

百合花粉生活力测定和贮藏方法研究

赵兴华¹, 张道旭¹, 印东生¹, 李 丹¹, 张艳玲²

(1. 辽宁省农业科学院 花卉研究所, 辽宁 沈阳 110161; 2. 辽宁省农业科学院 蔬菜研究所, 辽宁 沈阳 110161)

摘 要: 采用4种常用的花粉活力测定方法, 对百合花粉生活力进行测定。结果表明: 以蔗糖培养基培养法效果最好, 并能直接观察到花粉管发育状况; 百合不同品种间花粉生活力存在极显著差异, 在所测定的68个品种中以麝香系百合的花粉活力为最高; 卷丹花粉活力最低, 几乎为零。在所研究的6种花粉贮藏方法中, 以低温(5℃)干燥法最有利于保持百合花粉活力。

关键词: 百合; 花粉; 生活力; 贮藏

中图分类号: S 682.2⁺ 9; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)02-0172-04

我国球根花卉近年来生产面积不断扩大, 特别是百合种球的用量不断增加, 根据资料统计2004年国内种植百合的面积达2 567 hm², 生产切花4.7亿枝, 但是每年生产中使用的种球一亿粒以上都是从荷兰进口的。我国是百合属植物自然分布的中心, 原产于中国的约47种野生百合种质资源丰富, 有很多独特的特性。但是长期以来, 我国百合的育种工作远远落后于荷兰、美国、日本等发达国家, 充分利用我国丰富的野生百合资源和国外的优良品种资源, 培育具有自主知识产权的百合新品种, 打破垄断行为, 加快百合产业的发展, 是我国花卉科研工作者的当务之急。

当前育成的百合新品种中, 大部分采用的是常规杂交育种方法, 一部分为远缘杂交种。在做杂交之前, 熟悉掌握亲本花粉的生活力, 是每个育种工作者的首要工作。该试验试图从花粉生活力作为亲本选择的标准入手, 进行亲本筛选, 提高杂交授粉成功率。另外, 在自然状况下花粉的生活力迅速丧失, 以及亲本的花期不能相遇的原因, 育种工作者不得不采用一定的方法进行花粉贮藏, 保持花粉生活力。该试验同时对保持花粉生活力的贮藏方法进行研究, 为百合育种提供实用简便的花粉贮藏优化方法。

1 材料与方法

1.1 材料

试验选用68个百合亲本材料, 在辽宁省农业科学院花卉所温室中进行。

1.2 花粉生活力测定方法

第一作者简介: 赵兴华(1973-), 男, 在读硕士, 助理研究员, 主要从事花卉栽培和百合育种工作。

基金项目: 国家“863”计划资助项目(2006AA100109); 辽宁省重点实验室建设资助项目(2007403015)。

收稿日期: 2008-10-10

采用氯化三苯基四氮唑法(TTC法)、过氧化物酶测定法、碘-碘化钾法、蔗糖培养基培养法进行测定花粉的生活力。其中列表品种为138、177、193、260、142和卷丹。

1.2.1 氯化三苯基四氮唑法 取少量花粉放于载玻片上, 加1~2滴0.5%的氯化三苯基四氮唑溶液, 盖上盖玻片, 放在35℃的恒温箱中, 15 min后置于低倍显微镜下观察, 染成红色的为有生活力的花粉。

1.2.2 过氧化物酶测定法 配试剂: ①0.5%的联苯胺: 将0.5 g联苯胺溶于100 mL乙醇中; ②0.5%α-萘酚: 将0.5 gα-萘酚溶于100 mL 50%乙醇中; ③0.25%的碳酸钠: 将0.25 g碳酸钠溶于100 mL蒸馏水中; ④0.3%过氧化氢。试验前将溶液①②③各10 mL混合均匀成试剂I; 溶液④为试剂II。在干净载玻片上加试剂I和II各1小滴, 放少量花粉, 搅匀后盖上盖玻片, 30℃环境条件下, 放置30 min, 在显微镜下观察, 有生活力的花粉呈红色。

