

李永俊,李 平,赵希子,等. 马铃薯花粉孕性鉴定方法[J]. 江苏农业科学,2013,41(10):82-83.

马铃薯花粉孕性鉴定方法

李永俊¹, 李 平¹, 赵希子¹, 郭相和¹, 全英姬¹, 金顺福²

(1. 延边职业技术学院, 吉林延吉 133001; 2. 吉林省延边农业科学研究院, 吉林龙井 133400)

摘要:以 8 个马铃薯亲本为材料, 比较了目测法、弹粉法、染色法鉴定马铃薯花粉孕性的效果。结果表明, 目测法、弹粉法鉴定马铃薯花粉孕性的结果与染色法基本一致, 花药黄绿色、花药饱满度差、花粉数量少的亲本孕性低; 花药黄色或橙黄色、花药发育饱满、花粉数量多的亲本孕性高; 花粉数量中等的亲本孕性也中等。3 种染色液均可作为马铃薯花粉染色鉴定法的染色药剂。

关键词:马铃薯; 花粉; 孕性; 鉴定

中图分类号: S532.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0082-02

随着科学技术发展, 出现了在二倍体水平和遗传工程上进行的马铃薯育种工作, 但目前为止该技术只能作为一种辅助手段应用在马铃薯育种上^[1]。常规育种方法即亲本间杂交, 在今后很长时间内还将是马铃薯育种工作的主要手段。从事作物育种工作, 在明确育种目标的前提下, 首先要准确选择亲本材料, 这在很大程度上决定了育种效果。然后根据选择的亲本材料, 制定杂交组合, 再在亲本圃中播种亲本材料, 待开花期进行亲本间杂交, 此时会发现有些原始材料开花少且易落蕾落花, 还有些原始材料的花粉少或极少, 甚至没有花粉。对花粉少或极少的亲本进行花粉收集费时又费事, 即便收集大量花粉, 杂交后往往也会出现结实率低的现象, 原因是亲本材料花粉的孕性低^[2-5]。怎样才能准确快速判断一个新引进或新选育的品种能否在育种中被直接利用, 对育种工作者至关重要。本研究比较了马铃薯花粉孕性鉴定方法, 旨在为马铃薯育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试马铃薯亲本包括东农 303、克新 4 号、大西洋、延薯 4 号、费乌瑞它、克新 2 号、早大白、延薯 5 号等 8 个品种。

1.2 试验设计

供试亲本材料采用健康的脱毒种薯, 整薯播种在吉林省延边农业科学研究院试验网棚亲本圃中, 每个品种种 2 行, 行长 6 m, 行距 75 cm, 株距 30 cm, 每行种 20 株。

1.3 试验方法

1.3.1 目测法 亲本材料开花后, 每天上午用肉眼直接观察马铃薯花药颜色、花药饱满度及落蕾落花程度。

1.3.2 弹粉法 亲本材料开花后, 选择晴天 08:00—09:00 摘取刚开的花, 将花瓣向后折, 再抽去雌蕊, 用拇指和中指掐住花药与花萼连接处, 用食指轻弹花药, 用另一只手的拇指指甲接住弹落的花粉, 观察拇指指甲上弹落的花粉数量, 花粉数量可分为无、少、中等、多。

1.3.3 染色法

1.3.3.1 醋酸洋红 (1) 配制方法: 取 45 mL 冰醋酸加入 55 mL 蒸馏水中, 加热至沸腾, 移去火源, 徐徐加入 2 g 洋红粉末, 加热 1~2 min, 冷却后滴入几滴 2% 硫酸铁铵, 过滤后藏于正色瓶中。(2) 染色、观察: 将待测花粉尽量均匀弹于载玻片上, 滴加 1~2 滴醋酸洋红染色液, 染色 1~2 min, 再滴加 1~2 滴 45% 冰醋酸进行褪色。凡是能孕花粉均着色(红色), 花粉粒呈圆形; 相反, 不孕花粉呈皱缩, 形状不规则, 不着色或着色极浅。

1.3.3.2 1% I₂-KI (1) 配制方法: 取 2 g KI 溶于 5 mL 蒸馏水中, 加 1 g 金属碘, 待其溶解后, 再加入 295 mL 蒸馏水, 保存在棕色瓶中。(2) 染色、观察: 将待测花粉尽量均匀弹于载玻片上, 滴加 1~2 滴 I₂-KI 染色液, 立即放在显微镜下观察。凡是能孕花粉均着色(黄色), 花粉粒呈圆形; 相反, 不孕花粉呈皱缩, 形状不规则, 不着色、着色极浅或着黑色。

1.3.3.3 石炭酸品红(卡宝品红) (1) 配制方法。母液 A: 3 g 碱性品红溶于 100 mL 70% 乙醇溶液, 可长期使用; 母液 B: 取母液 A 10 mL, 加入 5% 苯酚水溶液 90 mL, 限 2 周内使用。母液 C: 取母液 B 55 mL 加入冰乙酸和甲醛各 6 mL, 可长期使用。染色液: 取母液 C 10~20 mL, 加入 45% 乙酸 80~90 mL, 再加入山梨醇 1 g, 配制 1~2 周后即可使用。(2) 染色、观察: 将待测花粉尽量均匀弹于载玻片上, 滴加 1~2 滴石炭酸品红染色液, 再滴入 1 滴 45% 冰醋酸褪色。凡是能孕花粉均着色(紫色), 花粉粒呈圆形; 相反, 不孕花粉呈皱缩, 形状不规则, 不着色或着色极浅。

2 结果与分析

马铃薯花药颜色通常分为黄绿色、黄色、橙黄色, 花呈黄绿色的花粉多为无效花粉。观察结果发现, 东农 303、克新 4 号落蕾、落花严重, 花药黄绿色且花药发育不饱满, 基本确定其花粉为不孕花粉。其他亲本花药均为黄色或橙黄色, 花药饱满, 须进一步进行花粉孕性鉴定。

