

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2017.02.023

板栗花粉活力测定方法比较

魏永忠

(辽宁省实验林场,辽宁抚顺 113311)

摘要:为建立板栗高效快速的花粉活力测定方法,分别采用了TCC染色法、I₂-KI染色法和固体培养基萌发法对板栗花粉活力进行了测定比较。结果表明:采用TCC染色法和I₂-KI染色法染色后花粉的不易辨识,测定结果偏低,不适合作为板栗花粉活力的测定方法;固体培养基萌发法辨识度高,萌发率高,适合作为板栗花粉活力的测定方法。

关键词:板栗;花粉活力;萌发率;染色法

中图分类号:S722.3

文献标识码:A

文章编号:1003-5508(2017)03-0100-02

Comparison on *Castanea crenata* Pollen Viability Determination Methods

WEI Yong-zhong

(Experimental Forest Farm of Liaoning, Fushun 113311, Liaoning, China)

Abstract: In order to find out the quicker and easier methods of determining the pollen viability of *Castanea crenata*, the pollen viability were detected by methods of I-KI, TTC and solid medium. According to the results, methods of the staining with TTC and I₂-KI were difficult to determine the pollen viability, but solid medium germination method was suitable to be used to detect the pollen viability

Key words: *Castanea crenata*, Pollen viability, Staining, Germination rate

板栗(*Castanea crenata*)是我国东北地区重要的野生资源,具有良好的经济价值,由于其果实丰富的营养价值,不论是鲜果还是加工产品深受老百姓喜爱,是我国北方山地农林增收的重要手段,栽培面积较大,是该地区重要的木本粮油作物。在生产和育种实践中,都需要明确种质资源的花粉的萌发能力。但目前,关于板栗花粉活力的测定方法尚未开展系统研究。鉴于此,笔者参照杜鹃^[2]、玉米^[3]、木薯^[4]、韭菜^[5]等植物花粉活力测定方法对板栗花粉活力测定方法进行比较,旨在为建立快速有效的板栗花粉活力测定方法为人工授粉育种和授粉树配置提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

于2016年5月采自辽宁省凤城市红旗镇,采集

待开放的雄花花序的健壮枝条。采集后送往实验室阴凉处水培1d后收集新鲜花粉。待花药散出花粉粒后,收集花粉粒于试管内-20℃保存备用。

1.2 试剂

碘(I₂)、碘化钾(KI)、氯化三苯基四氮唑(TCC)等均为分析纯,购自北京索莱宝生物工程有限公司。

1.3 实验方法

TCC染色法:在载玻片上涂匀花粉后加1滴TCC溶液并盖上盖玻片。将样品放置于20℃培养箱,10 min后取出进行显微观察。以红色认定花粉可萌发。红色的花粉数总数与观察的花粉总数比值为花粉萌发率。

I₂-KI染色法:将少量花粉均匀置于载玻片后加1滴I₂-KI溶液,2 min后取出显微观察。凡染成蓝紫色认定为花粉可萌发。蓝紫色的花粉数总数与观察的花粉总数比值为花粉萌发率。

收稿日期:2016-12-29

作者简介:魏永忠(1968-),辽宁抚顺人,本科,现从事树木生产与管理工。

固体培养基萌发法:培养基做如下配制:1.0%琼脂,蔗糖浓度分别为5%、10%、15%和20%,硼酸浓度分别为 $0.010 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.050 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,其他元素的添加参照胡适宜的方法^[6]。培养基熔解后倒入培养皿内。冷却后,用牙签蘸取少量花粉均匀弹在培养基上,带花粉的培养基放置于 20°C 恒温恒湿箱中培养24h。显微镜下测定萌发率。萌发的花粉数总数与观察的花粉总数比值为花粉萌发率。

以上3种方法均在4倍显微镜下,要求观察花粉总数大于200。每种方法重复3次。

2 结果与分析

2.1 培养基条件对花粉发芽率测定的影响

试验中,选用4水平蔗糖浓度及3水平硼酸浓度的培养基,分别培养板栗花粉并测定其萌发率,结果见图1。从图1可以看出,同水平的硼酸浓度下,当蔗糖浓度在5%~15%区间内,花粉的萌发率随着蔗糖浓度的增加而逐渐升高;当蔗糖浓度超过15%时,萌发率随着蔗糖浓度的增加反而降低。15%时的花粉萌发率均为最高值,萌发率分别为77.3%、68.9%和74.3%。实验结果表明,同水平的蔗糖浓度下,硼酸浓度对板栗花粉萌发作用规律不明显。15%蔗糖浓度条件下,最佳的硼酸浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,此时花粉萌发率最高,达到77.3%。

