

**Li⁺、新霉素和 Ca²⁺ 对苹果花粉萌发与
花粉管生长的影响**

关军锋¹ 马智宏² 李红琴²

(1 河北农林科学院农业物理生理生化研究所 石家庄 050051)

(2 河北农业技术师范学院园艺系 昌黎 066600)

**EFFECTS OF Li⁺, NEOMYCIN AND Ca²⁺ ON POLLEN
GERMINATION AND POLLEN TUBE GROWTH OF APPLE**

Guan Junfeng¹ Ma Zhihong² Li Hongqin²

(1 *Institute of Agro-Physics, Plant Physiology and Biochemistry,
Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences Shijiazhuang 050051*)
(2 *Department of Horticulture, Hebei Agrrotechnical Teachers College Changli 066600*)

关键词 苹果, Li⁺, 新霉素, Ca²⁺, 花粉萌发, 花粉管生长

Key words Apple, Li⁺, Neomycin, Ca²⁺, Pollen germination, Pollen tube growth

细胞外 Ca²⁺ 及其跨膜内流在花粉萌发和花粉管生长中具有重要作用^[1], 磷脂酰肌醇(PI)系统产生的 IP₃(肌醇-1, 4, 5-三磷酸)能诱导细胞内 Ca²⁺ 库释放 Ca²⁺^[2,3], IP₃ 及其受体调节花粉萌发和花粉管生长^[4~7], 但它们之间的作用及关系还不清楚。笔者通过抑制剂对细胞内 Ca²⁺ 的调节, 以期进一步探讨细胞内 Ca²⁺ 库的 Ca²⁺ 释放在花粉萌发和花粉管生长中的作用及其和细胞外 Ca²⁺ 及其内流的关系。

1 材料与方法

将‘国光’、‘富士’苹果(*Malus pumila* Mill.) 花粉播种在基本培养基(10% 蔗糖+ 100 μg/g 硼酸)^[8] 中。处理时向基本培养基内加入不同浓度的 Li⁺、Ca²⁺、新霉素、EGTA、La³⁺ 等; 在 25℃、保湿、避光的条件下培养 2 h; - 20℃ 终止花粉萌发和花粉管生长。融化后观察。

用 SXP-18 型显微镜(10×16) 观察花粉萌发, 以花粉管长度为花粉粒直径一半以上为萌发标准, 统计 30 个视野的萌发率; 同时, 用目镜测微尺测定 60 个花粉管长度。每处理重复 3 次。

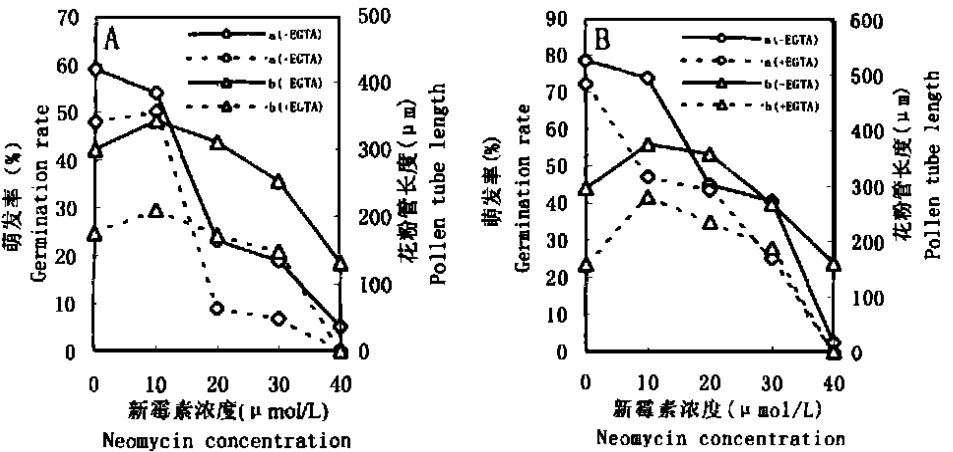
2 实验结果

2.1 Li⁺、EGTA 的作用

Li⁺ 是 PI 系统的关键酶——肌醇磷酸脂酶的特异性抑制剂^[2,3,7], 可明显抑制花粉萌发与花粉管生长, 随 Li⁺ 浓度(0~6 mmol/L) 增加而增强; 同时加入 Ca²⁺ 专一性螯合剂 EGTA(0.1 mmol/L), Li⁺ 的抑制效应明显增强, 甚至完全抑制花粉萌发与花粉管生长。

2.2 新霉素、EGTA 的作用

新霉素是磷脂酶 C (PLC) 的特异性抑制剂^[2,5,6]。在低浓度(10、20 $\mu\text{mol/L}$) 时, 它能促进富士苹果的 花粉管生长, 但抑制花粉萌发; 高浓度(30、40 $\mu\text{mol/L}$) 时, 抑制花粉萌发与花粉管生长; 同时加入 EGTA, 这种抑制作用增强, 甚至完全抑制之(图 1)。



A. 国光(Ralls); B. 富士(Fuji)
图 1 新霉素、EGTA(0.1 mmol/L)对苹果花粉萌发(a)与花粉管生长(b)的影响
Fig. 1 The effects of neomycin and EGTA(0.1 mmol/L)on pollen germination (a) and pollen tube growth(b) of apple

2.3 Li^+ 、 Ca^{2+} 和 La^{3+} 的作用

外加 Ca^{2+} 时, 可显著逆转 Li^+ (6mol/L) 对花粉萌发与花粉管生长的抑制效应, 加入 Ca^{2+} 通道阻塞剂 La^{3+} 后, 削弱 Ca^{2+} 对花粉管生长的逆转, 但对花粉萌发的影响不显著(表 1)。

