

## 西番莲属 25 种（品种）花粉活力检验方法筛选及其花粉活力和柱头可授性比较分析

吴斌<sup>1</sup>, 王加志<sup>2#</sup>, 邢文婷<sup>1</sup>, 宋顺<sup>1</sup>, 黄海杰<sup>1</sup>, 李洪立<sup>1</sup>, 胡文斌<sup>1</sup>, 马伏宁<sup>1</sup>, 黄东梅<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所·农业农村部华南作物基因资源与种质创制重点实验室·海南省热带作物资源遗传改良与创新重点实验室·海南省省级西番莲种质资源圃, 海口 571101; <sup>2</sup>云南农业大学热带作物学院, 云南普洱 665099)

**摘要:**【目的】研究 25 种西番莲（包括 8 个地方品种、15 个引进品种/品系和 2 个选育品种/品系）的花粉活力和柱头可授性, 为西番莲杂交亲本的选择提供理论依据。【方法】以 25 种西番莲为试材, 采用花粉离体培养、TTC 染色和 I<sub>2</sub>-KI 染色方法检测西番莲花粉活力, 利用联苯胺-过氧化氢法检测柱头可授性。【结果】结果表明, 25 种西番莲均具有柱头可授性, 但可授性存在差异。在 TN、HX No.1、W-1、KSTS、XG 和 GH 等 6 种具有代表性的西番莲中, 花粉离体培养的最适条件仅蔗糖浓度存在差异, 分别为 10%和 15%。花粉离体培养和 TTC 染色法均可用于 25 种西番莲花粉活力的检测。基于花粉活力的聚类分析可分为 3 个类群, 其中第 I 类群和第 II 类群共 22 个种, 均属于正常可育类型, 第 III 类群包含 3 个种, 均属于高不育类型。【结论】花粉离体培养是最能呈现 25 种西番莲花粉活力的检测方法, TTC 染色法可作为西番莲花粉活力的快速检测方法。除 ZL、LX 和 RX 适宜做杂交母本外, 其余种均可做杂交父本或母本。

**关键词:** 西番莲属; 花粉活力; 柱头可授性; 杂交育种

中图分类号: S667.9 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2024)10-0001-08

## Screening of pollen viability test methods and comparative analysis of pollen viability and stigma acceptability from 25 species of *Passiflora* L.

WU Bin<sup>1</sup>, WANG Jiazhi<sup>2#</sup>, XING Wenting<sup>1</sup>, SONG Shun<sup>1</sup>, HUANG Haijie<sup>1</sup>, LI Hongli<sup>1</sup>, HU Wenbin<sup>1</sup>, MA Funing<sup>1</sup>, HUANG Dongmei<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Key Laboratory of Tropical Crops Germplasm Resources Genetic Improvement and Innovation of Hainan Province/Germplasm Repository of *Passiflora*, Hainan Province, Haikou 571101, Hainan, China; <sup>2</sup>College of Tropical Crop Science, Yunnan Agricultural University, Puer 665099, Yunnan, China)

**Abstract:** 【Objective】To study the pollen viability and stigma receptivity of 25 species (including 8 local varieties, 15 introduced varieties/strains, and 2 selected varieties/strains.) of *Passiflora* L., and provide theoretical basis for the selection of crossing parents of *Passiflora* L. 【Methods】Using six representative species of *Passiflora* L. as test materials, including TN, HX No.1, GH, W-1, XG and KSTS a single-factor experiment was conducted using a basic medium containing 0.02%

收稿日期: 2024-03-27 接受日期: 2024-04-29

基金项目: 2024 年海南育种联合攻关项目 (百香果育种联合攻关); 海南省科技计划项目 (ZDYF2021XDNY119)

作者简介: 吴斌, 男, 助理研究员, 主要从事百香果新品种选育及配套栽培技术管理。E-mail: wubin520327@163.com。#为共同第一作者。

\*通信作者 Author for correspondence. E-mail: huangdm@catas.cn

boric acid ( $H_3BO_3$ ), 15% sucrose, 15% PEG-4000, 0.08% calcium nitrate [ $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ], and 0.02%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ . The aim was to screen for the optimal concentrations of sucrose, boric acid, PEG-4000, calcium nitrate, and incubation temperature. Using 25 species of *Passiflora* L. including TN, HX No. 1, W-1, XG, XTN, QM No. 9, MGMX, LP, QP, FMHJ, HG, YYM, ZZ-B1, D1-A1, THX, ZXMB, D2-11, II-Y, ULGRQG, GH, KSTS, JMCH, RX, ZL and LX as test materials, basic floral morphological parameters were measured using methods such as microscopy and vernier caliper. Pollen vitality was detected using pollen vitro-culture, TTC staining, and  $I_2$ -KI staining methods to compare and analyze differences in pollen vitality among different detection methods and species. Additionally, the stigmatic receptivity of the 25 species of *Passiflora* L. was compared and analyzed using the benzidine-hydrogen peroxide method. **【Results】** The results showed that, the all 25 species of *Passiflora* L. exhibited stigma receptivity, but there were differences in receptivity among them. Specifically, 19 species, including TN, HX No. 1, W-1, XG, XTN, QM No. 9, MGMX, LP, QP, FMHJ, HG, YYM, ZZ-B1, D1-A1, THX, ZXMB, D2-11, II-Y and ULGRQG exhibited strong stigma receptivity. Three species, GH, KSTS and JMCH had moderate stigma receptivity, while another three species, RX, ZL and LX showed weaker stigma receptivity. Among the six representative species of *Passiflora* L. including TN, HX No.1, W-1, KSTS, XG and GH only the optimal sucrose concentration differed in pollen vitro-culture conditions. The optimal concentrations of boric acid, PEG-4000, and calcium nitrate were 0.02%, 15%, and 0.08%, respectively, with an optimal incubation temperature of 25°C. Among these species, the optimal sucrose concentration for TN, HX No. 1, GH and KSTS was 15%, while the optimal sucrose concentration for W-1 and XG was 10%. Three detection methods for pollen vitality, including pollen vitro-culture, TTC staining, and  $I_2$ -KI staining, were used to compare and analyze the pollen vitality of 25 species of *Passiflora* L. Although all three methods were able to detect the pollen vitality of *Passiflora* L., there were significant differences among them. Among these methods, pollen vitro-culture was the most effective for demonstrating the pollen vitality of the 25 species, followed by TTC staining, which could serve as a rapid detection method. However, the results obtained using  $I_2$ -KI staining differed significantly from the other two methods and were not suitable for detecting the pollen vitality of *Passiflora* L. Based on pollen vitro-culture and TTC staining methods, a cluster analysis was conducted to classify the 25 species of *Passiflora* L. into three groups. Group I consisted of 21 species, including FMHJ, ZXMB, W-1, II-Y, LP, XTN, TN, THX, QM No.9, ULGRQG, HX No.1, D1-A1, D2-11, YYM, XG, MGMX, QP, HG, ZZ-B1, KSTS and JMCH with pollen vitality above 70%, considered as normally fertile. Group II consisted of only one species, GH with pollen vitality between 50% and 70%, also considered as normally fertile. Group III included three species, ZL, LX and RX which belonged to the high sterile category. **【Conclusion】** Among the three detection methods, pollen vitro-culture is the most effective for evaluating the pollen vitality of the 25 species of *Passiflora* L., while the TTC staining method can serve as a rapid alternative. Among the 25 species (varieties) of *Passiflora* L., ZL, LX and RX are suitable as female parents for hybridization, while

the remaining 22 species including FMHJ, ZXMB, W-1, II-Y, LP, XTN, TN, THX, QM No.9, ULGRQG, HX No.1, D1-A1, D2-11, YYM, XG, MGMX, QP, HG, ZZ-B1, KSTS, JMCH and GH can be used as either male or female parents for hybridization.

