DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20240578

石榴可育花与功能性雄花花粉特性研究

段书云[1]，陈利娜[1,2,3]，朱娟丽[1]，刘锐涛[1]，李好先[1,3]，严 琼[4]，李松开[4]，杨庆华[4]，鲁振华[1,2,3*]

（1 中国农业科学院郑州果树研究所，郑州，450009；2 中国农业科学院中原研究中心，新乡，453000；3 中国农业科学院南繁国家研究院，三亚，572000；4 蒙自市果蔬技术推广站，云南蒙自 661100）

摘要：**【目的】**评估不同石榴品种花型选择、花粉保存条件以及不同蔗糖培养浓度对花粉萌发的影响，为石榴遗传育种提供理论参考。**【方法】**本研究以六个石榴品种为试验材料，利用花粉离体萌发培养法，探讨了可育花与功能性雄花中花药数量、单粒花药出粉率及花粉萌发率等方面的差异，并分析了不同培养与保存条件对花粉萌发率的影响。**【结果】**中石榴 4 号在 250 g·L^{-1}（81.5%）和 300 g·L^{-1}（83.5%）蔗糖浓度下花粉萌发率无显著差异；可育花中，土库曼斯坦雄蕊数目显著低于酸美人、慕乐、天使红、中石榴 4 号、和华光（$P<0.05$）；同一品种可育花与功能性雄花雄蕊数目无显著性差异；可育花单粒花药出粉量（31~48）显著低于功能性雄花（85~91），但其花粉萌发率（90%~93%）显著高于功能性雄花（41%~43%），花粉管生长速度高于功能性雄花；天使红花粉萌发率最高为 93.3%；与功能性雄花比，可育花柱头附着花粉量大，且花粉管伸长正常，授粉 36 h 后花粉管大量伸入花柱；−20℃贮藏条件下的花粉萌发率显著高于 4℃和 25℃。**【结论】**可育花花药出粉量低，花粉萌发率及花粉管生长显著优于功能性雄花；花粉与柱头相互作用需 36 h 来保证花粉萌发质量，−20℃贮藏利于花粉活力保持，为石榴遗传育种的花粉选择与保存策略提供了科学依据。

关键词：石榴；可育花；功能性雄花；形态观察；花粉萌发率

中图分类号：S665.4　**文献标志码**：A　**文章编号**：1009-9980(2025)04-0001-08

Study on pollen characteristics of bisexual and functionally male flowers for Pomegranate

DUAN Shuyun[1], CHEN Lina[1,2,3], ZHU Juanli[1], LIU Ruitao[1], LI Haoxian[1,3], YAN Qiong[4], LI Songkai[4], YANG Qinghua[4], LU Zhenhua[1,2,3*]

(1 Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, Henan, China; 2Central Plains Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, 45300, Henan, China; 3 National Academy of Nanfan, Chinese Academy of Agricultural Sciences, 57200, Sanya, China; 4 Mengzi Fruit and Vegetable Technology Promotion Station, Mengzi 661100, Yunnan, China)

收稿日期：2024-11-01　　接受日期：2025-01-05

基金项目：国家重点研发计划项目（2021YFD1600800）；中国农业科学院科技创新工程（CAAS-ASTIP-2024-ZFRI）

作者简介：段书云，女，在读硕士研究生，研究方向为果树遗传育种。Tel：15236364255，E-mail：duanshuyun152@163.com。

*通信作者 Author for correspondence. Tel：0371-65330990，E-mail：luzhenhua@caas.cn

Abstract: 【Objective】 Pollen is the genetic carrier of the male parent in plant sexual reproduction, of which germination and insemination on the stigma of female flower is the prerequisite depends successful reproduction for plants. Therefore, the determination of pollen morphological differences

is the basis for plant hybridization and breeding. According to morphology, pomegranate flowers are divided into two types: Bisexual flowers and functional male flowers. Bisexual flowers, also known as "tubular flowers", have normal pistil and eventually develop into fruit. Functional male flowers, which also known as "bell-shaped flowers", have aborted pistil fall off eventually. Pollen characteristics plays a critical role in pomegranate production, influencing the fruit sets. The objectives of this study were to explore the effects of anther quality, pollen germination rate and different culture conditions on pollen germination rate of different pomegranate varieties for bisexual flowers and functionally male flowers, which will provide a basis for pollen selection and preservation in the process of pomegranate genetic breeding. 【Methods】 Pollen samples were collected from the National Horticultural Germplasm Resource Center. The number of anthers of bisexual flowers and functionally male flowers was analyzed by using Suanmeiren, Mollar, Tianshihong, Zhongshiliu4, Huaguang and Turkmenistan as test materials. On June 8th, 2022, at the initial period of the flowering, 50 flower buds of uniform size that were about to open were selected and sampled. Peel the anthers in a dry carton indoors, remove the filaments, put them in a room temperature and dark ventilation place to make the anthers fully cracked, and when the pollen is completely dispersed, the dried pollen of each variety is packed into a dry small glass bottle and sealed for the determination of each index. Anther quality and pollen germination rate of bisexual flowers and functionally male flowers of different pomegranate varieties were analyzed. The differences of anther number, single anther yield, stigma, pollen tube and pollen germination rate between bisexual flowers and functionally male flowers were analyzed. The effects of sucrose concentration on germination rate and storage temperature on pollen viability were also compared. 【Results】 When the sucrose concentration was 300 $g\cdot L^{-1}$, the pollen germination rate reached 83.5%, exhibiting no significant difference when compared to the treatment with a sucrose concentration of 250 $g\cdot L^{-1}$. Sucrose concentrations of both 250 $g\cdot L^{-1}$ and 300 $g\cdot L^{-1}$ are beneficial for the germination of pomegranate pollen. There was no significant difference in the number of stamens between bisexual flowers and functionally male flowers of the same cultivar. The number of stamens of Turkmenistan in fertile flowers was significantly lower than that of Suanmeiren, Mollar, Tianshihong, Zhongshiliu4 and Huaguang ($P<0.05$). The pollen amount of each anther of bisexual flowers (31~48) was significantly lower than that of functionally male flowers (85~91), otherwise, the pollen germination rate of bisexual flowers (90%~93%) was significantly higher than that of functionally male flowers (41%~43%). Pollen tube growth of bisexual flowers is faster than that of functionally male flowers, and the length of pollen tube is higher than that of functionally male flowers. There was no correlation between the number of stamens, the number of pollens produced by anthers and the pollen germination rate of bisexual flowers and functionally male flowers. Bisexual pollen began to germinate 12 hours after pollination, and the number of germinations was less at 24 hours, and some of the pollen had begun to grow in the flower column. By 36 hours, the bisexual pollen germinates in large quantities and extends into the flower column to grow. In contrast, functionally male pollen did not germinate at 12 h and 24 h incubation time until 36 h and 48 h, and only partial pollen germination was observed on the stigma surface, and only a very small amount of pollen was able to protrude into the columella to grow. Although functionally male flowers can accept pollen and the pollen on the stigma surface can germinate, only a few pollens can successfully reach into the flower column and elongate. The large germination of pollen from bisexual flowers at 36 h post-pollination indicates that pollen needs at least 36 h of contact time to fully interact with the flower column to ensure successful and reliable pollination. Different storage temperatures had different effects on pomegranate pollen activity, and the pollen germination rate was significantly higher at −20°C than at 4°C and 25°C. The pollen was completely inactivated after 3 days of storage at 25°C, but it could maintain pollen viability for a longer time when stored at −20°C The pollen germination rate of different varieties was different, with the highest germination rate of Tianshihong pollen being 93.3% and the lowest germination rate of Zhongshiliu4 being 82.7%. 【Conclusion】There were differences in anther quality and pollen germination rate between bisexual flowers and functionally male flowers of different cultivars. But there was no significant difference in the number of stamens between bisexual flowers and functionally male flowers of the same cultivar, the functionally male flowers has a large amount of pollen but a low germination rate, the storage conditions of −20°C could maintain higher pollen viability, which provided a theoretical basis for pollen selection and storage conditions for pomegranate genetic breeding.

