

刘伟,丁长春,沐建华. 淡黄花百合花粉活力及其测定方法比较[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):198-199.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.072

# 淡黄花百合花粉活力及其测定方法比较

刘伟,丁长春,沐建华

(文山学院环境与资源学院/云南省文山州生物资源开发与研究中心,云南文山 663000)

**摘要:**用 I-KI 法、氯化三苯基四氮唑(TTC)法、离体萌发法连续 7 d 对淡黄花百合(*Lilium sulphureum* Baker)的花粉活力进行测定,结果表明,I-KI 法、离体萌发法、TTC 法测定的淡黄花百合花粉活力不完全相同。I-KI 法、离体萌发法所得花粉活力无显著差异。I-KI 法、离体萌发法所得花粉活力无显著差异,由于 I-KI 法较离体萌发法简单、成本低、所需时间短,因此是快速测定淡黄花百合花粉活力的最佳方法。开花第 2 至第 4 天花粉活力最高且无显著差异,这几天都可以进行杂交授粉,但从发育的角度考虑,以开花第 2 天授粉最佳。

**关键词:**淡黄花百合;花粉活力;离体萌发法;TTC 法;I-KI 法

**中图分类号:** S682.2<sup>+</sup>65.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0198-02

百合是世界五大切花之一,也是国内重要的高档花卉。我国野生百合种质资源丰富,为培育百合新品种奠定了良好的种质资源基础<sup>[1]</sup>。花粉是开展杂交育种最基本也是最重要的材料,花粉活力大小对育种效果影响很大,授粉前对花粉活力进行检测至关重要<sup>[2]</sup>。许多学者对不同植物的花粉活力测定方法进行研究,常用的方法包括染色法、萌发法<sup>[3-7]</sup>。郝瑞娟等比较了亚洲百合、东方百合、麝香百合的部分栽培品种花粉活力的测定方法,认为染色法简单,萌发法准确,育种时应将二者结合使用<sup>[8]</sup>。赵兴华等对百合花粉生活力测定、贮藏方法进行了研究<sup>[9]</sup>。张福平等研究了影响百合花粉活力的化学因素<sup>[10]</sup>。车代弟等对东方百合花粉萌发培养基组分进行了优化<sup>[11]</sup>。尹恒等研究了麝香百合花粉发芽适宜培养基及最佳贮藏条件,认为蔗糖浓度、硼酸浓度等对花粉萌发均有较大影响<sup>[12]</sup>。本研究以淡黄花百合花粉作为材料,用萌发法、染色法对淡黄花百合的花粉活力进行测定,目的在于获取快速测定花粉活力的最佳方法,明确淡黄花百合花粉活力最高时期,在此基础上确定杂交育种最佳授粉时间,旨在为提高淡黄花百合育种效率提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

将从野外采集和云南省文山市中药材市场购买的淡黄花百合种球种植于文山学院生物园地,待其快绽放时,收集不同时期的新鲜百合花粉。

### 1.2 方法

**1.2.1 材料处理** 每天早晨观察百合花蕾期,待其开花前 1 d 09:00 左右开始采集花粉,将花蕾轻轻剥开,用刀片切取 1/2 个花药,用锡箔纸包裹,置于保鲜袋中,迅速带回实验室

进行试验。每天在同一时间采集花粉并进行试验。所采集的花粉均来自生长健壮、无病虫害的同一植株,测量期间按时浇水,确保水分充足。

#### 1.2.2 花粉活力测定

**1.2.2.1 I-KI 染色测定法<sup>[13]</sup>** 取 2 g KI 溶于 10 mL 蒸馏水中,加入 1 g I<sub>2</sub> 待其全部溶解后,再加蒸馏水至 200 mL,配好试剂后,贮于棕色瓶中备用。用解剖针挑取少量花粉置于载玻片上,加入 1~2 滴 I<sub>2</sub>-KI 溶液,轻轻盖上盖玻片放置 1~2 min,置于低倍显微镜下观察。凡染成蓝紫色的为发育好、活力强的花粉,呈黄褐色的为发育不良的花粉。每处理 3 个玻片,每个玻片观察 5 个视野,计算平均值。花粉活力计算公式:花粉活力 = (蓝色花粉粒数/总花粉粒数) × 100%。

