

锦带花粉生活力测定方法的研究

王 仲, 孙 睿, 张 丽 敏, 纪 艳

(佳木斯大学 生命科学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘 要:采用 4 种不同染色方法及离体萌发培养法对锦带花粉生活力进行测定。结果表明:采用醋酸洋红染色法,花粉粒均被染成红色,而 TTC 染色法无法使花粉着色,因此这 2 种方法不能作为测定锦带花粉生活力的染色方法;I-KI 染色法虽能测定花粉生活力,但测定值明显偏高,也不适宜采用;而过氧化物酶染色法的测定值与离体萌发培养法的测定结果相近,故认为是测定锦带花粉生活力的最适染色法。

关键词:锦带;花粉;生活力;测定方法

中图分类号:S 685.99 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2011)20-0132-02

在农业和林业的常规杂交育种中,研究花粉的生活力和育性是必不可少的基础性工作。而如何快速准确的测定花粉生活力对于提高植物育种效率具有较高的实际应用价值。该研究以东北地区重要的观花灌木锦带为试材,以离体萌发培养法为对照,综合运用醋酸洋红染色法、TTC 染色法、过氧化物沉淀法及 I-KI 染色法这几种化学染色法测定锦带花粉生活力,以期筛选出准确、简便、快捷的花粉生活力测定方法,为锦带花的育种工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料选自佳木斯大学校园内,于 2011 年 5 月中、下旬采集的盛花期锦带花粉。

1.2 试验方法

1.2.1 离体萌发测定法 花粉生活力的测定采用液体培养基发芽法:配制 100 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸、150 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸、200 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸及 250 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸培养基,分别滴 1 滴于载玻片上,取少量锦带花粉置于液体培养基中,用细玻璃棒搅拌均匀,然后将玻片放在有湿滤纸的培养皿中,盖上皿盖,一起放入 25℃ 的培养箱内,4 h 后取出,于显微镜下观察统计发芽率(花粉管长度超过 1/2 花粉直径者视为萌发)。3 次重复,每重复镜检 5 个视野(每个视野花粉数 ≥ 50)^[1]。花粉萌发

表 1

不同培养基对花粉萌发率的影响

| 培养基种类 | 100 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸 | 150 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸 | 200 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸 | 250 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸 |
|---------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 花粉萌发率/% | 24.5 | 30.2 | 85.3 | 67.5 |

第一作者简介:王仲(1979-),女,硕士,讲师,现主要从事园林植物遗传育种教学及研究工作。E-mail:wangzhong_2004@163.com。
责任作者:佳木斯大学科研资助项目(s2009-077)。
收稿日期:2011-08-03

率=某视野萌发花粉数/该视野统计花粉总数 $\times 100\%$ 。

1.2.2 I-KI 染色法 毛笔蘸取少量新鲜的花粉,置于载玻片上,滴 1 小滴 I-KI(0.1%)溶液,细玻璃棒搅拌均匀,盖上盖玻片,迅速在显微镜下观察,有活力的花粉被染成蓝色^[2]。

1.2.3 醋酸洋红染色法 方法同 I-KI 染色法,所用药品为 1%醋酸洋红溶液,有活力的花粉被染成红色^[2]。

1.2.4 TTC 染色法 毛笔蘸取少量新鲜的花粉,置于载玻片上,加入适量 TTC(0.5%)溶液,细玻璃棒搅拌均匀,盖上盖玻片,放在 35℃ 恒温箱中 15 min,然后在显微镜下观察,有活力的花粉被染成红色^[3]。

1.2.5 过氧化物酶沉淀法 在干洁载玻片上放少量现采的花粉,然后加 0.5% 联苯胺+0.5% α -萘酚+0.25% 碳酸钠配制成的试剂 1 小滴后,再加入 1 小滴 0.3% 过氧化氢,3~5 min 后,在显微镜下观察。凡有生活力的花粉为红色或玫瑰红色^[2]。

2 结果与分析

2.1 锦带花粉萌发最适培养基的筛选

不同植物花粉在不同浓度蔗糖培养基上萌发程度不同,因此应筛选出最适合锦带花粉萌发的培养基。从图 1 可看出,不同浓度蔗糖培养基上培养 4 h 后,200 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸条件下锦带花粉萌发率最高且花粉管伸长最长。

从表 1 可看出,锦带花粉在 200 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸培养基上萌发率最高,达 85.3%,在 100 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸培养基上萌发率最低,只有 24.5%,所以 200 g/L 蔗糖+40 mg/L 硼酸培养基为锦带花粉萌发的最适宜培养基。

