

柱頭抽出液和培養環境對番荔枝‘臺東二號’ 花粉發芽率之影響

陳奕君¹ 江淑雯¹

摘 要

番荔枝‘臺東二號’花粉體外培養檢測其發芽率，並探討番荔枝之柱頭抽出液、溫度（5 °C至40 °C）與相對濕度（30 %至100 %）對其之影響。結果顯示，B&K培養基中添加番荔枝之柱頭抽出液可以提高其花粉發芽率，是檢測番荔枝花粉活力較佳之方法。番荔枝‘臺東二號’花粉在溫度低於15 °C或高於40 °C時，花粉發芽率即降低至30 %以下；35 %時發芽率最高，達72.4 %。相對濕度低於40 %時，花粉發芽率在30 %以下，至相對濕度70 %時，發芽率最高，為81.4 %；當相對濕度到達100 %時，發芽率則又降低至37.8 %。番荔枝‘臺東二號’花粉發芽之最適條件，溫度為30 %—35 %、相對濕度為70 %—80 %，可供人工授粉時參考應用，提高授粉成功率。

關鍵詞：番荔枝、花粉發芽率、培養基、溫度、相對濕度

前 言

人工授粉是番荔枝栽培上重要技術之一⁽¹⁶⁾，作業時需先收集花粉再進行授粉，而花粉活力是影響授粉成效重要之因素。花粉活力，廣義上的表示方式頗多，如生活力（viability）、可染性（stainability）、花粉質量（pollen quality）、活力（vigour）、發芽力（germinability）、可育性（fertility）、受精力（fertilization ability）等，主要都是指花粉萌發的能力^(2,12,20)。

花粉在高等植物有性生殖過程中，扮演傳遞雄性遺傳物質的角色⁽⁵⁾。具有活力的花粉才能在柱頭上發芽，並順利完成受精，產生種子和果實；花粉活力為影響授粉著果與作物生產之重要因素⁽¹³⁾。花粉的搜集、調理與貯藏為育種或人工授粉成功的重要手段，因此必需建立快速可靠檢定技術來確保花粉活力⁽⁵⁾。花粉活力的測定方法、條件與反應，隨著植物種類的不同而有差異^(5,7)，其中又以體

¹ 行政院農業委員會臺東區農業改良場 助理研究員

外 (*in vitro*) 萌芽測定法、體內 (*in vivo*) 萌芽測定法及化學染色法等三種較為常用^(5,12)。體外發芽測定法簡單易操作，是衡量花粉活力的主要指標⁽³⁰⁾，測定結果可代表體內萌芽活力的狀態，但測定的成敗受培養基影響很大^(6,23)。在眾多不同配方的培養基中，B & K培養基 (Brewbaker & Kwack Medium) 適合多種植物的花粉培養^(19,21,22)。另外，雌蕊柱頭之分泌物，多含有醣類、膠質、無機離子或生長激素等物質，有助於花粉萌芽與花粉管生長^(16,32)，因此將柱頭抽出液添加於培養基中，可促進花粉體外發芽率，有助於其體外萌芽檢測^(5,25,32)，此結果在苦瓜⁽¹⁴⁾、百香果⁽⁵⁾、石斛蘭⁽²⁹⁾、嘉德利亞蘭屬⁽²⁵⁾及睡蓮⁽¹¹⁾等研究中均被證實。

花粉活力主要受到自身遺傳特性、外在環境的溫度及相對濕度等因素影響^(1,3,20)；在自然條件下，花粉的品質、活力常受環境及氣候影響^(12,27)。對許多作物而言，溫度變化會影響花粉萌芽活力的表現⁽²⁸⁾。多數果樹花粉發芽及花粉管生長適溫在20℃至30℃之間，在15℃環境下，其花粉體外培養發芽率極低或不發芽^(17,26,31)。例如，柿子花粉在10℃—15℃幾乎不發芽，25℃時有最佳的發芽率，之後隨溫度上升則發芽率有下降趨勢⁽¹⁷⁾。高粱的花粉在15℃—35℃時，體外發芽率隨溫度下降而逐漸下降⁽⁸⁾。低溫 (10℃) 環境下，辣椒花粉的數量與品質會下降⁽¹²⁾。夜來香花粉發芽以25℃至30℃較佳，25℃以下隨著溫度下降，發芽率亦顯著下降⁽⁴⁾。另外，相對濕度對果梅花粉萌發亦有顯著的影響，其花粉萌發率隨著相對濕度的增大而提高，至濕度 80% 為最高⁽¹⁵⁾，新世紀梨花粉亦有類似現象⁽⁶⁾；在許多試驗中發現，花粉需要較高的濕度促使活化，以增加其發芽率⁽³¹⁾。因此，外在環境得溫度及相對濕度，對花粉活力有顯著之影響。

