果 树 学 报 2022，39（1）：86-94
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20210092

钙、镁、钾浓度及光照、温度对西番莲花粉离体萌发的影响

蔡昭艳[1]，苏伟强[1a]，董 龙[1]，邱文武[1]，施平丽[1]，刘业强[1]，黄辉晔[2]，黄章保[1]，任 惠[1]，王小媚[1*]

（[1]广西壮族自治区农业科学院园艺研究所，南宁 530007；[2]广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所，南宁 530007）

摘 要：【目的】探讨培养基中的钙、镁、钾浓度及光照、温度对西番莲花粉体外萌发及花粉管生长的影响。**【方法】**设置钙、镁、钾及光照、温度梯度，测量在该梯度下的花粉萌发率及花粉管延伸长度。**【结果】**钙、镁、钾非西番莲花粉离体萌发的必需培养基成分，钙对西番莲花粉离体萌发及花粉管生长具有显著影响，在质量浓度为0~300 mg·L^{-1}时，萌发率及花粉管长度均随浓度的增加而显著增加，在300~1200 mg·L^{-1}时最佳，大于1200 mg·L^{-1}时，萌发率及花粉管长度均显著降低。镁、钾对花粉萌发及花粉管生长均无显著影响。光照、温度对花粉萌发及花粉管生长均具有显著影响，黑暗条件下最佳，随着光照度的增加，萌发率及花粉管长度均显著降低；二次方程能较好地拟合温度对花粉萌发及花粉管生长的影响。**【结论】**培养基中钙浓度及光照、温度对西番莲花粉体外萌发及花粉管生长具有显著影响，镁、钾无显著影响，最适的$Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$质量浓度为300~1200 mg·L^{-1}，西番莲花粉离体萌发的最适培养基为150 g·L^{-1}蔗糖+150 g·L^{-1} PEG-4000+ 25 mg·L^{-1} H_3BO_3+300~1200 mg·L^{-1} $Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$，在该培养基组分下的花粉萌发率为86%以上。0 lx（黑暗）、25.69 ℃分别为西番莲花粉萌发及花粉管生长的最适光照及温度，温度对西番莲花粉萌发及花粉管生长的影响符合二次项方程。

关键词：西番莲；花粉；离体萌发；培养基；光照；温度

中图分类号：S667.9 **文献标志码：**A **文章编号：**1009-9980(2022)01-0086-09

Effects of calcium, magnesium, potassium, light and temperature on pollen germination and pollen tube elongation of passion fruit *in vitro*

CAI Zhaoyan[1], SU Weiqiang[1a], DONG Long[1], QIU Wenwu[1], SHI Pingli[1], LIU Yeqiang[1], HUANG Huiye[2], HUANG Zhangbao[1], REN Hui[1], WANG Xiaomei[1*]

([1]Institute of Horticultural, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, Guangxi, China; [2]Institute of Plant Protection, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, Guangxi, China)

Abstract:【Objective】Pollen germination *in vitro* is an important means to detect pollen activity. So far, the effect of calcium, magnesium, and potassium concentrations in the medium, and light and temperature conditions on *Passiflora* pollen germination and tube elongation are not yet clear, and therefore, the research on these influence factors not only leads to further optimizing the germination conditions, but also provides theoretical guidance for the *Passiflora* cultivation.【Methods】The experiment was conducted from September to November, 2020 in the Experimental Station (N 22.85°, E 108.24°), Horticulture Institute, Academy of Agricultural Sciences in Guangxi Zhuang Autonomous Region. The maximum temperature during the period was around 37 ℃, and the minimum temperature was 20 ℃. The fresh pollen of *Passiflora caerulea* L. ‘Tainong No. 1’ as a China’s main variety was used as the

收稿日期：2021-03-30 **接受日期：**2021-09-15

基金项目：广西农业科学院基本科研业务费专项（桂农科2020YM30）；广西农业科学院科技发展基金项目（桂农科2021JM10）；国家现代农业产业技术体系广西特色水果创新团队南宁百香果试验站（nycytxgxcxtd-17-02）；广西农业科学院基本科研业务费专项（桂农科2021YT046）

作者简介：蔡昭艳，女，助理研究员，研究方向：热带特色果树育种与生物技术。Tel：15296480409，E-mail：caizhaoyan424@163.com。a为共同第一作者。

