

万正林, 周艳霞, 邓俭英, 等. 内源激素对同源四倍体黑皮冬瓜自交花粉萌发生长的影响[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(1): 57-63.

内源激素对同源四倍体黑皮冬瓜自交花粉萌发生长的影响

万正林^{1,2,3,4}, 周艳霞^{3,4}, 邓俭英^{3,4}, 李立志^{3,4}, 武 鹏^{3,5}, 龙明华¹

(1 广西大学农学院, 广西南宁 530004; 2 广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 广西南宁 530007;

3 广西现代农业科技示范园, 广西南宁 530007; 4 广西农业科学院蔬菜研究所, 广西南宁 530007;

5 广西农业科学院生物研究所, 广西南宁 530007)

摘要:【目的】探讨同源四倍体黑皮冬瓜 *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn. 花粉萌发生长与内源激素的关系, 为同源四倍体黑皮冬瓜自交低稔性机理研究开拓新思路。【方法】以同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜为试材, 对自交花粉在雌蕊上的萌发与生长情况及花粉与雌蕊中内源激素含量进行比较研究。【结果】同源四倍体黑皮冬瓜自交花粉在柱头上的萌发率低, 花粉管在花柱中生长缓慢, 且花粉管在生长过程中易出现粗细不均匀、结节、先端膨大、双花粉管及扭曲、折叠等现象。同源四倍体黑皮冬瓜花粉和雌蕊中促进花粉萌发生长的内源激素玉米素核苷 (ZR) 和异戊烯基腺苷 (IPA) 含量极显著低于二倍体 ($P<0.01$), 吲哚乙酸 (IAA) 含量略低于二倍体 ($P>0.05$), 雌蕊中的赤霉素 (GA_3) 含量显著低于二倍体 ($P<0.05$), 花粉中的 GA_3 含量略低于二倍体 ($P>0.05$), 而抑制生长类激素脱落酸 (ABA) 含量显著高于二倍体 ($P<0.05$), $w(IAA+GA_3+ZR+IPA):w(ABA)$ 极显著低于二倍体 ($P<0.01$)。【结论】同源四倍体黑皮冬瓜花粉和雌蕊中内源激素调控了花粉萌发生长, 导致花粉管出现异常现象, 是引起同源四倍体黑皮冬瓜自交低稔性的原因之一。

关键词: 黑皮冬瓜; 内源激素; 同源四倍体; 花粉; 花粉管; 雌蕊

中图分类号: S642.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2018)01-0057-07

Effects of endogenous hormones on pollen germination and growth of autotetraploid black wax gourd

WAN Zhenglin^{1,2,3,4}, ZHOU Yanxia^{3,4}, DENG Jianyin^{3,4}, LI Lizhi^{3,4}, WU Peng^{3,5}, LONG Minghua¹

(1 College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2 Guangxi Crop Genetic Improvement and

Biotechnology Laboratory, Nanning 530007, China; 3 Guangxi Demonstration Park for Modern Agricultural

Science and Technology, Nanning 530007, China; 4 Vegetable Research Institute, Guangxi Academy of

Agricultural Science, Nanning 530007, China; 5 Biotechnology Research Institute,

Guangxi Academy of Agricultural Science, Nanning 530007, China)

Abstract: 【Objective】To study the relationship between pollen germination and growth of autotetraploid *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn. and endogenous hormones, and explore new ideas for understanding the low fertility mechanism of autotetraploid *B. hispida*. 【Method】Taking autotetraploid and diploid *B. hispida* as

收稿日期: 2017-08-29 优先出版时间: 2018-01-02
优先出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20180102.1046.002.html>

作者简介: 万正林 (1983—), 男, 副研究员, 博士研究生, E-mail: wanzhenglin0700227@163.com; 通信作者: 龙明华 (1961—), 男, 教授, 博士, E-mail: longmhua@163.com

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科攻 1222009-3D); 国家现代农业产业技术体系广西大宗蔬菜创新团队专项资金 (nycytxgxcxtd-03-10-1); 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD17129042); 广西农业科学院科技发展基金项目 (桂农科 2012JZ12)