**Key words:** *Passiflora* L.; pollen viability; stigma acceptability; cross breeding

西番莲属 (*Passiflora* L.) 是西番莲科 (Passiflorine) 的草质藤本植物, 兼具花型美观、气味芬芳、果实美味、营养丰富等优点于一身。近年来国际市场对西番莲果汁的需求每年以 15%~20% 的速度增长, 尽管西番莲产业发展速度较快, 产业链日益健全, 但仍然处于发展的初级阶段, 存在较多的问题亟需解决。在西番莲的规模化生产中, 商业主栽品种虽然被广泛种植, 但在某些遗传特性方面仍然存在着不少缺陷, 如果实性状不稳定、果实风味较低等, 而那些尚未进行商业化栽培的种质却表现出某些性状的优异特性, 这说明了不同西番莲种质间在遗传上具有一定的差异, 并可望在育种上加以利用<sup>[1]</sup>。从 20 世纪 60 年代起, 科研工作者就开始对西番莲的遗传与育种进行研究, 国外西番莲的杂交育种较为活跃<sup>[2]</sup>, 尤其是观赏西番莲的种间杂交<sup>[3-4]</sup>。而我国西番莲种质资源评价与育种起步较晚, 原始品种创新的突破则需加速开展杂交育种工作<sup>[5-6]</sup>。

体外花粉萌发是评估花粉活力最常用的方法, 能够模拟体内条件<sup>[7]</sup>, 并能够展示成功萌发和发育、花粉授粉和受精所需的生理和生化条件<sup>[8]</sup>, 在花粉活力研究中已得到广泛应用。前人对西番莲花粉活力和柱头可授性做了一定的研究, 陈媚等<sup>[9]</sup>对 6 个西番莲品种 (小黄金 1 号、大黄金 1 号、台农、满天星、红花、紫花) 进行花粉活力的动态分析和比较, 发现不同品种花粉活力持续时间不同, 除紫花西番莲外, 其他品种花粉活力均在花朵完全开放前后达到峰值。蔡昭艳等<sup>[10]</sup>探讨了台农一号西番莲花不同发育阶段的花粉活力、柱头可授性及其对坐果的影响, 并通过培养基组分、光照、温度等因素, 探究其对西番莲花粉体外萌发的影响, 筛选获得西番莲花粉离体萌发的最适培养基组分、pH 和培养时间。前人对西番莲花粉离体萌发的研究取得了一定的进展, 为其进一步研究西番莲花粉活力提供了基础, 但现有研究主要集中在一种培养条件下, 忽略了不同种质间的差异性, 使用同一种培养基难以反映出不同种质的真实花粉活力。这在 Soares 等<sup>[11]</sup>对 17 个西番莲品种进行的花粉体外萌发实验中得以验证, 发现不同品种的西番莲花粉萌发存在差异, 且在很大程度上受同一物种的基因型变异影响, 也可能是由于遗传物质的发育条件和用于萌发的培养基导致, 而国内这类研究还未见报道。

花粉活力和柱头可授性强弱是植物生殖生长的关键, 了解西番莲的花粉活力和柱头可授性对西番莲杂交育种具有重要意义。目前在西番莲属植物的花粉活力和柱头可授性研究中, 多集中在对不同种 (品种) 西番莲的花粉形态、花生物学和行为等方面<sup>[12-14]</sup>, 很少涉及与生殖系统、花粉活力相关的研究。笔者进一步优化西番莲花粉离体萌发培养基组分浓度及培养温度, 并对 25 种西番莲 (包括 8 个地方品种、15 个引进品种/品系和 2 个选育品种/品系) 开展柱头可授性分析, 同时采用不同方法测定花粉活力, 寻找测定西番莲属花粉活力的快速

有效检测方法，探究 25 种西番莲花粉活力的差异性，为提高西番莲坐果率以及在不同西番莲种间开展远缘杂交育种提供研究依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试材及取样

西番莲属 25 种（包括 8 个地方品种、15 个引进品种/品系和 2 个选育品种/品系）均来自海南省省级西番莲种质资源圃（儋州），根据资源圃编号及花形态学信息对 25 种西番莲进行梳理（表 1、图 1）。

花粉离体培养以 TN、HX No. 1、GH、W-1、XG 和 KSTS 等 6 种具有代表性的西番莲为供试材料；柱头可授性、花粉离体培养、TTC 和 I<sub>2</sub>-KI 染色等试验以 25 种西番莲为供试材料。每个西番莲种各采集 5 朵盛花期即将开放的花蕾，待花药自然裂开，在 25 °C 下将花药和柱头用镊子轻轻取下，放置于称量纸上备用。

表 1 西番莲属种类信息及花形态参数

Table 1 *Passiflora* L. species information and flower morphology parameters

引种编号	资源名称	学名	瓣长	瓣宽	花药长	花药宽	柱头长	柱头宽	花柱长	花丝长	雄蕊数	雌蕊数	花粉粒直径	资源类型
Introduction number	Resource name	Species	Petal length/cm	Petal width/cm	Anther length/cm	Anther width/cm	Stigma length/cm	Stigma width/cm	Style length/cm	Filament length/cm	Stamen number	Pistil number	Pollen grain diameter/ $\mu$ m	Resource type
TN	台农	<i>P. edulis</i>	2.51±0.04	0.59±0.03	0.50±0.01	0.28±0.01	0.18±0.01	0.30±0.01	1.17±0.02	2.41±0.06	5	3	84.15±2.53	地方品种
HX No.1	黄香 1 号	<i>P. edulis</i> f. <i>flavincarpa</i>	3.25±0.10	0.86±0.08	0.63±0.02	0.24±0.01	0.18±0.01	0.30±0.02	1.08±0.04	2.75±0.06	5	3	82.40±2.18	选育品种/品系
GH	观花	<i>P. caerulea</i> 'Purple Haze'	3.34±0.07	0.79±0.04	0.64±0.02	0.26±0.02	0.25±0.01	0.36±0.01	1.24±0.03	3.57±0.11	5	3	74.01±3.49	引进品种/品系
KSTS	康斯坦斯	<i>P. caerulea</i> 'conatance elliot'	3.04±0.06	1.03±0.04	0.57±0.02	0.24±0.01	0.17±0.01	0.28±0.02	1.27±0.05	1.72±0.03	5	3	69.70±3.90	引进品种/品系
W-1	/	<i>P. maliformis</i>	3.07±0.13	0.89±0.03	0.54±0.01	0.26±0.01	0.17±0.02	0.37±0.01	0.99±0.05	3.34±0.12	5	3	83.49±1.89	引进品种/品系
XG	红花西番莲	<i>P. miniata</i>	4.99±0.08	1.43±0.03	0.51±0.01	0.22±0.01	0.22±0.01	0.24±0.01	1.08±0.02	2.06±0.11	5	3	76.28±2.28	引进品种/品系
XTN	新台农	<i>P. edulis</i>	2.62±0.93	0.64±0.04	0.56±0.01	0.29±0.00	0.16±0.01	0.30±0.01	1.14±0.07	2.24±0.07	5	3	84.05±3.14	地方品种
QM No.9	钦蜜 9 号	<i>P. edulis</i> f. <i>flavincarpa</i>	3.00±0.14	0.83±0.04	0.51±0.01	0.30±0.01	0.16±0.01	0.29±0.02	1.07±0.06	2.33±0.10	5	3	83.65±2.30	地方品种
MGMX	茎翅西番莲	<i>P. alata</i>	4.82±0.33	1.78±0.10	0.55±0.01	0.27±0.01	0.18±0.02	0.31±0.02	0.75±0.03	5.24±0.11	5	3	83.15±1.41	引进品种/品系
RX	瑞香	<i>P. 'SoiFah'</i>	3.06±0.09	0.76±0.04	0.42±0.01	0.17±0.01	0.15±0.01	0.25±0.01	1.19±0.09	3.26±0.11	5	3	60.29±5.72	引进品种/品系