Key words: pomegranate; bisexual flowers; functionally male flowers; morphological observation; pollen germination rate

石榴（*Punica granatum* L.）系千屈菜科（Lythraceae）石榴属（*Punica* L.）果树[1]，具有重要的文化、营养和观赏价值[2–4]。目前我国石榴栽培面积约 180 万亩，作为特色果树其在促进农民增收和乡村振兴过程中扮演重要角色。新中国成立以来，我国育种家共选育石榴新品种约 119 个，育种方式包括资源挖掘、实生选种、芽变育种、杂交育种、诱变育种等[5]，其中杂交育种仍是最主要的育种方式。花粉质量、花粉类型选择和保存方式是开展杂交育种的前提，花粉选择和保存对石榴杂交育种具有重要影响，因此，深入了解花粉的生物学特性，提升授粉效率和成功率对遗传育种至关重要[6–8]。

近年来，研究发现枣[9]、梨[10]、草莓[11]桃[12]、杏[13]和刺梨[14]等果树花粉的形态、贮藏温度、最适培养基、数量、单药花粉数以及花粉育性均会影响花粉的萌发。石榴花分为可育花（两性花）和功能性雄花两种类型[15]。可育花又名“两性花”、“筒状花”，其雌蕊发育正常最终能够形成果实；功能性雄花又名“钟状花”，雌蕊发育异常，不能正常结果[16]。石榴可育花具细长至花药高度的雄蕊及 U 形多胚珠子房，而功能性雄花雄蕊较短，子

房 V 形且胚珠体积小、表面不规则[15]。在可育花的类型中，单生花和簇生花序中的顶端花较大且胚珠数量多，而侧生花较小且胚珠发育不良频率高，导致坐果率降低[17]。石榴功能性雄花的雌性不育与胚珠发育异常紧密相关，胚珠发育常在珠被原基形成后停滞[18]。前人研究发现 *PgAGL11* 基因是调控胚珠发育、导致雌蕊败育的关键因子之一[19]；pg-miR166a-3p 在石榴功能性雄花中的高表达与胚珠发育异常相关[20]；*PgBEL1* 作为分子桥梁，连接 PgCRC、PgINO 及 MADS-box 转录因子，共同调控胚珠与种子发育[21]。在石榴的头花始花期至盛花期，叶面喷施 30.0 mg·L^{-1} 的 GA_3 能有效提高坐果率而不损害果实品质。然而，在二花盛花期，喷施 GA_3 虽防止可育花脱落，却抑制功能性雄花自然脱落，导致营养资源不当分配，影响果实正常发育[22]。

目前研究主要针对石榴可育花与功能性雄花的分布特征、开花模式、花粉粒形态参数（极轴长度 P、赤道直径 E 及其比值）差异[23-24]，以及影响雌蕊败育的植物内源和外源激素的种类和比例[25-26]等开展研究。本研究以 6 个石榴品种为试验材料，探讨不同石榴品种可育花与功能性雄花不同培养条件、花药数量、单粒花药出粉量、花粉与柱头授粉时长以及贮藏温度对花粉萌发率的影响，为石榴的杂交育种和品种改良提供了重要的理论参考和实践价值。

1.材料与方法

1.1 试验地概况及植物材料

样品取自国家园艺种质资源库（郑州，中国）（东经 34.71°，北纬 113.70°）。果园采取行间生草，树下铺防草膜的种植模式，园内土壤为沙壤土；采取‘Y’形栽培模式，南北方向种植，株行距为 1×2 m；果园肥水进行常规露地栽培管理。供试品种为 8a 生酸美人、慕乐、天使红、中石榴 4 号、华光和土库曼斯坦。于 2022 年 6 月 8 号选取即将开放未散粉的大小一致的花苞 50 朵带回实验室。在室内剥离花药于干燥的纸盒中，剔除花丝，放于常温避光通风处使得花药充分开裂，48 h 后干燥后的各品种花粉分别装入干燥的小玻璃瓶内中密封保存用于各指标测定。

1.2 花粉萌发最适蔗糖浓度的筛选

分别配置浓度为 50、10、150、200、250、300 g·L^{-1} 蔗糖溶液，吸取 3 mL 溶液于 5 mL 离心管中，用大头针取适量室温干燥后贮藏的中石榴 4 号花粉于 5 mL 离心管中，在 25℃的温度条件下培养 12 h 后观察不同浓度蔗糖处理对花粉萌发的影响情况，以筛选出最适的蔗糖浓度。取 5 μL 溶液滴于凹面载玻片上，在光学显微镜下统计花粉数量，统计时，花粉管的伸长长度大于或等于花粉粒的直径视为萌发，萌发率=已萌发花粉数/花粉总数×100%[27]。每个样品设 3 次生物学重复，每次观察 3 个视野，每个视野不少于 100 粒。

1.3 可育花与功能性雄花花药数目和单花药出粉量对萌发率影响的的测定

每个品种随机取 3 朵发育良好且完整的可育花与功能性雄花，用镊子将花药取下，统计花药数目；采用果胶酶酶解法[28]测定单花药出粉量，可育花与功能性雄花分别取完整花

药 10 枚放入 1 mL 离心管中，待花粉完全散出，加入 2%果胶酶 1 mL，处理 12 h，使粘连在花药壁上的花粉粒游离出来。充分振荡后，取 5 μL 溶液滴于载玻片上，在光学显微镜下统计花粉数量，每个样品重复设 3 片，每片观察 3 个视野，观察的花粉粒在 100 粒以上。单花药花粉量 = (每个载玻片上总花粉粒数 × 200) /10。在最适浓度的蔗糖溶液里培养供试品种花粉，在 25℃培养 12 h 后在光学显微镜下观察统计可育花与功能性雄花花粉萌发数量，方法同 1.2。在光学显微镜下统计并拍照花粉萌发率与花粉管生长情况，比较分析可育花与功能性雄花花粉萌发情况。

1.4 不同条件下花粉萌发率的测定

为观察花粉管的萌发情况，分别取授粉后 12、24、36、48 h 花柱在 FAA 固定液固定 24 h 以上；后经 2 $mol\cdot L^{-1}$ 的 NaOH 溶液在 65℃温箱中软化处理 7 h，待样品变为半透明状后用蒸馏水漂洗 3 次；0.1%水溶性苯胺蓝溶液染色过夜，用于荧光显微镜观察。使用 Olympus DP71[29]荧光显微镜观察花柱中花粉管萌发情况，测定供试品种的花粉萌芽率，方法同 1.2。