materials, germination and growth of self-pollinated pollen in pistil and the contents of endogenous hormones in pollens and pistils were studied. 【Result】 The germination rate of self-pollinated pollen of autotetraploid *B. hispida* was low on the stigma. Pollen tube growth was slow. There were some abnormal phenomenons during growth of pollen tubes, such as uneven thickness, nodule formation, swelling at the tip, two pollen tubes in one pollen, distorted and folded pollen tubes. Compared with diploid *B. hispida*, the pistils and pollens of autotetraploid *B. hispida* had significantly lower zeatin riboside (ZR) and isopentenyl adenosine (IPA) contents ($P<0.01$), significantly lower gibberellin A₃ (GA₃) content ($P<0.05$) in pistils, slightly lower gibberellin A₃ (GA₃) content ($P>0.05$) in pollens, slightly lower indole-3-acetic acid (IAA) content ($P>0.05$), significantly higher abscisic acid (ABA) content ($P<0.05$), and significantly lower ratio of (IAA+GA₃+ZR+IPA) to ABA contents ($P<0.01$). 【Conclusion】 The endogenous hormones in the pistils and pollens of autotetraploid *B. hispida* regulate pollen germination and growth and cause abnormal phenomenons in pollen tubes, which is one of the reasons for the low fertility of autotetraploid *B. hispida*.

Key words: *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.; endogenous hormone; autotetraploid; pollen; pollen tube; pistil

同源四倍体黑皮冬瓜 *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn. 存在明显的自交低稔性^[1]。Hakansson^[2-3]认为, 同源四倍体低稔性的原因应从受精前后来寻找。受精前同源四倍体作物花粉育性低、花粉管生长缓慢是低稔性的原因之一^[4-6]。花粉的育性与花粉母细胞减数分裂存在相关性^[7]。由于同源四倍体的染色体的同质性, 花粉母细胞减数分裂时产生了大量单价体和三价体, 使染色体分配不均, 产生活力低或者无活力的雄配子, 最终引起低稔性^[8]。因此, 花粉母细胞减数分裂异常是改变四倍体育性的细胞遗传因素得到学者的认同^[9-10], 相继在同源四倍体西瓜^[11]、水稻^[6, 12]、萝卜^[13]、青花菜^[14]、甜瓜^[15]、黄瓜^[16]、芜菁^[17]、白菜^[18]、桑^[19]、百合^[20]、蝴蝶兰^[21]等植物上有相关报道。而大量的研究表明, 内源激素在花粉的育性、花粉管的生长及亲和性授粉受精等方面发挥重要作用^[22-27]。魏琼等^[28]研究指出, 低结实性的四倍体水稻花粉活力低、结实率低是由于花粉中的吲哚乙酸 (Indole-3-acetic acid, IAA)、赤霉素 (Gibberellin, GA)、玉米素核苷 (Zeatin riboside, ZR) 含量较低, 而脱落酸 (Abscisic acid, ABA) 含量偏高引起的。谭素英等^[29]研究指出, 引起同源四倍体西瓜花粉萌发率低, 花粉管生长缓慢且在生长过程中出现多种畸形, 是由于四倍体西瓜花粉中的 ZR 含量过高及花粉与柱头中的 (IAA+GA₃)/ABA 比值过低引起的。综上研究结果表明: 受精前引起同源四倍体作物花粉育性低的原因除了花粉母细胞减数分裂外, 还有内源激素的作用。那么在同源四倍体黑皮冬瓜上其内源激素与花粉育性、花粉管生长情况的关系如何呢? 本研究以同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜为试材, 拟从其自交花粉萌发生长情况及花粉与雌蕊中内源激素含量进行

比较分析, 旨在阐明花粉的萌发生长与内源激素的关系, 期待为同源四倍体黑皮冬瓜自交低稔性机理研究开拓新的研究思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

同源四倍体 (6-4×) 及其原二倍体 (6-2×) 黑皮冬瓜材料由广西现代农业科技示范园提供。于 2013 年 8 月 10 日播种, 9 月 1 日按株行距 3 m×2 m 定植于 4 个长 30.0 m、宽 6.5 m 的单栋简易塑料大棚, 采用单蔓单瓜常规整枝方式进行管理。同源四倍体 (6-4×) 是通过秋水仙素处理原二倍体 (6-2×) 获得, 并自交 7 代。

1.2 试验方法

1.2.1 同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜自交花粉在雌蕊上萌发与花粉管在花柱中生长情况观察
参照胡适宜^[30]、谭素英等^[4]的方法略有改良。授粉前 1 天, 将次日即将开放的雌雄花分别套袋。于次日 07:00—10:00 人工自交授粉, 授粉后套住已完成授粉的雌花, 做好标记。于授粉后 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0 和 12.0 h 分别摘取 2×⊗、4×⊗ 冬瓜雌蕊各 5 枚置于 FAA 固定液中保存备用。观察时取出雌蕊依次经过 φ 为 70%、70%、50%、30% 的乙醇溶液和蒸馏水清洗 (各 30 min), 然后用 5 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液软化 10 min, 蒸馏水清洗 3 次, 剥离出柱头置于载玻片上, 加 1 g·L⁻¹ 的苯胺蓝染色液, 盖上玻片在显微镜 Olympus IX51 下观察并拍照。在授粉后 0.5~3.0 h 内随机选取 20 个视野统计花粉萌发率, 重复 3 次。随机选取 20 个已萌发花粉粒, 测定花粉管的生长长度 (mm), 统计单位时间内花粉管生长长度即为花粉管的生长速度