ZL	紫莲	<i>P. incarnata</i> × <i>P. cinnata</i>	4.18±0.13	1.16±0.11	0.56±0.01	0.29±0.00	0.16±0.01	0.30±0.01	1.47±0.03	5.86±0.09	5	3	69.09±3.46	引进品种/ 品系
JMCH	樟叶西番莲	<i>P. laurifolia</i>	3.59±0.03	0.83±0.05	0.46±0.02	0.18±0.02	0.07±0.01	0.26±0.02	0.86±0.02	4.11±0.14	5	3	82.31±3.87	引进品种/ 品系
LP	绿皮	<i>P. maliformis</i>	3.43±0.15	0.96±0.01	0.48±0.01	0.27±0.01	0.16±0.02	0.37±0.01	0.85±0.05	2.72±0.12	5	3	86.60±2.02	引进品种/ 品系
QP	青皮	<i>P. maliformis</i>	4.23±0.09	0.93±0.03	0.58±0.01	0.25±0.01	0.16±0.01	0.30±0.02	1.78±0.03	4.61±0.16	5	3	86.62±3.15	引进品种/ 品系
FMHJ	蜂蜜黄金百香果	<i>P. edulis</i> f. <i>flavincarpa</i>	3.27±0.05	0.77±0.04	0.60±0.02	0.22±0.02	0.18±0.01	0.29±0.02	1.01±0.08	3.55±0.08	5	3	86.22±2.87	地方品种
HG	红冠	<i>P. edulis</i>	3.07±0.07	1.04±0.03	0.59±0.02	0.31±0.01	0.20±0.01	0.44±0.02	0.93±0.02	4.06±0.55	5	3	86.79±1.93	引进品种/ 品系
YYM	鸳鸯蜜	<i>P. edulis</i> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavincarpa</i>	2.32±0.10	0.56±0.03	0.52±0.02	0.27±0.01	0.17±0.01	0.29±0.02	1.08±0.05	2.37±0.06	5	3	85.01±2.14	地方品种
ZZ-B1	/	<i>P. edulis</i>	3.99±0.28	0.96±0.05	0.55±0.01	0.27±0.01	0.16±0.01	0.28±0.01	1.49±0.02	3.93±0.07	5	3	85.86±1.58	引进品种/ 品系
D1-A1	巨无霸百香果	<i>P. edulis</i> f. <i>flavincarpa</i>	4.08±0.08	0.90±0.03	0.62±0.01	0.31±0.01	0.19±0.01	0.40±0.01	1.29±0.02	5.20±0.02	5	3	87.13±2.63	地方品种
THX	天皇星	<i>P. edulis</i> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavincarpa</i>	3.42±0.09	0.95±0.01	0.60±0.01	0.29±0.01	0.16±0.01	0.34±0.01	1.24±0.01	2.93±0.01	5	3	84.44±2.47	地方品种
ZXMB	壮乡蜜宝	<i>P. edulis</i> f. <i>flavincarpa</i>	3.27±0.05	0.84±0.09	0.62±0.01	0.30±0.01	0.25±0.01	0.31±0.01	1.18±0.02	2.94±0.07	5	3	87.39±2.78	地方品种
D2-11	小黄金	<i>P. edulis</i> f. <i>flavincarpa</i>	3.83±0.04	0.90±0.03	0.62±0.01	0.28±0.01	0.19±0.01	0.33±0.01	1.28±0.01	4.12±0.16	5	3	86.75±2.29	选育品种/ 品系

II-Y	绿皮西番莲	<i>P. maliformis</i>	3.29±0.12	0.98±0.03	0.46±0.02	0.26±0.01	0.13±0.01	0.33±0.01	0.89±0.04	2.80±0.15	5	3	82.31±2.96	引进品种/ 品系
ULGRQ G	乌拉圭热情果	<i>P. caerulea</i>	3.06±0.02	0.94±0.02	0.56±0.01	0.23±0.01	0.20±0.01	0.23±0.02	1.21±0.05	1.54±0.05	5	3	85.28±2.61	引进品种/ 品系
LX	兰香	<i>P. 'Incense'</i>	3.51±0.14	0.82±0.07	0.56±0.02	0.19±0.01	0.18±0.01	0.29±0.03	1.49±0.06	4.56±0.06	5	3	59.33±3.59	引进品种/ 品系

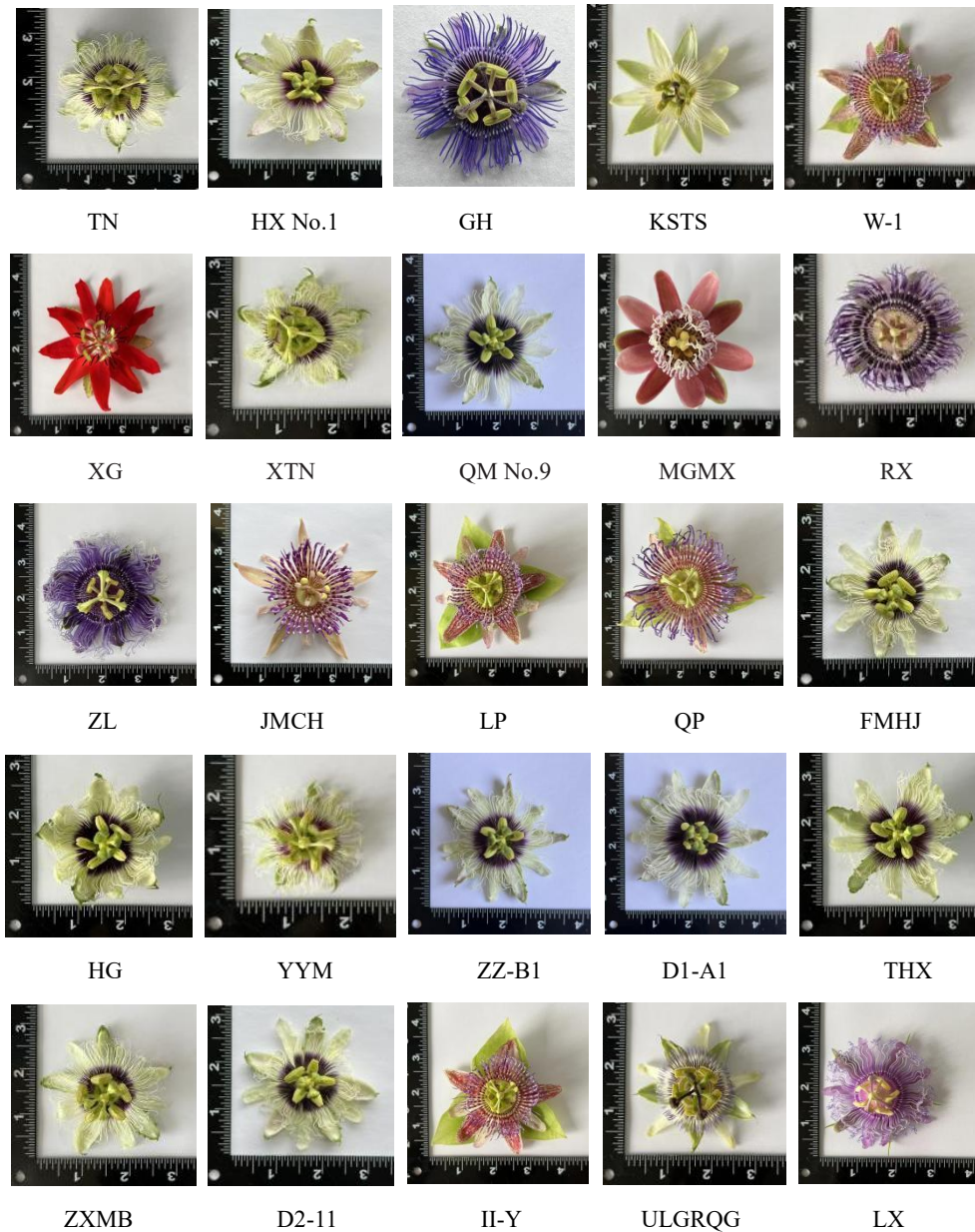


图 1 25 种西番莲种花形态

Fig. 1 Flower morphology of 25 *Passiflora* L. species

### 1.2 柱头可授性检测

采用联苯胺-过氧化氢法测定柱头可授性。取下柱头浸入盛有联苯胺-过氧化氢溶液（1% 联苯胺：3%过氧化氢：蒸馏水=4：11：22，体积比）的培养皿中，20 min 后观察柱头染色情况和气泡的产生，柱头呈深褐色同时有大量气泡不断冒出，可认定为该柱头具有可授性。若柱头呈深褐色并有少的气泡冒出，说明柱头可授性较弱，用+表示；若柱头呈深褐色并有较多气泡冒出，说明柱头可授性中等，用++表示；若柱头呈深褐色并有大量气泡冒出，说明柱头可授性较强，用+++表示。

### 1.3 花粉离体培养

花粉离体培养采用液体培养基的培养方法。具体方法为：用镊子取下适量花粉放入载玻



片的凹槽中，然后放入相应浓度培养基，轻轻将载玻片放入培养皿中，覆上保鲜膜，并将培养皿放置于预先设置好的人工气候培养箱中。所有浓度梯度试验均在黑暗、25 °C下进行培养，培养时间均为 4 h。

以 0.02% H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> +15% 蔗糖+15% PEG-4000+0.08% Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4 H<sub>2</sub>O+0.02% MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O 为基础培养基开展单因素试验。分别设置以下浓度梯度，蔗糖浓度：5%、10%、15%、20%、25%；H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 浓度：0%、0.02%、0.04%、0.06%、0.08%；PEG-4000 浓度：0%、5%、10%、15%、20%；硝酸钙[Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O]浓度：0%、0.02%、0.04%、0.08%、0.16%；温度：20、25、30、35、40、45 °C。每个处理设置 5 次重复。

