

香石竹花粉生活力的研究^①

周旭红, 桂敏, 莫锡君

云南省农业科学院 花卉研究所, 昆明 650205

摘要: 采用离体萌发法和 TTC 染色法对香石竹多头类型品种粉恋、迷恋、皇族, 单头品种兰贵人的花粉生活力进行了测定, 同时对花粉生活力测定方法进行了比较研究. 结果表明: 在 0.15% 硼酸+10% 蔗糖+1% 琼脂培养基上, 花粉萌发率最高; 4 个品种中, 迷恋的花粉萌发率最高, 粉恋和皇族其次, 兰贵人最低; TTC 染色法测定的花粉生活力比萌发法高.

关键词: 香石竹; 花粉; 生活力

中图分类号: Q949.745.8

文献标识码: A

香石竹(*Dianthus caryophyllus*) 又称康乃馨, 原产于南欧和西亚, 多年生草本植物, 属典型的温带花卉. 茎叶清秀, 花朵雍容富丽, 花色娇艳且具芳香, 具有极高的观赏价值. 香石竹单朵花期长, 耐瓶插, 主要用于切花, 是传统的四大切花之一.

杂交育种是培育香石竹新品种最重要的育种方法, 在香石竹杂交育种中普遍存在结实率低的现象. 多数栽培品种由于高度重瓣, 雄蕊花瓣化, 产生花粉较少, 即使能产生花粉, 其育性也存在较大差异. 这与花粉本身是否正常、花粉生活力和杂交的亲合力有关. 对香石竹栽培品种的开花生物学研究尚无报道. 本试验采用 TTC 染色法(氯化三苯基四氮唑染色法)、离体萌发检验法对香石竹花粉进行了初步研究.

1 材料与方法

1.1 供试香石竹品种及花粉

供试香石竹品种包括多头类型品种粉恋、迷恋、皇族和单头品种兰贵人共 4 个, 于上午 9 时左右采摘各品种大蕾期的花蕾, 在室内用镊子摘下花药放入小瓶内, 置于干燥器内 24 h, 使花粉自行裂开散出花粉.

1.2 检验方法

1.2.1 离体萌发检验法

配制 6 种培养基, 分别是: ① 0.1% 硼酸+10% 蔗糖+1% 琼脂; ② 0.05% 硼酸+10% 蔗糖+1% 琼脂; ③ 0.15% 硼酸+10% 蔗糖+1% 琼脂; ④ 0.1% 硼酸+15% 蔗糖+1% 琼脂; ⑤ 0.1% 硼酸+5% 蔗糖+1% 琼脂; ⑥ 0.1% 硼酸+10% 蔗糖+1% 琼脂+0.03% CaCl₂+0.02% MgSO₄·7H₂O+0.01% KNO₃.

把供试香石竹品种粉恋的花粉点涂在凹玻片穴的 6 种培养液中, 迷恋、皇族、兰贵人的花粉点涂在 3 号培养液中, 不加盖玻片, 于黑暗、恒温(25±1) °C 条件下保湿培养 4 h. 每种检验方法制 3 个玻片, 每一玻片观察 5 个视野, 统计 50 个以上的花粉粒, 萌发花粉以花粉管长度超过花粉粒直径为标准. 花粉发芽率=(萌发花粉数/观察的花粉总数)×100%, 用 SPSS11.5 软件进行统计分析.

① 收稿日期: 2007-11-13

基金项目: 云南省主栽鲜切花新品种选育及产业化示范科技攻关资助项目(2006NG14); 云南省主栽鲜切花新品种选育及生产关键技术集成示范星火产业带专项资助项目(2006NG37).

作者简介: 周旭红(1978-), 女, 湖南永州人, 实习研究员, 硕士, 主要从事花卉育种技术研究.

通讯作者: 莫锡君.

1.2.2 氯化三苯基四氮唑染色法(TTC法)

取供试香石竹粉恋、迷恋、皇族、兰贵人花粉放在干洁的载玻片上,加几滴0.5% TTC溶液,盖上盖玻片,置38℃避光放置15 min,显微镜下观察花粉着色情况,红色的为有生活力的花粉.制3个玻片,每一玻片统计50个以上的花粉粒,统计花粉的染色率.花粉生活力=(着色花粉数/观察花粉数量)×100%.

2 结果与分析

2.1 离体萌发检验法测定

2.1.1 培养基的筛选

由表1可知,粉恋花粉在不同培养基上发芽率均较低,在3号培养基上花粉萌发率最高,平均萌发率为2.21%,花粉管长;1,2,3号培养基上花粉萌发率无显著差异,花粉管均长;5号培养基上花粉萌发率最低,平均萌发率为0.33%;4,5,6号培养基上花粉萌发率无显著差异,4,5号培养基上花粉萌发时花粉管短,6号培养基上花粉萌发时花粉管中等长;在1,2,3号培养基上花粉萌发率与4,5,6号培养基上花粉萌发率有极显著差异.

