急剧提高并达到最高,花粉萌发率平均值为 87.6%,与 10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的花粉萌发率平均值(24.3%)相

表6 液体培养基中不同蔗糖浓度对梓属不同树种花粉萌发率的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾Table 6 Effect of different concentrations of sugar in liquid medium on pollen germination rate of different tree species of *Catalpa* Scop. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

蔗糖浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ Conc. of sugar	各样品的花粉萌发率/% Pollen germination rate of different samples				
	CB-1	CB-2	CF	CS	CO
0	0	5.5 \pm 6.4	0	5.5 \pm 3.5	7.0 \pm 4.9
5	0	9.0 \pm 5.7	9.0 \pm 5.7	6.5 \pm 2.1	7.5 \pm 3.5
10	24.0 \pm 3.5	24.8 \pm 5.3	34.0 \pm 4.2	24.0 \pm 4.2	14.5 \pm 5.7
15	86.5 \pm 3.5	87.5 \pm 4.9	88.0 \pm 4.2	88.5 \pm 4.9	87.5 \pm 3.5
20	81.0 \pm 3.5	83.0 \pm 4.2	82.5 \pm 3.5	85.0 \pm 2.8	82.5 \pm 2.1
25	81.8 \pm 3.9	84.0 \pm 4.2	78.5 \pm 3.5	83.5 \pm 2.1	81.3 \pm 3.9
30	21.0 \pm 3.7	12.5 \pm 3.5	24.5 \pm 5.7	7.0 \pm 5.7	17.5 \pm 2.1
35	4.5 \pm 5.7	8.0 \pm 4.2	0	0	5.5 \pm 3.5
40	0	8.2 \pm 5.2	0	0	0

¹⁾ CB: 楸树 *Catalpa bungei* C. A. Mey.; CF: 滇楸 *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour; CS: 黄金树 *C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelmann; CO: 梓树 *C. ovata* G. Don.

表7 液体培养基中不同蔗糖浓度对梓属不同树种花粉管长度的影响($\bar{X} \pm SD$)¹⁾Table 7 Effect of different concentrations of sugar in liquid medium on pollen tube length of different tree species of *Catalpa* Scop. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

蔗糖浓度/g · L ⁻¹ Conc. of sugar	各样品的花粉管长度/μm Pollen tube length of different samples				
	CB-1	CB-2	CF	CS	CO
0	34.0 ± 3.5	41.2 ± 4.3	18.1 ± 3.1	92.9 ± 3.8	36.1 ± 3.4
5	39.1 ± 3.1	49.5 ± 4.0	42.0 ± 3.5	136.3 ± 6.4	45.0 ± 2.8
10	62.5 ± 4.2	139.8 ± 3.1	63.8 ± 7.7	180.9 ± 5.7	89.5 ± 2.1
15	342.1 ± 6.7	178.2 ± 16.8	175.1 ± 10.3	237.1 ± 9.3	143.9 ± 5.6
20	306.6 ± 6.2	166.9 ± 6.3	188.2 ± 4.3	211.4 ± 3.7	132.8 ± 2.4
25	353.7 ± 7.7	159.9 ± 3.5	171.6 ± 8.1	223.6 ± 8.9	112.9 ± 5.7
30	115.7 ± 3.4	133.4 ± 3.5	104.9 ± 4.4	62.7 ± 4.5	91.1 ± 4.9
35	66.5 ± 3.6	30.8 ± 2.8	14.8 ± 3.6	19.9 ± 3.5	31.8 ± 3.4
40	31.5 ± 4.6	51.9 ± 2.7	13.6 ± 3.3	9.9 ± 0.1	15.3 ± 3.7

¹⁾CB: 楸树 *Catalpa bungei* C. A. Mey.; CF: 滇楸 *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour; CS: 黄金树 *C. speciosa* (Warder ex Barney) Engelman; CO: 梓树 *C. ovata* G. Don.