#### 1.4 TTC 和 I<sub>2</sub>-KI 染色

TTC 染色。待花粉干燥后用软毛笔将花粉轻轻扫入 5 mL 离心管中，使其充分混匀。使用 50%蔗糖溶解 TTC 至终浓度为 1%的 TTC 染色液，并使其浸没花粉，然后迅速将离心管放入预先设置好温度的 37 °C恒温箱中，避光染色 15 min 后用移液枪将染色花粉移至载玻片凹槽中。在 ZEISS 显微镜下观察统计 6 个视野中红色花粉粒的比例，设置 5 次重复，统计不少于 500 粒花粉的染色比例。

I<sub>2</sub>-KI 染色。取适量花粉放入载玻片的凹槽中，滴加 1 滴 30 %蔗糖溶液，使花粉充分散开后滴加 1~2 滴 I<sub>2</sub>-KI 染色液，染色 5~10 min。在 ZEISS 显微镜下观察统计 6 个视野中蓝色花粉粒的比例，设置 5 次重复，统计不少于 500 粒花粉的染色比例。

#### 1.5 数据统计分析

采用 IBM SPSS Statistics 22 软件进行数据统计和差异显著性分析，采用最远邻元素法进行花粉聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 柱头可授性比较分析

采用联苯胺-过氧化氢法对 25 种西番莲进行柱头可授性检测（表 2），结果表明，25 种西番莲的柱头在浸没于联苯胺-过氧化氢溶液中均产生不同程度的气泡，且柱头颜色变化也有明显差异。其中，TN、HX No. 1、W-1、XG、XTN、QM No. 9、MGMX、LP、QP、FMHJ、HG、YYM、ZZ-B1、D1-A1、THX、ZXMB、D2-11、II-Y 和 ULGRQG 等 19 种西番莲的柱头可授性较强，GH、KSTS、JMCH 等 3 种的柱头可授性中等，RX、ZL、LX 等 3 种的柱头可授性较弱。由此说明，25 种西番莲均具有可授性，但可授性强度存在差异。

表 2 25 种西番莲柱头可授性

Table 2 Stigma acceptability of 25 *Passiflora* L. species

引种编号	柱头可授性
Introduction number	Stigma acceptability

TN	+++
HX No. 1	+++
GH	++
KSTS	++
W-1	+++
XG	+++
XTN	+++
QM No. 9	+++
MGMX	+++
RX	+
ZL	+
JMCH	++
LP	+++
QP	+++
FMHJ	+++
HG	+++
YYM	+++
ZZ-B1	+++
D1-A1	+++
THX	+++
ZXMB	+++
D2-11	+++
II-Y	+++
ULGRQG	+++
LX	+

## 2.2 蔗糖、硼酸、PEG-4000、硝酸钙和培养温度对 6 种具有代表性的西番莲花粉萌发的影响

2.2.1 蔗糖 蔗糖是花粉离体萌发的碳源，西番莲花粉离体萌发率受培养基中蔗糖浓度的显著性影响（表 3）。6 种西番莲花粉萌发率随着蔗糖浓度的增加均呈先上升后下降的趋势，在蔗糖质量浓度为 15% 时，TN、HX No.1、KSTS 和 GH 等 4 种西番莲花粉萌发率达到最高，分别为 87.81%、91.17%、70.12% 和 67.03%。而 W-1 和 XG 在蔗糖浓度为 10% 时达到最高，分别为 86.67% 和 92.22%。由此说明单一的蔗糖浓度并不适宜 25 种西番莲花粉萌发的检测，不同种的西番莲花粉离体培养对培养基蔗糖浓度的适宜程度不同，具有显著的差异性。

表 3 6 种西番莲在不同蔗糖浓度下的花粉萌发率

**Table 3 Pollen germination rates of 6 *Passiflora* L. species under different sucrose concentrations**

引种编号 Introduction number	w (蔗糖) Sucrose concentrations/%				
	5	10	15	20	25
TN	26.39±1.11 d	55.87±0.99 b	87.81±1.05 a	39.73±0.43 c	11.37±1.51 e
HX No. 1	22.83±0.94 d	67.49±1.34 b	91.17±0.61 a	46.68±1.07 c	12.50±0.53 e
W-1	33.87±0.47 c	86.67±4.77 a	75.73±1.22 b	6.54±1.50 d	0.00±0.00 e

KSTS	13.42±0.49 c	52.06±4.98 b	70.12±1.57 a	12.05±2.40 c	0.00±0.00 d
XG	59.64±0.76 c	92.22±2.29 a	86.27±2.41 b	27.50±7.90 d	0.00±0.00 e
GH	15.45±0.73 d	45.36±1.11 c	67.03±1.39 a	48.35±0.86 b	11.61±1.60 e

注：表中同行数据不同小写字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。下同。

Note: The data in the same row in the table with different lowercase letters indicate significant difference ( $p < 0.05$ ). The same below.

2.2.2 硼酸 西番莲花粉离体萌发率受培养基中硼酸浓度的显著性影响(表4)。6种西番莲的花粉萌发率随着硼酸浓度的增加均呈出先上升后下降的趋势,当硼酸质量浓度为0.02%时, TN、HX No.1、W-1、KSTS、XG和GH等6种西番莲的花粉萌发率均达到最高,分别为88.70%、90.92%、77.86%、71.91%、88.53%和68.76%。

表4 6种西番莲在不同硼酸浓度下的花粉萌发率

**Table 4 Pollen germination rates of 6 *Passiflora* L. species under different boric acid concentrations**

引种编号 Introduction number	w (硼酸) Boric acid concentrations/%				
	0	0.02	0.04	0.06	0.08
TN	21.51±0.70 e	88.70±0.43 a	86.97±2.14 b	84.16±0.28 c	67.60±1.19 d
HX No. 1	20.10±0.77 e	90.92±0.66 a	89.23±0.84 b	84.60±0.83 c	70.95±0.45 d
W-1	30.16±3.83 e	77.86±2.34 a	66.81±1.80 b	62.21±1.97 c	36.13±3.75 d
KSTS	22.36±2.37 e	71.91±1.89 a	63.31±1.32 b	52.78±3.51 c	39.84±2.42 d
XG	20.64±3.29 c	88.53±0.78 a	87.13±1.64 a	84.87±2.36 a	78.39±5.81 b
GH	12.07±2.82 e	68.76±1.07 a	64.13±0.85 b	54.20±1.61 c	37.27±1.38 d

### 2.2.3 PEG-4000

PEG-4000是西番莲花粉离体萌发的必要组分之一,主要维持渗透压平衡,西番莲花粉离体萌发率受培养基中PEG-4000浓度的显著性影响(表5)。6种西番莲花粉萌发率随PEG-4000浓度的增加均呈出先上升后下降的趋势,当PEG-4000质量浓度为15%时, TN、HX No.1、W-1、KSTS、XG和GH等6种西番莲的花粉萌发率均达到最高,分别为87.64%、91.10%、86.10%、71.20%、91.49%和65.82%。

表5 6种西番莲在不同PEG-4000浓度下的花粉萌发率

**Table 5 Pollen germination rates of 6 *Passiflora* L. species under different PEG-4000 concentrations**

引种编号 Introduction number	w (PEG-4000) /%				
	0	5	10	15	20
TN	1.79±0.45 e	12.05±1.85 d	31.89±0.43 b	87.64±0.52 a	22.05±0.62 c
HX No. 1	1.54±0.36 e	10.84±0.80 d	30.30±1.00 b	91.10 ±0.47 a	21.94±0.56 c
W-1	1.33±0.38 d	8.75±0.79 c	25.45±1.29 b	86.10±0.36 a	24.60±0.64 b
KSTS	0.63±0.22 e	7.35±0.76 d	20.37±1.14 b	71.20±1.57 a	11.14±1.56 c

XG	5.12±0.88 c	23.81±1.38 d	50.34±1.46 b	91.49±1.14 a	30.54±1.57 c
GH	0.33±0.10 e	9.88±0.63 c	18.61±1.06 b	65.82±0.80 a	2.90±0.40 d

2.2.4 硝酸钙 硝酸钙虽不是西番莲花粉体外萌发的必需组分,但硝酸钙浓度对6种西番莲花粉萌发率均有显著性影响(表6)。花粉萌发率随着硝酸钙浓度的增加均呈先上升后下降的趋势,当硝酸钙质量浓度为0.08%时,TN、HX No.1、W-1、KSTS、XG和GH等6种西番莲的花粉萌发率均达到最高,分别为87.55%、90.60%、86.13%、70.46%、91.06%和68.75%,均与质量浓度为0.04%硝酸钙没有显著差异,因此可使用0.04%的硝酸钙质量浓度为培养基组分。