(mm·h⁻¹), 重复 3 次。
花粉萌发率=视野中萌发的花粉粒数/该视野总的花粉粒数×100%。

1.2.2 同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜花粉及雌蕊源激素含量测定 在开花期晴天 08:00 左右, 分别混合收集当天开放的同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜花粉各 5 g, 采集 15 个同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜套袋未授粉的雌蕊 (柱头和花柱), 用液氮速冻, 置于-80 ℃ 冰箱保存备用。按 0.1 g 样品加入 0.9 mL PBS 缓冲液, 分别各取花粉、雌蕊材料加入 0.01 mol·L⁻¹PBS 缓冲液 (pH=7.4), 研磨为匀浆, 转移至 1 mL 离心管中。在 12 000 r·min⁻¹ 下离心 10 min, 收集上清液定容至 1 mL, 上清液即为内源激素提取液。使用上海时代生物科技有限公司提供的植物激素酶联免疫分析试剂盒, 参照试剂盒使用说明测定生长素 (IAA)、赤霉素 (GA₃)、玉米素

核苷 (ZR)、异戊烯基腺苷 (Isopentenyl adenosine, IPA) 和脱落酸 (ABA) 含量, 各内源激素均重复测定 5 次。

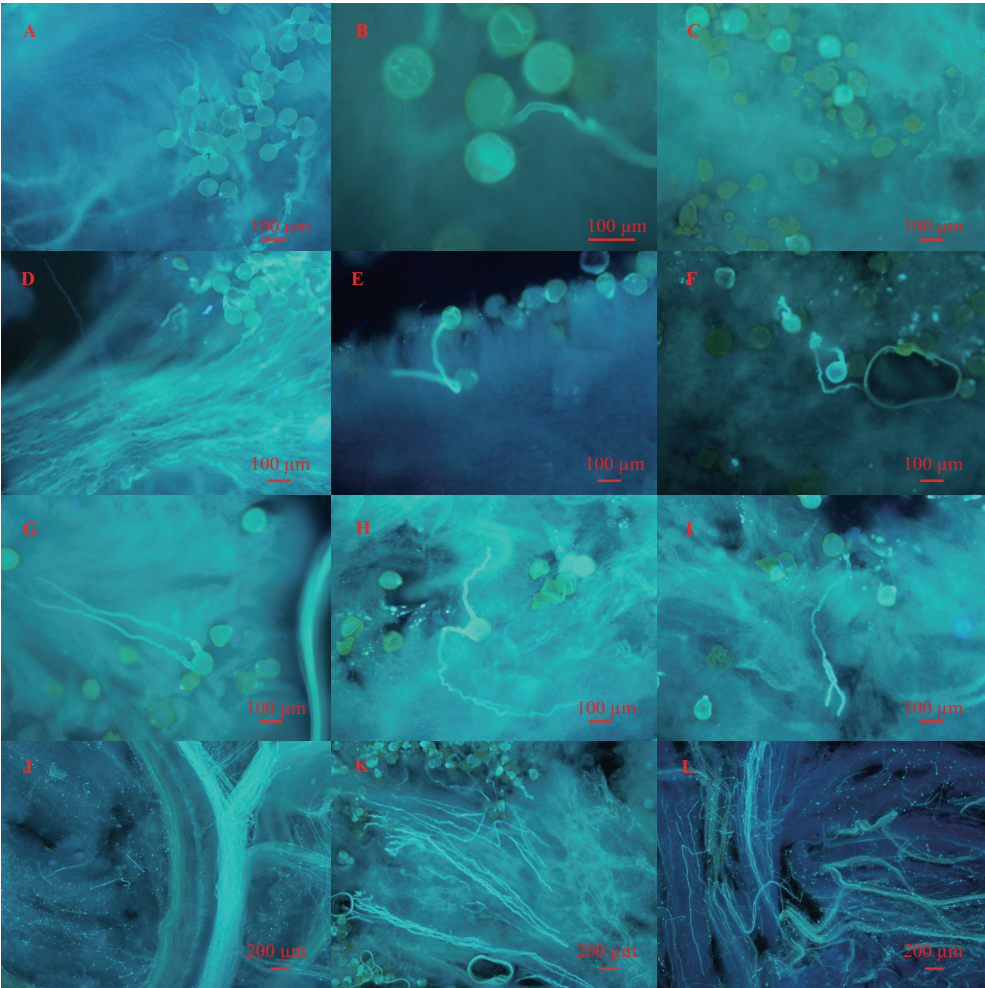
1.3 数据统计与分析

用 EXCEL2003 进行统计, 用 SPSS18.0 软件进行独立样本 *t* 检验。

2 结果与分析

2.1 同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜自交花粉在柱头上萌发及花粉管生长情况

由图 1 可知, 二、四倍体花粉的形态与萌发率存在显著差异。二倍体花粉表现为体积较小, 大小均匀、整齐一致, 呈规则的圆球形 (图 1A); 而四倍体花粉则比二倍体大, 不整齐, 呈圆球形、扁形、三角形或凹陷状等多种形态 (图 1B、1C)。经过人工辅助授粉后, 花粉开始逐渐在雌蕊柱头上萌发。由



A: 授粉后 0.5 h, 2×, 正常二倍体花粉; B 授粉后 2.0 h, 4×, 四倍体正常花粉; C: 授粉后 2.0 h, 4×, 四倍体花粉; D: 授粉后 2.0 h, 2×, 二倍体花粉管从柱头细胞间长出引导组织; E: 授粉后 3.0 h, 4×, 四倍体花粉管扭曲; F: 授粉后 5.0 h, 4×, 四倍体花粉管扭曲; G: 授粉后 3.0 h, 4×, 四倍体双萌发孔花粉管; H: 授粉后 5.0 h, 4×, 四倍体双萌发孔花粉管; I: 授粉后 5.0 h, 4×, 四倍体花粉管中间分叉; J: 授粉后 8.0 h, 2×, 花粉管在花柱内生; K: 授粉后 8.0 h, 4×, 花粉管在花柱内生; L: 授粉后 8.0 h, 2×, 花粉管进入子房