将采集的花粉混合分别在 25、4、−20℃贮藏，间隔 1、3、5、7、60、90 d 测定各贮藏条件下的花粉萌发率以比较不同贮藏温度对石榴花粉萌发率的影响。

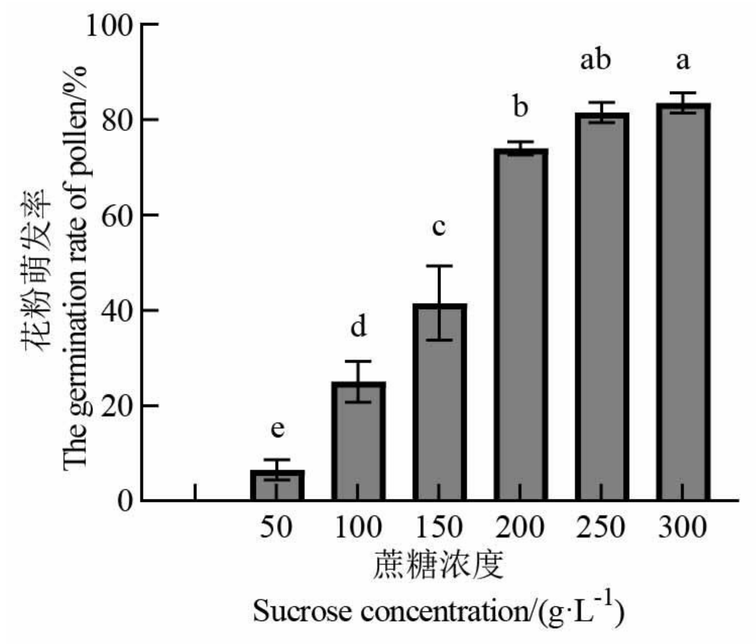
1.5 数据分析

采用 SPSS 27.0 进行数据的统计和分析，Duncan’s 新复极差法检验差异显著性水平，采用 GraphPad Prism9 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 蔗糖浓度对石榴花粉萌发率的影响

对中石榴 4 号花粉萌发率的测定表明，在 50~300 $g\cdot L^{-1}$ 的蔗糖浓度范围内，石榴花粉的萌发率随着蔗糖浓度的增加而增加（图 1）。当蔗糖浓度为 300 $g\cdot L^{-1}$ 时，花粉萌发率达到最高，为 83.5%，并且与 50 $g\cdot L^{-1}$、100 $g\cdot L^{-1}$、150 $g\cdot L^{-1}$ 和 200 $g\cdot L^{-1}$ 的蔗糖浓度处理相比，有显著性差异。与 250 $g\cdot L^{-1}$ 的蔗糖浓度处理相比，则无显著性差异。综上所述，250 $g\cdot L^{-1}$ 和 300 $g\cdot L^{-1}$ 的蔗糖浓度可视为利于石榴花粉萌发的优化条件。



图中小写字母表示差异为显著水平（P＜0.05），垂直线表示标准误差，下同。

The lowercase letters in the figure indicate that the difference is significant (P<0.05), and the vertical line indicates the standard error, the same below.

图 1 蔗糖浓度对石榴花粉萌发率的影响

Fig. 1 effect of sucrose concentration on pollen germination rate of pomegranate

2.2 可育花与功能性雄花雄蕊的数目与单粒花粉量及形态关系

对可育花与功能性雄花雄蕊数目与单粒花粉量及形态测定表明，同一品种可育花与功能性雄花雄蕊数目无差异显著性（图 2-A)。土库曼斯坦可育花中雄蕊数目显著低于其它 5 个品种，其功能性雄花中雄蕊数目显著低于酸美人、慕乐、天使红和华光（图 2-B）。进一步分析发现，可育花的单粒花药出粉量显著低于功能性雄花（图 3-A）。尽管在花粉产生量上有所不足，但可育花在花粉萌发率方面却展现出了显著的优势（图 3-B）。进一步研究发现，可育花花粉管的生长速度相对较快，且其花粉管的长度显著超过了功能性雄花(图 3-C、D)。尽管我们在雄蕊数目、单粒花药出粉量和花粉萌发率等方面观察到了显著的差异，但后续的统计分析却表明，这些特征之间并未表现出显著的相关性。这意味着这些特征各自独立地影响着花的繁殖性能，而非相互依存或制约。

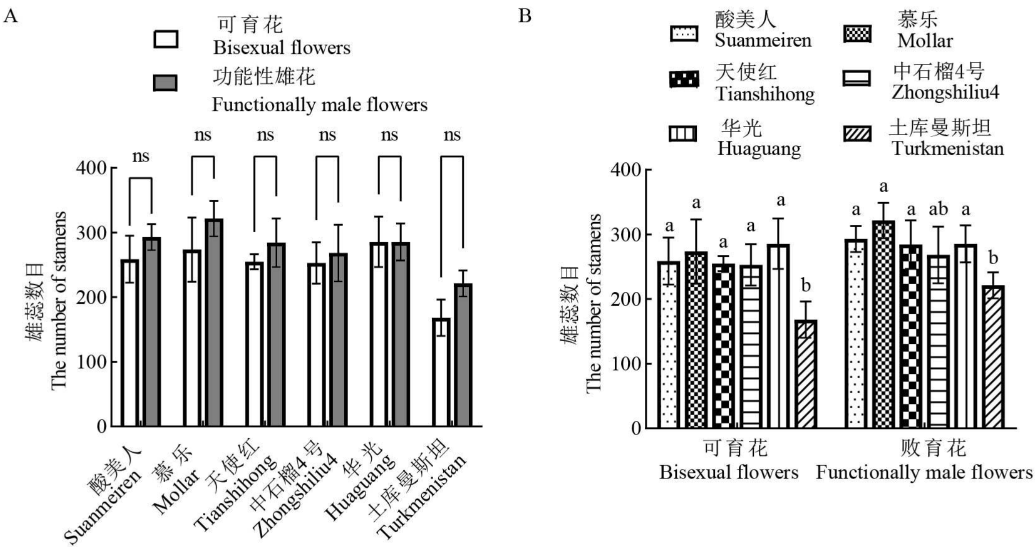
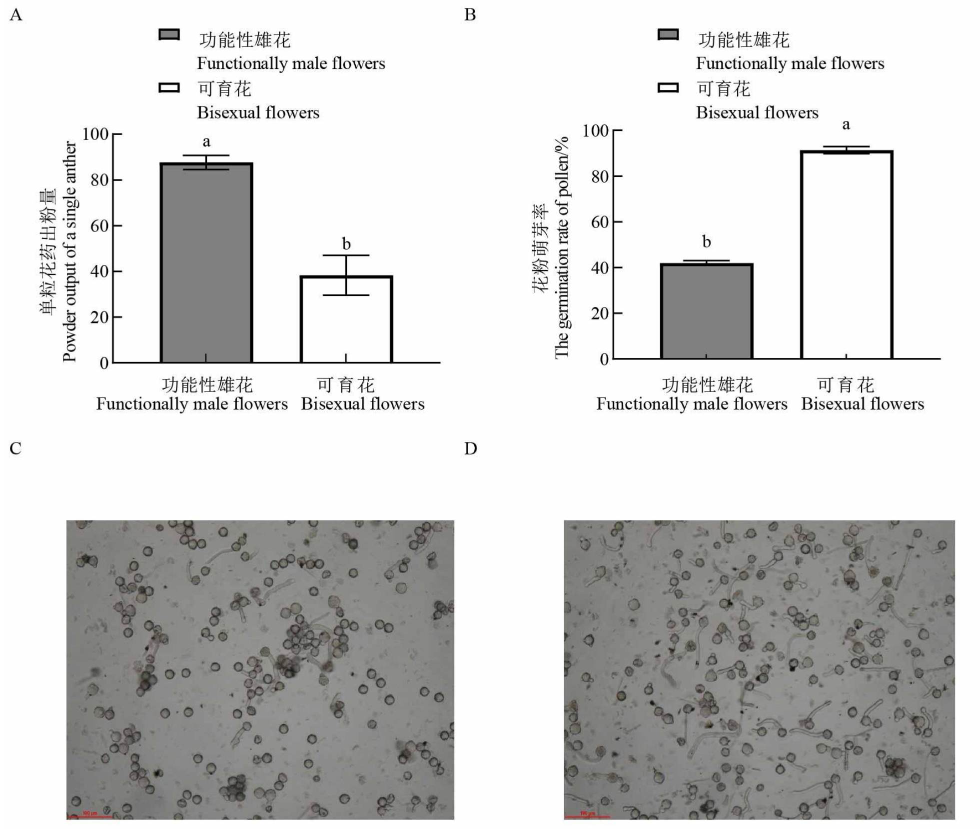