比,提高了2.6倍。蔗糖浓度在15~25 g · L⁻¹时,各树种均保持较高的花粉萌发率,平均值均在80%以上。当蔗糖浓度低于或等于10 g · L⁻¹、高于或等于30 g · L⁻¹时,花粉萌发率均很低,部分花粉样品的萌发率甚至为0。当蔗糖浓度达到40 g · L⁻¹时,除楸树(CB-1)外,其他4个样品的花粉萌发率均为0。

由表7可见,液体培养基中蔗糖浓度的变化对花粉管长度也有较大的影响。与花粉萌发率的变化趋势相似,当液体培养基中蔗糖浓度低于15 g · L⁻¹或高于25 g · L⁻¹时,各树种的花粉管长度均明显降低,而在15~25 g · L⁻¹浓度范围内,各树种的花粉管长度明显增加,并窄幅波动达到最高值,不同样品花粉管长度最高值所对应的最佳蔗糖浓度并不一致,楸树(CB-2)、黄金树和梓树的花粉管长度最高值对应的蔗糖浓度为15 g · L⁻¹,而楸树(CB-1)和滇楸花粉管长度最高值对应的蔗糖浓度分别为25和20 g · L⁻¹。

方差分析结果表明,不同树种间和不同蔗糖浓度处理间的花粉萌发率均存在极显著差异($P < 0.01$),不同树种间的花粉管长度也存在极显著差异($P < 0.01$),但蔗糖浓度为15、20和25 g · L⁻¹的3个处理组间的花粉管长度差异不显著($P > 0.05$)。研究表明,用于梓属各供试树种花粉离体培养的液体培养基中适宜的蔗糖浓度为15~25 g · L⁻¹。

2.2.4 液体培养基中添加不同浓度PEG-4000对花粉离体萌发的影响 在液体培养基中添加不同浓度PEG-4000对4个树种5个新鲜花粉样品离体萌

发的影响见表8和表9。

由表8可见,在添加了不同浓度PEG-4000的液体培养基中培养3 h,4个树种5个花粉样品花粉萌发率明显低于不添加PEG-4000的对照组,即不同浓度PEG-4000对培养3 h的花粉萌发有明显的抑制作用。培养3 h时,对照组各树种的花粉萌发率平均值为79.1%;而同期5~20 g · L⁻¹PEG-4000处理组各树种的花粉萌发率仅为28%~45%;当PEG-4000浓度增加至25 g · L⁻¹以上时,除梓树外,各树种的花粉萌发率基本都陡降至10%以下;当PEG-4000浓度为40 g · L⁻¹时,各树种花粉均不萌发。在添加了不同浓度PEG-4000的液体培养基中培养6 h,各树种的花粉萌发率较3 h时明显提高,对照组各树种的花粉萌发率均达到86%以上,平均为87.6%;同期5~20 g · L⁻¹PEG-4000处理组各树种的花粉萌发率随PEG-4000浓度的提高缓幅波动增加,当PEG-4000浓度为20 g · L⁻¹时,各树种花粉萌发率的平均值达到最高(92%);而后随PEG-4000浓度的增加(25~35 g · L⁻¹),各树种的花粉萌发率快速下降,但不同树种花粉萌发率快速下降所对应的PEG-4000浓度不同。PEG-4000浓度从20 g · L⁻¹提高至25 g · L⁻¹,梓树的花粉萌发率从92.5%降至35.5%;PEG-4000浓度从25 g · L⁻¹提高至30 g · L⁻¹,楸树(CB-2)和黄金树的花粉萌发率分别从70.5%和66.0%下降至9.0%和8.5%;当PEG-4000为40 g · L⁻¹时,各树种的花粉萌发率均为0。综上所述,在5~20 g · L⁻¹浓度范围内PEG-4000对各树种的花粉萌发率在短期(3 h)内有限制

表 8 液体培养基中添加不同浓度 PEG-4000 对梓属不同树种花粉萌发率的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾Table 8 Effect of different concentrations of PEG-4000 added in liquid medium on pollen germination rate of different tree species of *Catalpa* Scop. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

