

柑橘花粉活力鉴定

Identification of Citrus Pollen Vitality

王淑明，郭文武*

园艺植物生物学教育部重点实验室，园艺林学学院，华中农业大学，武汉

*通讯作者邮箱: guoww@mail.hzau.edu.cn

引用格式: 王淑明, 郭文武. (2018). 柑橘花粉活力鉴定. *Bio-101* e1010193. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010193.

How to cite: Wang, S. M. and Guo, W. W. (2018). Identification of citrus pollen vitality. *Bio-101* e1010193. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010193. (in Chinese)

实验原理及目的: 在育种过程中, 花粉的质量和数量直接影响育种的成败, 因此花粉活力的鉴定显得尤为重要。花粉的活力可直接影响产量, 有活力的花粉会被醋酸洋红和氯化三苯四氮唑 (TTC) 染成红色, 被碘-碘化钾 (I-IK) 染成蓝紫色。

关键词: 育种, 花粉活力, 染色

材料与试剂

1. 载玻片
2. 吸管
3. 盖玻片
4. 滤纸
5. 量筒
6. 棕色瓶
7. 柑橘花粉
8. 柑橘花药
9. 碘化钾
10. 蒸馏水
11. 碘
12. TTC
13. 1%醋酸洋红 (见溶液配方)

仪器设备

1. 毛笔
2. 镊子
3. 万能显微镜 (Olympus, model: BX61)
4. 电子天平

实验步骤

1. 醋酸洋红染色法

1.1 在载玻片上用吸管滴一滴 1%醋酸洋红，用毛笔轻蘸烘干的柑橘花粉，轻轻洒在醋酸洋红上。

1.2 盖上盖玻片，盖时用镊子夹住盖玻片一角，使之倾斜与载玻片呈 30-45°，缓慢放下盖玻片，防止气泡产生，并用滤纸吸干多余的醋酸洋红。

注：盖盖玻片时，若产生气泡会影响显微镜观察和拍照，多余的醋酸洋红会使花粉移动，也不利于显微镜观察和拍照。

1.3 染色一分钟后，于万能显微镜下观察拍照。每个品种 3-4 个重复，每个重复选取多个视野拍照，保证总花粉数多于 500 个。用软件 Image J 统计花粉染色数量与总的花粉数量，计算比值即为花粉活力。

2. I-IK 染色法：此方法适用于不含淀粉的不育花粉，只染成蓝紫色表明花粉发育良好、活性强，呈黄褐色为发育不良的花粉。

2.1 取 1 g 的碘化钾溶于 10 ml 蒸馏水中，然后加入 0.5 g 碘，待全部溶解后，再加蒸馏水至 200 ml，配好试剂后，置于棕色瓶中备用。

2.2 将一滴 I-IK 溶液滴在载玻片上，用毛笔均匀撒上花粉，盖盖玻片，放置 1-2 min 进行统计，方法同醋酸洋红染色法。

3. TTC 染色法：具有生命力的生物体在脱氢酶催化的氧化还原反应中，把氧转移给 TTC，使其生成红色的苯甲潜 (TTFC)，因此，凡染为红色的花粉粒是具有活力的，呈淡红色的活力较低，无色的是没有生命力的。

3.1 用镊子在载玻片上放 10 粒花药，滴蒸馏水 1-2 滴，用镊子夹出花药，清除花药壁后，滴 0.5% TTC 1-2 滴，盖上盖玻片，于黑暗中染色 30 min。

3.2 每个处理做 1-3 个重复，染色完毕后显微镜下观察着色情况。每个重复选取 6 个视野拍照，进行统计，方法同醋酸洋红染色法。

溶液配制

1. 1%醋酸洋红

洋红 1 g，45%醋酸 100 ml，煮沸 2 h 左右，并不断补充蒸馏水，保证其总体积不变，之后冷却过滤，加入 4%铁明矾 (硫酸铁铵) 溶液 1-2 滴 (不能加多，否则会发生沉淀)，放入棕色瓶中常温保存备用