图 2 不同品种可育花与功能性雄花的雄蕊数目的差异

Fig. 2 difference in the number of stamens between bisexual and abortive flowers of different varieties

A.可育花与功能性雄花不同品种间雄蕊数目；B.不同品种可育花与功能性雄花雄蕊数目。

A. The number of stamens between bisexual flowers and functionally male flowers; B. The number of stamens in bisexual flowers and functionally male flowers of different varieties.



A.可育花与功能性雄花单粒花药出粉量；B.可育花与功能性雄花花粉萌发率；C.功能性雄花萌发与花粉管生长情况；D.可育花萌发与花粉管生长情况；比例尺为 100 μm。

A. Pollen yield per anther of. bisexual flowers and functionally male flowers; B. Pollen germination rate of bisexual flowers and functionally male flowers; C. functionally male flowers germination and pollen tube growth; D. Germination of bisexual flowers and growth of pollen tube; bar=100μm.

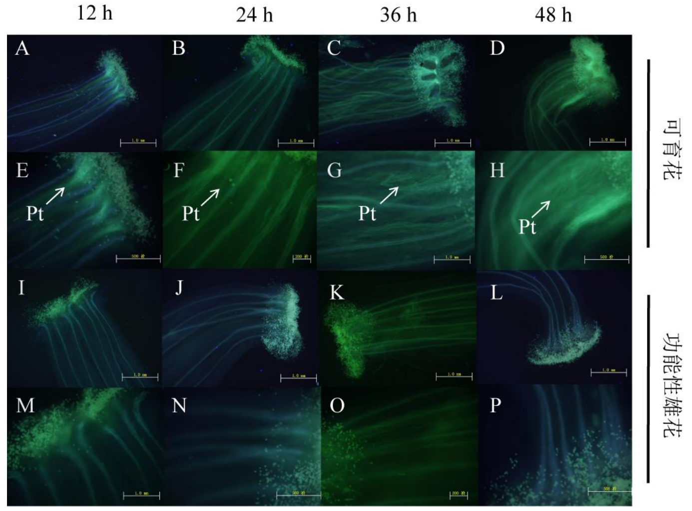
图 3 可育花与功能性雄花单粒花药出粉量与花粉萌发率的差异及花粉管生长情况对比

Fig. 3 comparison of pollen yield per anther and pollen germination rate and pollen tube growth between bisexual flowers and functionally male flowers

2.3 培养时间对可育花和功能性雄花花粉活力的影响

对不同培养时间条件下可育花与功能性雄花萌发及生长情况分析发现，随着培养时间的延长，两种类型的花粉萌发情况呈显著差异。可育花花粉在授粉后 36 h 开始大量萌发，而功能性雄花花粉在相同时间内仅有极少量萌发。详细观察表明，可育花花粉在授粉后 12 h 即开始萌发，24 h 萌发数量较少，且部分花粉已开始伸入花柱中生长。至 36 h，可育花花粉大量萌发并伸入花柱内部生长。相比之下，功能性雄花花粉在 12 h 和 24 h 培养时间内未见萌发，直至 36 h 和 48 h，仅在柱头表面观察到部分花粉萌发，且仅有极少量花粉能够伸入花柱中生长（图 4）。结果表明，功能性雄花虽然能够接受花粉，且柱头表面的花粉能够萌发，但仅有极少数花粉能够成功伸入花柱并伸长生长。可育花在授粉后 36 h 花粉的

大量萌发表明，为确保授粉的成功和可靠性，花粉需要至少 36 h 的接触时间以充分与花柱相互作用。



A. 4X 镜下观察授粉后 12 h 可育花花柱中花粉管伸长情况；B. 4X 镜下观察授粉后 24 h 可育花花柱中花粉管伸长情况；C. 4X 镜下观察授粉后 36 h 可育花花柱中花粉管伸长情况；D. 4X 镜下观察授粉后 48 h 可育花花柱中花粉管伸长情况； E. 10X 镜下观察授粉后 12 h 可育花花柱中花粉管(Pt）伸长情况；F. 10X 镜下观察授粉后 24 h 可育花花柱中花粉管（Pt）伸长情况；G. 10X 镜下观察授粉后 36 h 可育花花柱中花粉管(Pt）伸长情况；H. 10X 镜下观察授粉后 48 h 可育花花柱中花粉管(Pt）伸长情况；I. 4X 镜下观察授粉后 12 h 功能性雄花花柱中花粉管伸长情况；J. 4X 镜下观察授粉后 24 h 功能性雄花花柱中花粉管伸长情况；K. 4X 镜下观察授粉后 36 h 功能性雄花花柱中花粉管伸长情况；L. 4X 镜下观察授粉后 48 h 功能性雄花花柱中花粉管伸长情况；M. 10X 镜下观察授粉后 12 h 功能性雄花花柱中花粉管伸长情况；N. 10X 镜下观察授粉后 24 h 功能性雄花花柱中花粉管伸长情况；O. 10X 镜下观察授粉后 36 h 功能性雄花花柱中花粉管伸长情况；P. 10X 镜下观察授粉后 48 h 功能性雄花花柱中花粉管伸长情况。

A. 4X.The elongation of pollen tube in the bisexual flower column at 12 h after pollination was observed under the microscope; B. 4X microscope to observe the elongation of pollen tube in the bisexual flower column 24 h after pollination; C. 4X microscope to observe the elongation of pollen tube in the bisexual flower column 36 h after pollination; D. 4X microscope to observe the elongation of pollen tube in the bisexual flower column at 48 h after pollination; E. The elongation of pollen tube (Pt) in the bisexual flower column at 12 h after pollination was observed under the microscope at 10X. F. 10X microscope to observe the elongation of pollen tube (Pt) in the bisexual flower column 24 h after pollination; G. 10X microscope to observe the elongation of pollen tube (Pt) in the bisexual flower column 36 h after pollination; H. 10X microscope to observe the elongation of pollen tube (Pt) in the bisexual flower column at 48 h after pollination. I. 4X-microscope to observe the elongation of pollen tube in the flower column of functionally male flowers 12 h after pollination; J. 4X microscope to observe the elongation of pollen tube in the flower column of functionally male flowers 24 h after pollination; K. 4X.The elongation of pollen tubes in the

flower column of functionally male flowers was observed at 36 h after pollination; L. 4X microscope was used to observe the elongation of pollen tubes in the flower column of functionally male flowers at 48 h after pollination. M. 10X-microscope to observe the elongation of pollen tube in the flower column of functionally male flowers 12 h after pollination; N. 10X microscope to observe the elongation of pollen tube in the flower column of functionally male flowers 24 h after pollination. O. 10X-ray microscope was observed to observe the elongation of pollen tubes in the flower column of functionally male flowers at 36 h after pollination. P. 10X microscope to observe the elongation of pollen tubes in the flower column of functionally male flowers 48 h after pollination.