*通信作者 Author for correspondence. Tel：15078771906，E-mail：wangxiaomei159@163.com

experimental material, the flowers were picked up when they were just opened, and two fully-bloomed flowers were collected from each of the 10 plants. The flowers were put into paper bags and brough to the laboratory immediately. The anther was gently removed in the laboratory with air conditioner of 25 ℃, and placed in a petri dish lined with weighing paper, with dried silica gel under the paper. The petri dish was placed in a ventilated and dry place for about 2 h, until the anthers were fully cracked, and then the pollen grain was swept down gently with a soft brush, mixed with all the pollen for later use. The medium consisted of 150 g · L^{-1} sugar, 150 g · L^{-1} PEG-4000, 25 mg · L^{-1} H_3BO_3, 300 mg · L^{-1} $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 200 mg · L^{-1} $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$, and 100 mg · L^{-1} KNO_3 was used as a basic medium. 0, 100, 300, 600, 1200, 2400 mg · L^{-1} of $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ and 0, 200, 400, 800, 1600, 3200 mg · L^{-1} of $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ and 0, 100, 200, 400, 800 and 1600 mg · L^{-1} of KNO_3 were set to study the effect of calcium, magnesium and potassium concentrations on pollen germination *in vitro* under 25 ℃ and dark condition. 0 lx (dark), 600 lx, 1150 lx and 2210 lx were set to study the effect of illumination under 25 and 5 ℃, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 and 45 ℃ were set to study the effect of temperature under dark condition, and each process was set to have three replicates. Liquid medium was used in this study, 3.5 mL liquid medium was put into a petri dish with 6 cm in diameter, the petri dish was shaken gently and the liquid medium would distribute evenly to form a thin layer. The petri dish was placed in an artificial climate chamber at preset temperature and under light conditions. Once the temperature equilibrated, a soft brush was used to sprinkle the pollen on the medium and it was incubated for 4 h. Petri dish with germinated pollens were examined under 40× magnification of Olympus microscope BX53, 5 microscopic fields were observed in different positions of the petri dish for each replicate, and the number of pollens in each field was no less than 20, so the number of pollens observed with each treatment was no less than 300. A pollen grain was considered to germinate when the elongation length of the germinated pollen tube was equal to or longer than the diameter of the pollen. The tube elongation length was measured at the end of 4 h incubation with all the treatments using the polyline length measurement tool and expressed in micrometer. The replicated values of pollen germination and tube elongation length from all tests were analyzed using the one-way ANOVA procedure of SPSS 17.0, the Duncan method was used for multiple comparisons, and curve fitting analysis was done using SPSS 17.0 to the data from temperature treatments.【Results】(1) Calcium, magnesium and potassium were not essential components for pollen germination of *Passiflora in vitro*, because pollen can also germinated in the medium lacking of them, but calcium had significant effects on pollen germination and pollen tube growth of *Passiflora in vitro*, the optimum concentration was 300−1200 mg · L^{-1}, excessively high or low concentration was not conducive to pollen germination and significantly reduced pollen tube elongation. Magnesium and potassium had no significant effect on pollen germination and pollen tube growth. (2) Light intensity had a significant effect on the pollen germination and tube growth of *Passiflora* pollen, 0 lx was the best light condition, and the germination rate and pollen tube elongation decreased significantly with the increase of light intensity (3) Temperature had a significant effect on pollen germination and pollen tube elongation of *Passiflora* pollen. It was found that the quadratic equation can fit the germination rate and pollen tube elongation well, with the P value of 0.000<0.05, reaching a significant level, the R^2 was 0.95 and 0.98, respectively. The fitting equation of pollen germination rate was as follows: $Y = -0.21x^2+10.78x-58.71$, the fitting equation for pollen tube growth was: $Y = -0.56x^2 + 28.38x-124.52$, and according to the fitting equation, the T_{min} (the minimum temperature) of pollen germination was 6.19 ℃, the T_{opt} (the optimum temperature) was 25.69 ℃, and the T_{max} (the maximum temperature) was 45.13 ℃. The T_{min} of pollen tube growth was 4.85 ℃, the T_{opt} was 25.34 ℃, and the T_{max} was 45.55 ℃.【Conclusion】Calcium,

light and temperature had significant effects on pollen germination *in vitro*, but magnesium and potassium had no significant effect. The optimal concentration of calcium was 300−1200 mg·L^{-1}, and the optimal light was 0 lx. The quadratic equation can well fit the effect of temperature on pollen germination rate and pollen tube elongation length *in vitro* of *Passiflora* pollen.

Key words: *Passiflora*; Pollen; *In vitro* germination; Medium; Light; Temperature

西番莲又名百香果，为西番莲科（Passifloraceae）西番莲属（*Passiflora* Linn.）植物[1]，因具有“短、平、快”的特点，近年来西番莲产业发展迅猛[2]，但由于受到栽培条件及气候因素的影响，西番莲产量低、经济效益差等问题日益突出，成为制约产业持续发展的重要原因，西番莲的开花坐果已成为研究的热点[3-5]。西番莲完成授粉受精，在果实中形成种子，后在包裹种子的假种皮中产生果汁，是西番莲成功坐果并获得果汁的前提，花粉是植物的雄配子体，是参与授粉受精的重要元件，大量有活力的花粉传粉至柱头并顺利萌发，是完成授粉受精的前提和基础，因此花粉活力的测定成为育种及栽培工作的重要内容[6]。花粉活力检测的方法主要有TTC染色法、醋酸洋红染色法、I_2-KI染色法、过氧化物酶染色法，但染色法得到的结果与花粉真正的活力存在较大的误差[7-8]，花粉离体萌发被认为最接近花粉在柱头上的萌发，是检测花粉活力最简单、直接、可靠的方法[9]。

前人对西番莲花粉离体萌发做了一定的研究，李红曦等[10]在离体培养基中添加PEG-3500，将紫果西番莲花粉离体培养的萌发率提高到68.7%，蔡昭艳等[11]探讨了培养基中的蔗糖、硼酸及PEG-4000对西番莲花粉体外萌发的影响，并通过正交试验将西番莲花粉的离体萌发率进一步提高。前人对西番莲花粉离体萌发的研究取得了一定的进展，为进一步研究西番莲花粉离体萌发提供了基础，但研究主要集中在培养基的蔗糖、硼酸、聚乙二醇（PEG）等的浓度对花粉萌发及花粉管的影响方面[12]，而花粉离体萌发除了受到以上这些因素的影响外，还受到培养基中的钙、镁、钾浓度及光照、温度等培养条件的影响[13-14]，相关研究还未见报道。

西番莲为多年生藤本植物，不同的品种开花季节不同，有些品种可周年开花，加之绝大多数栽培种的西番莲开花时间在11: 00到16: 00之间，是一天中气温最高的时间，气温可达40 ℃以上，即西番莲的开花坐果受到一年四季高温、低温天气的影响，温度为影响西番莲坐果的主要气候因素，因此研究温度对花粉萌发及花粉管生长具有重要的意义。笔者在本研究中以西番莲的主栽品种台农一号新鲜花粉为试验材料，研究培养基中的钙、镁、钾浓度及温度、光照对西番莲花粉离体萌发的影响，进一步优化西番莲花粉离体萌发培养基组分，找出最适合的光照、温度条件，并量化温度对西番莲花粉萌发的影响，为进一步揭示温度对西番莲坐果的影响提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