1.2.3 碘-碘化钾法(I-KI) 碘-碘化钾溶液的配制: 取2 g碘化钾溶于5~10 mL蒸馏水中, 然后加入1 g碘, 待全部溶解后加入蒸馏水至300 mL定容。取适量新鲜的花粉置载玻片上, 加1滴蒸馏水, 再加1~2滴碘-碘化钾溶液, 盖上盖玻片, 置低倍显微镜下观察。凡被染成蓝色的为生活力较强的花粉, 没有染色的为发育不良的花粉。

1.2.4 蔗糖培养基培养法 10%蔗糖、100 mg/kg硼酸、5 mg/kg赤霉素, 配制蔗糖培养基。取花粉放于培养基中, 在25℃的条件下, 培养12 h。在光学显微镜下观察, 花粉管明显伸长的为有生活力。计算公式: 萌发率 = (已萌发的花粉粒数 / 总花粉粒数) × 100%。

1.3 花粉的贮藏方法

在百合开花时, 选健壮植株的优质花朵, 用镊子取花药, 用硫酸纸将花药包好, 放在加入硅胶作为干燥剂

的干燥器里, 将瓶口用凡士林密封。贮藏的花粉生活力测定分别在第 1 天、第 2 天、第 3 天、第 4 天、第 5 天、第 6 天、第 7 天、第 8 天、第 9 天、第 10 天、第 11 天、第 12 天、第 13 天、第 19 天、第 23 天、第 31 天、第 33 天、第 39 天、第 53 天、第 68 天进行, 品种编号分别为 138、177、193、260、142。处理组合见表 2。

表 1 不同方法测定百合花粉活力 %

	138	177	193	260	142	卷丹
氯化三苯基四氮唑法	75	51	43	78	74	3
过氧化物酶测定法	69	40	49	76	70	2
碘-碘化钾法	71	44	51	80	66	3
蔗糖培养基培养法	66	37	36	73	62	1

1.3.1 常温贮藏法 在 25℃条件下, 将 5 包花粉放入

表 2 低温干燥贮藏条件下不同百合品种花粉生活力测定

检测时间	138			177			193			260			142		
	视野	花粉数	发芽数	视野	花粉数	发芽数	视野	花粉数	发芽数	视野	花粉数	发芽数	视野	花粉数	发芽数
7月 20 日	1	30	20	1	49	16	1	20	7	1	34	23			
	2	32	20	2	25	12	2	13	5	2	28	20			
	3	24	15	3	28	10	3	26	9	3	43	34			
		86	55		102	38		59	21		105	77			
7月 21 日			66			37			36			73			
	1	27	18	1	28	10	1	20	5	1	37	23			
	2	29	17	2	13	5	2	24	8	2	21	15			
	3	19	10	3	20	6	3	13	4	3	29	19			
7月 22 日			45		61	21		57	17		87	57			
			60			34			30			66			
	1	31	21	1	28	12	1	21	7	1	29	20			
	2	55	39	2	16	6	2	27	7	2	26	15			
7月 23 日	3	75	36	3	33	8	3	15	3	3	19	12			
		161	96		77	26		63	17		74	47			
			59.6			34			27			64			
	1	30	18	1	33	11	1	26	5	1	35	18			
7月 24 日	2	42	26	2	28	8	2	16	4	2	42	29			
	3	56	29	3	30	8	3	23	1	3	39	23			
		128	73		91	27		65	10		116	70			
			57			30			15			60			
7月 25 日	1	30	14	1	21	4	1	13	1	1	31	18	1	35	20
	2	41	18	2	27	6	2	18	3	2	27	15	2	15	12
	3	26	12	3	20	5	3	14	2	3	62	37	3	52	31
		97	44		68	15		45	6		120	70		102	63
7月 26 日			45			22			13			58			62
	1	20	7	1	29	4	1	17	1	1	31	17	1	31	19
	2	16	6	2	21	3	2	20	3	2	26	15	2	40	23
	3	14	6	3	27	4	3	33	4	3	23	14	3	54	27
7月 27 日		50	19		77	11		70	8		80	46		125	69
			38			14			11			58			55
	1	25	7	1	28	5	1	15	2	1	26	15	1	32	16
	2	12	7	2	38	5	2	12	1	2	24	11		38	15
7月 28 日	3	22	7	3	23	2	3	23	2	3	30	18		28	14
		59	21		89	12		50	5		80	44		98	45
			36			13			10			55			46
	1	20	8	1	22	3	1	29	2	1	30	17	1	26	8
7月 29 日	2	15	3	2	29	3	2	18	2	2	24	12		15	9
	3	41	12	3	26	4	3	30	3	3	28	15		25	8
		76	23		77	10		77	7		82	44		66	25
			30			13			9.1			54			38
7月 30 日	1	26	7	1	31	4	1	19	2	1	21	10	1	23	6
	2	18	5	2	16	3	2	20	1	2	28	15	2	25	7
	3	13	2	3	24	2	3	26	2	3	24	13	3	20	8
		57	14		71	9		65	5		73	38		68	21
7月 31 日			25			13			7.7			52			31
	1	28	5	1	29	3	1	18	2	1	29	16	1	17	1
	2	24	6	2	17	2	2	28	3	2	33	16	2	19	6
	3	19	5	3	22	2	3	48	1	3	28	13	3	29	9
7月 1 日		71	16		68	7		94	6		90	45		65	16
			23			10			6.4			50			25

