

石兰蓉,卢赛清,黄秋伟,等. 木薯花粉活力与柱头可授性研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):98-100.

# 木薯花粉活力与柱头可授性研究

石兰蓉,卢赛清,黄秋伟,彭靖茹,黎 萍

(广西亚热带作物研究所,广西南宁 530001)

**摘要:**探讨 5 个木薯品种的花粉活力、寿命及柱头可授性。采用 TTC 法检测花粉活力和寿命,离体培养法检测花粉萌发率,血球计数法测定花粉量以及 MTT 法检测柱头可授性。结果表明:开花当天 13:00—14:30 是 5 个木薯品种的花粉活力最高时期,其中,花粉活力最高的是 GR891,花粉活力 38.17%,最低的是华南 124,花粉活力只有 9.44%。在自然条件下,木薯花粉极易失活,从花药散出后只能存活 3~4 h。一定浓度的蔗糖可促进木薯花粉的萌发,但萌发率均较低。柱头在开花当天便具有很强的可授性,但可授期较短,第 2 天柱头便逐渐变褐,最终失去可授性。因此,在进行木薯人工辅助育种时,应在盛花期中午选择当天开放的花粉对当天开放的柱头进行授粉。

**关键词:**木薯;花粉活力;柱头;可授性

**中图分类号:**S533.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)08-0098-03

木薯(*Manihot esculenta* Crantz)原产于美洲热带,为大戟科灌木状多年生作物。随着国家重视木薯作物的研究与开发,木薯作为一种重要的饲用作物和能源作物具有巨大的发展潜力<sup>[1]</sup>。广西是木薯的主产区,种植品种主要依赖从国外或海南等地引进,品种单一,部分品种已开始退化<sup>[2]</sup>,因此,提供适应市场需求的新品种成为木薯产业发展的重大课题之一。

目前,我国木薯品种改良的根本途径仍然是以常规杂交育种中的品种间杂交为主。杂交授粉是品种选育的重要手段。授粉成功的前提是传到柱头的花粉必须具有生活力,自然条件下,大多数植物的花粉从花药散出后只能存活几小时、几天或几周。因此,成熟的花粉粒能否及时传到雌蕊的柱头上,对保证花粉的正常萌发至关重要。木薯为异花授粉的营养体繁殖作物,雌雄花同序,同序花中雌花先开,雄花后开,相

距 7~10 d。在木薯常规育种中,多因木薯花粉育性低、结实率低等问题而难获得高质量的种子<sup>[3]</sup>。广西木薯由于生长发育期间受气温及光照等原因的影响,往往造成不开花、开花不结实或种子充实度不足,因此尚未建立起杂交代育种技术平台<sup>[1,4]</sup>。近年来,一些树木、花卉和药用植物的花粉活力与寿命及柱头可授性的研究已经引起了不少学者的重视并开展了大量的研究<sup>[5-6]</sup>。俞奔驰等对木薯开花前 0.5 h 的花粉活力进行探索并进行验证试验<sup>[7]</sup>,但木薯成熟花粉散出后的活力、寿命及柱头可授性研究尚未见报道。本研究以多效唑为催花剂促进木薯开花,以 5 个木薯品种为材料,对其花粉活力、寿命及柱头可授性进行观察和分析,探索木薯花粉活力、寿命及柱头可授性在开花过程中的变化规律,以期建立广西木薯杂交代育种技术平台提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料:2 年生南植 199、GR891、新选 048、华南 124、华南 205 等 5 个木薯品种。试验采集地为广西亚热带作物研究所木薯种植基地。在 8 月上旬以多效唑对供试植株进行促

收稿日期:2013-02-01

基金项目:广西自然科学基金(编号:2010GXNSFB013039);广西壮族自治区亚热带作物研究所专项资金(编号:桂热研 201007)。

作者简介:石兰蓉(1979—),女,广西南宁人,硕士,助理研究员,从事植物组织培养与快速繁殖研究。E-mail: shilanrong79@126.com。

[10] Richards R A, Thurling N. The genetics of self-incompatibility in *Brassica campestris* L. ssp. *oleifera* Metz. I. Characteristics of S-locus. Control of self-incompatibility [J]. *Genetica*, 1973, 44: 428-438.

[11] Thompson K F. Competitive interaction between two S-alleles in a sporophytically-controlled incompatibility system [J]. *Heredity*, 1972, 28: 1-7.

[12] Sup Nou I, Watanabe M, Isuzugawa K, et al. Isolation of S-alleles from a wild population of *Brassica campestris* L. at Balcesme, Turkey and their characterization by S-glycoproteins [J]. *Sex Plant Reprod*, 1993, 6(1): 71-78.

[13] Sup Nou I, Watanabe M, Isogai A, et al. Comparison of S-alleles and S-glycoproteins between two wild populations of *Brassica campestris* in Turkey and Japan [J]. *Sex Plant Reprod*, 1993, 6(2): 79-86.