表 1 LiCl 、 CaCl_2 和 LaCl_3 对苹果花粉萌发与花粉管生长的影响

Table 1 The effects of LiCl , CaCl_2 and LaCl_3 on germination and tube growth of apple pollen			萌发率(%) Germination rate		花粉管长度(μm) Pollen tube length	
LiCl (mmol/L)	CaCl_2 (mmol/L)	LaCl_3 (mmol/L)	国光 Ralls	富士 Fuji	国光 Ralls	富士 Fuji
0	0	0	61.14a*	86.54a	437.14a	453.00a
6	0	0	14.32c	29.40c	63.30c	58.47c
6	1	0	46.38b	60.37b	425.84a	436.32a
6	1	0.01	39.79b	51.85b	335.51b	356.06b

* 表中相同字母标记的数字表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著(Date in the table marked with same letter means no significant difference in $P=0.05$ level)。

2.4 新霉素、 Ca^{2+} 和 La^{3+} 的作用

外源 Ca^{2+} (1mmol/L) 显著逆转新霉素(40 $\mu\text{mol/L}$) 对苹果花粉萌发与花粉管生长的抑制效应, La^{3+} 削弱这种效应(表 2)。

表 2 新霉素、CaCl₂ 和 LaCl₃ 对苹果花粉萌发与花粉管生长的影响

Table 2 The effects of neomycin, CaCl₂ and LaCl₃ on germination and tube growth of apple pollen

新霉素 Neomycin (μmol/L)	CaCl ₂ (mmol/L)	LaCl ₃ (mmol/L)	萌发率(%) Germination rate		花粉管长度(μm) Pollen tube length	
			国光 Ralls	富士 Fuji	国光 Ralls	富士 Fuji
0	0	0	54.28a*	84.16a	231.53a	284.63a
40	0	0	4.64c	2.87d	100.67b	155.83b
40	1	0	12.73b	35.03b	213.75a	173.62b
40	1	0.01	7.52c	17.05c	49.09c	62.33c

* 表中相同字母标记的数字表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著(Data in the table marked with same letter means no significant difference in $P=0.05$ level)。

3 讨论

高浓度 Li⁺、新霉素可显著抑制苹果花粉萌发和花粉管的生长(图 1)。暗示 PI 信使系统参与了花粉萌发和花粉管的生长,特别是通过严重抑制 PLC 途径,减少从胞内 Ca²⁺ 库中动员出的游离 Ca²⁺ 时,甚至可完全抑制花粉的萌发与花粉管生长。这是因为抑制剂 Li⁺、新霉素均不利于花粉内 IP₃ 的产生^[6~7],从而限制胞内 Ca²⁺ 库中游离 Ca²⁺ 释放,破坏花粉管内 Ca²⁺ 梯度^[6,7]。

上述胞内 Ca²⁺ 库中游离 Ca²⁺ 释放对花粉萌发和花粉管生长的调节与胞外 Ca²⁺ 及其内流有密切关系。减 Ca²⁺ (+ EGTA)、增 Ca²⁺ (+ CaCl₂) 分别增强、减弱 Li⁺ 和新霉素抑制花粉萌发与花粉管生长效应(图 1,表 1,表 2),进一步证明胞外 Ca²⁺ 及其内流与胞内 Ca²⁺ 库中游离 Ca²⁺ 释放共同调节着花粉萌发和花粉管的生长,它们的作用是相互联系的,这种通过质膜 Ca²⁺ 通道流入的 Ca²⁺ 的主要作用是激活 PLC 和 IP₃ 受体^[8]。La³⁺ 对 Ca²⁺ 逆转 Li⁺ 抑制花粉萌发的效应作用不显著,说明 Li⁺ 抑制花粉萌发与质膜 Ca²⁺ 通道的关系不大,这一点显然不同于 La³⁺ 削弱 Ca²⁺ 对 Li⁺ 抑制花粉管生长的逆转(表 1);而 La³⁺ 削弱了 Ca²⁺ 逆转新霉素抑制花粉萌发和花粉管生长效应(表 2),说明同时抑制胞外 Ca²⁺ 通过质膜 Ca²⁺ 通道进入到细胞内与细胞内 Ca²⁺ 库的 Ca²⁺ 释放时,更加不利于花粉萌发与花粉管生长;也表明 Li⁺ 和新霉素的作用机制是不同的。

参 考 文 献

1 龚明,曹宗巽.钙和钙调素对花粉萌发和花粉管生长的调控.植物生理学通讯,1995,31(5):321~328

2 郝鲁文,余叔文.植物细胞内信使及其功能.见:余叔文主编.植物生理与分子生物学.北京:科学出版社,1992.123~140

3 孙大业,郭艳林,马力耕.细胞信号转导.北京:科学出版社,1998.71~90

4 马力耕,徐小冬,崔素娟等.肌醇磷脂信号途径参与胞外钙调素启动花粉萌发和花粉管伸长.植物生理学报,1998,24(2):196~200

5 张骁,杨文伟,宋纯鹏等.苹果花粉管生长过程中钙梯度的形成初探.植物生理学通讯,1998,34(3):197~200

6 Franklin-Tong V E, Drobak B K, Allan A C *et al.* Growth of pollen tubes of *Popover rhoeas* is regulated by a slow-moving calcium wave propagated by inositol 1,4,5-triphosphate. *Plant Cell*, 1996, 8:1306~1321

7 Zonia L, Tupy J. Lithium-sensitive calcium activity in the germination of apple (*Malus domestica* Brokh.), tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and potato (*Solanum tuberosum* L.) pollen. *J Exp Bot*, 1995, 46:973~979

8 Brewbaker J K, Kwack B H. The essential role of calcium on pollen germination and pollen tube growth. *Amer J Bot*, 1963, 50:859~865