无干燥剂的干燥器中贮存, 瓶口用凡士林密封。
1.3.2 常温干燥贮藏法 在 25℃条件下, 将 5 包花粉放入有干燥剂的干燥器中贮存, 瓶口用凡士林密封。
1.3.3 低温贮藏法 在 5℃条件下, 将 5 包花粉放入无干燥剂的干燥器中贮存, 瓶口用凡士林密封。
1.3.4 低温干燥贮藏法 在 5℃条件下, 将 5 包花粉放入有干燥剂的干燥器中贮存, 瓶口用凡士林密封。
1.3.5 高温贮藏法 在 36℃条件下, 将 5 包花粉放入无干燥剂的干燥器中贮存, 瓶口用凡士林密封。
1.3.6 高温干燥贮藏法 在 36℃条件下, 将 5 包花粉放入有干燥剂的干燥器中贮存, 瓶口用凡士林密封。

7月30日	1	29	4	1	26	2	1	14	1	1	27	15	1	30	5
	2	19	7	2	23	3	2	9	2	2	31	12	2	18	5
	3	30	6	3	19	1	3	25	0	3	35	18	3	29	8
		78	17		68	6		48	3		93	45		77	18
%			22			8.8			6.3			48			23
7月31日	1	30	6	1	20	2	1	18	2	1	18	9	1	43	9
	2	26	5	2	16	1	2	29	1	2	26	10	2	38	9
	3	21	5	3	24	2	3	19	1	3	20	11	3	18	5
		77	16		60	5		66	4		64	30		99	23
%			21			8.3			6.1			47			23
8月1日	1	19	3	1	27	3	1	30	2	1	22	10	1	27	5
	2	28	7	2	26	1	2	18	1	2	21	9	2	23	4
	3	26	5	3	28	1	3	47	1	3	30	14	3	43	11
		73	15		81	5		95	4		73	33		93	20
%			21			6.2			4.2			45			22
8月2日	1	21	5	1	18	1	1	24	0	1	40	17	1	25	4
	2	30	5	2	24	1	2	19	2	2	78	36	2	18	4
	3	19	4	3	29	2	3	20	0	3	53	22	3	21	5
		70	14		71	4		63	2		171	75		64	13
%			20			5.6			3.2			44			20
8月8日	1	20	5	1	45	1	1	20	0	1	41	19	1	33	5
	2	30	6	2	39	0	2	25	0	2	36	12	2	28	5
	3	27	3	3	25	0	3	49	2	3	53	21	3	35	8
		77	14		109	1		94	2		130	52		96	18
%			18			0.9			2.1			40			19
8月12日	1	30	5	1	0	0	1	48	0	1	19	7	1	36	6
	2	25	3	2	0	0	2	20	0	2	24	10	2	22	4
	3	32	6	3	0	0	3	31	0	3	18	6	3	40	7
		87	14		0	0		99	0		61	23		98	17
%			16			0			0			38			17