图 1 花粉原位萌发及花粉管生长情况的显微观察

Fig. 1 Observation of pollen germination and growth of pollen tubes under microscope

表 1 可知,授粉 0.5 h 后,二倍体自交花粉开始有少量萌发,而四倍体花粉尚未见萌发。随授粉时间的后延,二、四倍体花粉萌发率均呈上升趋势,均在授粉后 3.0 h 萌发率达到最高,之后花粉萌发基本停止。在自交授粉各时期,二倍体的花粉萌发率均显著高于同源四倍体,在授粉后 3.0 h 时,二倍体自交花粉在柱头上的萌发率达最高为 91.10%,而同源四倍体自交花粉萌发率仅为 62.04%。

表 1 同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜自交花粉在柱头上的萌发率比较¹⁾

Tab. 1 Comparison of pollen germination rate on pistils of autotetraploid and diploid black wax gourd

材料	授粉后不同时间的萌发率/%			
	0.5 h	1.0 h	2.0 h	3.0 h
二倍体	12.59 [*]	51.54 [*]	89.48 [*]	91.10 [*]
四倍体	0	33.00	57.94	62.04

1) “*”表示与相同时间的四倍体之间差异显著($P<0.05$, t 检验)

由图 1 及表 2 可知,二倍体与四倍体花粉管的形态及生长情况存在明显差异。二倍体自交的花粉管生长速度较四倍体快,且花粉管粗细均匀一致,在花柱中能形成明显的花粉管“束”或“流”(图 1D、1J)。而四倍体自交的花粉管生长较慢,花粉管“束”或“流”状不明显(图 1K),且在生长过程中出现较多的异常现象,如:出现花粉管在生长过程中扭曲、缠绕(图 1E、1F),或单个花粉粒同时萌发双花粉管(图 1G、1H),或出现单花粉管在生长中途分叉形成双花粉管情况(图 1I)。由于冬瓜柱头较大,取材料时是从柱头和子房连接处切断摘取,当花粉管生长接近材料底端或者在靠近材料底端时出现生长断节现象即可认为花粉管生长进入子房。由表 2 可知,随自交授粉时间的后延,二、四倍体的花粉管伸长生长速度都呈现逐渐增加趋势。二倍体自交花粉萌发最早,其花粉管的生长速度在各个时间段均明显较四倍体的快,在授粉后 8.0 h 即进入子房(图 1L),而四倍体自交花粉的萌发较慢,其花粉管的伸长生长速度也较慢,在授粉后 12.0 h 还未进入子房。

表 4 同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜花粉内源激素含量比较¹⁾

Tab. 4 Comparison of endogenous hormone contents in pollens of autotetraploid and diploid black wax gourd

