

辣椒花粉生活力快速测定比较

张 茹

(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 筛选快速、有效、准确率较高的测定辣椒花粉生活力的化学染色方法, 判断花粉生活力最佳时期, 为有效提高杂交授粉效率及辣椒坐果率提供参考。选择 C123、Y32、C131、C125 等 4 份辣椒自交系材料, 分别采用醋酸洋红染色法、I₂-IK 染色法和亚历山大染色法测定辣椒花粉生活力, 同时检测未开花大花苞、已开花未散粉的花朵、已开花散粉的花朵 3 种不同形态花朵的花粉生活力。结果表明, 醋酸洋红染色法检测辣椒花粉平均生活力为 91.71%, I₂-IK 染色法检测辣椒花粉平均生活力为 50.20%, 亚历山大染色法检测辣椒花粉平均生活力为 81.33%, 醋酸洋红染色法和 I₂-IK 染色法只能从颜色或形态单一角度选择有生活力的花粉, 检测结果偏高或偏低, 而亚历山大染色法可以从颜色和形态上双重选择, 有效减少选择误差。对 3 种花朵形态下的花粉生活力测定结果显示, 辣椒花粉活力从高到低依次为已开花未散粉的花朵、已开花散粉的花朵、未开花大花苞, 选择合适的花形态进行辣椒授粉, 可有效提高辣椒坐果率。

关键词: 辣椒; 花粉; 花形态; 生活力; 染色方法

中图分类号: S641.3

文献标志码: A

文章编号: 2097-2172(2025)11-1036-04

doi: 10.3969/j.issn.2097-2172.2025.11.010

Comparison of Rapid Determination Methods for Chili Pepper Pollen Viability

ZHANG Ru

(Vegetable Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: To identify a rapid, effective, and highly accurate chemical staining method for measuring pollen viability in chili pepper, and to determine the optimal period for pollen viability assessment, thereby providing a reference for improving hybrid pollination efficiency and fruit set rate in chili pepper, 4 chili pepper inbred lines, C123, Y32, C131, and C125, were selected. Pollen viability was evaluated using the acetocarmine staining method, I₂-IK staining method, and Alexander staining method. Meanwhile, pollen viability was also assessed from 3 floral developmental stages: large flower buds before anthesis, flowers at anthesis without pollen dispersal, and flowers at anthesis with pollen dispersal. Results showed that the average pollen viabilities detected by the acetocarmine method, the I₂-IK method, and the Alexander method were 91.71%, 50.20%, and 81.33%, respectively. The acetocarmine and I₂-IK methods identified viable pollen based only on a single criterion, color or morphology, often resulting in overestimation or underestimation of viability. In contrast, the Alexander method evaluated both color and morphology, effectively reducing selection bias. Pollen viability across the 3 flower types ranked from highest to lowest as: flowers at anthesis without pollen dispersal, flowers at anthesis with pollen dispersal, and large buds before anthesis. Selecting flowers at the appropriate developmental stage for pollination can significantly improve the fruit set rate in chili pepper.

Key words: Chili pepper; Pollen; Flower morphology; Vitality; Chemical staining method

辣椒(*Capsicum annuum* L.)起源于南美洲, 隶属于茄科辣椒属, 是全球广泛栽培的重要蔬菜作物^[1-3]。辣椒具有较高的经济价值和显著的社会效益, 在中国的栽培面积不断增大, 近年来年播种面积稳定在 213 万 hm² 以上, 居世界首位^[4]。辣椒不仅可鲜食, 还可加工成辣椒油、辣椒粉、辣椒酱等产品, 从辣椒中提取的辣椒素、辣椒碱、辣椒红素等活性成分在食品、医药、化工等领域

具有广泛应用价值^[5-6]。辣椒产业已成为推动农业增效、农民增收的重要途径。

目前, 我国辣椒杂交种覆盖率已超过90%^[2], 在杂交种生产过程中, 对亲本的要求较为严格, 尤其是父本花粉的质量和数量。花粉生活力的高低直接决定了花粉的质量, 也是杂交种子 F₁ 的质量和数量的基础^[7]。因此, 选育花粉生活力高的辣椒材料作为父本, 可有效提高杂交种子的质量