本试验于2020年9—11月在广西壮族自治区农业科学院园艺研究所试验基地（22.85°N，108.24°E）进行，试验期间当地的最高气温为37 ℃，最低气温为22 ℃，以当年栽种的中国西番莲主栽品种台农一号西番莲（*Passiflora* caerulea L.‘Tainong No.1’）盛花期花朵刚开放时的新鲜花粉为试验材料，在正常生长的10株西番莲上每株采集2朵饱满的花朵，共计20朵花，将采下的花朵放进纸袋中并迅速带回实验室，在开有25 ℃空调的实验室中将花药用镊子轻轻取下，花粉朝上置于铺有称量纸的培养皿中，称量纸下铺有干燥的硅胶。将培养皿置于通风干燥处约2 h，待花药充分开裂、花粉较干燥时用软毛笔轻轻扫下花粉，把所有的花粉扫下后用毛笔轻轻混合均匀备用。

1.2 方法

1.2.1 *试验设置* 以成分为150 g·L^{-1}蔗糖+150 g·L^{-1} PEG-4000+ 25 mg·L^{-1} H_3BO_3+300 mg·L^{-1} $Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$+200 mg·L^{-1} $MgSO_4\cdot 7H_2O$+100 mg·L^{-1} KNO_3的培养基为基础培养基。试验分别设置以下处理：$Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$含量（ρ，后同）设定6个梯度：0、100、300、600、1200、2400 mg·L^{-1}；$MgSO_4\cdot 7H_2O$含量设定6个梯度：0、200、400、800、1600、3200 mg·L^{-1}，KNO_3含量设定6个梯度：0、100、200、400、800、1600 mg·L^{-1}。光照度设定4个梯度：0（黑暗）、600、1150、2210 lx；温度设置9个梯度：5、10、15、20、25、30、35、40、45 ℃。每个处理设置3次重复。

1.2.2 *花粉培养* 花粉培养采用液体培养基培养方法，具体方法为：用移液枪在直径为6 cm的培养皿中加入3.5 mL的液体培养基，轻轻摇晃使培养液均

匀分布形成液体薄层，将培养皿放置于预先设置好温度及光照条件人工气候箱中，待培养皿中的培养液达到设定的温度后，用软毛笔蘸取适量花粉撒播于培养皿中，使花粉在液体培养基中均匀分布。钙、镁、钾浓度梯度试验均在黑暗、25 ℃下进行培养，光照梯度试验的培养温度为25 ℃，温度梯度试验在黑暗条件下培养，所有试验的培养时间均为4 h。

1.2.3　花粉萌发率及花粉管长度的测量　将人工气候箱中的培养皿放进4 ℃的冰箱中冷藏保存，待观察时取出，培养皿恢复室温后用纸巾擦拭干净培养皿底部的水，以免影响观察时视野的清晰度。在奥林巴斯X53 40倍显微镜下统计测量花粉的萌发率和花粉管的长度，每个重复在培养皿的不同位置共观察5个视野，每个视野的花粉数量不少于20粒，3个重复共15个视野，每个处理共观察的花粉数量不少于300粒，并拍照，用CellSens standars软件中“测量”-“折线”的方法测量花粉管的长度。以花粉管长度大于等于花粉粒直径视为花粉萌发，并统计花粉管长度及花粉萌发率，萌发率/%=萌发花粉粒数/总观察花粉粒数×100；花粉管长度=测量得到的所有花粉管总长度（μm）/花粉粒数。

1.2.4　数据处理　采用SPSS 17.0软件对钙、镁、钾及光照、温度对西番莲花粉离体萌发的影响试验所得数据进行单因素方差分析，用Duncan法进行多重比较。采用SPSS17.0曲线估计中的“对数”“二次项”“三次项”对温度对西番莲花粉离体萌发影响的数据进行分析及曲线拟合，根据p值及R^2值来确定最佳拟合模型，并量化温度产生的影响。使用拟合的方程式预算出花粉萌发及花粉管生长的最低温度（T_{min}）、最适温度（T_{opt}）及最高温度（T_{max}）。

2　结果与分析

2.1　培养基中的钙、镁、钾对西番莲花粉萌发及花粉管生长的影响

2.1.1　钙　钙非西番莲花粉体外萌发的必需物质，西番莲花粉在不含钙的液体培养基中仍能萌发，但钙浓度对花粉萌发率及花粉管的生长均具有显著的影响，在$Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$质量浓度为0~300 mg·L^{-1}时，花粉萌发率及花粉管长度均随着$Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$浓度的增加而增加，在质量浓度为300~1200 mg·L^{-1}时，花粉萌发率均超过86%，在此浓度区间内花粉萌发率及花粉管长度没有显著差异。当质量浓度增加到2400 mg·L^{-1}时，花粉萌发率及花粉管长度均显著降低。由此液体培养基中的$Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$质量浓度为300~1200 mg·L^{-1}时适合西番莲花粉的体外萌发及花粉管伸长（表1）。

表1　培养基中的钙浓度对西番莲花粉体外萌发及花粉管生长的影响

Table 1　Effects of calcium concentration in medium on pollen germination and pollen tube elongation length of *Passiflora in vitro*

水平 Level/（mg·L^{-1}）	萌发率 Germination rate/%	花粉管长度 Pollen tube elongation length/μm
0	27.86±0.56 d	167.52±1.25 D
100	39.79±0.42 c	185.34±1.07 C
300	86.65±0.39 a	224.35±0.95 A
600	87.16±0.57 a	225.62±1.20 A
1200	86.21±0.52 a	225.46±1.57 A
2400	52.34±0.31 b	195.36±0.83 B

注：不同小写字母表示在 $p < 0.05$ 差异显著，不同大写字母表示在 $p < 0.01$ 差异极显著。下同。

Note: Different small letters indicate significant difference at $p < 0.05$, different capital letters indicate extremely significant difference at $p < 0.01$. The same below.