浓度/g · L ⁻¹ Concentration	培养时间/h Culture time	各样品的花粉萌发率/% Pollen germination rate of different samples				
		CB-1	CB-2	CF	CS	CO
0 (CK)	3	78.5 ± 3.5	79.0 ± 0.7	77.0 ± 3.5	80.0 ± 3.5	81.0 ± 3.5
	6	86.0 ± 5.7	87.5 ± 3.5	88.5 ± 4.9	89.0 ± 4.2	88.0 ± 8.5
5	3	34.8 ± 5.3	28.0 ± 4.2	29.5 ± 3.5	38.5 ± 3.5	37.5 ± 4.9
	6	85.5 ± 0.7	89.5 ± 3.5	89.5 ± 6.4	87.5 ± 3.5	88.5 ± 3.5
10	3	37.5 ± 2.1	30.0 ± 4.2	30.5 ± 3.5	41.0 ± 4.2	39.0 ± 5.7
	6	87.5 ± 3.5	91.5 ± 3.5	91.5 ± 2.1	90.5 ± 3.5	91.5 ± 3.5
15	3	35.5 ± 3.5	28.0 ± 4.2	31.3 ± 4.6	36.0 ± 4.2	35.5 ± 3.5
	6	87.5 ± 0.7	90.0 ± 1.4	89.5 ± 3.5	88.0 ± 5.7	88.0 ± 4.2
20	3	40.8 ± 5.3	30.5 ± 3.5	31.5 ± 6.4	46.5 ± 6.4	45.0 ± 4.2
	6	89.0 ± 4.2	93.0 ± 2.8	92.5 ± 3.5	93.0 ± 2.8	92.5 ± 2.1
25	3	7.0 ± 4.2	6.5 ± 3.5	9.0 ± 5.7	9.5 ± 3.5	19.0 ± 9.9
	6	71.5 ± 5.0	70.5 ± 2.1	73.8 ± 5.3	66.0 ± 4.2	35.5 ± 3.5
30	3	5.0 ± 4.2	4.5 ± 3.5	6.0 ± 6.4	5.0 ± 4.2	8.5 ± 2.1
	6	54.8 ± 5.3	9.0 ± 3.5	51.5 ± 4.9	8.5 ± 6.4	11.0 ± 4.2
35	3	4.5 ± 3.5	2.5 ± 3.5	3.5 ± 4.9	4.0 ± 5.7	3.8 ± 2.5
	6	5.0 ± 5.7	4.8 ± 3.9	6.5 ± 3.5	6.5 ± 7.1	7.0 ± 4.2
40	3	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0

¹⁾ CB: 楸树 *Catalpa bungei* C. A. Mey.; CF: 滇楸 *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour; CS: 黄金树 *C. speciosa* (Wardler ex Barney) Engelman; CO: 梓树 *C. ovata* G. Don.

作用,随培养时间的延长,限制作用解除,花粉萌发率明显提高甚至高于对照。若浓度超过 20 g · L⁻¹,无论培养时间长短,PEG-4000 的抑制作用始终存在,尤其在添加了高浓度(30 ~ 40 g · L⁻¹) PEG-4000 的条件下,供试各树种花粉的萌发率极低甚至不能萌发。

由表 9 可以看出,在液体培养基中添加不同浓度 PEG-4000 对梓属各供试树种的花粉管长度也有明显影响。培养 6 h 后,在 0 ~ 20 g · L⁻¹ 浓度范围内,PEG-4000 对供试各树种花粉管长度的影响不明显,随 PEG-4000 浓度的提高,花粉管长度呈窄幅波动,但仍保持较高水平;当 PEG-4000 浓度达到 25 g · L⁻¹ 时,梓树的花粉管长度明显下降,而其余树种仍维持较高水平甚至有所提高;当 PEG-4000 浓度达到 30 g · L⁻¹ 时,除楸树(CB-2)和滇楸的花粉管长度还保持较高水平外,其他树种均大幅下降;当 PEG-4000 浓度达到 35 ~ 40 g · L⁻¹ 时,各树种的花粉管长度均显著下降并明显短于对照组,40 g · L⁻¹ 处理组各树种的花粉管长度均为 0。经过 24 h 培养后,除对照组各树种的花粉管长度与 6 h 时差异不大外,其余各浓度处理组中各树种的花粉管长度均明