材料	$w(\text{ng}\cdot\text{g}^{-1})$					$w(\text{GA}_3+\text{IAA}+\text{ZR}+\text{IPA}):w(\text{ABA})$	
	GA_3	IAA	ZR	IPA	ABA	$\text{GA}_3+\text{IAA}+\text{ZR}+\text{IPA}$	
二倍体	0.786 6	0.038 0	3.126 7 ^{**}	0.053 6 ^{**}	1 241.901	4.004 9 ^{**}	0.003 2 ^{**}
四倍体	0.761 8	0.036 7	2.726 2	0.048 4	1 329.342	3.573 1	0.002 7

1) “*”和 “**” 分别表示不同倍性材料在 0.05 和 0.01 水平差异显著(t 检验)

表 2 同源四倍体及其原二倍体自交花粉管在雌蕊中的生长速度比较¹⁾

Tab. 2 Comparison of growth rates of pollen tubes in pistils of autotetraploid and diploid black wax gourd

$t_{\text{授粉后/h}}$	生长速度/ $(\text{mm}\cdot\text{h}^{-1})$	
	二倍体	四倍体
0~0.5	0.633 [*]	未伸长
0.5~4.0	0.647 [*]	0.093
4.0~8.0	0.783 [*]	0.519
8.0~12.0	进入子房	0.676

1) *表示相同时间不同倍性材料间差异显著($P<0.05$, t 检验)

2.2 同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜花粉及雌蕊内源激素含量测定分析

由表 3 可知,各内源激素标准曲线相关系数均在 0.96 以上,符合各内源激素酶联免疫试剂盒要求的相关系数在 0.95 以上的要求,说明线性方程耦合性较好,可用于各内源激素浓度分析计算。

由表 4、5 可知,同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜花粉和雌蕊中内源激素含量保持相同趋势,均以 ABA 含量为最高,依次为 ZR、 GA_3 、IPA,以 IAA 含量为最低,且同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜的花粉中各内源激素的含量均普遍略高于雌蕊。具体表现为:四倍体花粉与雌蕊中 ABA 含量均显著高于二倍体;ZR 和 IPA 含量均极显著低于二倍体;IAA 含量均略低于二倍体,但差异不显著;花粉中 GA_3 含量不同倍性材料差异不显著,但雌蕊

表 3 内源激素标准曲线

Tab. 3 The standard curves of endogenous hormones

内源激素	标准曲线方程 ¹⁾	相关系数(R^2)
GA_3	$y=0.020x_1-0.107$	0.964
IAA	$y=0.037x_2-0.024$	0.997
ZR	$y=0.006x_3-0.141$	0.981
IPA	$y=0.035x_4-0.026$	0.993
ABA	$y=0.007x_5-0.046$	0.996

1) x_1 为质量浓度, $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$; x_2 和 x_4 为浓度, $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$; x_3 为质量浓度, $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$; x_5 为质量浓度, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; y 为 450 nm 的光密度

表 5 同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜雌蕊内源激素含量比较¹⁾

Tab. 5 Comparison of endogenous hormone contents in pistils of autotetraploid and diploid black wax gourd

材料	w/(ng·g ⁻¹)					w(GA ₃ +IAA+ZR+IPA) :	
	GA ₃	IAA	ZR	IPA	ABA	GA ₃ +IAA+ZR+IPA	w(ABA)
二倍体	0.640 7 [*]	0.035 7	2.834 4 ^{**}	0.042 2 ^{**}	1.422 5	3.553 0 ^{**}	0.003 2 ^{**}
四倍体	0.550 0	0.030 5	2.312 9	0.037 9	1.676 1 [*]	2.931 3	0.002 5

1) “*”和 “**” 分别表示不同倍性材料在 0.05 和 0.01 水平差异显著(*t* 检验)

中 GA₃ 含量四倍体显著低于二倍体, 同时四倍体花粉及雌蕊中的 GA₃+IAA+ZR+IPA 含量及 w(GA₃+IAA+ZR+IPA):w(ABA) 均极显著低于二倍体。

3 讨论与结论

3.1 花粉本身的内源激素对花粉育性的调控

Sawhney 等^[31]认为植物育性直接或间接地受到其内源激素的影响。周志翔^[32]研究指出, 花粉的发育、萌发、花粉管的伸长生长和授粉受精过程均受内源激素调控。Ma 等^[26]研究表明, GA₃、IAA 及 ABA 等内源激素在花粉萌发、花粉管伸长及受精过程中发挥重要作用。王玖瑞等^[33]的研究表明, 花粉萌发率与内源激素含量存在相关性, 冬枣花粉萌发率较低的原因可能是由于花粉中较低的赤霉素(GA₃)和细胞分裂素(玉米素 Z)所致。谭素英等^[29]研究则表明, 同源四倍体西瓜自交花粉萌发率低及花粉管生长缓慢与花粉本身 ZR 含量过高有关。