2.1.2　镁　试验表明，镁非西番莲花粉体外萌发的必需物质，西番莲花粉在不含镁的液体培养基中仍能萌发，且在本试验浓度范围内对花粉体外萌发率及花粉管的生长均无显著影响（表2）。

表2　培养基中的镁浓度对西番莲花粉体外萌发及花粉管长度的影响

Table 2　Effects of magnesium concentration in medium on pollen germination and pollen tube elongation length of *Passiflora in vitro*

水平 Level/（mg·L^{-1}）	萌发率 Germination rate/%	花粉管长度 Pollen tube elongation length/μm
0	87.45±0.56 a	224.52±2.35 A
200	87.82±0.71 a	225.34±1.56 A
400	88.06±0.95 a	224.35±2.48 A
800	87.85±0.45 a	225.62±0.69 A
1600	87.68±0.23 a	224.46±2.15 A
2400	88.12±0.59 a	223.36±1.51 A

2.1.3　钾　钾非西番莲花粉体外萌发的必需物质，西番莲花粉在不含钾的液体培养基中仍能萌发，且在本试验浓度范围内对花粉体外萌发率及花粉管的生长均无显著影响（表3）。

2.2　光照、温度对西番莲花粉萌发及花粉管生长的影响

2.2.1　光照　光照对西番莲花粉体外萌发具有显著影响（表4），花粉在0 lx（黑暗）的条件下萌发率最

表3 培养基中的钾浓度对西番莲花粉体外萌发及花粉管长度的影响

Table 3 Effects of potassium concentration in medium on pollen germination and pollen tube elongation length of *Passiflora in vitro*

水平 Level/(mg·L^{-1})	萌发率 Germination rate/%	花粉管长度 Pollen tube elongation length/μm
0	88.51±0.75 a	189.52±1.02 A
100	89.12±0.58 a	191.20±0.96 A
200	89.25±0.92 a	190.49±1.32 A
400	88.89±0.65 a	189.41±1.59 A
800	89.36±0.27 a	200.34±0.45 A
1600	88.73±0.49 a	201.14±0.59 A

高，花粉管生长最佳。在本实验设置的光照度范围内，随着光照度的增加花粉萌发率及花粉管长度均显著下降。光照度为2210 lx时的花粉萌发率为0 lx时的43.34%。且出现部分花粉管扭曲及变形（图1）。

表4 光照度对西番莲花粉体外萌发及花粉管长度的影响

Table 4 Effects of illumination on pollen germination and pollen tube elongation length of *Passiflora in vitro*

水平 Level/lx	萌发率 Germination rate/%	花粉管长度 Pollen tube elongation length/μm
0	86.62±0.56 a	219.52±0.56 A
610	65.23±0.72 b	181.20±0.79 B
1150	45.56±0.95 c	170.49±0.24 C
2210	37.54±0.24 d	159.41±0.53 D

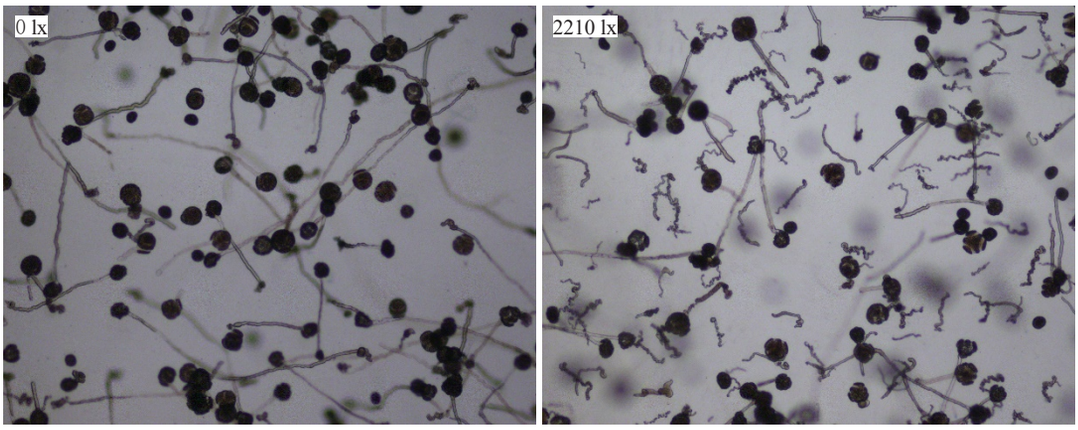


图1 花粉在不同光照度下的萌发及花粉管长度

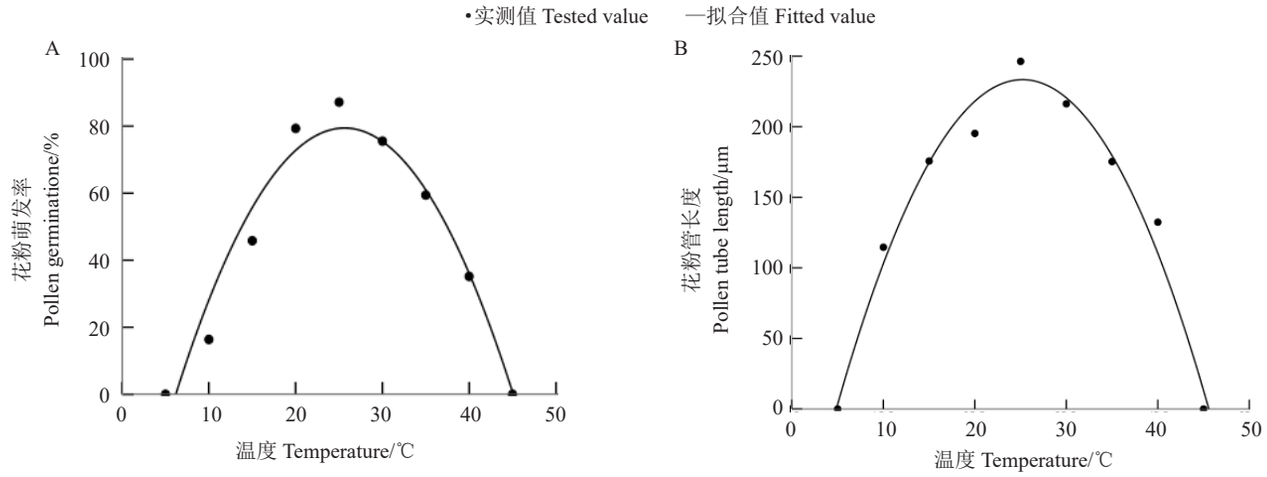
Fig. 1 Pollen germination and tube elongation length in different illumination

