

# 核桃楸花粉活力测定方法比较

郝家臣

(辽宁省经济林研究所,辽宁 大连 116031)

**摘要:**为建立核桃楸高效快速的花粉活力测定方法,分别采用了 TCC 染色法、 $I_2$ -KI 染色法和固体培养基萌发法对核桃楸花粉活力进行了测定比较。结果表明:采用 TCC 染色法和  $I_2$ -KI 染色法染色后花粉的不易辨识,测定结果偏低,不适合作为核桃楸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,适合作为核桃楸花粉活力的测定方法。

**关键词:**核桃楸;花粉活力;萌发率;染色法

**中图分类号:**S759.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)01-0067-02 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.01.0067

核桃楸(*Juglans mandshurica*)是我国重要的木本粮油种质资源。目前,我国核桃楸资源以野生为主,人工栽培甚少,主要分布在我国东北、华北等北方山区<sup>[1]</sup>。核桃楸的果实营养丰富,木材材质优良,树体药用价值高,但目前该资源尚未被开发出来。随着研究的深入,不仅形成了核桃楸栽培管理模式,它还由于其抗寒性强等优点而可被用作育种亲本。不管在栽培中配置授粉树还是作为父本用于杂交育种,都需要明确种质资源花粉的萌发能力。但目前,关于核桃楸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<sup>[2]</sup>、玉米<sup>[3]</sup>、木薯<sup>[4]</sup>、韭菜<sup>[5]</sup>等植物花粉活力测定方法对核桃楸花粉活力测定方法进行比较,旨在为建立快速有效的核桃楸花粉活力测定方法,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

供试材料于2016年5月采自辽宁省抚顺市清原县,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。试验所用试剂为碘( $I_2$ )、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。

### 1.2 方法

**1.2.1 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,10min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。

**1.2.2  $I_2$ -KI 染色法** 将少量花粉均匀置于载玻片后加1滴 $I_2$ -KI溶液,2min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。

**1.2.3 固体培养基萌发法** 培养基的配制: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 mg·mL<sup>-1</sup>、0.025 mg·mL<sup>-1</sup>和0.050 mg·mL<sup>-1</sup>,其它元素的添加参照胡适宜的方法<sup>[6]</sup>。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℃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。

这3种方法均在4倍显微镜下观察,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 培养基条件对平针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,分别培养核桃楸花粉并测定其萌发率。从图1可以看出,同水平的硼酸浓度下,当蔗糖浓度在5%~15%时,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%、69.8%和73.4%。结果表明,同水平的蔗糖浓度下,硼酸浓度对核桃楸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0.010 mg·mL<sup>-1</sup>,此时花粉萌发率最高,达到

收稿日期:2016-12-16

作者简介:郝家臣(1986-),男,辽宁省大连市人,学士,助理工程师,从事经济林栽培研究。E-mail:。

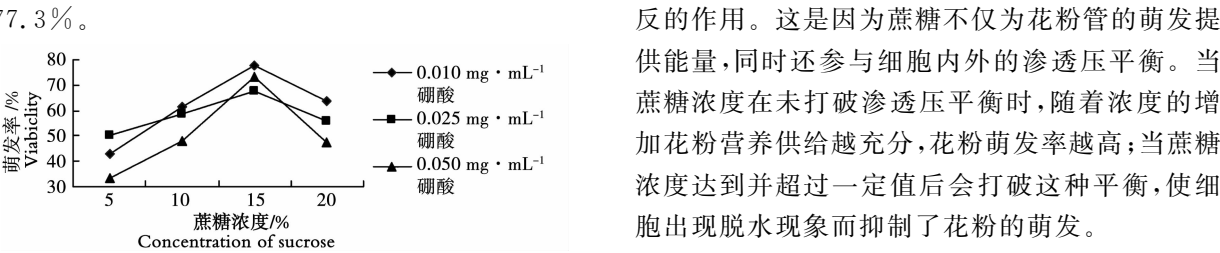


图1 不同蔗糖、硼酸浓度对核桃楸花粉萌发率的影响  
Fig.1 Effects of different concentration of sucrose and boric acid on *Juglans mandshurica* pollen viability

2.2 不同方法测定核桃楸花粉生活力的比较

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 I<sub>2</sub>-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另 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 I<sub>2</sub>-KI 法更适用于核桃楸花粉活力的测定。

表 1 不同方法对核桃楸花粉萌发率的测定比较  
Table 1 Comparison of different methods on *Juglans mandshurica* pollen viability

测定方法 Methods	花粉平均萌发率/% Pollen viability
TTC 染色法	45.2 b
I <sub>2</sub> -KI 染色法	37.7 c
固体培养基萌发法	77.6 a

3 结论与讨论

在比较蔗糖和硼酸浓度对核桃楸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,使细胞出现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核桃楸花粉萌发作用的规律性,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 种测定核桃楸花粉生活力的方法发现,固体培养基萌发法比 TCC 染色法和 I<sub>2</sub>-KI 染色法更容易掌握,结果准确性更高,更适合作为核桃楸花粉活力的标准测定方法。TCC 染色法和 I<sub>2</sub>-KI 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] 黄桂龙,毛立仁,刘玉凤. 核桃楸的经济价值及栽培技术[J]. 辽宁林业科技,2010(3):52-54.  
[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.

Comparison on *Juglans mandshurica* Pollen Viability Determination Method

HAO Jia-chen

(Liaoning Institute of Economic Forest,Dalian,Liaoning 113311)

**Abstract:** In order to find out the quicker and easier methods to determination the pollen viability of *Juglans mandshurica*, the pollen viability were detected by methods of I-KI, T TC and in vitro germination. According to the results methods, it was difficult to determine the pollen viability by the staining with TTC and I<sub>2</sub>-KI, and in vitro germination could be used to detect the pollen viability.  
**Keywords:** *Juglans mandshurica*; pollen viability; staining; germination rate