表6 6种西番莲在不同硝酸钙浓度下的花粉萌发率

Table 6 Pollen germination rates of 6 *Passiflora* L. species under different calcium nitrate concentrations

引种编号 Introduction number	w (硝酸钙) Calcium nitrate concentrations/%				
	0	0.02	0.04	0.08	0.16
TN	30.03±0.96 c	78.08±1.12 b	86.73±0.61 a	87.55±0.52 a	78.09±1.23 b
HX No. 1	28.06±0.71 d	81.01±0.47 b	89.85±0.84 a	90.60±0.54 a	77.48±0.94 c
W-1	23.88±0.89 d	45.08±1.83 c	84.91±1.44 a	86.13±1.01 a	82.29±0.83 b
KSTS	10.94±0.85 d	38.36±1.81 c	68.84±2.46 a	70.46±1.52 a	46.77±1.45 b
XG	41.68±2.01 d	86.35±2.19 b	90.06±1.95 a	91.06±2.78 a	76.32±3.23 c
GH	10.78±0.53 d	37.51±0.71 c	67.91±1.12 a	68.75±3.52 a	47.40±1.26 b

2.2.5 培养温度 温度对西番莲花粉萌发率生长具有显著性影响(表7),6种西番莲花粉萌发率随着温度的升高均呈先上升后下降的趋势。当培养温度达到25℃时,TN、HX No.1、W-1、KSTS、XG和GH等6种西番莲的花粉萌发率均达到最高,分别为88.38%、90.58%、85.81%、71.22%、91.28%和65.55%。当培养温度为45℃时,TN、HX No.1和GH花粉均不萌发,而W-1、KSTS和XG在此条件下花粉仍能萌发,萌发率分别为21.46%、12.04%和53.01%。由此可见,KSTS、W-1和XG的花粉具有一定的耐高温特性,其中XG的花粉耐高温程度最高。

表7 6种西番莲在不同培养温度下的花粉萌发率

Table 7 Pollen germination rates of 6 *Passiflora* L. species under different culture temperatures

引种编号 Introduction number	培养温度 Culture temperatures/°C					
	20	25	30	35	40	45
TN	84.37±0.82 b	88.38±0.99 a	81.09±0.94 c	58.86±2.77 d	29.31±1.80 e	0.00±0.00 f
HX No. 1	85.67±0.56 b	90.58±0.72 a	79.77±0.94 c	60.11±1.38 d	18.94±0.98 e	0.00±0.00 f
W-1	78.63±2.20 b	85.81±1.79 a	68.36±1.59 c	46.61±1.69 d	31.09±2.50 e	21.46±0.92 f
KSTS	61.98±1.63 b	71.22±2.72 a	59.23±0.82 b	47.59±2.19 c	33.55±5.53 d	12.04±1.06 e
XG	82.67±2.02 c	91.28±1.13 a	86.87±1.19 b	83.04±1.98 c	76.81±3.69 d	53.01±0.60 e

GH	60.89±0.78 b	65.55±1.04 a	57.57±0.53 c	43.52±1.83 d	20.12±1.79 e	0.00±0.00 f
----	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	-------------

### 2.3 3种花粉活力测定方法对25种西番莲花粉活力的比较分析

通过花粉离体培养、TTC染色和I<sub>2</sub>-KI染色等3种方式进行对比,发现3种花粉活力检测方法均检测出西番莲的花粉活力,但不同检测方法的西番莲花粉活力存在显著性差异(表8),相较TTC和I<sub>2</sub>-KI染色法而言,花粉离体培养是最能呈现25种西番莲花粉活力的检测方法,TTC染色法与花粉离体培养法对花粉活力的检测结果相接近,可作为西番莲花粉活力的快速检测方法,因此,在进行花粉活力研究过程中可以将TTC染色法与花粉离体培养法作为对比,而I<sub>2</sub>-KI染色法的结果与前两者差异较大,并不适用于西番莲花粉活力的检测。

表8 25种西番莲花粉离体培养、TTC和I<sub>2</sub>-KI染色的花粉活力比较

Table 8 Comparison of pollen viability pollen culture in vitro, TTC and I<sub>2</sub>-KI staining of 25

#### *Passiflora L. species*

引种编号 Introduction number	花粉活力 Pollen viability/%		
	花粉离体培养 Pollen culture <i>in vitro</i>	TTC 染色 TTC staining	I <sub>2</sub> -KI 染色 I <sub>2</sub> -KI staining
	TN	88.14±0.74 a	84.59±0.98 b
HX No.1	90.82±0.56 a	86.66±0.81 b	19.02±0.04 c
GH	67.92±0.70 a	56.60±0.83 b	15.52±0.86 c
KSTS	72.36±0.41 a	71.06±1.72 a	24.61±2.00 b
W-1	86.78±1.41 a	82.98±0.27 b	28.91±2.88 c
XG	91.67±0.24 a	89.06±0.97 b	27.88±0.62 c
XTN	84.90±0.31 a	82.86±0.61 b	14.77±0.70 c
QM No.9	89.41±1.06 a	85.09±0.92 b	16.94±1.37 c
MGMX	92.49±0.98 a	88.68±1.29 b	9.78±0.50 c
RX	5.35±0.44 a	1.01±0.52 b	0.91±0.31 b
ZL	1.21±0.25 a	0.26±0.01 b	0.00±0.00 b
JMCH	76.72±0.72 a	69.73±0.87 b	8.72±0.27 c
LP	85.06±1.22 a	80.88±1.02 b	14.44±0.15 c
QP	83.21±0.38 a	78.05±1.73 b	10.88±0.77 c
FMHJ	86.42±1.51 a	82.09±1.79 b	16.78±0.38 c
HG	81.19±0.67 a	77.48±1.13 b	9.70±0.44 c
YYM	88.14±0.33 a	80.93±0.83 b	10.92±1.64 c
ZZ-B1	81.20±0.40 a	74.44±1.19 b	7.20±1.05 c
D1-A1	91.41±0.33 a	86.60±0.19 b	21.29±0.49 c
THX	87.55±0.50 a	84.32±1.15 b	11.10±0.68 c
ZXMB	86.10±0.97 a	81.96±1.25 b	12.68±0.61 c
D2-11	91.42±0.17 a	85.55±1.70 b	21.41±3.84 c
II-Y	86.36±0.43 a	83.36±1.62 b	16.57±0.94 c
ULGRQG	85.31±0.75 a	84.60±0.87 a	28.07±1.52 b
LX	0.63±0.41 a	0.25±0.01 bc	0.00±0.00 c

### 2.4 基于花粉活力的聚类分析

基于 25 种西番莲花粉离体培养和 TTC 染色法的花粉活力数据，采用最远邻元素法对 25 种西番莲进行聚类，在遗传距离 5 处，可将 25 种西番莲分为 3 个类群，第 I 类群包含 FMHJ、ZXMB、W-1、II-Y、LP、XTN、TN、THX、QM No.9、ULGRQG、HX No.1、D1-A1、D2-11、YYM、XG、MGMX、QP、HG、ZZ-B1、KSTS、JMCH 等 21 个种类，花粉活力均在 70%以上；第 II 类群包含 GH 等 1 个种类，花粉活力均在 50%~70%之间；第 III 类群包含 ZL、LX、RX 等 3 个种类，花粉活力均在 10%以下。由此说明西番莲属的花粉活力具有多样性。