收稿日期: 2025-06-18; 修订日期: 2025-08-19

基金项目: 国家自然科学基金(32460761); 甘肃省重点人才项目(2025RCXM047)。

作者简介: 张 茹(1978—), 女, 甘肃兰州人, 副研究员, 主要从事辣椒育种研究工作。Email: zhangru@gasgr.ac.cn。

和产量。然而,目前关于辣椒花粉生活力检测的相关研究较少,且不同检测方法以及不同基因型辣椒材料对花粉生活力的测定结果均存在较大影响。聂智星等^[8]的研究发现,选择离体萌发法和不同化学染色方法检测辣椒花粉生活力时,各染色方法测定结果差异明显。目前,离体萌发法依然是花粉生活力检测最准确的方法,但该方法存在培养时间过长、花粉管破裂影响统计结果等局限性^[9-11]。因此,还须探寻针对不同植物适宜的花粉生活力测定方法,从而有效快速地检测花粉活力^[12-14]。本研究选择亚历山大染色法、醋酸洋红染色法和 I₂-IK 染色法分别对 4 份辣椒自交系材料的花粉生活力进行测定,旨在筛选出快速、有效、准确率较高的化学染色方法;并对辣椒 3 种不同花形态(未开花大花苞、已开花未散粉的花朵、已开花散粉的花朵)下的花粉进行生活力测定,判断花粉生活力最佳时期,为有效提高杂交授粉效率及辣椒坐果率提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试辣椒自交系材料均属于羊角椒,分别为 C123、Y32、C131、C125,均由甘肃省农业科学院蔬菜研究所提供。

1.2 试验设计

供试辣椒材料于 2 月底播种于甘肃省农业科学院蔬菜研究所兰州辣椒试验地,4 月中旬定植,6 月底进入盛花期。盛花期于晴天 7:00—9:00 时分别对未开花大花苞、已开花未散粉的花朵、已开花散粉的花朵进行取样(图 1),每种形态各采 10



A 为未开花大花苞, B 为已开花未散粉的花朵, C 为已开花散粉的花朵。

图 1 辣椒 3 种不同形态的花

朵,所有样品混合后,分别采用亚历山大染色法、醋酸洋红染色法和 I₂-IK 染色法测定花粉生活力。同时,对未开花大花苞、已开花未散粉的花朵、已开花散粉的花朵分别取样 5 朵,采用亚历山大染色法测定 3 种形态下花粉生活力。每个处理 3 次重复,每个重复观察 3 个不同的视野,视野花粉粒数量应在 40 以上。

花粉生活力=(有生活力花粉数/总花粉数)×100%

1.3 测定方法

1.3.1 亚历山大染色法 亚历山大染色液参考 Peterson 等^[16]的方法配制,将 10 mL 95%乙醇、1 mL 孔雀绿、50 mL 蒸馏水、25 mL 甘油、5 mL 酸性品红、0.5 mL 橙色 G、4 mL 冰醋酸混合均匀,用蒸馏水定溶到 100 mL,黑暗保存。取新鲜花朵,去除花瓣和雌蕊;将花粉物质置于载玻片上,滴加 2~3 滴染色液;充分混合,立即盖上盖玻片染色 5~10 min;吸去多余液体,置于显微镜下观察。紫色、饱满花粉判定为有生活力,绿色、小而不规则判定为无生活力^[15]。

1.3.2 醋酸洋红染色法 将 1 滴 1%醋酸洋红染色液滴于载玻片上,用镊子将花粉置于载玻片上的染色液中,染色 5 min,盖上盖玻片,于显微镜下观察染色情况。花粉粒饱满判定为有生活力,干瘪判定为无生活力^[8,14]。

1.3.3 I₂-IK 染色法 滴 1 滴 1% I₂-IK 染色液于载玻片上,用镊子将花粉置于载玻片上的染色液中,染色 5 min,盖上盖玻片,于显微镜下观察染色情况。花粉粒呈现黑色或深褐色判定为有生活力,黄褐色或淡黄褐色判定为无生活力^[8]。