图 4 可育花与功能性雄花花柱中花粉管萌发、伸长差异

Fig.4 Difference of pollen tube germination and elongation between bisexual flowers and functionally male flowers

2.4 贮藏温度对花粉活力的影响及品种间花粉萌发率的差异

对不同贮藏温度条件下石榴花粉萌发情况分析发现，在一定贮藏时间范围内，石榴花粉的萌发率在 4℃与-20℃贮藏条件下呈现先降后升再降的趋势，最终趋于平稳。具体而言，花粉萌发率在第 7 d 达到峰值，其中在-20℃条件下保存的花粉萌发率最高，达到 51.7%，而在 4℃条件下保存的花粉萌发率为 44.7%。值得注意的是，在常温条件下，花粉在贮藏 3 d 后全部失活。分析表明，相较于 4℃的贮藏温度，-20℃的贮藏条件能够普遍提高花粉的萌发率，维持更高的花粉活力，这对于后期的杂交授粉更为有利（图 5）。

对不同品种花粉萌发情况分析发现，天使红花粉萌发率显著高于中石榴 4 号与土库曼斯坦。天使红花粉萌发率最高为 93.3%，而中石榴 4 号萌发率最低为 82.7%（图 6）。

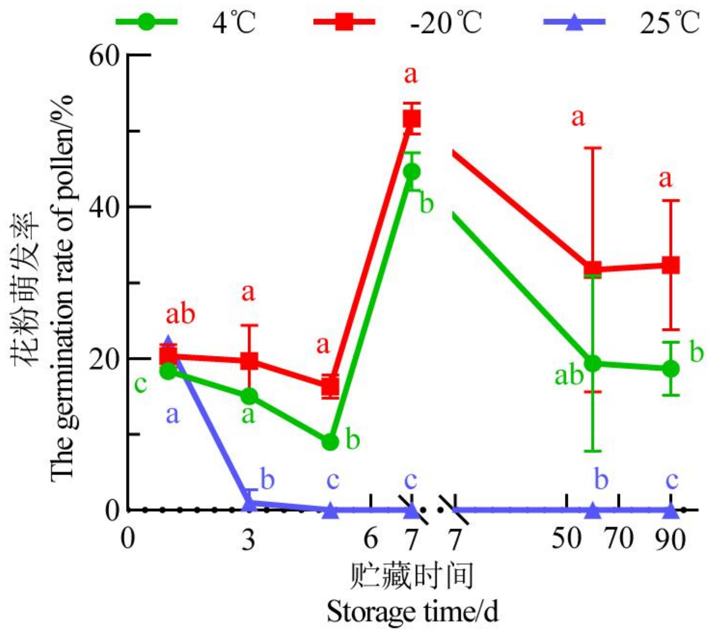


图 5 贮藏温度对花粉萌发率的影响

Fig. 5 Effect of storage temperature on pollen germination rate

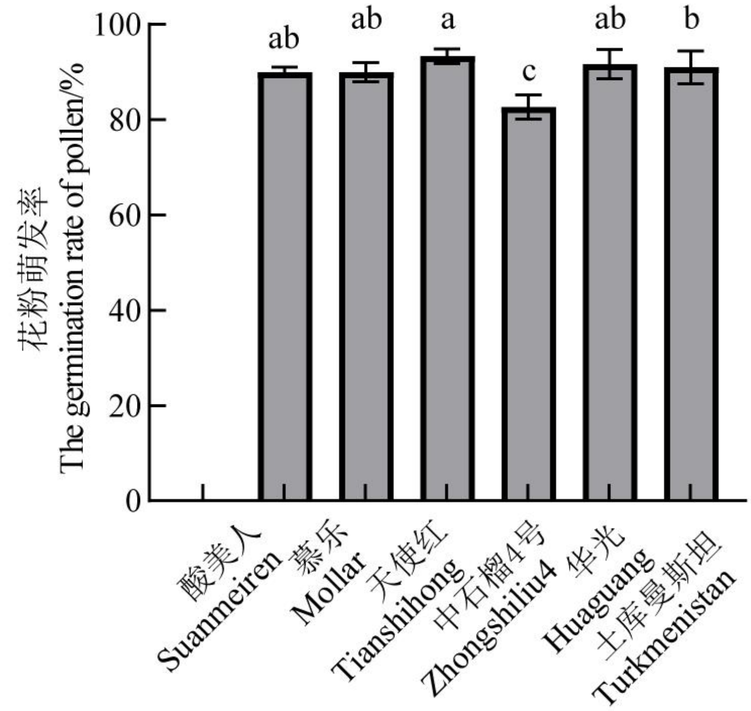


图 6 不同品种花粉萌发率差异

Fig. 6 Differences in pollen germination rate among different cultivars

3 讨论

授粉成功率与花粉数量和质量密切相关[30]。与猕猴桃[31]、核桃[32]、龙眼[33]等果树不同，同一株石榴花的类型分为可育花与功能性雄花[15]，因此明确不同类型花的花粉萌发率对石榴的杂交授粉具有重要的意义。研究表明石榴功能性雄花花粉萌发率低于可育花，这种差异可能是由于两者在生理和结构上的不同所致，进而影响了花粉的萌发和授粉效率[34]。尽管石榴可育花与功能性雄花在雄蕊数目上没有显著差异，但功能性雄花的单粒花药出粉量显著高于可育花，其花粉萌发率却显著低于可育花。研究表明石榴雄蕊数目、散粉量和花粉萌发率三者之间并未发现相关性，这与朱更瑞等[35]对桃花粉生活力的分析和吴学卷等[36]对枣花粉萌发率与花粉量的研究结果一致。此外，功能性雄花明显产生更多的花药，表明其发育过程可能依赖于增加花粉产生量，以增强授粉效率[37]，通过这种方式，更多的花粉颗粒能够与柱头相互作用，以增加授粉成功的概率[38]。在遗传育种过程中，我们可以采集功能性雄花花粉用于人工授粉，进而减少可育花的消耗，并提高石榴的产量。

花粉生活力的测定在多种园艺植物中已有报道[39-41]，其中蔗糖浓度对花粉发芽率有显著影响。研究表明，10%～15%的蔗糖浓度，有利于大多数果树离体花粉的萌发[42]，吴亚君等[43]研究发现石榴花粉在 300 g·L^{-1} 的蔗糖浓度下培养萌发率最高。本研究发现，虽然 300 g·L^{-1} 蔗糖浓度最有利于石榴花粉萌发，但 250 g·L^{-1} 蔗糖浓度同样保持高萌发率，且两者无显著差异。因此，250 g·L^{-1} 蔗糖浓度可作为更经济的选择，确保高效的花粉萌发，同

时降低成本。在植物有性生殖中，花粉的活力与柱头可授性以及植物的结实率密切相关[44]，在开展植物杂交育种时，选择高活力的父本花粉和处于高可授性母本雌花柱头是确保杂交成功的前提条件[45]。在本研究中，可育花培养 36 h 花粉大量萌发并向花柱伸长生长，而功能性雄花极少量花粉萌发，因此，在石榴授粉过程中，花粉与花柱的接触时间可能是影响授粉效率和果实结实的关键因素。花粉-柱头相互作用的关键阶段包括花粉捕获、粘附、水合作用、发芽产生花粉管、花粉管穿过柱头生长、花粉管进入胚珠并产生精子细胞[46]。功能性雄花出粉量多但萌发率低，是因功能性雄花粘连少量花粉向外萌发后未能伸入到花柱中伸长生长，这与陈利娜等[47]研究结果一致。这可能是因为乳突细胞的胼胝质堆积阻碍花粉萌发和花粉管向下伸长[48]，石榴功能性雄花柱头分泌物比可育花少，不容易粘附花粉，花粉管生长缺乏定向生长，未能穿透柱头伸入到花柱中生长[15]。因此在保证花粉活力的同时，还需确保花粉能够在柱头表面大量萌发。