材 料 與 方 法

一、供試材料

番荔枝‘臺東二號’樹齡為6-8年生之植株，於3月份進行強剪，採取6月份開花之雄花期花朵。將花瓣摘除後，置入網篩內將花藥與花粉篩出 (圖1)；花粉培養時，將上述篩出之花藥與花粉再置入孔隙更小網篩 (200目) 中篩出花粉，進行體外 (*in vitro*) 萌芽檢測試驗。



圖1. 篩取番荔枝‘臺東二號’花藥及花粉

Fig.1. Sieved anther and pollen of sugar apple ‘Taitung No. 2’.

二、試驗處理方法

(一) 柱頭抽出液對番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率之影響

1. 添加柱頭抽出液對提高番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率之效果

將0.5公克花粉培養於添加番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液之B & K培養基（0.5%洋菜、10%蔗糖、100ppm 硼酸、200ppm 硫酸鎂、300ppm 硝酸鈣及100ppm硝酸鉀）之培養皿（直徑為8.8公分）中，並以未添加番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液者為對照。柱頭抽出液製備方式為取雌蕊成熟期之花朵，摘除花瓣後，將雌雄蕊一起切下放進燒杯，注入一定比例的去離水（花朵數：去離子水=5個：1毫升）後，再將燒杯置於真空抽氣缸中以真空抽氣機抽氣（真空度0mmHg）1小時，將燒杯中的液體過濾即可得到番荔枝柱頭抽出液。花粉培養環境為溫度25℃，相對濕度80%，每樣品為1個培養皿，計3重複。

2. 番荔枝和鳳梨釋迦柱頭抽出液對提高番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率之效果

將0.5公克花粉培養於添加番荔枝‘臺東二號’和鳳梨釋迦柱頭抽出液之B & K培養基（0.5%洋菜、10%蔗糖、100ppm 硼酸、200ppm 硫酸鎂、300ppm 硝酸鈣及100ppm硝酸鉀）之培養皿（直徑為8.8公分）中，柱頭抽出液製備方式與花粉培養環境同上所述，每樣品為1個培養皿，計3重複。

(二) 溫度對番荔枝‘臺東二號’花粉活力之影響

將花粉培養於培養皿中，培養基為添加番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液之B & K培養配方，分別置於溫度5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃及40℃之恆溫恆濕控制箱中培養（相對濕度設定為80%）為處理，每處理3重複，每重複1個培養皿，每個培養皿花粉接種量為0.5公克。

(三) 相對濕度對番荔枝‘臺東二號’花粉活力之影響

將花粉培養於培養皿中，培養基為添加番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液之B & K培養配方，分別置於相對濕度為30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%及100%之恆溫恆濕控制箱中培養（溫度設定為30℃）為處理，每處理3重複，每重複1個培養皿，每個培養皿花粉接種量為0.5公克。

三、調查項目

(一) 花粉萌發率之調查

於接種1小時及3小時後，使用光學顯微鏡（接目鏡10X/接物鏡10X）進行鏡檢，每處理每重複取樣3次，每次取樣觀察3個不重疊的視野，計算視野中花粉總數與花粉萌發之數目，換算成百分比，即為花粉萌發率。

(二) 花粉萌發之標準

花粉管萌發出之長度大於(或等於)花粉粒之直徑（圖2），始認定為萌發。



圖2. 番荔枝‘臺東二號’花粉萌芽

Fig.2. The sugar apple ‘Taitung No. 2’ pollen germination.