显增长;当 PEG-4000 浓度达 5 ~ 20 g · L⁻¹ 时,各树种的花粉管长度随 PEG-4000 浓度升高而显著增加,其中 PEG-4000 浓度为 20 g · L⁻¹ 时,楸树(CB-2)、黄金树和梓树的花粉管长度达到最长;当 PEG 浓度达到 25 g · L⁻¹ 时,楸树(CB-1)、滇楸和黄金树的花粉管长度达到最长,分别为 998.5、528.7 和 711.6 μm,楸树(CB-2)的花粉管长度略为降低,而梓树的花粉管长度明显下降;随 PEG-4000 浓度增加(30 ~ 40 g · L⁻¹),各树种花粉管长度明显降低,至 PEG-4000 浓度为 40 g · L⁻¹ 时花粉不萌发、花粉管长度为 0。综上所述,各树种花粉管长度随培养时间的延长而显著增长,在液体培养基中添加适量(15 ~ 20 g · L⁻¹) 的 PEG-4000 对花粉管生长有明显促进作用,但不同树种花粉萌发所对应的最适 PEG-4000 浓度有一定的差异。

方差分析结果表明,不同树种间的花粉萌发率(培养 3 h 或 6 h)的差异均不显著($P > 0.05$),但不同树种间的花粉管长度(培养 6 h 和 24 h)差异均达到极显著水平($P < 0.01$),说明花粉管长度对液体培养基中 PEG-4000 浓度变化更为敏感。而不同浓度 PEG-4000 处理间花粉萌发率和花粉管长度的差

表9 液体培养基中添加不同浓度 PEG-4000 对梓属不同树种花粉管长度的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾Table 9 Effect of different concentrations of PEG-4000 added in liquid medium on pollen tube length of different tree species of *Catalpa* Scop. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

浓度/g · L ⁻¹ Concentration	培养时间/h Culture time	各样品的花粉管长度/μm Pollen tube length of different samples				
		CB-1	CB-2	CF	CS	CO
0 (CK)	6	344.3 ± 7.1	178.8 ± 0.8	183.9 ± 7.9	237.2 ± 4.9	142.9 ± 6.2
	24	331.7 ± 3.4	174.8 ± 0.7	173.3 ± 1.4	233.5 ± 5.0	137.3 ± 1.1
5	6	295.1 ± 6.4	156.0 ± 3.4	157.9 ± 4.2	208.6 ± 4.0	132.9 ± 3.2
	24	362.8 ± 5.1	195.1 ± 5.4	198.2 ± 0.5	254.4 ± 5.3	187.3 ± 5.5
10	6	338.4 ± 6.4	182.5 ± 4.8	183.4 ± 3.2	242.9 ± 4.6	160.8 ± 3.7
	24	540.9 ± 7.6	204.9 ± 5.5	192.8 ± 3.3	318.4 ± 4.7	189.8 ± 4.8
15	6	326.2 ± 7.1	151.3 ± 3.2	152.5 ± 3.8	194.9 ± 2.5	123.9 ± 2.5
	24	585.9 ± 8.2	192.9 ± 4.0	199.0 ± 5.7	472.7 ± 3.6	445.9 ± 4.6
20	6	315.2 ± 4.8	156.3 ± 3.7	153.3 ± 3.3	204.1 ± 2.5	130.3 ± 2.8
	24	986.9 ± 15.5	505.5 ± 10.8	514.2 ± 10.8	686.2 ± 4.3	513.9 ± 4.3
25	6	328.5 ± 4.1	171.3 ± 4.2	175.2 ± 4.3	225.1 ± 3.4	92.9 ± 3.4
	24	998.5 ± 12.6	476.0 ± 7.1	528.7 ± 20.4	711.6 ± 4.0	138.4 ± 5.4
30	6	317.7 ± 1.3	74.9 ± 1.8	167.2 ± 5.8	135.9 ± 0.2	68.8 ± 2.3
	24	553.4 ± 8.1	133.4 ± 3.6	373.7 ± 2.2	146.0 ± 4.4	90.9 ± 4.5
35	6	148.4 ± 1.2	54.7 ± 0.6	83.8 ± 4.5	65.2 ± 1.3	31.9 ± 2.3
	24	430.7 ± 7.0	89.7 ± 3.3	114.7 ± 0.7	112.8 ± 0.9	54.2 ± 0.6
40	6	0	0	0	0	0
	24	0	0	0	0	0

¹⁾ CB: 楸树 *Catalpa bungei* C. A. Mey.; CF: 滇楸 *C. fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour; CS: 黄金树 *C. speciosa* (Wardler ex Barney) Engelmann; CO: 梓树 *C. ovata* G. Don.