由本试验结果可知, 同源四倍体及其原二倍体黑皮冬瓜花粉中内源激素含量和花粉的育性存在明显的差异, 说明花粉的育性受本身的内源激素的调控。四倍体黑皮冬瓜花粉萌发率及花粉管生长速度明显低于二倍体, 主要是由于四倍体黑皮冬瓜花粉中的细胞分裂类激素(ZR 和 IPA)含量极显著低于二倍体, 不利于花粉母细胞四分体形成; 同时其他促进生长类激素(IAA 和 GA₃)含量略低于二倍体, 干扰了花粉小孢子的正常发育或者影响花粉母细胞的膨大, 最终导致了花粉萌发率低; 而抑制生长类激素 ABA 含量显著高于二倍体, 促进四倍体形成退化的花粉(如: 扁形、三角形、空瘪、凹陷或粘连花粉等), 导致四倍体黑皮冬瓜的花粉萌发率低, 花粉育性降低, 花粉管生长缓慢, 进而影响四倍体的育性。这与谭素英等^[29]在同源四倍体西瓜花粉育性低的结果不一致, 可能是试验材料不同所引起的。

3.2 花粉在柱头上的识别及花粉管的生长受雌蕊内源激素的调控

贺丹等^[34]在牡丹和芍药、杨晓苓等^[24]在百合上

的研究表明, 雌蕊中高水平的 IAA、GA₃、ZR 有利于花粉与柱头的识别黏附、萌发, 促进授粉受精的正常进行, 高水平的 ABA 可能与不亲和授粉相关; 梨花柱中高水平的 IAA、GA₃、ZR 利于授粉受精正常进行, 低水平的 IAA、GA₃、ZR 可能使自交授粉亲和性下降^[22]; 张鹏等^[27]研究表明, 雌蕊柱头中高浓度的 IAA、GA₃、ZR 参与了花粉和柱头的应答, 并促进了花粉在柱头的萌发与生长, 而高水平的 ABA 可能是抑制花粉萌发及伸长的原因之一。综合前人的研究表明: 雌蕊中高水平的促进生长类激素(IAA、GA₃、ZR、IPA 等)可有效促进花粉在柱头的识别、萌发和花粉管在花柱中的伸长生长, 而高水平的 ABA 则对花粉的萌发与花粉管的生长起抑制作用, 会诱导自交亲和力降低。

本试验结果表明, 二倍体黑皮冬瓜自交授粉后, 花粉在柱头的萌发率高、花粉管在雌蕊上生长速度明显快于四倍体, 在授粉 8.0 h 后花粉管伸入子房, 而四倍体自交花粉萌发率低、花粉管生长缓慢, 授粉后 12.0 h 仍未进入子房。通过分析雌蕊中内源激素含量可知, 这是由于二倍体雌蕊上的促进生长激素 GA₃、ZR 和 IPA 的含量相比四倍体处于较高的水平, ABA 含量相比于四倍体处于较低水平引起的。这说明二倍体雌蕊中的 GA₃、ZR 和 IPA 参与了花粉与柱头及花柱的应答, 促进了花粉的萌发与伸长。而四倍体雌蕊中低水平的 GA₃、ZR 和 IPA 含量及高水平的 ABA 含量, 在一定程度上抑制了花粉在柱头的识别、萌发及花粉管的伸长, 诱导了自交亲和力降低, 使得育性下降。

3.3 花粉的萌发及花粉管的生长与促进生长类激素/抑制生长类激素比值相关

各类植物内源激素在植物组织中普遍存在, 每种激素都在其特定的浓度范围内调控植物的生长发育, 各种激素在植物体内都不是独立存在的, 它们在植物的生长发育过程中可通过互相协调或拮抗来发挥激素的作用, 因此植物的授粉受精和果实发育不仅受到单个内源激素的影响, 主要还是与促进生长类激素和抑制生长类激素的平衡性相关^[29, 35]。

谭素英等^[29]的研究表明, 同源四倍体西瓜花粉的萌发与花粉管的生长与花粉及雌蕊中 (IAA+GA₃)/ABA 比值有关, 四倍体西瓜花粉与雌蕊中 (IAA+GA₃)/ABA 比值显著低于二倍体, 不利于花粉的萌发与伸长。姚志敏^[23]研究发现, 自交、异交亲和性较高烟草品种 K326 自交、异交后, 其雌蕊柱头 (IAA+GA+Z+IPA)/ABA 比值较高, 而自交亲和性较差的烟草品种 N.alata 自交后, 其雌蕊柱头 (IAA+GA+Z+IPA)/ABA 比值一直处于较低水平, 使得花粉萌发与生长受到抑制。张鹏等^[27]和齐国辉等^[22]的研究也均表明, 亲和力较低的授粉材料雌蕊中的 (IAA+GA+Z+IPA)/ABA 比值均远低于亲和授粉材料。贺丹等^[34]在牡丹和芍药中的研究也指出, 雌蕊中的 (IAA+GA₃)/ABA 比值与亲和性相关, 高水平的 (IAA+GA₃)/ABA 比值利于花粉的萌发与生长。