采集花粉的质量对人工辅助授粉至关重要，而贮藏环境是花粉是否可以保持较高萌发率、杂交育种成功的关键[49]。温度是影响花粉活力的关键因素[50]，低温贮藏更有利于保持花粉活力[51]，在一定时间范围内，−20℃条件适宜石榴花粉的贮藏与花粉生活力的保持，这与李振勤等[52]对滇山茶花粉保存温度研究一致，在该条件下保存的花粉更有利于促进果园作物的补充授粉，提高和稳定作物产量。天使红花粉萌发率最高，为 93.3%，而中石榴 4 号花粉萌发率最低，为 82.7%。相同环境条件下生长的石榴品种间花粉萌发率不同[53]，这可能与品种的遗传特性有关[54]。本研究明确了不同品种萌发率和花粉保存条件，为杂交育种的花粉保存奠定基础。

4.结论

研究表明，石榴不同品种的可育花与功能性雄花在雄蕊数、散粉量及花粉萌发率上无相关性。可育花花粉培养 36 h 后大量萌发向花柱伸长生长，而功能性雄花仅少量萌发。此外，250 $g \cdot L^{-1}$ 和 300 $g \cdot L^{-1}$ 蔗糖浓度均可用于花粉的离体培养，−20℃是适合花粉长期保存的贮藏条件。

参考文献 References：

[1] YUAN Z，FANG Y，ZHANG T，FEI Z，HAN F，LIU C，LIU M，XIAO W，ZHANG W，WU S，ZHANG M，JU Y，XU H，DAI H，LIU Y，CHEN Y，WANG L，ZHOU J，GUAN D，YAN M，XIA Y，HUANG X，LIU D，WEI H，ZHENG H. The pomegranate（*Punica granatum* L.）genome provides insights into fruit quality and ovule developmental biology[J]. Plant Biotechnol Journal. 2018，16（7）：1363−1374.

[2] ABID M，YAICH H，CHEIKHROUHOU S，KHEMAKHEM I，BOUAZIZ M，ATTIA H，AYADI MA. Antioxidant properties and phenolic profile characterization by LC–MS/MS of selected Tunisian pomegranate peels[J]. Journal of Food Science and Technology，2017，54（9）：2890−2901.

[3] VALERO-MENDOZA AG，MELÉNDEZ-RENTERÍA NP，CHÁVEZ-GONZÁLEZ ML，FLORES-GALLEGOS AC，WONG-PAZ JE，GOVEA-SALAS M，ZUGASTI-CRUZ A，ASCACIO-VALDÉS JA. The whole pomegranate（*Punica granatum*.L），biological properties and important findings：A

review[J]. Food Chemistry Advances，2023，2：100153.

[4] CARUSO A，BARBAROSSA A，TASSONE A，CERAMELLA J，CAROCCI A，CATALANO A，BASILE G，FAZIO A，IACOPETTA D，FRANCHINI C，SINICROPI MS. Pomegranate：nutraceutical with promising benefits on human health[J]. Applied Sciences，2020，10（19）：6915.

[5] 侯乐峰，罗华，毕润霞，郝兆祥，谭伟，张立华. 我国石榴育种四十年回顾与展望[J]. 北方园艺，2022（24）：139−147.

HOU Lefeng，LUO Hua，BI Runxia，HAO Zhaoxiang，TAN Wei，ZHANG Lihua.Review and prospect of pomegranate breeding in china in the past 40 years[J]. Northern Horticulture，2022（24）：139−147.

[6] JALIKOP SH.Pomegranate breeding[J]. Fruit，Vegetable and Cereal Science and Biotechnology，2010，4（2）：26−34.

[7] Althiab-Almasaud R，TEYSSIER E，CHERVIN C，JOHNSON MA，MOLLET JC. Pollen viability，longevity，and function in angiosperms：key drivers and prospects for improvement[J/OL]. Plant Reprod，[2023−11−05]. https://link.springer.com/article/10.1007/s00497-023-00484-5.

[8] 杜文文，段青，杨楠，蔡晶晶，林培胜，马璐琳，王祥宁，贾文杰，崔光芬. 30 种观叶秋海棠花粉活力检验方法筛选及活力测定[J].西南农业学报，2021，34（7）：1521−1527.

DU Wenwen，DUAN Qing，YANG Nan，CAI Jingjing，LIN Peisheng，MA Lulin，WANG Xiangning，JIA Wenjie，CUI Guangfen. Screening of test methods and determination of pollen viability of 30 varieties of foliage begonia[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences，2021，34（7）：1521−1527.

[9] 王小媚，任惠，董龙，方位宽，邱文武，黄章保，蔡昭艳，刘业强，苏伟强，李桂芬，黄辉晔. 7 个毛叶枣品种花粉育性与花粉形态研究[J].中国南方果树，2019，48（6）：113−116.

WANG Xiaomei，REN Hui，DONG Long，FANG Weikuan，QIU Wenwu，HUANG Zhangbao，CAI Zhaoyan，LIU Yeqiang，SU Weiqiang，LI Guifen，HUANG Huiye. Pollen fertility and morphology of seven varieties of *ziziphus mauritiana* lam[J]. South China Fruit Tree，2019，48（6）：113−116.

[10] 赵纪伟，李莉，彭建营，许建锋，张玉星. 梨不同品种花粉生活力测定及授粉特性研究[J]. 植物遗传资源学报，2012，13（1）：152−156.

ZHAO Jiwei，LI Li，PENG Jianying，XU Jianfeng，ZHANG Yuxing. Pollination characteristics and pollen viability test of different pear cultivars[J]. Journal of Plant Genetic Resources，2012，13（1）：152−156.

[11] 霍辰思，刘伟，樊新萍，白牡丹，尚勇进. 培养条件对草莓花粉萌发的影响[J]. 山西农业科学，2020，48（12）：1921−1924.

HUO Chensi，LIU Wei，FAN Xinping，BAI Peony，SHANG Yongjin. Effect of culture conditions on pollen germination of strawberry[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences，2020，48（12）：1921−1924.

[12] 张红，安建东，黄家兴，周志勇. 设施条件下不同桃品种的开花生物学特性[J]. 中国生态农业学报，2013，21（10）：1249−1256.

ZHANG Hong，AN Jiandong，HUANG Jiaxing，ZHOU Zhiyong. Flowering biology characteristics of different peach cultivars under greenhouse conditions[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture，2013，21（10）：1249−1256.

[13] 李硕，冯建荣，李文慧，樊新民，曹晓燕，章世奎，刘月霞. 新疆杏品种花育性的调查分析[J]. 石河子大学学报（自然科学版），2011，29（1）：20−24.

LI Shuo，FENG Jianrong，LI Wenhui，FAN Xinmin，CAO Xiaoyan，ZHANG Shikui，LIU

Yuexia. Flower fertility of some apricot cultivars in xinjiang[J]. Journal of Shihezi University （Natural Science Edition），2011，29（1）：20-24.