結果與討論

一、柱頭抽出液對番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率之影響

利用體外培養方式檢測番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率，將其培養於含番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液之B & K培養基，置於溫度25°C、相對濕度80%之環境下 1個小時後，花粉發芽率為53.7%，對照者為24.8%，3個小時後則分別為67.1%及37.5%（圖3）。試驗結果顯示，番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液具有促進番荔枝‘臺東二號’花粉發芽之效果。前人研究指出，花朵雌蕊上柱頭分泌物對於花粉萌發及花粉管發育有促進作用，培養基中添加柱頭液抽出物可促進花粉體外發芽率^(5, 25, 32)。例如，百香果原為體外花粉培養時難發芽的作物，若培養基添加柱頭抽出物，則可提高發芽率，原因在於其柱頭分泌物含有促進花粉發芽的物質⁽⁵⁾。嘉德利亞蘭屬之種間雜交後代，其花粉培養在添加有其柱頭萃取液的培養基，花粉發芽率良好⁽²⁵⁾。石斛蘭的花粉授粉後，柱頭上的膠質及柱頭分泌物是花粉水合及萌發所必需⁽²⁹⁾。香粉睡蓮培養於B&K培養基中並添加其柱頭液，花粉發芽率較未添加者高⁽¹¹⁾。結果與前人研究相符。

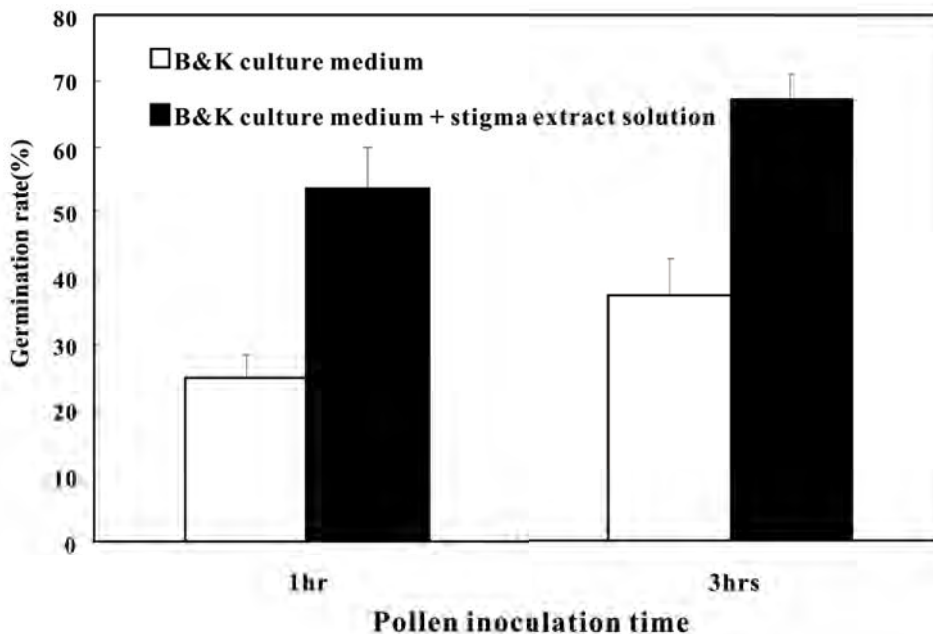


圖3. 番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液對其花粉發芽率之影響

Fig. 3. The effect of stigma extract solution on pollen germination rate of sugar apple ‘Taitung No. 2’.

將番荔枝‘臺東二號’花粉分別培養於含番荔枝‘臺東二號’與鳳梨釋迦柱頭抽出液之 B&K 培養基，置於溫度25 °C、相對濕度80 %之環境下1個小時後，花粉發芽率前者為63.4%，後者為45.7%，3個小時後則分別為71.6%及50.2%（圖4）。試驗結果顯示，番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液對促進番荔枝‘臺東二號’花粉發芽之效果高於鳳梨釋迦者。研究指出，某些植物花朵柱頭分泌物，可能含有辨識特定物種花粉之物質。例如，苦瓜柱頭之黏著性分泌物，含有蛋白質、脂質、多醣類及色素等物質；授粉時，柱頭分泌物會與花粉進行辨識，使花粉快速發芽⁽¹⁴⁾。香粉睡蓮花粉若培養於B&K培養基，並添加其他種類睡蓮（‘可林’、‘斑粉’、‘碧藍’、‘紫花’、‘白花’睡蓮等品種）的柱頭液，則花粉發芽率均低於添加本身之柱頭液⁽¹¹⁾。因此，本試驗番荔枝柱頭抽出液對其花粉活力影響之效果與前人研究相符，可供番荔枝花粉檢測時之應用技術。