2.2.2 温度 将温度对西番莲花粉体外萌发率及花粉管生长的数据进行单因素方差分析，结果（表5）表明，温度对花粉萌发率及花粉管的生长均具有显著影响，在5 ℃时花粉无萌发，后随着温度的上升，花粉萌发率及花粉管长度均显著增加，当温度达到25 ℃时，花粉萌发率及花粉管长度均达到最高，之后随着温度的升高，花粉萌发率及花粉管长度均显著降低，当温度为45 ℃时，花粉无萌发。对萌发率及花粉管生长SPSS线性及曲线估计进行曲线拟合（图2），发现二次项方程能对萌发率及花粉管长度进行较好的拟合，p值均为0.000＜0.05，均达到显著水平，萌发率及花粉管的R^2分别为0.95和0.98，花粉萌发率拟合方程式为：$y=-0.21x^2+10.78x-58.71$，花粉管生长的拟合方程式为：$y=-0.56x^2+28.38x-124.52$，用方程式预测花粉萌发及花粉管生长的基本温度，T_{opt}为花粉萌发或花粉管生长的最适温度，T_{min}为花粉开始萌发或花粉管生长的最低温度，T_{max}为最高温度。由表6可见，台农一号西番莲花粉萌发的温度范围为6.19~45.13 ℃，最适温度为25.69 ℃，在此温度下的萌发率为79.63%。花粉管生长的温度范围为4.85~45.55 ℃，最适温度为25.34 ℃，在此温度下的花粉管长度为235.04 μm，花粉在各温度下的萌发及花粉管生长见图3。

表5 培养温度对西番莲花粉体外萌发及花粉管长度的影响

Table 5 Effects of temperature on germination and pollen tube elongation length of *Passiflora in vitro*

水平 Level/℃	萌发率 Germination rate/%	花粉管长度 Pollen elongation tube length/μm
5	0.00±0.00 h	0.00±0.00 H
10	16.35±0.58 g	114.62±1.02 G
15	48.83±0.32 e	175.62±0.85 E
20	79.31±0.39 b	195.26±0.51 B
25	87.15±0.43 a	246.24±0.65 A
30	75.51±0.74 c	216.25±0.87 C
35	59.44±0.62 d	175.26±0.58 D
40	35.15±0.52 f	132.35±0.45 F
45	0.00±0.00 h	0.00±0.00 H



A. 温度对花粉萌发率影响曲线拟合；B. 温度对花粉管长度影响曲线拟合。

A. The fitting curve of pollen germination rate in response to temperature; B. The fitting curve of pollen tube elongation length in response to temperature.

图 2　花粉萌发率及花粉管长度对温度响应的曲线拟合

Fig. 2 The fitting curve of pollen germination rate and pollen tube length in response to temperature

表 6　对温度响应数据的拟合方程常数及最大萌发率、花粉管长度及预算最适、最低、最高温度

Table 6　Maximum pollen germination rate and pollen tube length（PTL）, equation constants and cardinal temperatures for pollen germination in response to temperature

性状 Character	最大萌发率及花粉管长度 Maximum pollen germination rate and PTL	方程式常数 Equation constants				基本温度 Cardinal temperature/℃		
		a	b	c	R^2	T_{opt}	T_{min}	T_{max}
花粉萌发率 Pollen germination rate/%	79.63	−0.21	10.79	−58.71	0.95	25.69	6.19	45.13
花粉管长度 Pollen tube length/μm	235.04	−0.56	28.38	−124.52	0.98	25.34	4.85	45.55

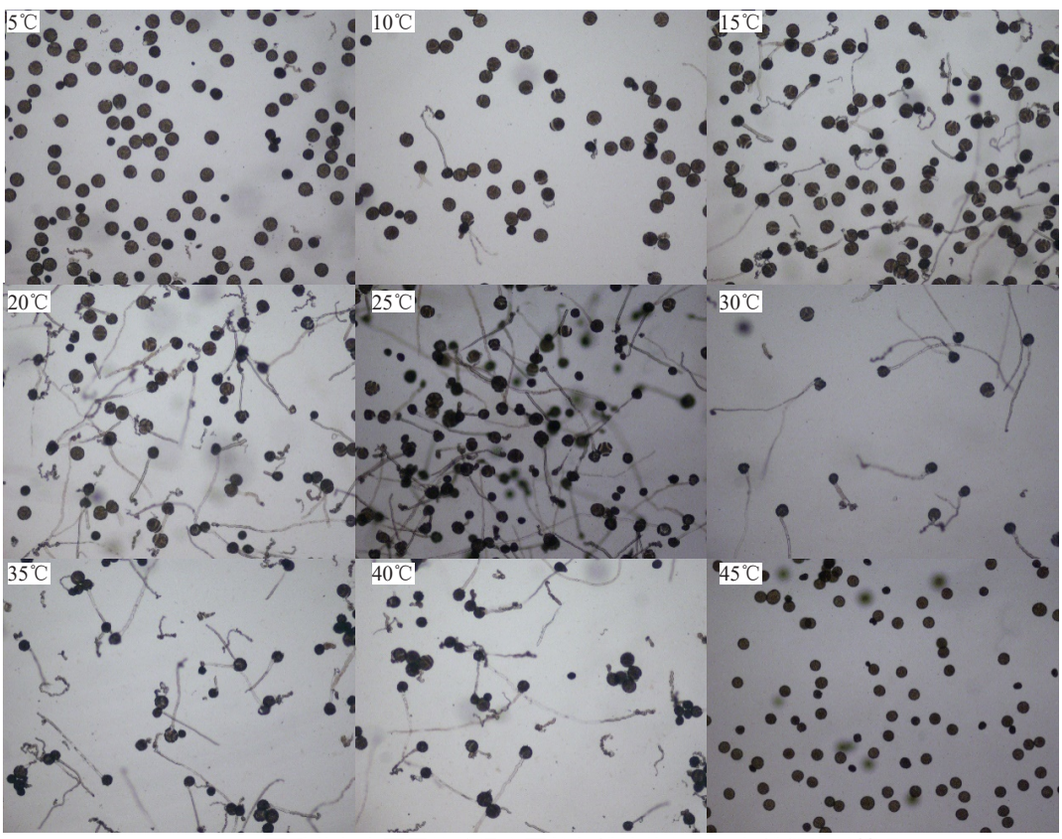


图 3　西番莲花在不同培养温度下的花粉体外萌发及花粉管生长情况

Fig. 3　Pollen germination and pollen tube growth in different culture temperatures