[14] Hinata K, Okazaki K, Nishio T. Gene analysis of self-compatibility in *Brassica campestris* var. Yellow Sarson (a case of recessive epistatic modifier) [C]. Paris: Proc 6th Int Rapeseed Congr, 1983: 354-359.

[15] Nasrallah M E. The genetics of self-incompatibility reactions in *Brassica* and the effects of suppressor genes [M]//Lord E, Bemier G. Plant reproduction: From floral induction to pollination. The American Society of Plant Physiologists Symposium Series, 1989: 146-155.

[16] Beschorner M, Pltimper B, Odenbach W. Analysis of self incompatibility interactions in 30 resynthesized *Brassica napus* lines. I. Fluorescence microscopic studies [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 665-670.

[17] 于澄宇. 甘蓝型油菜授粉控制系统研究现状与前景 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2011, 39(9): 93-99.

花处理,于盛花期(9 月中旬至 10 月上旬)采摘当天开放的花朵(12:40 左右始开放)散开的花粉。

仪器:德国进口莱卡 DM2500 生物显微镜;血球计数板购自广西南宁恒因生物科技有限公司(每大方格 0.1 mm<sup>3</sup>)。药品:TTC、MTT 为分析纯,AMRESCO 公司供应。

1.2 方法

1.2.1 花粉活力的测定 参照 TTC(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride)法<sup>[8]</sup>测定花粉的活力和寿命。具体方法是:取花粉于载玻片上,滴加 0.5% TTC 溶液,盖上盖玻片,放入内有滤纸的平皿中,然后将平皿放入 37℃ 恒温箱中,30 min 后在显微镜下观察染色结果,活力强的花粉染成深红色,活力较弱的染成浅红色,没有活力的花粉不被染色。观察 2~3 个制片,每片取 5 个视野,花粉活力的统计为 10~15 个视野的平均值。

1.2.2 花粉萌发率的测定 采用离体花粉萌发方法<sup>[9]</sup>:在载玻片上分别涂上含 0.01% 硼酸+0.7% 琼脂+0%、5%、10%、15%、20% 5 种浓度蔗糖的培养基,取当天刚开放花朵,用镊子取花药,将花药上散开的花粉粒涂在培养基上,将载玻片置于 25℃、湿度 70% 的人工气候箱中,24 h 后进行镜检。以花粉管萌发大于等于花粉粒直径为标准计算萌发率。在显微镜下观察 12 个视野的花粉萌发率,求其平均值。

1.2.3 花粉量的测定 采用血球板计数法<sup>[10]</sup>。取充分成熟、饱满、未开裂的花药,放入干净的玻璃瓶中,置于干燥器内,于 30℃ 培养箱中加速开裂。待花粉充分散出来后,滴入 1% 六偏磷酸钠溶液,定容至 5 mL,加盖振荡,使花粉呈悬浮

状态,然后吸取数滴悬浮于血球计数板上,在显微镜下统计花粉数量,重复 12 次,取平均值。并数出所取的花药数量,从而推算出每一枚花药中的平均花粉粒数。

1.2.4 柱头可授性的检测 用 MTT 法检测<sup>[10-11]</sup>。取不同开花的花朵柱头若干个,将柱头浸入凹面载玻片中(含有 100 μL MTT 蔗糖溶液)的凹面处,充分浸透每个柱头,约 10~15 min 后观察柱头的颜色变化。同时以火加热杀死的柱头作对照。若柱头呈深紫色表示具有可授性,若无颜色变化则表示为无可授性。

2 结果与分析

2.1 不同木薯品种花粉的活力及变化

木薯开花后其花粉活力的强弱及变化在木薯常规育种具有重要意义。从表 1 可以看出:在 13:00—14:30 花朵盛开的高峰期,供试的 5 个木薯品种中,浅红色花粉粒所占比例最大,这些花粉虽然具备一定活力,但生命力衰退或部分已丧失生活力。具有强生命力的红色花粉粒中,花粉活力较高的是 GR891,红色花粉率为 38.17%;其次是新选 048,红色花粉率为 32.64%;华南 205 与南植 199 的花粉活力相近,分别为 22.30% 和 20.95%;华南 124 花粉活力最低,只有 9.44%。16:00 后,5 个木薯品种的花粉活力均迅速下降,只有新选 048 的花粉仍保持有较高活力的红色,但花粉量极少,只有 0.34%;华南 124 花粉粒完全失活;其余 3 个品种红色花粉率均降到 0,只有少量花粉被染成浅红色。由此可见,在自然条件下,木薯花粉极易失活,从花药散出后只能存活 3~4 h。