**1.2.2.2 氯化三苯基四氮唑(TTC)染色测定法<sup>[13]</sup>** 用解剖针取少量花粉置于载玻片上,加 1~2 滴 0.5% TTC 溶液,盖上盖玻片。将装片置于 35 ℃ 恒温箱中,15 min 后置于低倍显微镜下观察,染成红色的为生活力强的花粉,淡红色的次之,无色者为没有活力或不育的花粉。每处理 3 个玻片,每个玻片观察 5 个视野,计算平均值。花粉活力计算公式:花粉活力 = (被染色的花粉粒数/总花粉粒数) × 100%。

**1.2.2.3 离体萌发法<sup>[13]</sup>** 配制 0.01% 硼酸、0.03% CaCl<sub>2</sub>、0.35 mol/L 蔗糖、0.7% 琼脂的固体培养基,将配好的培养基置于锥形瓶灭菌,灭菌完成后待其凝固前用移液枪取 100~150 μL 滴于双孔凹玻片处,用解剖针取花粉置于培养基中,将其放入培养皿中(培养皿中事先放有湿滤纸),置于 25 ℃ 光照培养箱中培养 3 h。在光学显微镜下,观察 3 个玻片 6 个凹孔,每个凹孔观察 5 个视野,离体培养后花粉管明显伸长的为有生活力的花粉,未伸长的为没有活力的花粉。萌发率计算公式:萌发率 = (已萌发的花粉粒数/总花粉粒数) × 100%。

**1.2.3 数据统计分析** 所有试验均重复 3 次,每次统计 5 个视野,采用 Excel 2003、SPSS 13.0 软件处理数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 I-KI 法测定淡黄花百合花粉活力

由表 1 可知,开花前 1 d 至第 3 天,花粉活力不断增强,

收稿日期:2014-06-03

基金项目:云南省教育厅自然科学研究项目(编号:2013Y582);文山学院重点学科资助项目(编号:09wsxk 02)。

作者简介:刘伟(1977—),男,湖南祁东人,硕士,讲师,从事植物学研究。E-mail:liuwei00780@126.com。

第 4 天开始活力不断降低,开花第 3 天花粉活力最高。开花后 1~4 d 花粉活力无显著差异,维持在 95% 左右。开花前 1 d 花粉活力为 78.97%,第 5 天花粉活力为 82.53%。开花第 6 天、第 7 天花粉活力均低于 50%,单花接近花谢期,明显不适合进行杂交授粉。由此可知,开花后 1~4 d 淡黄花百合花粉活力较高,最适合授粉,如果与其他百合杂交出现花期不遇,也可在此时期采集花粉进行贮存。

2.2 TTC 法测定淡黄花百合花粉活力

由表 1 可知,开花前 1 d 花粉活力为 70.63%,开花当天花粉活力为 73.57%,均较低;开花第 2 天至第 4 天花粉活力较高,第 3 天最高;开花第 5 天花粉活力为 75.60%;第 6 天与第 7 天分别为 43.50%、43.07%,已经降至 50% 以下。开花前 1 d、开花当天及开花第 5 天均无显著差异;开花第 2、3、4 天均无显著差异;开花第 6、7 天无显著差异。由此可知,花粉离体保存取花粉的最佳时期及杂交育种最佳授粉时间均为开花第 2 至第 4 天。

表 1 不同测定方法所测不同发育程度花粉活力

开放时间 (d)	花粉活力(%)		
	I-KI 法	离体萌发法	TTC 法
开花前 1 d	78.97a	90.03a	70.63a
1	95.70b	86.70a	73.57a
2	95.40b	89.23a	91.20b
3	96.40b	97.13a	91.90b
4	94.27b	87.93a	84.90b
5	82.53a	75.10b	75.60a
6	48.13c	57.50c	43.50c
7	47.90c	39.57d	43.07c

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

2.3 离体萌发法测定淡黄花百合花粉活力

由表 1 可知,开花前 1 d 至开花第 4 天,淡黄花百合花粉活力变化不明显,开花第 3 天花粉活力最高;开花第 5 天开始花粉活力下降较快,第 7 天活力降至 50% 以下。由此可知,为了提高杂交育种的成功率,开花前 1 d 至开花第 4 天都可以进行授粉,开花第 3 天是最佳授粉时间,开花前 1 d 至开花第 4 天是离体保存最佳采集花粉时间。