8月20日	1	18	2	1	31	0				1	26	8	1	24	6
	2	20	3	2	71	0				2	28	7	2	32	4
	3	28	5	3	76	0				3	20	5	3	44	5
		66	10		178	0					74	20		100	15
%			15			0						27			15
8月22日	1	23	1							1	33	9	1	22	3
	2	30	4							2	44	14	2	23	4
	3	33	6							3	31	5	3	25	1
		86	11								108	28		70	8
%			13									26			11
8月28日	1	41	5							1	26	6	1	16	2
	2	28	1							2	43	9	2	38	4
	3	32	3							3	28	7	3	28	2
		101	9								97	22		82	8
%			8.9									23			9.8
9月11日	1	38	1							1	17	3	1	52	4
	2	42	1							2	13	1	2	68	2
	3	51	1							3	20	3	3	53	5
		131	3								50	7		173	11
%			2.3									14			6.4
9月25日	1	81	1							1	25	2	1	22	1
	2	55	1							2	28	2	2	21	1
	3	75	0							3	16	2	3	19	0
		211	2								69	6		62	2
%			0.9									8.7			3.2

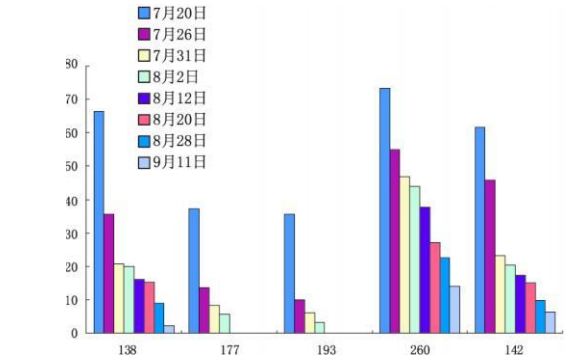


图 1 低温干燥贮藏条件下不同品种贮藏花粉活力

表 3 不同贮藏条件下的百合花粉生活力测定

	第1天	第3天	第6天	第9天	第19天	第31天	第53天
常温	66	45	26	11	0	0	0
常温干燥	66	49	29	16	3.2	0	0
低温	66	52	31	19	10	4.4	0
低温干燥	66	59.6	38	25	18	13	2.3
高温	66	32	21	6	0	0	0
高温干燥	66	39	24	10	2.7	0	0

2 结果与分析

2.1 不同百合品种花粉生活力的测定结果分析

由表 1 可知,采用氯化三苯基四氮唑法、过氧化物酶测定法、碘 碘化钾法和蔗糖培养基培养法 4 种方法测

得 6 个品种的花粉生活力差异有相似的趋势。其他 3 种方法的测定结果明显高于蔗糖培养基培养法,说明用染色法进行百合花粉生活力测定有较大的误差。用蔗糖培养基培养法实用、简单,可直接观察花粉管的发育情况。据表 1 数据方差分析表明,不同品种之间花粉生活力存在极显著差异。其中以 260 号亲本花粉生活力最高 73%,野生资源卷丹的生活力最低 1%。由表 2、3 可知,百合不同品种间花粉贮藏特性有很大差异。因此我们在百合杂交育种中,选择父本时要尽量选择花粉生活力高的品种做父本,提高杂交成功率。解决花期不遇的问题,应选择花粉生活力高,贮藏性好的品种。