3 讨 论

笔者在本研究中发现，钙对西番莲花粉的萌发和花粉管生长均具有显著的促进作用，而镁、钾对花粉萌发和花粉管生长无显著影响，$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$质量浓度为300~1200 mg·L^{-1}时，萌发率及花粉管长度均最高，萌发率超过86%，浓度过低或过高均对花粉萌发及花粉管生长产生不利影响，这与在草莓[15]、蜡梅[16]中的研究一致。在烟草[17]、枸杞[18]中的研究表明，花粉中含有少量的钙，这可能是花粉在不含有钙的培养基中仍能少量萌发的原因。花粉授粉到柱头之后，柱头会分泌大量的钙，并且在胚囊中也含有大量的钙，钙被认为在花粉萌发及吸引花粉管向胚囊生长中起重要作用[17,19]。本试验中西番莲花粉在不含钙的培养基中仍有27.86%的萌发率，但在培养基中添加钙可极显著提高花粉萌发率及花粉管的生长，这与前人的研究结果相同。前人的研究表明，蜡梅花粉的最适Ca^{2+}质量浓度（换算Ca^{2+}质量浓度）为3.8 mg·L^{-1} [16]，百合花粉的最适Ca^{2+}质量浓度为7.2~10.8 mg·L^{-1} [20]，日本海棠花粉的最适Ca^{2+}质量浓度为67.8 mg·L^{-1} [9]，研究培养基中的Ca^{2+}质量浓度在50.8~203.2 mg·L^{-1}时最适合西番莲花粉萌发及花粉管生长，可见不同作物花粉离体萌发所需的钙浓度差异极显著，植物花粉萌发对Ca^{2+}需求的差异可能是植物进化过程中对环境适应的结果，具体的原因有待进一步的探讨。

研究表明温度通过影响花粉萌发率及花粉管生长导致花粉育性降低，是影响坐果的主要原因[21-22]，笔者在本研究中发现温度对西番莲花粉萌发亦具极显著影响，这与前人的研究结果相同[23-24]。二次项方程能较好地拟合西番莲花粉萌发率和花粉管生长对温度的响应，并用拟合方程预算出台农一号西番莲花粉离体萌发的温度范围为6.19~45.13 ℃，最适温度为25.69 ℃。不同作物花粉的最适萌发温度差异较大，蜡梅花粉的最适温度为15 ℃[16]，海仙花花粉的最适温度为20 ℃[25]，猕猴桃的最适温度为30 ℃[26]，棉花的最适温度为31.4 ℃[27]，花生的最适温度为32 ℃[28]。另外最适温度的高低并不能代表花粉萌发对温度的适应能力，即花粉萌发最适温度高或低的作物在高温或低温下萌发率不一定就高，如本研究中西番莲花粉最适萌发温度为25.69 ℃，其最低萌发温度为6.19 ℃，最高萌发温度为45.13 ℃，最低温度和最高温度之间相差38.94 ℃；而棉花的最适温度为31.40 ℃，其最低萌发温度为15.1 ℃，最高萌发温度为43.3 ℃，最低萌发温度与最高萌发温度之间的跨度为28.20 ℃，可见，西番莲花粉萌发对温度适应性更广。此外，高温/低温下的花粉萌发率与结实率或坐果率具有高度的相关性[29-30]，花粉萌发对温度的适应性反映了植物结实或坐果率对温度的适应性。

4 结 论

培养基中的镁、钾对西番莲花粉体外萌发及花粉管生长无显著影响，钙、光照及温度具有显著影响，最适的$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$质量浓度为300~1200 mg·L^{-1}，通过本研究进一步优化，西番莲花粉离体萌发的最适培养基为150 g·L^{-1}蔗糖+150 g·L^{-1} PEG-4000+25 mg·L^{-1} H_3BO_3+300~1200 mg·L^{-1} $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$，在该培养基组分下的花粉萌发率为86%以上。0 lx（黑暗）、25.69 ℃分别为西番莲花粉萌发及花粉管生长的最适光照度及温度，温度对西番莲花粉萌发及花粉管生长的影响符合二次项方程。

参考文献 References:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志：第52卷第1分册[M]. 北京：科学出版社，1999：113.
Sinicae Agendae Academiae Sinicae Edita. Flora Reipublicae Popularis Sinicae：Vol. 52, No.1[M]. Beijing：Science Press，1999：113.

[2] 邢相楠，黄永才，陈格，刘茂，黄伟华，桂杰，郑德波，罗献宝，杨柳. 广西百香果产业发展现状、存在问题及对策建议[J]. 南方农业学报，2020，51(5)：1240-1246.
XING Xiangnan，HUANG Yongcai，CHEN Ge，LIU Mao，HUANG Weihua，GUI Jie，ZHENG Debo，LUO Xianbao，YANG Liu. Current status，existing problems and development suggestions of Guangxi passion fruit industry[J]. Journal of Southern Agriculture，2020，51(5)：1240-1246.