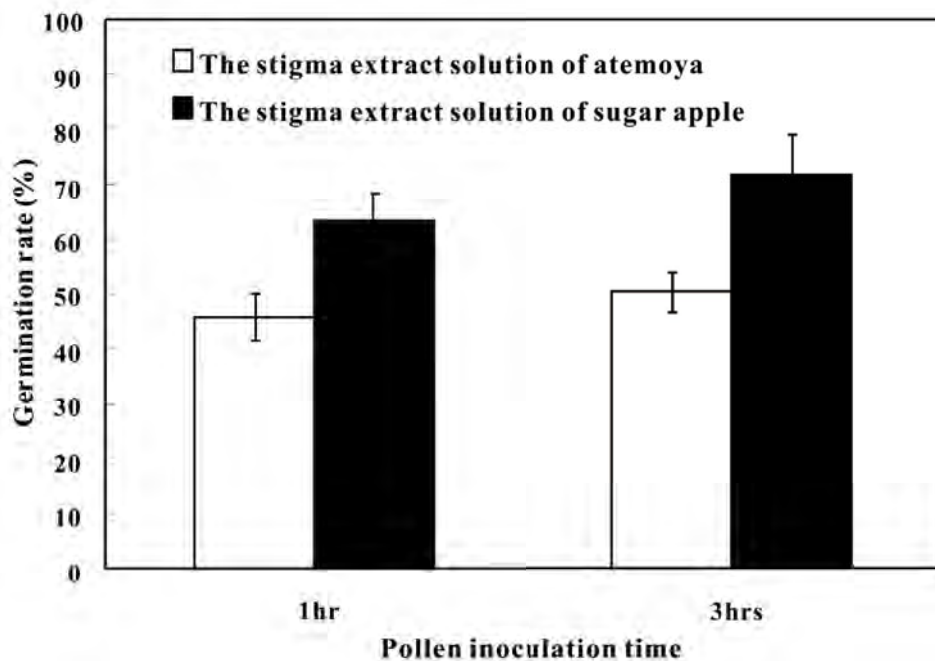


圖4. 培養基添加不同柱頭抽出液對番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率之影響

Fig. 4. The effect of different stigma extract solution on pollen germination rate of sugar apple ‘Taitung No. 2’.

(二) 溫度對番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率之影響

溫度會影響番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率，在相對濕度為80%下，溫度低於15°C時，花粉發芽率即降低至30%以下；溫度超過25°C時，花粉發芽率高於45%，至35°C時發芽率達最高，為72.4%；而當溫度升高到40°C時，發芽率則又降低至21.7%（圖5）。研究指出，花粉能夠發芽的最低溫度及最高溫度會因植物種類不同而有所差異⁽²⁸⁾；一般低溫會降低所有生物的代謝活性，對花粉的發芽能力而言，亦隨著溫度下降而降低⁽¹⁷⁾。多數果樹花粉發芽及花粉管生長適溫在20°C至30°C之間，如芒果、柿子、奇異果、桃、蘋果、荔枝、楊桃及柑桔類等，於15°C下，其花粉體外培養發芽率極低或不發芽^(17,26,31)；而番茄在高溫（32°C）環境下，花粉的數量與活力則明顯下降，此乃高溫導致花藥中碳水化合物的代謝異常所致⁽¹²⁾。25°C以上的溫度亦不利枇杷花粉活力表現，枇杷於8、9月之早花皆無法順利著果，此亦與花粉活力差有關；在9—10月晴朗日照下，若不經遮光處理枇杷，植體溫度將超過34°C以上，對原本活力不佳的花粉，更會加重其高溫逆境下的障礙⁽¹⁰⁾。對許多作物而言，溫度亦會影響花粉萌芽活力與花粉管生長表現，例如，芒果花粉發芽對溫度極為敏感，當溫度在15°C以下或35°C以上時發芽率會降低；而溫度也會影響花粉管生長，在低溫10°C—20°C以下，花粉管的生長即受到抑制，進而降低授粉成功率使芒果結果變少⁽⁹⁾。本試驗溫度對番荔枝花粉活力之影響結果與前人研究相符^(17,26,31)，可供人工授粉作業時，於天候環境上之參考指標。