表 1 不同木薯品种花粉的活力及活力变化

品种	花粉活力(%)						花粉量 (粒/枚)
	当天 13:00—14:30			当天 16:00—16:45			
	红色花粉率	浅红色花粉率	黄色花粉率	红色花粉率	浅色花粉率	黄色花粉率	
GR891	38.17	34.02	27.80	0	8.16	91.84	1 188
新选 048	32.64	40.30	27.00	0.34	10.49	89.17	525
华南 205	22.30	37.75	39.95	0	5.71	94.29	1 020
南植 199	20.95	50.83	28.22	0	14.62	85.54	1 776
华南 124	9.44	58.33	32.22	0	0	100	52

注:红色表示花粉生命力强;浅红色表示花粉生命力衰退或部分丧失生活力,染色较浅或局部被染色;黄色表示无生命力保持花粉原来的黄色。

掌握木薯各品种花粉活力及花粉量的状况在木薯人工授粉选择亲本中具有重要的意义。对木薯花粉量测定的结果显示:试验的 5 个木薯品种的花粉量存在一定差异,花粉量最大的是南植 199,平均 1 776 粒/枚;最少的是华南 124,平均花粉量仅为 52 粒/枚;新选 048 的花粉量也较少,平均为 525 粒/枚;GR891 与华南 205 花粉量相近,分别为 1 188 粒/枚和 1 020 粒/枚。综合花粉活力及花粉量可以得出,花粉量少及生活力低的华南 124 在人工杂交育种中不适宜作为父本。

2.2 不同木薯品种花粉的萌发试验结果

蔗糖浓度对木薯花粉萌发具有一定的影响。从表 2 看出,培养 24 h 后,在没有蔗糖及蔗糖浓度为 5% 的培养基上,所有木薯品种的花粉都没有萌发;当蔗糖浓度提高到 10% 时,试验的 5 个木薯品种花粉均有萌发,但萌发率不高,均低于 5%;而在蔗糖浓度为 15% 的培养基上,所有木薯品种的花粉萌发率最高,其中华南 205 的萌发率最高,达 9.18%;

GR891 次之,达 8.89%;华南 124 最低,仅为 3.29%。糖分浓度的进一步升高并不能促进木薯花粉的萌发,当蔗糖浓度为 20% 时,花粉的萌发受到了抑制,5 个品种花粉萌发率均降低。

表 2 蔗糖浓度对不同木薯品种花粉萌发的影响

蔗糖浓度 (%)	花粉萌发率(%)				
	GR891	新选 048	华南 205	南植 199	华南 124
0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
10	2.65	2.60	4.11	4.15	1.26
15	8.89	6.84	9.18	6.53	3.29
20	4.12	3.28	7.55	5.5	2.95

2.3 不同木薯品种柱头可授性的测定结果

在试验过程中发现,同一天开放的木薯雌花比雄花稍早开放,其柱头可授性如表 3 所示。11:00 左右,部分当天开放

的雌花花萼一瓣或两瓣打开时,其柱头便开始具有可授性,只是柱头分泌的黏液少,黏性不强;13:00—17:00,木薯雌花柱头均具有可授性,其中 13:00—15:00 是木薯花朵开放的全盛时间,此时雌花花萼完全开放,柱头处翻,柱头黏性强,柱头可授性最强;次日中午开始,雌花花萼稍闭合,只有部分柱头仍具有可授性;而在次日 16:00 以后,雌花花萼关闭,柱头末端变褐

色,虽然柱头触之仍有黏性,但绝大部分柱头已丧失可授性。在试验过程中也发现,南植 199、华南 124 以及新选 048 雌性花流量较多,GR891 和华南 205 雌性花相对较少,同时从表 3 可以看出,GR891 和新选 048 柱头的可授期相对更短,因此,在木薯杂交授粉中可考虑雌性花量多且柱头可授期长的南植 199 及华南 124 作为母本。

表 3 不同木薯品种的柱头可授性

时间	开花状态	GR891		新选 048		华南 205		南植 199		华南 124	
		柱头数 (个)	可授性	柱头数 (个)	可授性	柱头数 (个)	可授性	柱头数 (个)	可授性	柱头数 (个)	可授性
当天 10:00—11:00	花萼稍开放,柱头浅白、少部分柱头有低黏性	15	- / +	25	- / +	13	- / +	28	- / +	25	- / +
当天 13:00—15:00	花萼完全开放,柱头外翻、黏性强	18	++	26	++	10	++	30	++	26	++
当天 16:00—17:00	花萼完全开放,柱头外翻、黏性稍强	16	+	20	+	10	+	25	+	24	+
次日 10:00—12:00	花萼开放,柱头黏性减弱	14	- / +	21	- / +	12	- / +	20	- / +	28	- / +
次日 13:00—15:00	花萼稍闭合,柱头变色	18	-	25	-	14	-- / +	23	-- / +	20	-- / +
次日 16:00	花萼闭合,柱头黄褐色	15	-	23	-	13	-	24	-	20	-