本试验中, 通过比较花粉及雌蕊中 (IAA+GA₃+ZR+IPA)/ABA 的比值可知, 二倍体黑皮冬瓜花粉与雌蕊中 (IAA+GA₃+ZR+IPA)/ABA 的比值均显著高于四倍体, 使得用于生长的激素总量多, 促进生长类激素消除抑制生长类激素作用外, 还有一部分结余能用来促进花粉的萌发与生长, 因此二倍体黑皮冬瓜的花粉萌发率及花粉管的生长速度明显高于四倍体; 而四倍体黑皮冬瓜花粉及雌蕊中本身的促进生长类激素就不够, 抵消掉抑制生长类激素的作用后, 余下用于促进生长的效应就很小, 对花粉的萌发和花粉管的生长作用就较微弱, 导致四倍体黑皮冬瓜花粉的萌发率低、生长缓慢^[28]。

另外, 在田间实践中发现♀4×和♂2×杂交能很容易座果并获得有活力的种子, 平均单瓜产籽数 (约 200 粒) 居于 2××和 4××产生的种子数之间, 这是否表明花粉与雌蕊中的内源激素存在一定的互作, 只要花粉和雌蕊间激素互补达到一定水平就能促进花粉的正常萌发生长呢? 这还需要进一步试验论证。

综合分析认为, 同源四倍体黑皮冬瓜自交花粉在柱头上的萌发率低, 花粉管在花柱中生长缓慢, 且花粉萌发和生长过程中易出现花粉管粗细不均匀、结节状、先端膨大、双花粉管及扭曲、折叠等现象, 这是引起四倍体黑皮冬瓜自交低稔性的原因之一。通过对花粉及雌蕊中内源激素含量测定结果表明, 引起同源四倍体黑皮冬瓜花粉萌发生长出现异常的原因与四倍体黑皮冬瓜花粉和雌蕊中内源激素 ZR 和 IPA 含量过低, ABA 含量过高及 (IAA+GA₃+ZR+IPA)/ABA 比值过低有关。花粉和雌蕊中的内源激素调控了花粉的萌发生长, 进而引起其自

交低稔性。

参考文献:

[1] 万正林, 龙明华, 邓俭英, 等. 黑皮冬瓜同源四倍体与起源二倍体农艺性状比较[J]. 南方农业学报, 2014, 45(9): 1621-1625.

[2] HAKANSSON A. Seed development after 2×, 4× crosses in *Galeopsis pubescens*[J]. Hereditas, 1952, 38(4): 425-448.

[3] HAKANSSON A. Seed development of *Brassica oleracea* and *B. rapa* after certain reciprocal pollinations[J]. Hereditas, 1956, 42(3/4): 373-396.

[4] 谭素英, 黄贞光, 刘文革, 等. 同源四倍体西瓜胚胎发育研究[J]. 中国西瓜甜瓜, 1998(1): 2-5.

[5] 詹园凤, 郑锋, 党选民. 小型四倍体西瓜低稔性胚胎发育研究[J]. 长江蔬菜 (学术版), 2012(12): 9-12.

[6] 何金华, 程杏安, 陈志雄, 等. 同源四倍体水稻花粉母细胞减数分裂期间微管骨架组织和结构变化[J]. 作物学报, 2010, 36(10): 1777-1785.

[7] RAMSEY J, SCHEMSKE D W. Pathway, mechanisms, and rates of polyploidy formation in flowering plants[J]. Annu Rev Ecol Syst, 1998(29): 467-501.

[8] KOSTOFF D. Fertility and chromosome length: Correlations between chromosome length and viability of gametes in autopolyploid plants[J]. J Hered, 1940, 31(1): 33-34.

[9] GAONKAR R V, TORNE S G. Induced autotetraploid in *ageratum conyzoides* L[J]. Cytologia, 1991, 56(3): 327-331.

[10] COSTA J Y, FORNI-MARTINS E R. A triploid cytotype of *Echinodorus tennellus*[J]. Aquat Bot, 2004, 79(4): 325-332.

[11] RAY D T, SHERMAN J D. Desynaptic chromosome behavior of the *gms* mutant in watermelon[J]. J Hered, 1988, 79(5): 397-399.