1.4 数据统计与分析

采用 Excel 2019 软件进行数据统计与作图,采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 亚历山大染色法

从图 2 可以看出,经过亚历山大染色液染色后,大部分辣椒花粉粒呈现紫色,形态较大且饱满;少部分花粉粒呈现绿色,形态较小且透明。由于紫色和绿色颜色差异大,从颜色和形态上较易区分有生活力和无生活力花粉。亚历山大染色法测定 4 份辣椒材料花粉生活力的结果表明,C125、Y32、C131、C123 的平均花粉生活力分别为 77.80%、86.91%、86.20%、80.01%。

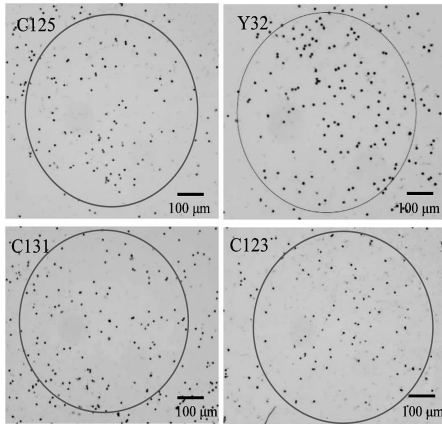


图2 亚历山大染色法测定的辣椒材料花粉生活力

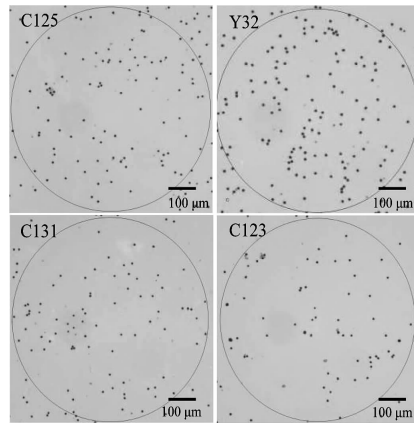


图3 醋酸洋红染色法测定的辣椒材料花粉生活力

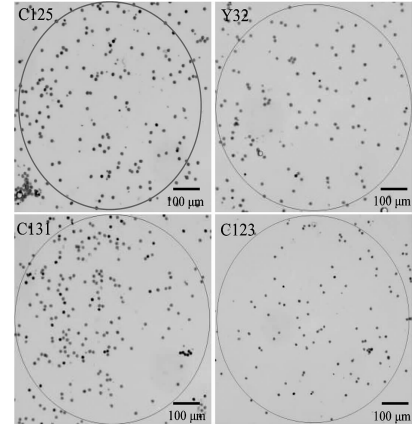


图4 I₂-IK 染色法测定的辣椒材料花粉生活力

2.2 醋酸洋红染色法

用醋酸洋红染色法测定花粉活力，大部分辣椒花粉粒呈现红色，且花粉粒饱满呈圆形，少部分颜色淡且外形呈不规则状（图3）。因此，红色、圆形且饱满的花粉判定为有生活力，色淡且外形不规则的花粉被判定为无生活力。醋酸洋红染色法测定4份辣椒材料花粉生活力的结果表明，C125、Y32、C131、C123的平均花粉生活力分别为92.10%、90.40%、94.01%、90.32%。

2.3 I₂-IK 染色法

采用I₂-IK染色法对辣椒花粉粒染色结果发现，黄褐色花粉粒比例较高，只有少部分花粉粒呈现深褐色或黑色（图4）。呈现深褐色或黑色的花粉粒判定为有生活力，褐色或浅褐色判定无生活力。I₂-IK染色法测定4份辣椒材料花粉生活力的结果表明，C125、Y32、C131、C123的平均花粉生活力分别为45.70%、30.50%、58.20%、65.73%。