注:-表示柱头不具有可授性;-/+表示部分柱头有可授性,部分柱头无可授性;--/+表示部分柱头具微弱可授性;+表示柱头具有可授性;++表示柱头可授性强。

3 小结

俞奔驰等用不同方法对木薯花粉活力进行检测,TTC 法不仅测出的活力极低且未能体现出花粉活力强弱的差异<sup>[7]</sup>。本试验通过 TTC 法可以很明显的看出不同生活力的花粉粒被染成不同颜色,与俞奔驰等研究结果有异,其原因有待进一步交流探讨。本试验结果表明,在自然环境中,GR891、新选 048、华南 205、南植 199 以及华南 124 等 5 个木薯品种花粉在开花初期的 3 h 时间里超过 60% 的花粉粒具有活力,但其中生命力强的花粉量只占少数(红色花粉),平均只有 24.70%;而绝大多数为生命力弱的花粉粒(被染成浅色花粉),这部分花粉粒多因生命力衰退或部分丧失了生活力而使花粉的育性降低。利用蔗糖对各木薯品种的花粉进行萌发试验的结果也表明,木薯花粉的萌发需要一定的糖分,但萌发率都极低,这与俞奔驰等之前的研究结果相似。较低的花粉生活力及花粉萌发率也许是造成木薯常规育种中木薯结实率低且难获得高质量种子的原因之一。

花粉活力的强弱以及花粉寿命的长短,对人工辅助育种具有重要的意义<sup>[12]</sup>。在自然界中,绝大多数植物花粉的寿命都较短。在本研究中,试验的 5 个木薯品种花粉在自然状况下花粉活力下降快,开花 4 h 后花粉活力几乎完全衰退。同时,木薯为异花授粉的营养体繁殖作物,同序花中雌花先开,雄花后开,相距 7~10 d,因而常存在花期不遇的问题。因此,在进行木薯人工授粉过程中,父本花粉最佳摘取时间为晴天中午花朵开放后的 3 h 内。在实验室的条件下保持木薯花粉的生活力以及在贮藏过程中花粉活力的变化情况有待进一步研究和探索。

柱头是花粉粒与雌蕊之间相互识别以及花粉粒被接纳后开始萌发的场所<sup>[13]</sup>。柱头可授期是花朵成熟过程中一个重要的时期,它在很大程度上影响着传粉的成功率<sup>[14]</sup>。不同植物的柱头可授期所持续的时间从几小时到十几小时不等。GR891、新选 048 等几个木薯品种在开花后 1 h 柱头便具有可

授性,当柱头外翻变白时可授性最强,但可授性持续时间不长,开花后约 24h 柱头便开始变色,由白变黄褐色而失去可授性。因此在广西南宁地区进行木薯田间人工杂交授粉时应选择在雌花盛开的中午进行。

参考文献:

[1] 韦本辉,甘秀芹,陆柳英,等. 广西木薯诱导开花结实及发芽试验研究初报[J]. 广西农业科学,2009,40(8):982-986.

[2] 刘康德. 国内外木薯科技研究进展[J]. 中国热带农业,2006(5):9-10.

[3] 我国木薯选育种进展[J]. 热带农业科学,2009,29(11):115-119.

[4] 但忠,欧文军,蒋盛军,等. 广西武鸣木薯开花结果现状调查分析[J]. 安徽农业科学,2009,37(27):13004-13006.

[5] 赵金花,李青丰,那仁图雅,等. 3 种野生葱属植物花粉活力和柱头可授性研究[J]. 草业科学,2010,27(4):93-96.

[6] 陈郡雯,吴卫,候凯. 川白芷与祁白芷花粉活力及柱头可授性测定[J]. 中国中药杂志,2011,36(22):3079-3079.

[7] 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,2002(13):25-26.

[8] 胡适. 植物胚胎学试验方法——花粉生活力的测定[J]. 植物学通报,1993,10(2):50.

[9] 陶懿伟,许洁婷,史益敏. 风信子花粉活力与育性[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,2004,22(4):416-419.

[10] 洪克前. 蓝猪耳(*Torenia fournieri* Lind)花发育及育性的研究[D]. 广州:华南师范大学,2006.

[11] 徐荣,宋维成,陈君. 肉苁蓉花粉活力与柱头可授性研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(3):307-310.

[12] 张双,奚晓东,张金凤. 黑杨花粉活力和柱头可授性研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(20):10550-10552,10640.

[13] 郑湘如,王丽. 植物学[M]. 2 版. 北京:中国农业大学出版社,2007.

[14] 王翔,刘庆华,王大奎. 耐冬山茶(*Camellia japonica* LP.)花粉活力和柱头可授性研究[J]. 西南农业学报,2008,21(4):1078-1080.