[14] 杜倩. 无籽刺梨花粉败育及果实发育的细胞学基础[D]. 贵阳：贵州大学，2023.

DU Qian.Cytological basis of pollen abortion and fruit development in Rosa sterilis[D]. Guiyang：Guizhou University，2023.

[15] WETZSTEIN HY，RAVID N，WILKINS E，MARTINELLI AP. A morphological and histological characterization of bisexual and male flower types in pomegranate[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science，2011，136（2）：83-92.

[16] HOLLAND D，HATIB K，BAR-YA'AKOV I. Pomegranate：botany，horticulture，breeding[J]. Horticultural Reviews，2009，35（2）：127-191.

[17] WETZSTEIN HY，YI W，PORTER JA，RAVID N. Flower position and size impact ovule number per flower，fruitset，and fruit size in pomegranate[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science，2013，138（3）：159-166.

[18] CHEN L，ZHANG J，LI H，NIU J，XUE H，LIU B，WANG Q，LUO X，ZHANG F，ZHAO D，CAO S. Transcriptomic analysis reveals candidate genes for female sterility in pomegranate flowers[J]. Frontiers in Plant Science，2017，8：1430.

[19] 陈利娜，张杰，牛娟，李好先，薛辉，刘贝贝，夏小丛，张富红，赵弟广，曹尚银. 石榴花发育相关基因 *PgAGL11* 的克隆及功能验证[J]. 园艺学报，2017，44（11）：2089-2098.

CHEN Lina，ZHANG Jie，NIU Juan，LI Haoxian，XUE Hui，LIU Beibei，XIA Xiaocong，ZHANG Fuhong，ZHAO Diguang，CAO Shangyin. Cloning and functional validation of the gene *PgAGL11* associated with pomegranate flower development[J]. Acta Horticulturae Sinica，2017，44（11）：2089-2098.

[20] CHEN L，LUO X，YANG X，JING D，XIA X，LI H，POUDEL K，CAO S. Small RNA and mRNA sequencing reveal the roles of microRNAs involved in pomegranate female sterility[J]. International Journal of Molecular Sciences，2020，21（2）：558.

[21] ZHAO Y，WANG Y，YAN M，LIU C，YUAN Z. BELL1 interacts with CRABS CLAW and INNER NO OUTER to regulate ovule and seed development in pomegranate[J]. Plant Physiology，2023，191（2）：1066-1083.

[22] 陈利娜，牛娟，刘贝贝，敬丹，骆翔，李好先，夏小丛，杨选文，张富红，曹达，王企，曹尚银. 不同花期喷施植物生长调节剂对石榴坐果及果实品质的影响[J]. 果树学报，2020，37（02）：244-253.

CHEN Lina，NIU Juan，LIU Beibei，JING Dan，LUO Xiang，LI Haoxian，XIA Xiaocong，YANG Xuanwen，ZHANG Fuhong，CAO Da，WANG Qi，CAO Shangyin. Effects of foliar application of plant growth regulators at different flowering stages on fruit setting and quality in pomegranate[J]. Journal of Fruit Science，2020，37（02）：244-253.

[23] SEIFI，E.，FEIZI，F. Comparative analysis of morphological characteristics and blooming patterns of hermaphrodite and male pomegranate flowers[J]. Applied Fruit Science，2024，66（4）：1441–1452.

[24] ENGIN H，GÖKBAYRAK Z. Micromorphology of pollen grains from bisexual and functional male flowers of pomegranate[J]. AGROFOR International journal，2017，2（2）：40-44.

[25] ZHAO Y，LIU C，YAN M，ZHAO X，BALOCH AM，BALOCH AW，YUAN Z. Variation of endobenous phytohormone in functional male and bisexual flowers of pomegranate（*Punica granatum* L.）during development[J]. Pakistan Journal of Botany，2021，53（2）：551-558.

[26] Engin H， Gökbayrak Z. Effects of plant growth regulators on sex expression and flower development in pomegranates[J]. Erwerbs-Obstbau，2019，61（1）：23–27.

[27] 常维霞，姚小华，龙伟. 山茶属 3 种植物花药超低温保存研究[J]. 中国油料作物学报，2016，38（1）：52–57.

CHANG Weixia，YAO Xiaohua，LONG Wei. Anther cryopreservation of 3 camellia species[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences，2016，38（1）：52–57.

[28] 魏国芹，孙玉刚，安淼，秦志华，李芳东. 甜樱桃 7 个品种花粉数量及花粉萌芽率测定[J]. 华北农学报，2010，25（S2）：123–127.

WEI Guoqin，SUN Yungang，AN Miao，QIN Zhihua，LI Fangdong. Determination of the pollen number and pollen germina ation rate of seven sweet cherry varieties[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica，2010，25（S2）：123–127.

[29] KLEIN TM，ARENTZEN R，LEWIS PA，FITZPATRICK-MCELLIGOTT S. Transformation of microbes，plants and animals by particle bombardment[J]. Bio/Technology（Nature Publishing Company），1992，10（3）：286–291.

[30] 张玲玲，李千惠，徐品馨，邵佳奇，徐同乐，张往祥. 不同品种观赏海棠花粉量及花粉活力的测定[J]. 江苏林业科技，2017，44（5）：14–17.

ZHANG Lingling，LI Qianhui，XU Pinxin，SHAO Jiaqi，XU Tongle，ZHANG Wangxiang. Study of the scattering quantity and viability of ornamental crabapple pollen[J]. Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology，2017，44（5）：14–17.

[31] 何子灿，蔡起贵，钱迎倩，黄宏文. 美味猕猴桃原生质体再生植株细胞遗传学研 II.性别性状变异和小孢子发生及其发育命运[J]. 武汉植物学研究，1997（3）：199–207+291–293.

HE Zican，CAI Qigui，QIAN Yingqian，HUANG Hongwen. Cytogenetic studies on plant regeneration from protoplasts of delicious kiwifruit ii： variation in sex traits and the developmental fate of microspores[J]. Wuhan Botanical Research，1997（3）：199–207+291–293.

[32] 刘帅，彭方仁. 薄壳山核桃花粉活力测定方法比较[J]. 经济林研究，2023，41（2）：110–119.

LIU Shuai， PENG Fangren. Comparison of detection methods for pollen viability of Carya illinoinensis[J]. Non-wood Forest Research，2023，41（2）：110–119.

[33] 赵春香，彭乃容，李新福，黄艳珍. 龙眼花粉生活力的研究[J]. 福建果树，2002（4）：8–10.

ZHAO Chunxiang， PENG Nairong， LI Xinfu， HUANG Yanzhen. Studies on the pollen viability of dimocarpus longan[J]. Fujian Fruits，2002（4）：8–10.

[34] ENGIN H， GOKBAYRAK Z. In vitro pollen viability and germination of bisexual and functional male flowers of some turkish pomegranate cultivars[J]. Agriculture and Forestry，2016，62（4）：91–94.

[35] 朱更瑞，龚方成，左覃元，王力荣. 桃花粉量的测定与分析[J]. 果树科学，1998（4）：360–363.

ZHU Gengrui， LONG Fangcheng， ZUO Qinyuan， WANG Lirong. Determination and analysis of the amount of peach pollen[J]. Journal of Fruit Science，1998（4）：360–363.

[36] 吴学卷，孟伟. 5 个枣树品种花粉量和花粉萌芽率测定[J]. 湖南林业科技，2015，42（2）：15–18.

WU Xuewei，MENG Wei. Determination of the pollen number and pollen germination rate of five Chinese jujube cultivars[J]. Hunan Forestry Science Technology，2015，42（2）：15–18.