[3] 田青兰，吴艳艳，黄伟华，刘洁云，韦绍龙，牟海飞，韦弟，黄永才，熊晓兰，张英俊. ‘台农1号’西番莲的成花坐果特性及与气象因子的关系[J]. 果树学报，2020，37(9)：1358-1370.
TIAN Qinglan，WU Yanyan，HUANG Weihua，LIU Jieyun，WEI Shaolong，MOU Haifei，WEI Di，HUANG Yongcai，XIONG Xiaolan，ZHANG Yingjun. Flower formation and fruit setting of ‘Tainong No.1’ passion fruit and its relationship with meteorological factors[J]. Journal of Fruit Science，2020，37(9)：1358-1370.

[4] 林秋金，苏金强，王美盛，史国强，武英，李丽蓉，牛先前. 气象因子对百香果坐果率的影响研究初报[J]. 福建热作科技，

2019，44(3)：18-21.
LIN Qiujin，SU Jinqiang，WANG Meisheng，SHI Guoqiang，WU Ying，LI Lirong，NIU Xianqian. A preliminary study on the effect of meteorological factors on the fruit setting rate of passion fruit[J]. Fujian Science & Technology of Tropical Crops，2019，44(3)：18-21.

[5] NAOKI U. Effect of temperature on shoot growth，flowering and fruitgrowth of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims var. *edulis*)[J]. Scientia Horticulturae，1992，52：63-68.

[6] 陈新伟 . 番茄花粉活力及坐果率对环境温度变化的反应[J]. 园艺学报，1996，23(4)：392-394.
CHEN Xinwei. The response of tomato pollen viability and fruit set to temperature fluctuation of environment[J]. Acta Horticulturae Sinica，1996，23(4)：392-394.

[7] 刘成琴，赵兴旺，康志钰，丁家娟，孙映雪，王建军 . 5 种通关藤花粉活力测定方法比较[J] . 云南农业大学学报（自然科学），2021，36(1)：179-182.
LIU Chengqin，ZHAO Xingwang，KANG Zhiyu，DING Jiajuan，SUN Yingxue，WANG Jianjun. Comparison of five determination methods of *Marsdenia tenacissima* pollen viability[J]. Journal of Yunnan Agricultural University（Natural Science），2021，36(1)：179-182.

[8] 孙建，魏星，乐美旺，饶月亮，颜廷献，颜小文，梁俊超，周红英 . 芝麻繁育特性研究Ⅴ：花粉活力与柱头可授性[J]. 西北农业学报，2020，29(10)：1537-1546.
SUN Jian，WEI Xing，YUE Meiwang，RAO Yueliang，YAN Tingxian，YAN Xiaowen，LIANG Junchao，ZHOU Hongying. Study on breeding characteristics of *Sesamum indicum* L.Ⅴ：Pollen viability and stigma receptivity[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica，2020，29(10)：1537-1546.

[9] 李千惠，姜文龙，徐同乐，武启飞，张往祥，王改萍 . 日本海棠花粉最佳离体萌发培养基筛选及萌发过程研究[J]. 经济林研究，2018，36(2)：154-160.
LI Qianhui，JIANG Wenlong，XU Tongle，WU Qifei，ZHANG Wangxiang，WANG Gaiping. Selection of pollen *in vitro* germination media and pollen germination process of *Malus floribunda*[J]. Nonwood Forest Research，2018，36(2)：154-160.

[10] 李红曦，许圳涂，李金龙 . 聚乙二醇对百香果花粉体外发芽之影响[J]. 中国园艺，1989，35(2)：121-131.
LEE Hunghsi，SHII Choutou，LEE Chinglung. The effect of polyethylene glycol on pollen *in vitro* germination of passion fruits[J]. Journal of Chinese Societes Horticulture Science，1989，35(2)：121-130.

[11] 蔡昭艳，董龙，王小媚，邱文武，张文斌，刘业强，黄章保，任惠，方位宽，苏伟强 . 培养基 pH 值及蔗糖、硼酸、PEG-4000 对百香果花粉体外萌发的影响[J/OL]. 分子植物育种，2021：1-19 [2021- 02- 02]. https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.2020-1202.1458.008.html.
CAI Zhaoyan，DONG Long，WANG Xiaomei，QIU Wenwu，ZHANG Wenbin，LIU Yeqiang，HUANG Zhangbao，REN Hui，FANG Weikuan，SU Weiqiang. The effect of medium pH value，sucrose，boric acid and PEG-4000 on *in vitro* pollen germination of passion fruit[J/OL]. Molecular Plant Breeding，1-19 [2021-02-02]. https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20201202.14- 58.008. html.

[12] 王改萍，杨红宁，倪果果，彭方仁 . 楸树等 4 种梓属树种花粉离体培养条件的研究[J]. 植物资源与环境学报，2009，18(2)：34-42.
WANG Gaiping，YANG Hongning，NI Guoguo，PENG Fangren. Study on *in vitro* culture conditions of pollens from four tree species of *Catalpa* Scop. including *Catalpa bungei*[J]. Journal of Plant Resources and Environment，2009，18(2)：34-42.

[13] 吴开志，肖千文，廖运洪，周兰英，蒲光兰 . 核桃花粉离体萌发的培养基研究[J]. 果树学报，2008，25(6)：941-945.
WU Kaizhi，XIAO Qianwen，LIAO Yunhong，ZHOU Lanying，PU Guanglan. Study on culture medium for walnut pollen germination *in vitro*[J]. Journal of Fruit Science，2008，25(6)：941-945.

[14] 张瑞，李洋，梁有旺，彭方仁，李永荣 . 薄壳山核桃花粉离体萌发和花粉管生长特性研究[J]. 西北植物学报，2013，33(9)：1916-1922.
ZHANG Rui，LI Yang，LIANG Youwang，PENG Fangren，LI Yongrong. *In vitro* pollen germination and tube growth characteristics in pecan (*Carya illinoinensis*)[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica，2013，33(9)：1916-1922.

[15] 蒋桂华，谢鸣，方丽，王汉荣，吴延军，张慧琴，黄普乐，孙崇波 . 硼、钙和农药对草莓花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 果树学报，2007，24(2)：234-236.
JIANG Guihua，XIE Ming，FANG Li，WANG Hanrong，WU Yanjun，ZHANG Huiqin，HUANG Pule，SUN Chongbo. Effects of boron，calcium，pesticide and germicide on pollen germination and tube growth of strawberry[J]. Journal of Fruit Science，2007，24(2)：234-236.