异均达到极显著水平 ($P < 0.01$)。进一步的差异显著性分析表明, 培养 3 h 后, 各处理组与对照组间的花粉萌发率存在明显的差异; 当培养 6 h 后, PEG-4000 浓度为 0 ~ 20 g · L⁻¹ 的各处理间花粉萌发率无明显差异, 但它们与 PEG-4000 浓度为 25、30、35 和 40 g · L⁻¹ 的各处理组间差异显著。结果表明, 在液体培养基中添加适量 PEG-4000 (15 ~ 20 g · L⁻¹) 对供试的梓属各树种的花粉萌发有一定的促进作用。

3 结论和讨论

高等植物的自交不亲和研究是当前植物生物学研究的热点之一, 要了解花粉自交不亲和机理, 首先要对花粉离体萌发和花粉管长度进行研究, 而花粉的萌发状况除与花粉类型、植物种类 (品种) 有关外, 很大程度上还取决于培养条件和培养基组分等外部因子^[8-11]。

花粉只有在一定的培养时间内才能完成其生理生化过程, 不同种类的植物花粉萌发所需的时间不同。莫花浓等^[9]的实验结果显示, 沙田柚 (*Citrus*

maxima 'Shatian Yu') 花粉在培养 3 h 后即萌发; 杜玉虎等^[12]认为, 果梅 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) 花粉的培养时间应达到 24 h; 而在本实验中, 作者以采自南京老山林场的楸树 (CB-1) 花粉为实验材料, 确定了其花粉萌发的适宜培养时间为 6 h。

温度在植物受精过程中也是一个至关重要的因素。温度过低花粉管生长慢, 在花粉管到达胚囊前, 胚囊已失去受精能力; 温度过高则造成花粉死亡而无法萌发, 影响植物的繁殖效率。顾钢等^[13]认为, 橄榄 [*Canarium album* (Lour.) Raeusch.] 花粉萌发的适温范围为 25 °C ~ 30 °C, 低于 10 °C 花粉不萌发, 而高于 35 °C 萌发率则递减。楸树 (CB-1 和 CB-2)、滇楸、黄金树及梓树花粉的适宜萌发温度与橄榄接近, 为 24 °C ~ 28 °C, 培养温度低于或高于此范围, 花粉的萌发情况均较差。

在花粉的离体培养过程中, 培养基的 pH 值及其组成成分的配比对花粉萌发影响更为显著, 适宜于多数乔木树种花粉萌发和花粉管生长的培养基中应含有适宜浓度的蔗糖、PEG、硼酸以及一定浓度的钙、镁等营养元素并维持适宜的 pH 值^[11]。蔗糖是培养液中渗透压的调节剂及花粉萌发的能量来源,

其浓度的高低对花粉萌发起至关重要的作用。杏 (*Armeniaca vulgaris* Lam.) 花粉离体培养时适宜的蔗糖浓度为 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 李 (*Prunus salicina* Lindl.) 等果树花粉萌发的适宜蔗糖浓度则为 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[14], 沙田柚花粉萌发时的最佳蔗糖浓度为 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[9]。本实验中, 梓属 4 个树种花粉离体培养的适宜蔗糖浓度为 $15 \sim 25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 低于 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时花粉萌发率及花粉管长度均较低, 但高于 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时花粉萌发率及花粉管长度又显著下降甚至导致花粉不萌发, 这可能与高浓度蔗糖使培养液渗透压增大, 进而影响花粉粒细胞的水分平衡有关。