[37] PODOLSKY RD. Evolution of a flower dimorphism： how effective is pollen dispersal by “male” flowers?[J]. Ecology，1993，74（8）：2255–2260.

[38] CONNOLLY BA， ANDERSON GJ. Functional significance of the androecium in staminate and

hermaphroditic flowers of *Solanum carolinense*（Solanaceae）[J]. Plant Systematics and Evolution，2003，240（1）：235-243.

[39] 刘伟，郭洁，陈亚文. 4 种蓝莓花粉量及花粉萌芽率的测定[J]. 四川林业科技，2015，36（2）：118-121.

LIU Wei，GUO Jie，CHEN Yawen. Determination of the pollen number and pollen germinat tion rate of four blueberry varieties[J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology，2015，36（2）：118-121.

[40] 张良英，刘林，翟秋喜，于强波，刘嘉琳，魏丽红，卜庆雁，杜玉虎. 不同软枣猕猴桃雄株花粉离体培养条件及花粉性状的比较[J]. 经济林研究，2023，41（1）：255-264.

ZHANG Liangying，LIU Lin，ZHAI Qiuxi，YU Qiangbo，LIU Jialin，WEI Lihong，BU Qingyan，DU Yuhu. Comparison of pollen culture in vitro conditions and poll en traits of different male plants of Actinidia arguta[J]. Non-wood Forest Research，2023，41（1）：255-264.

[41] 吴玉蓉. 五个红枣品种花粉量及萌发特性研究[J].农业与技术，2016，36（12）：33.

WU Yurong. Study on pollen amount and germination characteristics of five jujube varieties[J]. Agriculture And Technology，2016，36（12）：33.

[42] 宋利霞. 培养基种类对果树花粉发芽率的影响[J]. 河北果树，2011（5）：10-18.

SONG Lixia. Effect of medium type on pollen germination rate of fruit trees[J]. Hebei Fruits，2011（5）：10-18.

[43] 吴亚君，李洪涛，李东伟，胡青霞，赵玉洁，陈延惠. 不同石榴品种的花粉量和花粉生活力比较[J]. 河南农业科学，2015，44（3）：115-118.

WU Yajun，LI Hongtao，LI Dongwei，HU Qingxia，ZHAO Yujie，CHEN Yanhui. Comparison of pollen viability and quantity of different pomegranate varieties[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences，2015，44（3）：115-118.

[44] 姚志敏，刘艳华，戴培刚，向德虎，张兴伟，赵韬智，王志德. 野生烟草花粉活力与柱头可授性及繁育特性研究[J]. 西北植物学报，2015，35（3）：614-621.

YAO Zhimin，LIU Yanhua，DAI Peigang，XIANG Dehu，ZHANG Xingwei，ZHAO Taozhi，WANG Zhide. Wild tobacco pollen.viability， stigma receptivity and reproductive characteristics[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica，2015，35（3）：614-621.

[45] REN Z，ZHAO Y，LIANg H，TAO Z，TANG H，ZHANG H，WANG H. Pollination ecology in China from 1977 to 2017[J]. Plant Diversity，2018，40（4）：172-180.

[46] HISCOCK SJ， ALLEN AM. Diverse cell signalling pathways regulate pollen-stigma interactions： the search for consensus[J]. The New Phytologist，2008，179（2）：286-317.

[47] 陈利娜，李好先，牛娟，薛辉，刘贝贝，王企，张富红，赵弟广，曹尚银. ‘突尼斯’软籽石榴可育花和功能性雄花生长特性及形态差异研究[C]//中国园艺学会石榴分会.第二届中国石榴博览会暨第七届全国石榴生产与科研研讨会.郑州：果树学报，2017：80-87.

CHEN Lina，LI Haoxian，NIU Juan，XUE Hui，LIU Beibei，WANG Qi，ZHANG Fuhong，ZHAO Diguang，CAO Shangyin. Growth characteristics and morphology differences between bisexual flowers and functionally male flowers of ‘Tunisia’ pomegranate [C]//Chinese Horticultural Society pomegranate branch.Proceedings of the 2nd China Pomegranate Expo and the 7th National Pomegranate Production and Scientific Research Symposium. Pomegranate Branch of Chinese Horticultural Society.ZhengZhou：Journal of Fruit Science，2017：80-87.

[48] 王冲，雷家军，姜闯，邢桂梅. 君子兰种间杂交及自交亲和性[J]. 中国农业科学，2011，44（18）：3822–3829.

Wang Chong，Lei Jiajun，Jiang Chuang，Xing Gui Mei. Study on cross-compatibility of interspecific hybridization and selfing in clivia lindl[J]. Chinese Journal of Agricultural Science，2011，44（18），3822–3829.

[49] 郭英姿，汪家哲，贾文庆，刘会超，何松林，李纪元，王艳丽，杜晓华，穆金艳，朱小佩. 斑叶堇菜花粉形态、贮藏条件及其保护酶活性的变化[J]. 植物生理学报，2018，54（4）：645–650.

GUO Yingzi，WANG Jiazhe，JIA Wenqing，LIU Huichao，HE Songlin，LI Jiyuan，WANG Yanli，DU Xiaohua，MU Jinyan，ZHU Xiaopei. Changes of pollen morphology，storage conditions and protective enzyme activities of Viola variegata[J]. Plant Physiology Communications，2018，54（4）：645–650.

[50] 尹佳蕾，赵惠恩. 花粉生活力影响因素及花粉贮藏概述[J]. 中国农学通报，2005，21（4）：110–113.

YIN Jialei，ZHAO Huien. Summary of influencial factors on pollen viability and its preservation methods[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin，2005，21（4）：110–113.

[51] 张亚利，尚晓倩，刘燕. 花粉超低温保存研究进展[J]. 北京林业大学学报，2006（4）：139–147.

ZHANG Yali，SHANG Xiaoqian，LIU Yan. Research progress on ultra-low temperature preservation of pollen[J]. Journal of Beijing Forestry University，2006（4）：139–147.

[52] 李振勤，耿芳，聂瑞敏，胡云冲，杨自云，王仲朗，陈龙清. 不同贮藏条件下滇山茶花粉萌发与花粉活力保存[J/OL]. 分子植物育种，2021，1-11. [2024–09–04]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211209.0648.008.html.

LI Zhenqin，GENG Fang，NIE Ruimin，HU Yunchong，YANG Ziyun，WANG Zhonglang，CHEN Longqing. Pollen germination and viability preservation of camellia reticulata under different storage conditions[J/OL]. Molecular Plant Breeding，2021，1–11. [2024–09–04]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211209.0648.008.html.

[53] GADŽE J，RADUNIĆ M，PETRIC I，ERCIŞLI S. In vitro pollen viability，germination and pollen tube growth in some pomegranate（*Punica granatum* L.）Cultivars from croatia and bosnia and herzegovina[J]. Acta Scientiarum Polonorum-hortorum Cultus，2011，10：297–305.

[54] 杜学林，刘悦明，黄子锋，刘慧雅，胡智仁，李志美，王凤兰. 三角梅属 5 个品种的花粉活力及柱头可授性比较分析[J]. 热带作物学报，2022，43（7）：1459–1466.

DU Xuelin，LIU Yueming，HUANG Zifeng，LIU Huiya，HU Zhiren，LI Zhimei，WANG Fenglan. Comparative analysis of pollen viability and stigma receptivity of five bougainvillea cultivars[J]. Chinese Journal of Tropical Crops，2022，43（7）：1459–1466.