表1 粉恋花粉在各种培养基上发芽率

培养基	花粉管长度	萌发的花粉数	测定的花粉数	Mean±SD/%
1	长	43	2 059	2.16±0.41 a A
2	长	36	1 797	1.92±0.23 a A
3	长	36	1 688	2.21±0.28 a A
4	短	13	1 873	0.75±0.18 b B
5	短	5	1 503	0.33±0.11 b B
6	中	15	1 750	0.85±0.07 b B

注:同一列不同小写字母表示5%差异水平;大写字母表示1%差异水平.下同.

2.1.2 不同香石竹品种花粉生活力比较

从表1可见,3号培养基花粉的萌发率最高,为最适培养基.因此,把迷恋、粉恋、皇族、兰贵人4个品种花粉点涂在3号培养基上,观察结果见表2.迷恋的花粉萌发率最高,平均萌发率为7.3%;兰贵人的花粉萌发率最低,平均萌发率为0.16%.迷恋的花粉萌发率与粉恋、皇族、兰贵人的花粉萌发率有极显著差异,粉恋和皇族的花粉萌发率有显著差异,粉恋和兰贵人的花粉萌发率有极显著差异.

表2 离体萌发法比较不同品种花粉的生活力

品种	萌发的花粉数	花粉粒总数	Mean±SD/%
迷恋	184	2 468	7.3±0.65 a A
粉恋	36	1 688	2.21±0.28 b B
皇族	20	3 111	0.65±0.32 c BC
兰贵人	3	1 839	0.16±0.1 c C

2.2 氯化三苯基四氮唑染色法(TTC法)测定

TTC法测定花粉生活力见表3.迷恋的花粉生活力最高,平均为17.74%;兰贵人的花粉生活力最低,平均为9.34%.迷恋与粉恋花粉生活力有显著差异,迷恋与皇族、兰贵人花粉生活有极显著差异.

表3 TTC法比较不同品种花粉的生活力

品种	有生活力的花粉数	花粉粒总数	Mean±SD/%
迷恋	304	1 723	17.74±1.87 a A
粉恋	186	1 615	11.49±1.36 b AB
皇族	166	1 703	9.8±0.42 b BC
兰贵人	175	1 858	9.34±1.38 b BC

2.3 离体萌发法与 TTC 染色法测定花粉生活力

比较离体萌发法与 TTC 染色法 2 种方法的差异. 由图 1 可看出, 对于同一品种, TTC 染色法所测定的花粉生活力比离体萌发法测定的结果要高, 迷恋差异最大. 在离体萌发法中, 迷恋的花粉萌发率最高, 平均萌发率为 7.3%; 兰贵人的花粉萌发率最低, 平均萌发率为 0.16%. 在 TTC 法中, 迷恋的花粉生活力最高, 平均为 17.74%; 兰贵人的花粉生活力最低, 平均为 9.34%. 用离体萌发法测定花粉生活力时, 迷恋与粉恋花粉萌发率有极显著差异, 粉恋和皇族的花粉萌发率有显著差异, 粉恋和兰贵人的花粉萌发率有极显著差异. 而 TTC 法测定时, 迷恋与粉恋的花粉生活力有显著差异, 粉恋和皇族、兰贵人的花粉生活力无显著差异.

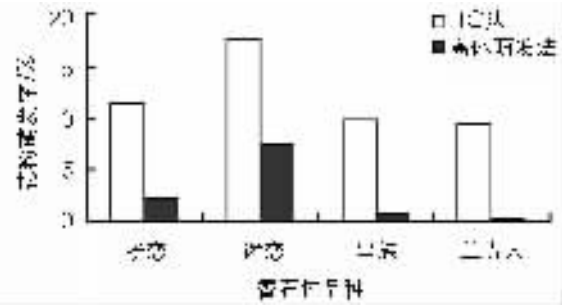


图 1 TTC 染色法与离体萌发法测定的花粉生活力

3 讨 论

3.1 不同培养基成分对花粉萌发率的影响

当蔗糖浓度为 10% 时, 花粉萌发率随着硼酸浓度增加而增加, 硼酸浓度达到 0.15% 时, 花粉萌发率最高. 可能是硼促进花粉对蔗糖吸收和代谢功能, 提高了蔗糖利用率, 同时, 调节水分吸收, 平衡养分, 参与正在伸长的花粉管壁所需要的果胶物质的形成. 另外, 硼对赤霉素的合成也有一定的调节作用^[1].

当硼酸浓度为 0.1%, 蔗糖浓度为 5%, 10%, 15% 共 3 个梯度中, 10% 的蔗糖浓度花粉的萌发率最高, 花粉管长. 这可能是蔗糖在培养基中起着维持花粉与培养液之间渗透平衡的作用, 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^[2-3].