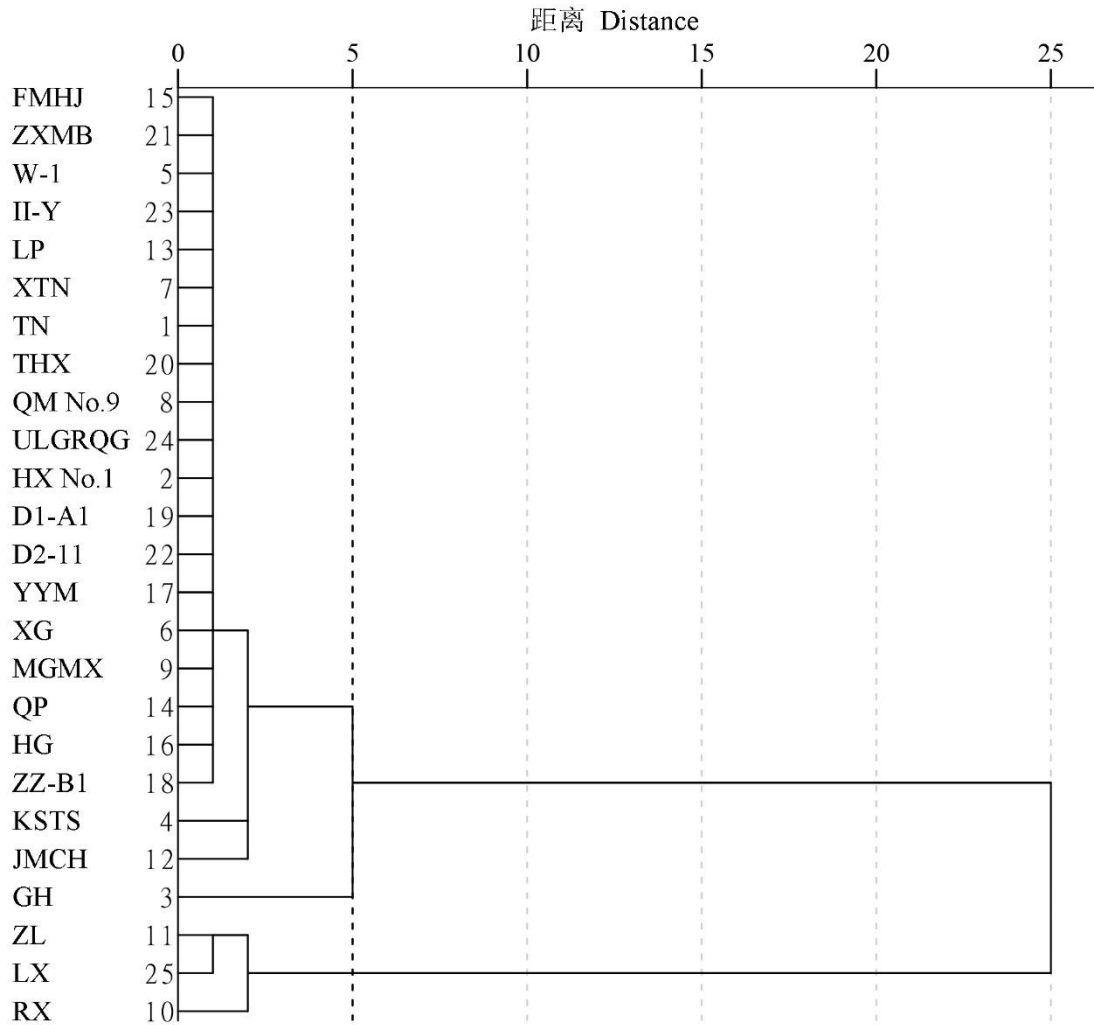


图 2 25 种西番莲花粉大小和花粉活力的聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of pollen size and vitality of 25 *Passiflora* L. species

### 3 讨论

柱头和花粉是植物进行有性生殖过程的重要组成部分，研究柱头可授性及花粉活力，不仅能够提高坐果率，而且对人工授粉、提高杂交育种的效率也具有重要意义。柱头可授性的强弱是决定育种工作成功与否的指标之一<sup>[15]</sup>，可通过柱头可授性的强弱进而明确杂交父母本的选择，减少杂交的盲目性。采用联苯胺-过氧化氢溶液处理后的西番莲柱头会发生氧化

还原反应,通过柱头颜色的变化和气泡的产生判断柱头可授性的强弱。25种西番莲中的 TN、HX No.1、W-1、XG、XTN、QM No.9、MGMX、LP、QP、FMHJ、HG、YYM、ZZ-B1、D1-A1、THX、ZXMB、D2-11、II-Y 和 ULGRQG 等 19 种柱头可授性较强,可作为杂交父本。

除柱头可授性外,花粉活力影响杂交成功与否的关键因素。笔者对 TN、HX NO.9、GH、W-1、XG 和 KSTS 等 6 种在花型、果实性状、叶片形状等具有代表性的西番莲进行了花粉离体萌发最适培养基组分、浓度和培养温度的筛选研究。6 种西番莲的花粉离体培养最适硼酸、PEG-4000 和硝酸钙浓度的需求一致,分别为 0.02%、15%、0.08%,仅 PEG-4000 浓度与前人在西番莲上的研究结果相一致<sup>[10-16]</sup>,而与硼酸、浓度和蔗糖浓度均存在差异。

硼酸被认为是花粉萌发及花粉管生长的关键物质,钙作为作物花粉管生长中所必需的营养物质。本研究结果表明,硼酸和硝酸钙浓度显著性影响 25 种西番莲花粉离体萌发率,是西番莲花粉体外萌发的必需物质,适当浓度可促进花粉管萌发,但浓度过高会产生抑制作用。不同植物花粉离体萌发对硼酸和硝酸钙浓度的需求存在较大差异,火龙果花粉离体萌发最适硼酸浓度为  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[17]</sup>,苹果花粉离体萌发最适硼酸和硝酸钙浓度分别为  $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[18]</sup>,茶树花粉离体萌发最适硼酸和硝酸钙浓度分别为  $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[19]</sup>,甘蔗花粉离体萌发最适硼酸和硝酸钙浓度分别为  $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[20]</sup>。本研究中西番莲花粉的最适硼酸和硝酸钙浓度分别为 0.02% 和 0.08%,与蔡昭艳等<sup>[10]</sup>报道的硼酸浓度  $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硝酸钙浓度  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  存在一定差异,可能是由于不同时期、不同种植环境所造成的,因此在杂交育种和生产中,对授粉后的花喷施适当硼酸和硝酸钙可促进花粉管萌发。

蔗糖作为花粉离体萌发的必不可少的碳源和能源物质,其最适浓度因不同物种而异。李范<sup>[21]</sup>在探究不同培养条件对锦带花粉萌发的影响中表明,蔗糖浓度为 15% 有利于锦带花粉萌发,较低或较高浓度对花粉萌发有抑制作用,而在葡萄<sup>[22]</sup>、桃<sup>[23]</sup>、梨<sup>[24]</sup>等物种中,花粉离体萌发的最适蔗糖浓度为 10%。此外,朱江华等<sup>[25]</sup>研究表明,6 个蓝莓品种花粉萌发所需的最适蔗糖浓度不尽相同,莱格西、布里吉塔、密斯梯在蔗糖浓度为 10% 时,花粉萌发率均最高,当蔗糖浓度为 15% 时,夏普蓝、粉蓝、梯芙蓝等 3 个蓝莓品种的萌发率均达到最高。这一结果与本研究中西番莲最适蔗糖浓度为 15%,W-1 和 XG 等 2 种西番莲最适蔗糖浓度为 10% 的研究结论相一致,表明同一作物不同种间离体培养对蔗糖浓度的需求也存在差异,可能是由于西番莲基因型的差异所造成的,其中 TN、HX No.1、KSTS 和 GH 的叶片类型为掌状三裂,W-1 和 XG 叶片呈单裂,遗传差异较大。因此在后续开展花药离体培养试验时需要进行蔗糖浓度梯度分析。

温度是影响花粉萌发、坐果率的主要因素<sup>[26]</sup>。前人研究表明,不同作物的花粉最适萌发温度差异较大,海仙花花粉萌发最适温度为  $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>[27]</sup>,绵带花粉萌发最适温度为  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>[21]</sup>,猕猴桃花粉萌发最适温度为  $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>[28]</sup>。笔者在本研究中发现不同温度对西番莲花粉萌发具有显著性影响,但 6 种具有代表性的西番莲最适温度均为  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。蔡昭艳等<sup>[16]</sup>用拟合方程预算

出台农一号西番莲花粉离体萌发的温度范围为 6.19 °C~45.13 °C, 最适温度为 25.69 °C, 这与本研究结果一致。当培养温度到达 45 °C 时, TN、HX No.1、GH 的花粉已不萌发, 而 KSTS、W-1 和 XG 在此条件下花粉仍能萌发, 这与前人在芒果、榛子等作物的研究结果相一致<sup>[29-30]</sup>。由此可说明, KSTS、W-1 和 XG 可用于耐高温为育种目标的杂交亲本材料。