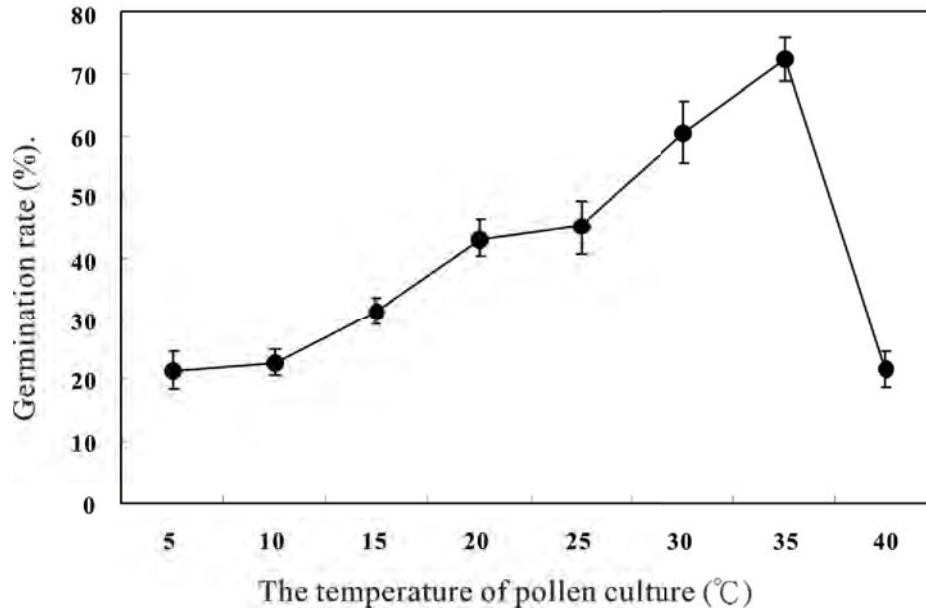


圖5. 於相對濕度80%下培養，溫度對番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率之影響

Fig.5. The effect of different culture temperature on pollen germination rate of sugar apple ‘Taitung No. 2’ inoculation at relative humidity 80% .

(三) 相對濕度對番荔枝‘臺東二號’花粉活力之影響

不同相對濕度會對番荔枝‘臺東二號’花粉發芽率有顯著性影響，在溫度為30°C下，相對濕度低於40%時，花粉發芽率降低至32%以下；相對濕度高於60%時，花粉發芽率開始大於55%，直至相對濕度70%時的81.4%達最高；而當相對濕度為100%時，花粉發芽率則降低至37.8%（圖6）。研究指出，花粉培養時，周圍空氣濕度對花粉發芽與花粉管伸長有顯著的影響。在相對濕度為15%的條件下，花粉幾乎不萌發，隨著濕度的增加，花粉發芽率呈直線上升，至濕度80%為最高⁽¹⁵⁾。如新世紀梨花粉經3小時培養後發芽率隨著相對濕度的上升而增加，直至相對濕度81%時達最高⁽⁶⁾。乾燥的環境會使冷子番荔枝的花粉活力降低⁽²⁴⁾。研究同時指出，花粉需要較高的濕度以增加其發芽率，因為花粉附著於柱頭或培養基後，需要吸水膨脹才能促使花粉活化⁽³¹⁾。本試驗相對濕度對番荔枝花粉活力之影響結果，可供人工授粉作業時，於天候環境上之參考指標。