6 号培养基添加了 CaCl_2 、 MgSO_4 、 KNO_3 , 钙、镁、钾对花粉萌发都有一定的促进作用, 在一定范围内花粉萌发率随着盐浓度的增加而升高^[4]. 但在桃花粉的研究中, CaCl_2 对花粉萌发有一定的抑制作用^[5]. 本研究中 6 号培养基与 1 号培养基花粉萌发率相比反而降低, 花粉管长度变短, 可能是由于钙、镁、钾浓度不适宜, 影响了花粉的萌发.

3.2 不同品种花粉的生活力比较

香石竹品种间花粉生活力差别较大, 在离体萌发法中, 迷恋的花粉萌发率最高, 平均萌发率为 7.3%; 兰贵人的花粉萌发率最低, 平均萌发率为 0.16%. 在 TTC 法中, 迷恋的花粉生活力最高, 平均为 17.74%; 兰贵人的花粉生活力最低, 平均为 9.34%. 生活力的高低取决于品种自身的遗传特性. 花粉的生活力强弱必然会引起花粉育性的不同. 因此, 在杂交育种工作中, 对各种花粉生活力的研究十分重要.

3.3 不同检测方法花粉的生活力比较

离体萌发法和 TTC 法测定结果都是迷恋的花粉生活力最高, 粉恋和皇族其次, 兰贵人的花粉萌发率最低. 2 种方法测定结果相一致, 但 TTC 法测得花粉的生活力明显高于离体萌发法, 这与前人研究结果相一致^[6-7]. TTC 染色法是根据花粉粒的呼吸酶活性判断花粉生活力的方法, 其测定方法比较简单, 所用时间较短, 染色的界限不明显, 可能造成测定值存在一定的误差, 因此, 这种方法比较适合做定性分析. 固体培养基法是根据花粉离体培养时的萌发率判定其生活力的方法, 它必须在合适的温度和培养条件下进行, 而当培养条件有差异时, 测定结果相差悬殊, 因此, 这种方法比较适合做定量分析^[7].

4 结 论

1) 较高的硼酸浓度和适中的蔗糖浓度可能会提高花粉的萌发率. 因此, 香石竹进行人工辅助授粉时, 可以考虑用 10% 蔗糖 + 0.15% 硼酸进行液体授粉, 以提高授粉工效^[8].

2) 不同品种花粉的萌发率差别很大. 迷恋的花粉萌发率最高, 粉恋和皇族其次, 兰贵人最低. 本试验的结果可作为杂交育种中采集花粉的依据, 这对于进一步充分利用这些种质选育新的香石竹品种具有重要的意义.

3) TTC法测得花粉的生活力明显高于离体萌发法.用TTC法和离体萌发法检验香石竹花粉的生活力是适宜的^[9].

花粉萌发率和萌发后花粉管的生长长度是鉴定花粉活力的2个基本要素.采制纯净、充足而生活力强的花粉,是杂交育种和制种中的一项关键性技术.影响花粉活力的主要因素有基因型、花粉成熟度、花药营养状况及代谢强度、温度、湿度等多个因子^[10].至于其他因素对花粉的影响尚有待进一步的研究.

参考文献:

- [1] 顾钢,苏学强,林伟杰,等.橄榄花粉生活力相关因素对育种的影响[J].福建果树,1999,3:1-4.
- [2] 张宪政.植物生理学[M].长春:吉林科学技术出版社,1996:256-257.
- [3] 潘瑞焱.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2001:260.
- [4] 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.
- [5] 李晓林.低温和植物生长调节剂对桃花粉萌发的影响[J].西南农业大学学报(自然科学版),2005,27(4):526-529.
- [6] 李红星,王卿,王飞,等.几种园林植物花粉生活力的鉴定[J].陕西林业科技,2004,2:5-8,44.
- [7] 杨琴军,黄英平,陈龙清.3种含笑属植物花粉生活力的测定[J].安徽农业科学,2007,35(1):15-17.
- [8] 齐国辉,张景兰,郭军,等.不同核桃品种花粉生活力的比较研究[J].河北林果研究,2007,22(1):54-55,61.
- [9] 王少先.4种检验方法在辣椒花粉生活力检验上的应用效果[J].河南农业科学,1998,12:25-26.
- [10] 陈新伟.番茄花粉活力及坐果率对环境温度变化的反应[J].园艺学报,1996,23(4):392-394.

Study on Pollen Viability of *Dianthus caryophyllus*

ZHOU Xu-hong, GUI Ming, MO Xi-jun

Flower Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China

Abstract: Methods of in vitro germination and TTC staining tests were used to determine pollen viability of three spray and one standard, meanwhile influences of the culture condition and the methods on pollen viability were studied. The results obtained indicated the optimum culture medium to high germination rate was "10% sucrose + 0.15% boric acid + 1% agar"; pollen germination percentage of Milian was the highest among the 4 cultivars with the same culture medium, next were Fenlian and Huangzu, Languiren was the lowest. The pollen viability tested by the TTC staining method was higher than that by germination method.

Key words: *Dianthus caryophyllus*; pollen; viability

责任编辑 夏娟