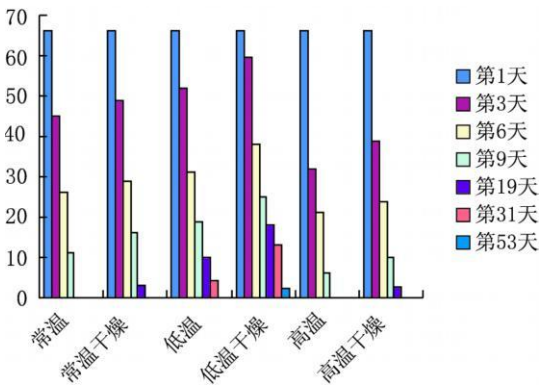


图 2 不同贮藏条件下的百合花粉生活力

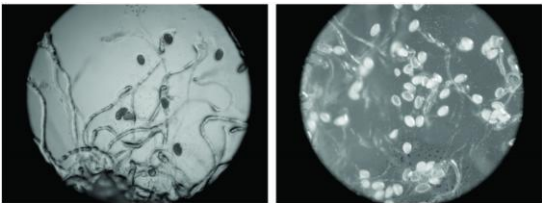


图 3 显微镜下百合花粉萌发图

2.2 不同储藏方法对百合花粉生活力的影响

以 138 号亲本为对象,采用蔗糖培养基培养法测定花粉生活力,进行百合花粉贮藏方法的研究。由表 3 可知,在所有的贮藏方法中,花粉的生活力随贮藏天数的增加而下降。在贮藏初期,花粉生活力的下降幅度比较大,随贮藏期延长,花粉生活力下降趋于平缓。由表 3 可知,干燥贮藏法优于非干燥贮藏法;低温贮藏优于常温贮藏处理;常温贮藏又优于高温贮藏;6 种花粉的贮藏方法中,以低温干燥贮藏法的效果最好。验证了低温干燥法比较有利于保持百合花粉的生活力,采用此方法贮藏的花粉在贮藏 30 d 后,仍有部分品种可在杂交上应用。

3 讨论

在百合杂交育种过程中,杂交父本花粉的生活力以及其花粉产量是应该考虑的重要因素之一。试验结果表明百合品种间花粉生活力存在极显著差异,在所研究的 68 份材料中以 21 号品种的花粉生活力为最高。低温干燥法最有利于保持百合花粉的生活力。储藏期间百合花粉生活力丧失机理以及如何减缓或控制贮藏期间花粉生活力快速下降的因素有待于进一步的研究。

参考文献

[1] 郝建军,刘延吉.植物生理学实验技术[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,2001:160-161.
[2] 张兴进,张兴国.魔芋花粉的低温和超低温保存[J].园艺学报,2000,27(2):139-140.
[3] 刘武林,马丽玲.梨、苹果等八种花粉贮存在有机溶剂中的生活力[J].园艺学报,1985(1):19-21.
[4] 安和祥.中华猕猴桃花粉生活力和保藏力试验简报[J].中国果树,1991(2):19-20.
[5] 钟惠宏,钮心格.大白菜花粉简易贮藏可保持生活力四年以上[J].中国蔬菜,1999(2):52-53.

Study on Vitality Measurement and Storing Methods of Asiatic Lily Pollen

ZHAO Xing-hua¹, ZHANG Dao-xu¹, YIN Dong-sheng¹, LI Dan¹, ZHANG Yan-ling²

(1. Institute of Flowers, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang, Liaoning 110161, China; 2. Institute of Vegetables, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: Four measurement methods were used to determine lily pollen viability. Results show that sucrose medium was the best and can see pollen tubes sprout directly; A significant difference in pollen vitality was found among various varieties. Among the 68 varieties the pollens of Longiflorum Hybrids lily was highest; The pollens of tiger lily almost lose vitality. Preserve among the six pollens storing methods, low-temperature (5℃) dehydration was the most favorable method for preserving pollen vitalities.

Key words: Lily; Pollens; Vitalities; Storage capacities