2.4 不同花形态花粉生活力

使用亚历山大染色法测定可以快速检测出最佳花粉生活力的花形态。由图5可以看出，辣椒

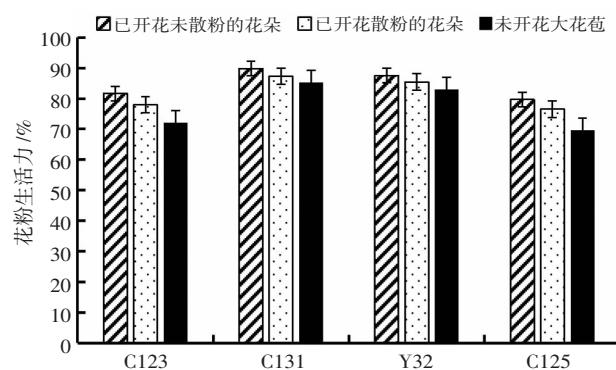


图5 辣椒不同形态花粉生活力

不同形态的花粉生活力差异较大，4份辣椒材料不同花形态花粉生活力均表现为已开花未散粉的花朵>已开花散粉的花朵>未开花大花苞。不同材料之间花粉生活力也存在较大差异，不同形态花粉生活力由高到低依次为C131、Y32、C123、C125，其中已开花未散粉的花朵花粉生活力分别为89.80%、87.51%、81.65%、79.65%，已开花散粉的花朵花粉生活力分别为87.25%、85.45%、77.95%、76.50%，未开花大花苞的花粉生活力分别为85.35%、83.05%、72.10%、69.71%。

3 讨论与结论

花粉的生活力高低直接影响植物果实的品质和种子的质量^[16-17]，辣椒是典型的常异花授粉作物，因此，检测花粉生活力，选择生活力高的花粉对于辣椒杂交种的生产有着重要的意义^[18]。由于花粉离体培养耗时、耗力，为找出快速、有效的检测辣椒花粉生活力的方法，本研究选择亚历山大染色法、醋酸洋红染色法和I₂-IK染色法3种染色方法，对C123、Y32、C131、C125等4份辣椒自交系材料的花粉生活力进行测定和比较，结果表明，醋酸洋红染色法检测辣椒花粉平均生活力为91.70%，I₂-IK染色法检测辣椒花粉平均生活力为50.20%，亚历山大染色法检测辣椒花粉平均生活力为81.33%。花粉活力与足量的淀粉沉积有关，本研究中I₂-IK染色法显色较快，花粉粒中的淀粉遇到I₂后会变成黑色或深褐色，被判定为有生活力。在试验过程中，大量花粉粒显色为褐色或浅褐色，被判定为无生活力，这可能与采样和测定的温度高低有关。研究发现，低温或高温环境会影响植物不同部位的碳水化合物代谢，从而

降低水稻花粉中的淀粉含量和花粉活性^[19-20], 因此 I₂-IK 染色后花粉着色率降低, 导致花粉活力判定出现偏差。醋酸洋红染色法染色后, 颜色差别较小, 只能从花粉粒的形态外观和饱满程度上判定其花粉生活力。花粉粒圆润饱满判定为有生活力, 扁而干瘪判定为无生活力, 因此检测结果容易存在一定误差。亚历山大染色法染色后, 花粉粒颜色呈现不同, 紫色与绿色极易区分; 从形态上看, 有生活力的花粉粒形态大而饱满, 无生活力的花粉小而瘪。因此通过颜色与形态的双重选择, 亚历山大染色法检测准确率较醋酸洋红染色法和 I₂-IK 染色法高, 可用于辣椒花粉生活力的快速测定。

本研究对不同采样时期的花粉生活力也进行了研究, 采用亚历山大染色法对 4 份辣椒材料的 3 种不同花形态花朵(未开花大花苞、已开花未散粉的花朵、已开花散粉的花朵)花粉生活力进行了检测, 结果发现辣椒花粉生活力从高到低依次为已开花未散粉的花朵、已开花散粉的花朵、未开花大花苞。确定辣椒花粉生活力最高时期花形态, 这对有效提高辣椒杂交授粉效率、提高辣椒杂交所坐果有重要指导意义。综上所述, 醋酸洋红染色法和 I₂-IK 染色法只能从形态或颜色单一角度判断有生活力的花粉, 检测结果会偏高或偏低。亚历山大染色法可以从颜色上和形态上双重判定, 可有效地减少选择误差。

参考文献:

- [1] 邵晨冰, 黄志楠, 白雪滢, 等. 辣椒 *HD-Zip* 基因家族鉴定、系统进化及表达分析[J]. 中国农业科学, 2020, 53(5): 1004-1017.
- [2] CHIOU K L, LIRA-NORIEG A A, GALLAGA E, et al. Interdisciplinary insights into the cultural and chronological context of chili pepper (*Capsicum annuum* var. *Annuum* L.) domestication in Mexico[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2024, 121(47): e2413764121.
- [3] 魏 敏, 朱惠霞, 张玉鑫, 等. 化肥减量配施不同有机肥对辣椒品质和产量的影响[J]. 寒旱农业科学, 2024, 3(11): 1060-1065.
- [4] 邹学校, 马艳青, 戴雄泽, 等. 辣椒在中国的传播与产业发展[J]. 园艺学报, 2020, 47(9): 1715-1726.
- [5] 褚泽军, 彭思嘉, 侯鹏颖, 等. 我国辣椒主产地特色鲜椒品质评价及加工适宜性分析[J]. 食品科学, 2025, 46(20): 47-56.
- [6] 逯建平, 卢子明, 霍建泰, 等. 线辣椒新品种天椒 17 号选育报告[J]. 寒旱农业科学, 2023, 2(1): 26-29.
- [7] 王立浩, 张宝玺, 张正海, 等. “十三五”我国辣椒育种研究进展、产业现状及展望[J]. 中国蔬菜, 2021(2): 21-29.
- [8] 聂智星, 王勇泽, 傅鸿妃, 等. 5 种化学染色方法测定辣椒花粉生活力的比较研究[J/OL]. 分子植物育种, 2024, 4(19): 1-8(2024-04-19)[2025-06-02]. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240417.1732.004>.
- [9] 黄福灯, 曹珍珍, 李春寿, 等. 花期高温对水稻花器官性状和结实的影响[J]. 核农学报, 2016, 30(3): 565-570.
- [10] 刘海英, 甄俊琦, 胡铁柱, 等. 小麦温敏雄性不育系 BNS366 小孢子发育和花粉育性检测方法研究[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(4): 379-385.
- [11] 杨延红, 宋桂全, 董 慧, 等. 连翘花粉离体萌发及活力测定[J]. 北方园艺, 2021(10): 112-117.
- [12] 罗 辉, 曾钦朦, 卢中科, 等. 顶坛花椒雄花花粉形态扫描电镜观测及生活力测定[J]. 中国瓜菜, 2024, 37(10): 118-123.
- [13] 张 薇, 蒋诗音, 王 燕, 等. 南酸枣花粉离体萌发及活力快速测定[J]. 江西农业大学学报, 2024, 46(4): 935-943.
- [14] 罗 曦, 谢鸿光, 何 炜, 等. 水稻 CMS-WA 育性的光温敏感性分析[J]. 农业生物技术学报, 2020, 28(1): 22-31.
- [15] PETERSON R, SLOVIN J P, CHEN C. A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains[J]. International Journal of Plant Biology, 2010, 1(2): e13.
- [16] 邹仁双. 板栗花粉生活力及贮藏适宜温度的研究[J]. 防护林科技, 2016(6): 39-40.
- [17] 辛董董, 朱自果, 候行行, 等. 不同葡萄品种花粉生活力、花粉量及柱头可授性的测定[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(4): 113-116.
- [18] 蔡荣靖, 龙洪进, 高玉蓉, 等. 不同贮藏条件对辣椒花粉生活力的影响[J]. 长江蔬菜, 2009(8): 24-26.
- [19] CHUNG P, HSIAO H H, CHEN H J, et al. Influence of temperature on the expression of the rice sucrose transporter 4 gene, *OsSUT4*, in germinating embryos and maturing pollen[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36(1): 217-229.
- [20] MUKESH J, PREM S C, KENNETH J B, et al. Short-term high temperature growth conditions during vegetative-to-reproductive phase transition irreversibly compromise cell wall invertase-mediated sucrose catalysis and microspore meiosis in grain sorghum (*Sorghum bicolor*) [J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(7): 578-582.