用相同力度对 8 个参试品种进行弹粉, 结果发现: 东农 303、克新 4 号很难被弹出花粉, 表明这 2 个亲本材料的花药中花粉数量极少; 延薯 4 号、大西洋弹出的花粉数量少; 费乌瑞它、克新 2 号弹出的花粉数量中等; 早大白、延薯 5 号弹出

收稿日期: 2013-04-02

作者简介: 李永俊(1959—), 男, 吉林和龙人, 副教授, 研究方向为马铃薯脱毒、病毒检测、新品种选育。E-mail: leelkc@163.com。

的花粉数量多。用弹粉法弹出的花粉数量与花粉孕性的关系是本研究确定弹粉法鉴定花粉孕性成败的关键。

对 3 种染色液进行比较发现,它们对马铃薯花粉孕性的鉴定结果是一致的,说明此 3 种染色液均可用于马铃薯花粉孕性的鉴定。但 3 种染色液使花粉细胞着色后颜色不同,染色时间不同,观察效果略有不同。在操作方面,以 I_2-KI 染色法最为简单,但花粉细胞着色较浅;醋酸洋红染色法须等待 1~2 min,但染色效果最为明显,便于准确观察;石炭酸品红染色法效果略差。因此醋酸洋红可作为马铃薯花粉孕性鉴定的首选染色药剂。3 种染色剂染色效果分别见图 1、图 2、图 3。

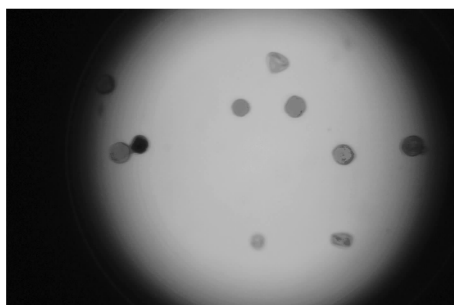


图1 醋酸洋红染色效果

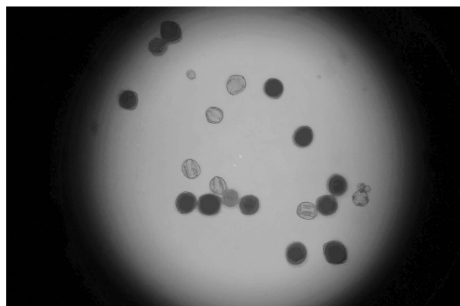


图2 1% I_2-KI 染色效果

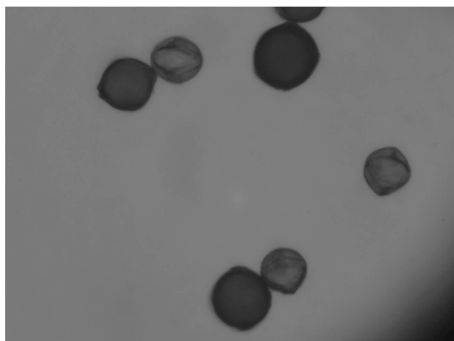


图3 石炭酸品红染色效果

利用醋酸洋红染色法对 8 个参试亲本进行花粉孕性观察,结果发现:东农 303、克新 4 号的花粉绝大多数不着色,个别着色极浅,说明其花粉无孕性;延薯 4 号花粉形状不规则,花粉粒不分散,着色极浅,说明花粉无孕性;大西洋有少数花粉着色,说明其孕性较低;费乌瑞它、克新 2 号花粉着色与不着色花粉数量相近,说明其孕性中等;早大白、延薯 5 号花粉粒分散,着色花粉细胞达到 80%~90%,说明其孕性高。

3 种花粉孕性鉴定方法中,目测法、弹粉法判断花粉孕性结果与花粉染色鉴定法基本一致。花药颜色为黄绿色,花药发育不饱满,易落蕾落花的亲本多为不孕;轻弹花药时无花粉或花粉极少的亲本多为不孕;花粉少的亲本一般孕性低;花粉数量中等的亲本孕性也中等;花粉极多的亲本孕性往往也高。

染色法是目前准确检测马铃薯花粉细胞孕性的最常用手段之一。但在没有染色条件的情况下,目测法结合弹粉法也可准确、快速地对马铃薯亲本材料的花粉进行孕性鉴定。

3 结论与讨论

本研究表明,使用染色法鉴定马铃薯花粉孕性时,花药呈黄绿色、花药饱满度差、花粉数量少的亲本孕性低;花药呈黄色或橙黄色、花药发育饱满、花粉数量多的亲本孕性高;花粉数量中等的亲本孕性也中等。3 种染色液均可作为马铃薯花粉染色鉴定法的染色药剂。

本研究中目测法结合弹粉法检测马铃薯花粉细胞孕性结果与花粉染色鉴定法基本一致,但马铃薯植株开花多少、花粉孕性高低除了与遗传因素有关外,环境条件作用也很大。所以,目测法结合弹粉法是否适用于所有马铃薯品种,还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 邱彩玲,白雅梅,吕典秋,等. 二倍体马铃薯在育种中的应用[J]. 中国马铃薯,2007,21(6):355-359.
- [2] 何树海. 马铃薯繁种应注意的几个问题[J]. 中国种业,2004(1):48.
- [3] 程群,吴承金,戴清堂,等. 马铃薯花粉生活力检测方法的比较[J]. 中国马铃薯,2008,22(3):161-164.
- [4] 王玉萍,张峰,王蒂,等. 马铃薯花粉的超低温保存研究[J]. 园艺学报,2003,30(6):683-686.
- [5] 孙慧生. 马铃薯育种学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.