

# 时长和染色法对 TTC 法 测定甜樱桃花粉活力的影响

张琛 郝笃隽 裴嘉博 黄康康 刘辉

(杭州市农业科学研究院园艺研究所,浙江 杭州 310024)

**摘要** 以甜樱桃品种‘萨米脱’花粉为试验材料,研究了 TTC 法下,不同染色时长和染色法对花粉活力测定的影响,以期筛选出使用 TTC 法较准确客观测定甜樱桃花粉活力的染色条件。结果表明,在使用 TTC 法测定甜樱桃花粉活力试验中,采用离心管法并染色 24h 能更准确的测定花粉活力。

**关键词** 甜樱桃;花粉活力;TTC 法

甜樱桃(*Prunus avium* L)俗称大樱桃,是我国北方成熟最早的落叶果树,集中栽培于泰安、烟台、大连等地,近年来逐渐往南发展。座果率低是南方甜樱桃栽培中的主要问题。花粉作为植物的雄配子体在有性繁殖中发挥重要作用,对其质量包括活力、花粉量及萌发率的研究,可为分析果树座果率高低、选择合理的授粉树等方面提供依据,在生产实践中有一定的指导意义<sup>[1]</sup>。TTC 法是测定花粉活力较为快捷且准确的方法,但主要针对不同树种间存在测定条件差异。本试验以甜樱桃品种‘萨米脱’为试材,在前期试验的基础上对 TTC 法测定中染色时长和方法进行比较,以期选择出适合甜樱桃花粉活力测定较为准确的方法,为生产应用和理论研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验于 2018 年 5 月进行,以山东泰安种植的‘萨米脱’甜樱桃花粉为材料。于‘萨米脱’花期采集铃铛状花朵,用镊子剥取未开裂的花药,摊在硫酸纸上置于 25℃ 阴凉干燥处干燥。待其干燥后装入小瓶,置于 -20℃ 冰箱保存。

### 1.2 花粉活力的测定

花粉活力的测定采用 TTC 法:用一定的染色方法将花粉混于染色液中搅匀,将其置于 35℃ 恒温箱中(避光),染色一段时间后在显微镜下观察。分别统计 3 个视野。花粉活力(%)=(着色花粉数/观察花粉数量)× 100%。

染色方法设置为载玻片法,即在载玻片(平片/凹片)上加 1~2 滴 0.5% TTC 染液,盖上盖玻片;离心管法,即在 2ml 的离心管中加入 0.5% TTC 500μL,取少量花粉混于染液中,染色一段时间后吸取少量在载玻片上,盖上盖玻片于显微镜下观察;染色时间设置为 4h、12h、24h、36h。

基金项目 杭州市科委自主申报项目(20170432B19)杭州市科委重大自主设计项目(20180416A01)

作者简介 张琛(1987-),女,浙江金华人,农艺师,从事果树生理和果树栽培技术研究工作。

Tel:0571-87313244; E-mail: tt.hang@163.com

### 1.3 数据处理

采用 Excel 2016 对数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

如表 1 所示,分别采用平片和凹型载玻片法进行染色,采用平片染色染液易干涸,染色 4h,仅凹片中染液少量剩余,极少量(<5%)有活力花粉染色成功,镜检中可见染色较浅。随着染色时间的进一步延长,即使采用凹片染色,染液也完全干涸无法再继续染色,花粉活力测定失败。使用离心管法染色试验中,染液不干涸,花粉可一直处于染色过程中,在染色 4h 时,镜检可见有活力花粉占 10.23%,为载玻片法测得花粉活力的 2 倍,染色程度稍较载玻片法深。随着染色时间的进一步延长,有活力花粉染色成功数目增多,染色程度加深,染色 24h 时测得花粉活力为 84.78%,镜检中可见染色花粉染色深浅清晰,花粉粒形态正常。当染色时长达 36h 时,测得的花粉活力有所增高,但在镜检中观察可见有大量菌丝等杂质黏连花粉,部分花粉破碎或变形,无法保持正常形状。

## 3 小结与讨论

在生产实践中,常常选用花粉活力强的品种作为授粉树。花粉活力的测定包括染色法和萌发统计法,但萌发统计法操作步骤多且复杂,染色法简便

快捷<sup>[2]</sup>。TTC 法是染色法中最为常用的方法,但在不同树种间,采用不同的染色处理以便获得更为客观准确的花粉活力。常规 TTC 法大多使用载玻片(平片)染色,不同种间染色时间差别较大,如拟南芥仅需 15~30min<sup>[3]</sup>,杜鹃属植物则需 4~6h<sup>[4]</sup>,梨则需要 24h<sup>[5]</sup>。本试验结果表明,甜櫻桃花粉采用 TTC 染色需要较长的染色时间,以 24h 为宜,过短时间花粉粒并未着色或未完全着色,而染色深浅所表现出的差异进一步影响了花粉活力强弱的判断,从而影响整体测定结果。而过长的染色时间则会滋生染色环境中微生物从而干扰显微镜下观察。同时,试验中还发现,受到细胞渗透原理的影响,过长的染色时间会导致花粉粒质壁分离、变形等花粉粒结构破坏现象的发生,进一步影响花粉活力测定的准确性。由此可见,虽平片载玻片在 TTC 法中使用普遍,但对于染色时间较长(>4h)的树种花粉并不适合,因染色处于 35℃ 中染液的蒸发较快,即使采用凹型载玻片加以盖玻片封住凹槽,染液在 4h 以上均会干涸,且采用凹片染色时蒸发的染色会附着在盖玻片表面,镜检下视野较脏影响观察。故离心管法更适用于需较长染色时间的花粉测定。

综上所述,在使用 TTC 法测定甜櫻桃花粉活力试验中,采用离心管法并染色 24h 能更准确的测定花粉活力。

### 参考文献:

- [1] 冯莎莎,姚太梅,刘畅. 冀西北地区日光温室条件下甜櫻桃花粉生活力和花粉行为的研究 [J]. 北方园艺, 2014 (03): 44-47.
- [2] 张丽娜,赵贵铭,武绍波. 云南高海拔地区甜櫻桃花粉生活力的研究[J]. 江西农业学报, 2009, 21(9): 55-58.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 姜雪婷,杜玉虎,张绍铃,等. 梨 43 个品种花粉生活力及 4 种测定方法的比较[J]. 果树学报, 2006, 23(2): 178-181. ■

表 1 不同染色方法和时长对花粉活力测定的影响

染色方法	染色时间/h	花粉活力/%	镜检形态
载玻片法 (平片/凹片)	4	<5	平片染液干涸,凹片染液尚有剩余
	12	/	凹片,染液干涸
	24	/	凹片,染液干涸
	36	/	凹片,染液干涸
离心管法	4	10.23± 2.89	花粉粒形态正常
	12	38.15± 4.56	花粉粒形态正常
	24	84.78± 3.77	花粉粒形态正常
	36	88.79± 3.56	部分花粉粒变形,可见菌丝等杂质