2.4 3 种不同测定方法比较

由表 2 可知,用 3 种不同方法测定淡黄花百合花粉活力由高到低依次为 I-KI 法>离体萌发法>TTC 法。采用 I-KI 染色法测定的花粉活力与离体萌发法无明显差异,这 2 种方法所得花粉活力与 TTC 染色法所得花粉活力差异极显著。由于离体萌发法测定的花粉活力最接近真实值,因此离体萌发法被广泛使用<sup>[14-16]</sup>。本试验中,离体萌发法与 I-KI 染色法所得花粉活力无显著差异,说明 I-KI 染色法适用于淡黄花百合花粉活力的测定。鉴于离体萌发法比 I-KI 染色法程序复杂、耗时多、成本高,I-KI 染色法操作简单、时间短,快速测定淡黄花百合花粉活力最佳方法为 I-KI 染色法。

3 结论与讨论

花粉活力对于研究花粉与柱头的相互作用、基因库的保持、不亲和性与受精关系、生理调节对花粉萌发的影响等均有非常重要的意义。为了进行杂交授粉,通常要早期采集、贮存花粉,以解决花期不一致、远距离杂交的问题,花粉活力直接

表 2 3 种不同测定花粉活力方法方差分析

测定方法	花粉平均萌发率(%)
I-KI 法	79.91aA
TTC 法	71.79bB
离体萌发法	77.90aA

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。

关系到育种效率<sup>[3]</sup>。本试验结果表明,I-KI 法、离体萌发法、TTC 法测定的淡黄花百合花粉活力不完全相同。I-KI 法、离体萌发法所得花粉活力无显著差异,这 2 种方法都可用于淡黄花百合花粉活力的测定。赵统利等以卷丹百合为研究对象,认为 I-KI 法不适合用于花粉活力的测定<sup>[16]</sup>。郝瑞娟等也认为,萌发法比染色法能更准确地反映花粉的真实活力<sup>[8]</sup>。本试验结果表明,I-KI 法、离体萌发法所得花粉活力无显著差异,由于 I-KI 法较离体萌发法简单、成本低、所需时间短,因此是快速测定淡黄花百合花粉活力的最佳方法。开花第 2 至第 4 天花粉活力最高且无显著差异,这几天都可以进行杂交授粉,但从发育角度考虑,以开花第 2 天授粉最佳。

参考文献:

[1]刘伟,常征.淡黄花百合种子生物学特性及萌发特性测定[J].南方农业学报,2013,44(3):403-406.

[2]赵鸿杰,乔龙巴图,殷爱华,等.3种山茶属植物花粉活力测定方法的比较[J].中南林业科技大学学报,2010,30(3):105-107.

[3]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.

[4]孙春丽,潘延云.拟南芥花粉活力的测定及其在花粉发育研究中的应用[J].植物学通报,2008,25(3):268-275.

[5]王艳哲,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.

[6]韩成刚,盖树鹏.芍药花粉活力测定方法的研究[J].江苏农业科学,2012,40(5):124-126.

[7]王刚,刘辉,吕新,等.新陆早43号棉花父本花粉活力测定方法的比较[J].江苏农业科学,2013,41(2):88-90.

[8]郝瑞娟,王周锋,穆鼎.不同百合花粉活力的测定方法比较[J].北方园艺,2008(11):95-97.

[9]赵兴华,张道旭,印东生,等.百合花粉生活力测定和贮藏方法研究[J].北方园艺,2009(2):172-175.

[10]张福平,陈琼宣,陈振翔.影响百合花粉活力的化学因子研究[J].北方园艺,2006(4):118-119.

[11]车代弟,樊金萍,王金刚.东方百合花粉萌发培养基组分的优化[J].植物研究,2003,23(2):178-181.

[12]尹恒,唐前瑞,王慧颖,等.麝香百合花粉发芽适宜培养基及其贮藏研究[J].长江大学学报:自然科学版,2007,4(3):34-36.

[13]张志良,瞿伟菁,李小方.植物生理学实验指导[M].4版.北京:高等教育出版社,2009:181-182.

[14]胡春,刘左军,李富香,等.钝裂银莲花花粉活力测定方法的研究[J].植物研究,2013,33(5):582-586.

[15]李畅,苏家乐,刘晓青,等.一品红27个品种花粉量、花粉活力及3种测定方法的比较[J].江西农业大学学报,2012,34(6):1130-1135.

[16]赵统利,周翔,朱朋波,等.百合花粉生活力测定方法的比较研究[J].江苏农业科学,2006(5):88,144.