[16] 龚双姣，马陶武，刘强 . 培养基组分及培养条件对蜡梅花粉萌发及花粉管生长的影响[J]. 西北植物学报，2012，32(6)：1254-1260.
GONG Shuangjiao，MA Taowu，LIU Qiang. Effects of culture medium and composition and culture conditions on pollen germination and pollen tube growth of *Chimonanthus praecox*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica，2012，32(6)：1254-1260.

[17] 谢潮添，邱义兰，葛丽丽，陈素红，田惠桥 . 烟草花粉萌发和花粉管生长期间柱头和花柱中的钙分布[J]. 植物生理与分子生物学学报，2005，31(1)：53-61.
XIE Chaotian，QIU Yilan，GE Lili，CHEN Suhong，TIAN Huiqiao. Calcium distribution in the stigma and style of tobacco during pollen germination and tube growth[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology，2005，，31(1)：53-61.

[18] 杨淑娟，宋玉霞，邓桦，田惠桥 . 宁夏枸杞柱头和萌发花粉中钙分布特征[J]. 西北植物学报，2007，27(9)：1782-1789.
YANG Shujuan，SONG Yuxia，DNEG Hua，TIAN Huiqiao. Cal-

cium distribution in the stigma and germinating pollen of *Lycium barbarum*[J]. Acta Botanica Boreali- Occidentalia Sinica，2007，27(9)：1782-1789.

[19] 孙鹏，戴丽，徐兆翮，孙非，袁存权，胡瑞阳，孙宇涵，李云．刺槐花粉萌发和花粉管伸长生长过程中柱头与花柱内钙离子的分布特征[J]. 北京林业大学学报，2015，37(11)：59-68.
SUN Peng，DAI Li，XU Zhaohe，SUN Fei，YUAN Cunquan，HU Ruiyang，SUN Yuhan，LI Yun. Distribution of Ca^{2+} in the stigma and style of *Robinia pseudoacacia* during pollen germination and pollen tube elongation[J]. Journal of Beijing Forestry University，2015，37(11)：59-68.

[20] 年玉欣，罗凤霞，张颖，孙晓梅，张丽．测定百合花粉生命力的液体培养基研究[J]. 园艺学报，2005，32(5)：922-925.
NIAN Yuxin，LUO Fengxia，ZHANG Ying，SUN Xiaomei，ZHANG Li. Studies on the culture solution for lily pollen vitality test[J]. Acta Horticulturae Sinica，2005，32(5)：922-925.

[21] ASLIHAN C，GIAMPIERO C，FILIZ V，MERAL Ü. Differential effects of low and high temperature stress on pollen germination and tube length of hazelnut (*Corylus avellana* L.) genotypes[J]. Scientia Horticulturae，2019，255：61-69.

[22] 郭磊，张斌斌，马瑞娟，蔡志翔，钱巍．温度对桃离体花药散粉及花粉萌发的影响[J]. 植物生理学报，2014，50(3)：269-274.
GUO Lei，ZHANG Binbin，MA Ruijuan，CAI Zhixiang，QIAN Wei. Effects of temperature on the pollen dissemination and germination of peach[J]. Plant Physiology Journal，2014，50(3)：269-274.

[23] HEBBAR K B，HELAN M R，ANUSREE R N，KANNAN S，NIRAL V，ARIVALAGAN M，GUPTA A，SAMSUDEEN K，CHANDRAN K P，CHOWDAPPA P，VARA PRASAD P V. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of coconut (*Cocos nucifera* L.) cultivars in response to high temperature stress [J]. Environmental and Experimental Botany，2018，153：35-44.

[24] 朱雪晨，王改萍，彭方仁，吕昕．不同美国山核桃品种花粉萌发与活力研究[J]. 南京林业大学学报（自然科学版），2015，39(4)：1-6.
ZHU Xuechen，WANG Gaiping，PENG Fangren，LÜ Xin. A study on pollen germination and viability in different varieties of *Carya illinoensis*[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)，2015，39(4)：1-6.

[25] 杨延红，周东升，姜倩倩，李孔东，李慧丽，陈忠秀．海仙花花粉离体萌发和花粉管生长的研究[J]. 北方园艺，2019(13)：109-113.
YANG Yanhong，ZHOU Dongsheng，JIANG Qianqian，LI Kongdong，LI Huili，CHEN Zhongxiu. Study on pollen germination and pollen tube growth of *Weigela coraeensis*[J]. Northern Horticulture，2019(13)：109-113.

[26] 齐秀娟，张绍铃，方金豹．培养环境条件对猕猴桃花粉萌发的影响[J]. 浙江农业学报，2011，23(3)：528-532.
QI Xiujuan，ZHANG Shaoling，FANG Jinbao. Effect of culture condition on pollen germination of kiwifruit[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis，2011，23(3)：528-532.

[27] KAKANI V G，DEDDY K R，KOTI S，WALLACE T P，PRASAD P V V，REDDY V R，ZHAO D. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature[J]. Annals of Botany，2005，96(1)：59-67.

[28] KAKANI V G，PRASAD P V V，CRAUFURD P Q，WHEELER T R. Response of *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes to temperature[J]. Plant Cell and Environment，2002，25(12)：1651-1661.

[29] JIANG Y F，BUECHERT R A，WARKENTIN T D，DAVIS A R. High temperature effects on *in vitro* pollen germination and seed set in field pea[J]. Canadian Journal of Plant Science，2017，98(1)：71-80.

[30] DECEAULT M T，POLITO V S. High temperatures during bloom can inhibit pollen germination and tube growth，and adversely affect fruit set in the *Prunus domestica* cultvars ‘Improved French’ and ‘Muir Beauty’[J]. Acta Horticulturae，2010，874：163-168.