培养液 pH 值的高低对花粉萌发有一定的影响, 许多的研究结果显示, 适宜的花粉离体培养液为弱酸性。果梅花粉培养液的适宜 pH 值为 pH 6.5^[12]; 适宜的枇杷 [*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.] 花粉离体培养液 pH 值为 4.0 ~ 6.0^[15]; 本实验中, 楸树、滇楸、黄金树及梓树花粉离体萌发时适宜的培养液 pH 值为 5.0 ~ 5.6, 与前述研究结果接近, 也为弱酸性。

聚乙二醇 (PEG) 是一种惰性物质, 其性状接近花柱表面的物理状态, 能使花粉缓慢水合, 较长久地维持花粉膨压^[16]。培养液中添加一定浓度的 PEG 对沙田柚花粉管的生长有促进作用, 适宜沙田柚花粉管生长的 PEG 浓度为 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 浓度太高则会抑制其生长^[9]。而本实验结果表明, 液体培养基中添加不同浓度 PEG-4000 对楸树、滇楸、黄金树及梓树离体花粉萌发和花粉管长度有明显的影响, 特别是在较短的培养时间内明显抑制花粉管萌发和花粉管生长, 但随培养时间的延长, 低浓度的 PEG-4000 ($5 \sim 25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 显示出对花粉萌发的促进作用, 但高浓度的 PEG-4000 仍然显著抑制供试各树种花粉萌发。综合各供试树种花粉萌发率和花粉管长度的数据, 确定在液体培养基中添加 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ PEG-4000 较为适宜。

另外, 不同树种甚至同一树种不同种源的花粉离体培养适宜的培养温度、液体培养基的 pH 值及蔗糖浓度、PEG-4000 浓度等因素也有一定的差异, 因

此, 在确定梓属不同树种花粉离体培养条件时, 应根据种类或种源进行一定的调整。

参考文献:

- [1] 郭从俭, 钱士金, 王连卿, 等. 楸树栽培[M]. 北京: 中国林业出版社, 1988.
- [2] 张 锦, 田菊芬. 优良乡土树种楸树种质资源及发展策略[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(6): 1012-1013.
- [3] 乔勇进, 夏 阳, 梁慧敏, 等. 试论楸树的生物生态学特性及发展前景[J]. 防护林科技, 2003(4): 23-24.
- [4] 杨玉珍, 王顺财, 彭方仁. 我国楸树研究现状及开发利用策略[J]. 林业科技开发, 2006, 20(3): 4-7.
- [5] 王改萍, 彭方仁, 徐 涛, 等. 几种不同楸树花粉萌发率的测定及花粉超低温保存方法[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2008, 32(5): 123-126.
- [6] 梁有旺, 杜旭华, 王顺财, 等. 楸树嫩枝扦插生根的主要影响因素分析[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(4): 46-50.
- [7] Brewbaker J L, Kwack B H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth[J]. American Journal of Botany, 1963, 50: 859-865.
- [8] Mulcaphy G B, Mulcaphy D L. The effect of supplemented media on the growth *in vitro* of bi- and tri-nucleate pollen [J]. Plant Science, 1988, 55: 213-216.
- [9] 莫花浓. 沙田柚离体花粉管的培养研究[J]. 玉林师范学院学报: 自然科学版, 2006, 27(5): 83-85.
- [10] Kao T H, Tsukamoto T. The molecular and genetic bases of S-RNase-based self-incompatibility [J]. Plant Cell, 2004, 16 (Suppl): 72-83.
- [11] 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.
- [12] 杜玉虎, 张绍铃, 姜雪婷, 等. 果梅花粉离体萌发及花粉管生长特性研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(9): 1846-1852.
- [13] 顾 钢, 苏学强, 林伟杰, 等. 橄榄花粉生活力相关因素对育种的影响[J]. 福建果树, 1999(3): 1-4.
- [14] 赵长星, 刘成连. 培养基种类及蔗糖浓度对部分果树花粉发芽率的影响[J]. 河北林果研究, 2001, 16(3): 240-243.
- [15] 丁长奎, 陈其峰, 夏起洲, 等. 营养元素与生长调节剂对枇杷花粉萌发和座果的影响[J]. 中国果树, 1991(4): 18-20, 40.
- [16] Hülskamp M, Kopczak S D, Horejsi T F, et al. Identification of genes required for pollen-stigma recognition in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 1995, 8(5): 703-714.