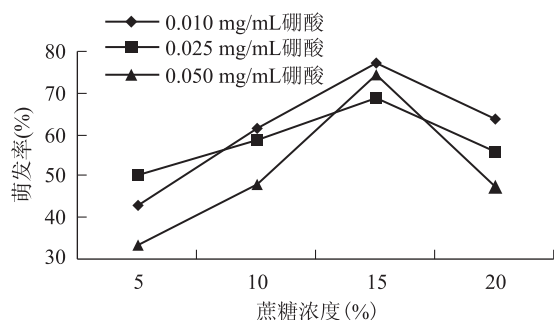


图1 不同蔗糖、硼酸浓度对花粉萌发率的影响

2.2 不同方法测定板栗花粉生活力的比较

采用TTC染色法,花粉均呈淡红色,颜色的深浅差异不明显,对花粉粒活力状况辨识困难。采用 $\text{I}_2\text{-KI}$ 染色法,花粉呈蓝色,颜色的深浅差异同样不明显,辨识度差。此外,从表1可以看出,采用染色法的测定结果均低于固体培养基萌发法。固体培养基萌发法与如上2种染色方法相比,花粉萌发率测定值最高,且不必通过花粉的颜色辨识花粉的活力

情况,判断方法客观、准确。因此,固体培养基萌发法比TCC法和 $\text{I}_2\text{-KI}$ 法更适用于板栗花粉活力的测定。

表1 不同方法对板栗花粉生活力的测定比较

测定方法	花粉平均萌发率	5%显著水平
TTC染色法	56.3%	c
$\text{I}_2\text{-KI}$ 染色法	46.5%	c
固体培养基萌发法	77.3%	a

3 结论与讨论

在比较蔗糖和硼酸浓度对板栗花粉生活力的影响时发现:在一定范围内,随着蔗糖浓度的提高花粉的萌发率也在增加,超过此范围就起到相反的作用。这是因为蔗糖不仅为花粉管的萌发提供能量,同时还参与细胞内外的渗透压平衡。当蔗糖浓度在未打破渗透压平衡时,随着浓度的增加花粉营养供给越充分,花粉萌发率越高;当蔗糖浓度达到并超过一定值后会打破这种平衡,产生细胞脱水现象而抑制了花粉的萌发。

硼元素对花粉也很重要,这是因为硼的缺乏会导致花粉粒中脱氢酶活性降低而使呼吸作用受到抑制,最终影响花粉萌发。本研究未发现硼酸浓度对板栗花粉萌发的作用的规律性,这可能因为一定蔗糖浓度条件下花粉对硼元素量需求存在差异。

比较3种测定板栗花粉生活力方法发现,固体培养基萌发法比TCC染色法和 $\text{I}_2\text{-KI}$ 染色法更容易掌握,结果准确性更高,更适合作为板栗花粉活力的标准测定方法。两种染色法测定花粉的生活力虽然具有步骤简单的优点,但测定结果低于固体培养基的测定方法,这可能与花粉壁厚度有关,增加了测定的误差。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第十二卷)[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [2] 张超仪,耿兴敏. 六种杜鹃花属植物花粉活力测定方法的比较研究[J]. 植物科学学报,2012,30(1):92~99.
- [3] 王燕哲,崔彦宏,张丽华,等. 玉米花粉活力测定方法的比较研究[J]. 玉米科学,2010,18(3):173~176.
- [4] 俞奔驰,李军,盘欢,等. 木薯花粉活力测定及验证试验[J]. 广东农业科学,2012,(13):25~27.
- [5] 汪妮,张志轩,董自梅. 韭菜花粉生活力测定方法的筛选研究[J]. 长江蔬菜,2009,(2):53~54.
- [6] 胡适宜. 花粉生活力的测定[J]. 植物学通报,1993,70(2):60~62.