

用筛分法提纯桃、李、辣椒的 2n 花粉

Purification of 2n Pollen by Sieving in Peach, Plum and Pepper

摘要: 分别用二甲苯和甘露醇缓冲液作介质对桃、李、辣椒 2n 花粉进行筛分, 结果使 3 种作物 2n 花粉比例大幅提高, 甘露醇缓冲液作介质的提纯效果比二甲苯好, 二甲苯作介质提纯后的 2n 花粉能够贮藏。

关键词: 2n 花粉; 提纯; 桃; 李; 辣椒

中图分类号: S512.1      文献标识码: A      文章编号: 1000- 7091(2002)增刊- 0234- 02

2n 配子参与受精的结果是有性多倍化, 是自然界植物多倍体形成的主要途径。2n 配子被发现之后, 人为操作的有性多倍化已成为植物种质创新的重要手段。不同植物种或同种植物的个体间, 2n 配子产生的比例有很大差异, 2n 配子发生和产量都是影响其在育种和种质创新中应用效果的指标, 有效地获得或提高 2n 配子的产量是有意义的。轮回选择、诱导基因突变、2n 花粉的机械分离以及 2n 配子的直接诱导等是提高 2n 配子比例的常用方法, 其中 2n 花粉的机械分离是最简便的方法。荷兰育种家用 15~ 52 μm 孔径的筛子对 2x 马铃薯的正常花粉和 2n 花粉进行筛分, 不影响花粉育性, 对分离 2n 花粉有效, 但不彻底<sup>[1,2]</sup>。唐仙英等<sup>[3]</sup>用特定孔径的滤网将禅寺丸柿的 2n 花粉比例提高。由于花粉粒表面静电的作用, 必须选择一种介质克服花粉粒表面的静电。水是良好的介质, 但必须加入渗透调节物质。另外, 研究表明, 用二甲苯等有机溶剂保存桃等果树花粉的效果很好<sup>[4]</sup>。本试验分别以二甲苯和甘露醇缓冲液两种介质试验了 2n 花粉提纯的方法。

1 材料和方法

分别以二甲苯和甘露醇缓冲液作介质, 对热激处理诱导的桃(庆丰)、李(牛心) 2n 花粉<sup>[5]</sup>及辣椒(线椒)花粉进行筛分。甘露醇缓冲液的配方是: 甘露醇 9 mmol/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2 mmol/L, KNO<sub>3</sub> 1 mmol/L, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 10 mmol/L, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1 mmol/L, KI 0.001 mmol/L, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.000 1 mmol/L, pH 5.8 (罗正荣)。

将一漏斗下口密封, 内盛介质, 将适宜目数的 Φ6~ 9 cm 的标准筛浸于介质中, 筛口高于液面。往筛内倒入花粉样品, 用玻棒轻叩筛壁 5~ 10 min, 取出筛子, 镜检其中剩余花粉, 重复以上步骤, 直到 2 n 花粉比例不再提高为止。

2 结果与讨论

用目镜测微尺测得各试材作物 n 与 2n 花粉粒的大小如表 1。选用孔径大于 n 花粉粒,

收稿日期: 2002- 05- 30  
 基金项目: 河北省自然科学基金资助(301341)  
 作者简介: 张新忠(1966- ), 男, 博士, 副研究员, 主要从事果树种质资源与遗传育种科研工作。

比较接近 2n 花粉粒标准筛，分别对试材作物的花粉样品进行提纯。

表 1 几种作物 n 与 2n 花粉粒大小的比较					$\mu\text{m}$
	干燥花粉		1% 醋酸洋红中		
	n	2n	n	2n	
辣椒	35.5×25.5	43.5×33.5	36.0×32.0	44.0×40.0	
李	41.4×26.9	52.6×42.4	39.1×33.7	52.1×47.9	
桃	51.6×27.5	53.1×46.2	50.3×47.2	65.5×58.3	

热激诱导的牛心李 2n 花粉在 2 种介质中筛分后 2n 花粉的比例分别由 14.6% 提高到 26.47%和 27.69%；热激诱导的庆丰桃 2n 花粉的比例由 7.14% 分别提高到 35.56% 和 41.98%；辣椒田间花粉样品 2n 花粉比例由 0.1% 以下提高到 9.09% 和 23.37%。两种介质相比较，二甲苯作介质，花粉粒并不吸收介质，花粉粒形状、大小与干燥花粉相同，适用孔径较小的筛子，提纯效果稍差，而且要求花粉必须干燥，但其优点是提纯后的 2n 花粉自然风干后可以贮藏；甘露醇缓冲液作介质提取 2 n 花粉的过程中，花粉粒吸水膨胀，呈圆球形，适用孔径稍大的筛子，提纯效果较好，可以处理新鲜花粉，但提纯后的 2n 花粉几乎不能贮藏，必须直接进行湿授粉<sup>[1,2]</sup>，而且湿授粉过程中要隔 1~ 2 min 用缓冲液漂洗花粉防止水分蒸发，增加缓冲液浓度，更不能使花粉干燥。

参考文献:

[ 1] Eijlander R. Manipulation of the 2n gametes frequencies in *Solanum* pollen[ J]. Euphytica, 1988, ( Supplement):45– 50.

[ 2] Eijlander R, Louwes K M. The seperation of n and 2n pollen in potatoes and its use in crosses[ J]. FCA B- PBA Abstract, 1989. 1990– 4373.

[ 3] 唐仙英, 谷晓峰, 罗正荣. 利用 2n 花粉创造无核甜柿[ A]. 果树生物技术学术研讨会[ C]. 1999, 14.

[ 4] 刘国俭, 张新忠, 杨秀梅. 几种果树花粉有机溶剂保存的研究[ J]. 河北林果研究, 1998, 13( 4): 339– 342.

[ 5] 张新忠, 刘国俭, 章德明. 热激对李、桃 2n 花粉产生的影响[ J]. 园艺学报, 1998, ( 3): 292– 293.

张新忠<sup>1</sup>, 刘国俭<sup>1</sup>, 闫立英<sup>2</sup>, 赵永波<sup>1</sup>, 常瑞丰<sup>1</sup>, 吴禄平<sup>3</sup>  
(1. 河北省农林科学院昌黎果树研究所, 河北 昌黎 066600; 2. 河北职业技术学院 园艺系, 河北 昌黎 066600, 3. 沈阳农业大学 园艺系, 辽宁 沈阳 110161)