前人在对花粉活力的研究中使用不同的检测方法, 主要有花粉离体培养和染色法<sup>[31]</sup>。花粉离体培养法是反映花粉活力的最好方式, 被广泛使用于各类作物中, 而染色法中主要以 TTC、I<sub>2</sub>-KI、MTT 和醋酸洋红染色为主<sup>[32]</sup>, 但并不适用于所有物种。在云杉中使用 I<sub>2</sub>-KI 染色法和醋酸洋红染色法染色效果不佳, 而 TTC 染色法和花粉离体培养法效果较好<sup>[33]</sup>, 而在通关藤中最适合花粉活力的测定方法为 I<sub>2</sub>-KI 染色法<sup>[34]</sup>。本研究在对 25 种西番莲进行花粉离体培养、TTC 和 I<sub>2</sub>-KI 染色的对比结果中发现, 花粉离体培养法结果最佳, 这与前人的研究结果一致, TTC 染色法也能较好地反映花粉活力, 可作为西番莲属花粉活力快速检测方法。而 I<sub>2</sub>-KI 染色法结果与前两者差异过大, 并不适用于西番莲花粉活力的检测。25 种西番莲的花粉活力存在明显差异, 这在葡萄<sup>[35]</sup>、三角梅<sup>[36]</sup>、萱草<sup>[37]</sup>、桃<sup>[38]</sup>、猕猴桃<sup>[39]</sup>等植物中的研究结果相一致。Soares 等<sup>[40]</sup>研究表明, 西番莲不同种之间的差异可能受到同一物种基因型差异的影响, 骆东灵等<sup>[41]</sup>和 Kakani 等<sup>[42]</sup>分别在蔷薇和棉花中观察到花粉离体萌发因品种而异。由此可见, 不同种西番莲花粉活力产生差异的原因, 可能与选育、进化过程中的遗传变异相关。

花粉活力能够反映种间特异性, 可以运用于种与品种之间的区分<sup>[43]</sup>, 为物种分类提供重要的依据。张良英等<sup>[44]</sup>在不同软枣猕猴桃雄株花粉离体培养条件及花粉性状比较的研究中, 依据单花花粉量、萌发率与花粉管长度进行聚类分析, 将 15 份雄株分为 4 个类群。杜文文等<sup>[45]</sup>采用最短距离法对 30 种秋海棠花粉活力进行聚类, 可将 30 种秋海棠分为 6 个类群。笔者基于 25 种西番莲花粉离体培养和 TTC 染色法的花粉活力, 将 25 种西番莲分为 3 个类群。从遗传上分析, 花粉萌发率为花粉育性的重要指示指标, 可以直接反映雄配子的育性发育状况, 与杂交育种中父母本的选择密切相关。对花粉活力进行分级, 可以划分为不同等级的育性, 一般花粉可育率为 0, 定为全不育; 小于 5%, 为高不育; 6%~30%, 为半不育; 31%~50%, 为低不育; 大于 50%, 为正常可育<sup>[46]</sup>。由此可将 25 种西番莲分为正常可育、高不育两类, 其中聚类的第 I 类群和第 II 类群共 22 个种均属于正常可育类型, 杂交时可以做父本; 第 III 类群中含 3 个种均属于高不育类型, 适宜做母本。

## 4 结论

花粉离体培养是最能呈现 25 种西番莲花粉活力的检测方法, TTC 染色法与花粉离体培养法相比, 可作为西番莲花粉活力的快速检测方法。25 种西番莲属中, ZL、LX 和 RX 适宜做杂交母本, 而 FMHJ、ZXMB、W-1、II-Y、LP、XTN、TN、THX、QM No.9、ULGRQG、HX No.1、D1-A1、D2-11、YYM、XG、MGMX、QP、HG、ZZ-B1、KSTS、JMCH、GH 等 22 种西番莲均可做杂交父本或母本。



## 参考文献 References:

- [1] 陈媚, 刘迪发, 徐丽, 姚碧娇, 李祥恩, 符小琴, 高玲. 西番莲研究进展[J]. 中国南方果树, 2020, 49(6): 182-190.
- CHEN Mei, LIU Difa, XU Li, YAO Bijiao, LI Xiang'en, FU Xiaoqin, GAO Ling. Research progress of passion fruit[J]. South China Fruits, 2020, 49(6): 182-190.
- [2] OCAMPO J, ARIAS J C, URREA R. Interspecific hybridization between cultivated and wild species of genus *Passiflora* L[J]. Euphytica, 2016, 209(2): 395-408.
- [3] ABREU P P, SOUZA M M, SANTOS E A, PIRES M V, PIRES M M, DE ALMEIDA A A F. Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant market: Perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil[J]. Euphytica, 2009, 166(3): 307-315.
- [4] SANTOS E A, SOUZA M M, ABREU P P, LEO DUC HAA CARSON SCHWARTZHAUPT DA CONCEIÇÃO, SANTOS ARAÚJO I, VIANA A P, DE ALMEIDA A A F, DE OLIVEIRA FREITAS J C. Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (Passifloraceae) for ornamental use[J]. Euphytica, 2012, 184(3): 389-399.
- [5] 蔡昭艳, 董龙, 王小媚, 苏伟强, 邱文武, 任惠, 刘业强, 施平丽, 黄章保, 方位宽. 西番莲新品种桂百一号的选育[J]. 果树学报, 2022, 39(6): 1133-1136.
- CAI Zhaoyan, DONG Long, WANG Xiaomei, SU Weiqiang, QIU Wenwu, REN Hui, LIU Yeqiang, SHI Pingli, HUANG Zhangbao, FANG Weikuan. Breeding report of a new passionfruit cultivar Guibai No. 1[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(6): 1133-1136.
- [6] 王小媚, 蔡昭艳, 王金都, 苏伟强, 董龙, 邓彪, 秦源, 陈棋玲, 黄华彬, 郑平, 刘业强, 任惠, 何必能, 陆福慷. 优良鲜食西番莲新品种金都百香 3 号的选育[J]. 果树学报, 2022, 39(8): 1524-1527.
- WANG Xiaomei, CAI Zhaoyan, WANG Jindu, SU Weiqiang, DONG Long, DENG Biao, QIN Yuan, CHEN Qiling, HUANG Huabin, ZHENG Ping, LIU Yeqiang, REN Hui, HE Bineng, LU Fukang. Breeding of a new high-quality passion fruit cultivar Jindubaixiang No. 3[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(8): 1524-1527.
- [7] PEREIRA M R, RIBEIRO H, CUNHA M, ABREU I. Comparison of pollen quality in *Vitis vinifera* L. cultivars[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 227: 112-116.
- [8] KUMAR K S, KHANDURI V, KAR K, SHARMA C M, RIYAL M K. Effect of growth regulators and time on *in vitro* pollen germination in three ornamental tropical tree species[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2016, 18: 1247-1255.
- [9] 陈媚, 冯红玉, 徐丽, 刘迪发, 姚碧娇, 符小琴, 高玲. 西番莲花粉活力研究初报[J]. 中国南方果树, 2022, 51(5): 59-66.
- CHEN Mei, FENG Hongyu, XU Li, LIU Difa, YAO Bijiao, FU Xiaoqin, GAO Ling. Preliminary report on the vitality of passion flower pollen[J]. South China Fruits, 2022, 51(5): 59-66.
- [10] 蔡昭艳, 董龙, 王小媚, 邱文武, 张文斌, 刘业强, 黄章保, 任惠, 方位宽, 苏伟强. 培养基 pH 值及蔗糖、硼酸、PEG-4000 对百香果花粉体外萌发的影响[J]. 分子植物育种, 2021, 19(21): 7274-7281.
- CAI Zhaoyan, DONG Long, WANG Xiaomei, QIU Wenwu, ZHANG Wenbin, LIU Yeqiang, HUANG

Zhangbao, REN Hui, FANG Weikuan, SU Weiqiang. Effects of medium pH and sucrose, boric acid and PEG-4000 on *in vitro* germination of passion fruit pollen[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(21): 7274-7281.

[11] SOARES T L, DE JESUS O N, DE SOUZA E H, DE OLIVEIRA E J. Floral development stage and its implications for the reproductive success of *Passiflora* L.[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 238: 333-342.

[12] MONTERO D A V, MELETTI L M M, MARQUES M O M. Flowering behaviour of five species of *Passiflora* cultivated at greenhouse in southeast Brazil[J]. International Journal of AgriScience, 2013, 3: 176-181.

[13] KISHORE K, PATHAK K A, SHUKLA R, BHARALI R. Studies on floral biology of passion fruit (*Passiflora* spp.)[J]. Pakistan Journal of Botany, 2010, 42(1): 21-29.

[14] DOS SANTOS AMORIM J, SOUZA M M, VIANA A J C, DE OLIVEIRA FREITAS J C. Self-, cross- and interspecific pollinations in *Passiflora capsularis* and *P. rubra*[J]. Brazilian Journal of Botany, 2011, 34(4): 537-544.