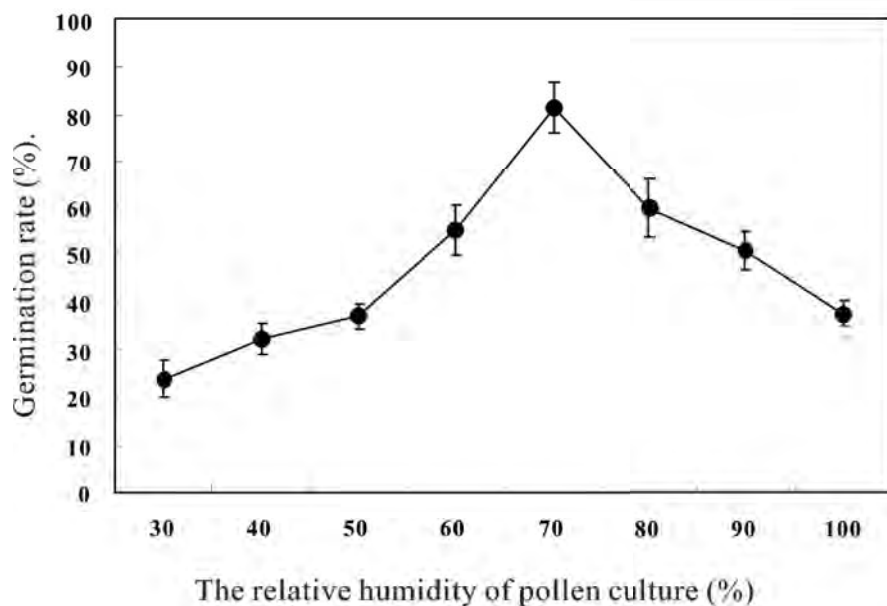


圖6. 於30°C下培養，相對濕度對番荔枝‘臺東二號’花粉萌發率之影響
Fig.6. The effect of different culture relative humidity on pollen germination rate of sugar apple ‘Taitung No. 2’ inoculation at temperature 30°C.

結 論

番荔枝‘臺東二號’柱頭抽出液可提高番荔枝‘臺東二號’花粉之發芽率，將其加入B&K培養基中進行花粉體外萌芽測定，是檢測番荔枝花粉活力可靠穩定的方法。番荔枝‘臺東二號’花粉萌發之最適環境條件，溫度為30°C—35°C、相對濕度為70%—80%，可提供番荔枝人工授粉時參考應用，提高授粉成功率。建議當天氣條件不利於花粉萌發時，應盡量避免進行人工授粉作業，以免因成效不佳而造成人力、物力的浪費。

誌 謝

本研究承蒙魏攸如小姐協助配製培養基、黃年見先生協助田間花朵採集及許禎祥小姐協助花粉接種、培養、鏡檢及資料整理等繁瑣辛勞的實驗室工作，使本試驗得以順利完成，謹致由衷謝忱。

參考文獻

1. 尹佳蕾、趙惠恩。2005。花粉生活力影響因素及花粉貯藏概述。中國農學通報 21(4): 110-114。
2. 王欽麗、盧龍斗、吳小琴、陳祖鏗、林金星。2002。花粉的保存及其生活力測定。植物學通報 19(3): 365-373。
3. 任秋萍、張斌斌。2008。不同保存溫度對幾個梨品種花粉生活力的影響。北方園藝 3: 3-5。
4. 沈再木。1983。夜來香花粉貯藏及不親合性之研究。中國園藝 29(3): 231-239。
5. 李金龍。1987。園藝作物花粉活力測定與貯藏研究。科學農業 35: 347-356。
6. 李金龍、林信山、廖萬正、林嘉興。1983。梨主要栽培品種之花粉發芽率研究。臺中區農業改良場研究彙報 7: 23-30。
7. 李紅曦、許圳塗、李金龍。1989。聚乙二醇對百香果花粉體外發芽之影響。中國園藝 35(2): 121-130。
8. 宋濟民、陳宗禮。1995。溫度對高粱花粉與授粉的影響。雜糧作物生產技術改進研討會專刊 p.193-202。臺中：臺灣省農業試驗所。
9. 邱國棟、李文立。2012。臺灣芒果育種概況。台灣芒果產業發展研討會專刊 p.9-19。臺中：行政院農業委員會農業試驗所。
10. 邱禮弘。2009。氣溫對茂木枇杷開花及著果之影響。碩士論文。臺中：國立中興大學園藝學系。
11. 洪清建。2004。熱帶睡蓮生長習性、花粉發芽及稔實性之研究。碩士論文。嘉義：國立嘉義大學農學研究所。
12. 郭宏遠、宋妤。2007。花粉保存與利用。植物種苗 9(3): 48-58。
13. 張正桓。2006。苦瓜花粉形態、花粉活力、授粉及果實生長之研究。碩士論文。臺中：國立中興大學園藝學系。
14. 張正桓、宋妤。2006。苦瓜花粉貯藏溫度、期間與授粉方式對著果之影響。植物種苗 8(4): 17-30。
15. 張紹鈴、梅正敏、陳迪新。2003。果梅花粉離體萌發及花粉管生長影響因子的研究。中國農學通報 19(2): 21-25。
16. 陳奕君、楊正山。2004。常見番荔枝屬植物及其特性。臺東區農業改良場七十五週年特刊 p.13-14。臺東：行政院農業委員會臺東區農業改良場。
17. 蔡巨才。1994。柿子花粉體外發芽特性及人工授粉對果實發育之關係。科學農業 42: 154-161。
18. 劉玠吟。2004。無籽番石榴之倍數體、花粉活力及雜交稔實率。碩士論文。屏東：國立屏東科技大學農園生產系研究所。