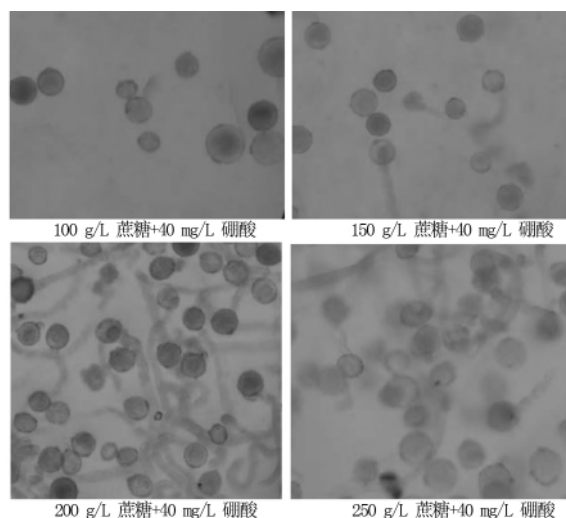


图1 不同液体培养基条件下花粉萌发情况(16×40)

2.2 不同染色方法对花粉生活力的影响

由表2可知,采用醋酸洋红染色,花粉粒均被染成红色;而TTC染色法无法使花粉着色,因此这2种方法不能作为测定锦带花粉生活力的染色方法。过氧化物酶沉淀法中观察到有活力的花粉被染成红色,而无活力的花粉为无色或黄色,得到有活力花粉的比率为88.1%;I-KI染色法使发育好、活力强的花粉粒呈深褐色,而无活力的花粉为无色或黄色,得到有活力花粉的比率为94.7%。以上2种染色法染色结果均高于离体萌发培养法测得的花粉生活力(85.3%),但比较而言,过氧化物酶沉淀法更接近离体萌发法,因此可以作为快速测定锦带花粉生活力的染色方法。

表2 锦带花粉生活力测定方法比较

| 染色方法 | 离体培养法 | 过氧化物酶沉淀法 | I-KI法 | 醋酸洋红法 | TTC法 |
|---------|-------|----------|-------|-------|------|
| 花粉萌发率/% | 85.3 | 88.1 | 94.7 | 100 | 0 |

3 结论与讨论

该试验结果表明,在花粉离体培养法中,供试锦带花粉萌发率随蔗糖浓度的增加而升高,在浓度为200 g/L

时,萌发率最高,为85.3%,大于200 g/L时,萌发率随蔗糖浓度的增大而降低,这可能是因为蔗糖在培养基中起着维持花粉与培养基之间渗透平衡的作用,以避免花粉及花粉管的破裂,同时也作为营养物质和能量来源,供给花粉管生长之用。

花粉离体萌芽测定法是测定花粉生活力的一种直接测定方法,最适合花粉活力的测定^[4],但是此法需要特定的温度(25℃)和较长的时间(4 h)培养才能实现,当需要在授粉前对田间花粉生活力进行快速测定时,该法的应用就会有很大的局限性。而利用化学染色剂来测定花粉生活力的一些染色方法较为简单快捷,几分钟内即可得到理想数据,因此筛选最适锦带花粉测定的染色方法对于花粉活力测定有很大的益处。该试验结果表明,TTC染色法不能使锦带花粉染色,而醋酸洋红染色法使锦带花粉全部染成红色,这与李范^[5]报道的用醋酸洋红染色法测定锦带花粉生活力有所不同,可能因为醋酸洋红染色法主要靠花粉中的脱氢辅酶而染色,若花粉的活力丧失,该物质仍然存在,所以其结果全部着色。因此,这2种方法均不适于锦带花粉生活力的测定。而其它2种染色方法中过氧化物酶沉淀法和I-KI染色法的有活力花粉比率分别为88.1%和94.7%,相比较而言,过氧化物酶沉淀法与离体培养基法(85.3%)比较接近,且操作简单快捷,在某些情况下,可单独使用,也可以与离体培养法结合使用,以提高锦带花粉生活力测定的准确性,因此过氧化物酶沉淀法是测定锦带花粉生活力最好的方法。

参考文献

- [1] 张颖,罗凤霞,年玉欣,等.矮牵牛花粉生命力测定方法的研究[J].种子,2005,24(8):26-28.
- [2] 张子学,孙峰.辣椒花粉生命力最佳测定方法的筛选[J].种子,2002(1):32-33.
- [3] 郭军洋,陈龙正,曹清河,等.黄瓜现采花粉生活力最佳染色方法的筛选[J].广东农业科学,2004(6):48-49.
- [4] 李志能,刘国锋,罗春丽,等.悬铃木花粉生活力及贮藏力的研究[J].武汉植物学研究,2006,24(1):54-57.
- [5] 李范.不同培养条件对锦带花粉萌发的影响[J].安徽农业科学,2007,35(11):3234-3236.

Study on Determination Method of *Weigela florida*'s Pollen Viability

WANG Zhong, SUN Rui, ZHANG Li-min, JI Yan

(College of Life Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Pollen viability of *Weigela florida* was tested with four staining methods and germination method. The results showed that pollen granule was all stained red by carmine acetate staining, while pollen granule could not be stained by TTC staining, so both of them could not be counted as methods of testing pollen viability of *Weigela florida*. Pollen viability could be tested by I-KI staining, but the value increased significantly, and also unfit for use. The result of peroxidase staining was similar to that of germination and it was the most optimal staining method for testing pollen viability of *Weigela florida*.

Key words: *Weigela florida*; pollen; viability; testing method