[12] 程杏安, 何金华, 刘向东, 等. 不同倍性水稻亚种间杂种小孢子发生的细胞学观察[J]. 西北植物学报, 2009, 29(7): 1320-1327.

[13] 张蜀宁, 张伟, 张红梅. 同源四倍体萝卜花粉母细胞减数分裂[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32(1): 27-30.

[14] 张蜀宁, 万双粉, 张伟, 等. 同源四倍体青花菜花粉母细胞的减数分裂[J]. 园艺学报, 2007, 34(2): 387-390.

[15] 贾媛媛, 张永兵, 刁卫平, 等. 四倍体甜瓜花粉母细胞减数分裂的观察[J]. 中国瓜菜, 2009(2): 7-9.

[16] DIAO W P, BAO S Y, JIANG B, et al. Cytological studies on meiosis and male gametophyte development in autotetraploid cucumber[J]. Biol Plant, 2010, 54(2): 373-376.

[17] AHMAD H, HANSNAIN S. Meiotic analyses in the induced autotetraploid of *Brassica rapa*[J]. Acta Bot Yunan, 2004, 26(3): 321-328.

[18] 崔群香, 王倩, 唐红艳, 等. 普通白菜同源四倍体花粉母细胞减数分裂及其雄配子体发育研究[J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2012, 33(4): 56-60.

[19] 宋勤霞, 杨静, 包立军, 等. 同源四倍体桑品种陕桑 402-1 的花粉母细胞减数分裂和小孢子形成过程观察[J]. 蚕业科学, 2017, 43(4): 546-551.

[20] 赵艳, 贺卫丽, 雷家军. 四倍体亚洲百合品种花粉母细胞减数分裂行为观察及花粉生活力测定[J]. 核农学报, 2014, 28(10): 1806-1810.

[21] 朱娇, 刘译阳, 曾瑞珍, 等. 不同倍性蝴蝶兰未减数雄配子发生及其细胞学机理初探[J]. 园艺学报, 2014, 41(10): 2132-2138.

[22] 齐国辉, 徐继忠, 张玉星. 鸭梨自交不亲和性与花柱内源激素关系的研究[J]. 河北农业大学学报, 2007, 30(1): 31-34.

[23] 姚志敏. 烟草野生种质繁育与种子萌发特性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.

[24] 杨晓苓, 杨利平, 尚爱芹, 等. 百合授粉亲和性与雌蕊中保护酶和激素的关系[J]. 园艺学报, 2009, 36(6): 855-860.

[25] 贾兵, 张绍铃. 梨花粉、花柱与子房中激素和矿质元素含量的比较[J]. 园艺学报, 2012, 39(2): 225-233.

[26] MA K F, SONG Y P, HUANG Z, et al. The low fertility of Chinese white poplar: Dynamic changes in anatomical structure, endogenous hormone concentrations, and key gene expression in the reproduction of a naturally occurring hybrid[J]. Plant Cell Rep, 2013, 32(3): 401-414.

[27] 张鹏, 周骏辉, 荆艳萍. 杨树授粉亲和性与雌蕊生理生化变化的关系[J]. 东北林业大学学报, 2014, 42(6): 11-14.

[28] 魏琼, 何玉池, 江爱明, 等. 多倍化对水稻花粉发育机理影响的研究[C]//中国细胞生物学会. 细胞·生命·健康: 第十一届中国细胞生物学学术大会暨 2009 西安细胞生物学国际会议论文集. 西安, 2009: 214-216.

[29] 谭素英, 黄贞光, 梁毅, 等. 同源四倍体西瓜自交花粉萌发生长与内源激素的关系[J]. 华北农学报, 2000, 15(4): 73-79.

[30] 胡适宜. 植物胚胎学实验方法 (五) 检查花粉在柱头上萌发和花粉管在花柱中生长的制片方法[J]. 植物学通报, 1994(11): 58-60.

[31] SAWHNEY V K, SHUKLA A. Male sterility in flowering plants: Are plant growth substances involved?[J]. Am J Bot, 1994, 81(12): 1640-1647.

[32] 周志翔. 板栗空苞形成与调节的生理机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 1999.

[33] 王玖瑞, 刘孟军, 梁海永. 枣树单花不同开放阶段花粉萌发率和内源激素的变化[J]. 园艺学报, 2005, 32(4): 677-679.

[34] 贺丹, 解梦琚, 吕博雅, 等. 牡丹与芍药的授粉亲和性表现及其生理机制分析[J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2017, 45(10): 129-136.

[35] 王永琦, 杨小振, 莫言玲, 等. 西瓜雄性不育系‘Se18’抗氧化酶活性和内源激素含量变化分析[J]. 园艺学报, 2016, 43(11): 2161-2172.

【责任编辑 庄 延】