19. Barabe, D., K. Lavallee and M. Gibernau. 2008. Pollen viability and germination in some neotropical aroids. *Bot.* 86: 98-102.
20. Bots, M. and C. Mariani. 2005. Pollen viability in the field. 1rd ed., 5-47. The Netherlands: COGEM.
21. Brewbaker, J. L. and B. H. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *Amer. J. Bot.* 50: 859-865.
22. Burke, C., J. W. Wilcut and N. S. Allen. 2007. Viability and in vitro germination of johnsongrass (*Sorghum halepense*) Pollen. *Weed Technology* 21: 23-29.
23. Geetha, K., S. Vijayabaskaran and N. Jayaraman. 2004. In vitro studies on pollen germination and pollen tube growth in maize. *Food, Agriculture & Environment* 2(1): 205-207.
24. Lora, J., M. A. Perez de Oteyza, P. Fuentetaja and J. I. Hormaza. 2006. Low temperature storage and in vitro germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) pollen. *Sci. Hortic.* 108: 91-94.
25. Neysa, M. and S. Stort. 1984. Sterility barriers of some artificial F1 orchid hybrids: male sterility. I. microsporogebesis and pollen germination. *Amer. J. Bot.* 71: 309-318.
26. Rosell, P., M. Herrero and G. Sauco. 1999. Pollen germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) . In vivo characterization and optimization of in vitro germination. *Sci. Hortic.* 81: 251-265.
27. Rosell P., V. Galan and M. Herrero. 2006. Pollen germination as affected by pollen age in cherimoya. *Sci. Hortic.* 109: 97-100.
28. Sanzol, J., and M. Herrero, 2001. The “effective pollination period” in fruit trees. *Sci. Hort.* 90: 1-17.
29. Slater, A. T. 1991. Interaction of the stigma eith the pollination in *Dendrobium speciosum*. *Bot. Rev.* 52: 195-219.
30. Steer M. W. and N. A. Steer. 1989. Pollen tube tip growth. *New Phytol.* 111: 328-358.
31. Vasil, I. K. 1987. Physiology and culture of pollen. *Int. Rev. Cyt.* 107: 127-174.
32. Willemse, M. T. M., T. A. Plyushch and M. C. Reinders. 1995. In vitro micropylar penetration of the pollen tube in the ovule of *Gasteria verrucosa* (Mill.) H. Duval and *Lilium longiflorum* Thunb.: conditions, attraction and application. *Plant Sci.* 108: 201-208.

The Effects of Stigma Extract Solution and Culture Medium on Pollen Germination *in vitro* of Sugar Apple ‘Taitung No. 2’

Yi-Chun Chen¹ Shu-Wen Jiang¹

Abstract

Pollen germination *in vitro* of ‘Taitung No. 2.’ sugar apple were studied. Stigma extract solution was added in culture medium, and at different temperature (5°C to 40°C) and relative humidity (30% to 100%). The results show added stigma extract solution in B&K medium had best germinated. The germination of pollen was less than 30% when temperature over 40°C or less than 15°C. The pollen germinated at 35°C had highest germination percentage, is 72.4%. The germination of pollen was less than 30% when relative humidity less than 40%. The maximum germination was 81.4% at relative humidity was 70%. Until relative humidity at 100%, pollen germination was down to 37.8%. In summary, the optimum temperature was from 30°C to 35°C, and the optimum relative humidity was from 70% to 80%.

Key words : sugar apple 、 pollen germination 、 culture medium 、 temperature 、 relative humidity

¹Assistant Researcher of Banjiou Branch Station of Taitung DARES, COA.