

Li⁺、新霉素和 Ca²⁺ 对苹果花粉萌发与 花粉管生长的影响^①

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 Agrotechnical 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重要作用^{④⑤}, 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⁺^{⑥⑦}, IP₃ 及其受体调节花粉萌发和花粉管生长^{⑧~⑩}, 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)^⑪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

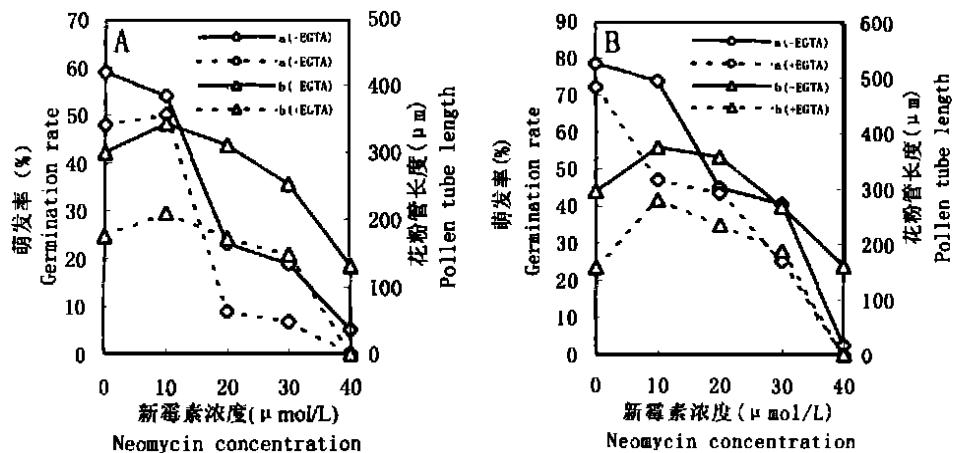
2.1 Li⁺、EGTA的作用

Li⁺是PI系统的关键酶——肌醇磷酸脂酶的特异性抑制剂^{⑫⑬⑭}, 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。

收稿日: 1998-10-30, 修回日: 1998-12-31。第一作者: 男, 1966年出生, 副教授(博士), 主要从事果树生理研究工作。

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 μmol/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 μmol/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⁺、Ca²⁺ 和 La³⁺ 的作用

外加 Ca²⁺ 时, 可显著逆转 Li⁺ (6 mol/L) 对花粉萌发与花粉管生长的抑制效应, 加入 Ca²⁺ 通道阻塞剂 La³⁺ 后, 削弱 Ca²⁺ 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, CaCl₂ 和 LaCl₃ 对苹果花粉萌发与花粉管生长的影响

Table 1 The effects of LiCl, CaCl₂ and LaCl₃ on germination and tube growth of apple pollen

LiCl (mmol/L)	CaCl ₂ (mmol/L)	LaCl ₃ (mmol/L)	萌发率(%)		花粉管长度(μm)	
			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 (Data in the table marked with same letter means no significant difference in P=0.05 level)。

2.4 新霉素、Ca²⁺ 和 La³⁺ 的作用

外源 Ca²⁺ (1 mmol/L) 显著逆转新霉素(40 μmol/L)对苹果花粉萌发与花粉管生长的抑制效应, La³⁺ 削弱这种效应(表 2)。

表 2 新霉素、 CaCl_2 和 LaCl_3 对苹果花粉萌发与花粉管生长的影响Table 2 The effects of neomycin, CaCl_2 and LaCl_3 on germination and tube growth of apple pollen

新霉素 Neomycin ($\mu\text{mol/L}$)	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 Ca^{2+} 库中动员出的游离 Ca^{2+} 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 IP_3 的产生^[6~7], 从而限制胞内 Ca^{2+} 库中游离 Ca^{2+} 释放, 破坏花粉管内 Ca^{2+} 梯度^[6~7]。

上述胞内 Ca^{2+} 库中游离 Ca^{2+} 释放对花粉萌发和花粉管生长的调节与胞外 Ca^{2+} 及其内流有密切关系。减 Ca^{2+} (+EGTA)、增 Ca^{2+} (+ CaCl_2) 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 Ca^{2+} 及其内流与胞内 Ca^{2+} 库中游离 Ca^{2+} 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 Ca^{2+} 通道流入的 Ca^{2+} 的主要作用是激活 PLC 和 IP_3 受体^[8]。 La^{3+} 对 Ca^{2+} 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 Ca^{2+} 通道的关系不大, 这一点显然不同于 La^{3+} 削弱 Ca^{2+} 对 Li^+ 抑制花粉管生长的逆转 (表 1); 而 La^{3+} 削弱了 Ca^{2+} 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 Ca^{2+} 通过质膜 Ca^{2+} 通道进入到细胞内与细胞内 Ca^{2+} 库的 Ca^{2+} 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

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