[15] 罗长维, 李昆, 陈友, 孙永玉, 杨文云. 膏桐花粉活力与柱头可授性及其生殖特性研究[J]. 西北植物学报, 2007, 27(10): 1994-2001.

LUO Changwei, LI Kun, CHEN You, SUN Yongyu, YANG Wenyun. Pollen viability, stigma receptivity and reproductive features of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae)[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2007, 27(10): 1994-2001.

[16] 蔡昭艳, 苏伟强, 董龙, 邱文武, 施平丽, 刘业强, 黄辉晔, 黄章保, 任惠, 王小媚. 钙、镁、钾浓度及光照、温度对西番莲花粉离体萌发的影响[J]. 果树学报, 2022, 39(1): 86-94.

CAI Zhaoyan, SU Weiqiang, DONG Long, QIU Wenwu, SHI Pingli, LIU Ye qiang, HUANG Huiye, HUANG Zhangbao, REN Hui, WANG Xiaomei. Effects of calcium, magnesium, potassium, light and temperature on pollen germination and pollen tube elongation of passion fruit *in vitro*[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(1): 86-94.

[17] 王玉林, 胡位荣, 刘顺枝, 潘玉珠, 易干军, 孙清明. 硼酸、蔗糖和 pH 值对火龙果花粉离体萌发和花粉管伸长的影响[J]. 分子植物育种, 2018, 16(1): 240-247.

WANG Yulin, HU Weirong, LIU Shunzhi, PAN Yuzhu, YI Ganjun, SUN Qingming. Effects of boric acid, sugar and pH on *in vitro* pollen germination and pollen tube length of pitaya[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(1): 240-247.

[18] 魏婵婵. 影响苹果花粉萌发率的相关因素研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.

WEI Chanchan. Study on the factors which affect apple pollen germination rate[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2016.

[19] 林开勤, 刘声传, 梁思慧, 鄢东海. 茶树花粉离体萌发条件优化及活力快速检测[J]. 种子, 2018, 37(12): 14-18.

LIN Kaiqin, LIU Shengchuan, LIANG Sihui, YAN Donghai. Optimizing conditions of *in vitro* pollen germination and rapid detection of pollen viability for *Camellia sinensis*[J]. Seed, 2018, 37(12): 14-18.

[20] 常海龙, 张伟, 陈俊吕, 郭育强, 方娜, 邱永生, 周峰, 吴建涛, 刘壮, 刘少谋, 王勤南. 甘蔗花粉离体萌发研究[J]. 热带作物学报, 2019, 40(10): 2068-2075.

CHANG Hailong, ZHANG Wei, CHEN Junlü, GUO Yuqiang, FANG Na, QIU Yongsheng, ZHOU Feng, WU Jiantao, LIU Zhuang, LIU Shaomou, WANG Qinnan. Sugarcane pollen germination *in vitro*[J]. Chinese

Journal of Tropical Crops, 2019, 40(10): 2068-2075.

[21] 李范. 不同培养条件对锦带花粉萌发的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(11): 3234-3236.

LI Fan. Effect of culture condition on pollen germination of *Weigela florida*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(11): 3234-3236.

[22] 郭平峰, 王勇, 骆强伟. 几种因素处理对早黑宝葡萄花粉生活力的影响[J]. 资源开发与市场, 2014, 30(8): 902-904.

GUO Pingfeng, WANG Yong, LUO Qiangwei. Effects of several factors on pollen germination of Zaoheibao grape[J]. Resource Development & Market, 2014, 30(8): 902-904.

[23] 郭瑞, 颜少宾, 金光, 周平, 廖汝玉, 杨凌, 姚启英. 桃花粉萌发条件筛选及 14 个桃品种的生活力比较[J]. 福建农业学报, 2016, 31(2): 129-134.

GUO Rui, YAN Shaobin, JIN Guang, ZHOU Ping, LIAO Ruyu, YANG Ling, YAO Qiyong. Germination and viability of pollens from fourteen peach varieties[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2016, 31(2): 129-134.

[24] 张绍铃, 陈迪新, 康琅, 汪玲. 培养基组分及 pH 值对梨花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 西北植物学报, 2005, 25(2): 225-230.

ZHANG Shaoling, CHEN Dixin, KANG Lang, WANG Ling. Effects of medium components and pH on pollen germination and tube growth in pear (*Pyrus pyrifolia*)[J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2005, 25(2): 225-230.

[25] 朱江华, 吕芳德, 王森, 郭雨帆, 姜寒冰, 黄梦真, 常双双. 6 个蓝莓品种花粉特性和花粉育性的比较[J]. 经济林研究, 2016, 34(2): 101-108.

ZHU Jianghua, LÜ Fangde, WANG Sen, GUO Yufan, JIANG Hanbing, HUANG Mengzhen, CHANG Shuangshuang. Comparison of pollen characteristics and fertility of six cultivars of blueberry[J]. Non-wood Forest Research, 2016, 34(2): 101-108.

[26] 蒲光兰, 周兰英, 李瑾宵, 熊海燕. 温度、蔗糖和硼酸对麻疯树花粉离体萌发的影响[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(3): 55-58.

PU Guanglan, ZHOU Lanying, LI Jinxiao, XIONG Haiyan. Effects of temperature, sucrose and boric acid on vitro pollen germination of *Jatropha curcas*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(3): 55-58.

[27] 杨延红, 周东升, 姜倩倩, 李孔栋, 李慧丽, 陈忠秀. 海仙花花粉离体萌发和花粉管生长的研究[J]. 北方园艺, 2019(13): 109-113.

YANG Yanhong, ZHOU Dongsheng, JIANG Qianqian, LI Kongdong, LI Huili, CHEN Zhongxiu. Study on pollen germination and pollen tube growth of *Weigela coraeensis*[J]. Northern Horticulture, 2019(13): 109-113.

[28] 齐秀娟, 张绍铃, 方金豹. 培养环境条件对猕猴桃花粉萌发的影响[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(3): 528-532.

QI Xiujuan, ZHANG Shaoling, FANG Jinbao. Effect of culture condition on pollen germination of kiwifruit[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2011, 23(3): 528-532.

[29] LIU X Y, XIAO Y L, ZI J, YAN J, LI C H, DU C X, WAN J X, WU H X, ZHENG B, WANG S B, LIANG Q Z. Differential effects of low and high temperature stress on pollen germination and tube length of mango (*Mangifera indica* L.) genotypes[J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 611.

[30] ÇETINBAŞ-GENÇ A, CAI G, VARDAR F, ÜNAL M. Differential effects of low and high temperature stress on pollen germination and tube length of hazelnut (*Corylus avellana* L.) genotypes[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 255: 61-69.

[31] 贾聖凤, 孙德玺, 孙守如, 邓云, 朱迎春, 安国林, 李卫华, 刘君璞. 瓜菜花粉细胞学观察及活力测定概述[J]. 中国瓜菜, 2019, 32(3): 1-7.

JIA Shengfeng, SUN Dexi, SUN Shouru, DENG Yun, ZHU Yingchun, AN Guolin, LI Weihua, LIU Junpu. Summary of pollen cytological observation and vigor determination of melon and vegetable crops[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2019, 32(3): 1-7.

[32] 胡迎峰, 夏齐平. 花粉活力不同测定方法的比较和离体培养初探: 黄山玉兰[J]. 中国农学通报, 2022, 38(5): 43-47.

HU Yingfeng, XIA Qiping. Comparison of different methods of pollen viability determination and preliminary study on *in vitro* culture: Taking *Yulania cylindrica* as an example[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(5): 43-47.

[33] 刘禹廷, 蓝登明, 余伟莅, 刘平生, 赵丽. 6种云杉属植物花粉活性测定[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(17): 241-245.

LIU Yuting, LAN Dengming, YU Weili, LIU Pingsheng, ZHAO Li. The assay about the activity of six kinds of *Picea* pollen[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(17): 241-245.

[34] 刘成琴, 赵兴旺, 康志钰, 丁家娟, 孙映雪, 王建军. 5种通关藤花粉活力测定方法比较[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(1): 179-182.

LIU Chengqin, ZHAO Xingwang, KANG Zhiyu, DING Jiajuan, SUN Yingxue, WANG Jianjun. Comparison of five determination methods of *Marsdenia tenacissima* pollen viability[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2021, 36(1): 179-182.

[35] 辛董董, 朱自果, 候行行, 连艳会, 闫丹丹, 张洋, 李桂荣. 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.

XIN Dongdong, ZHU Ziguang, HOU Xingxing, LIAN Yanhui, YAN Dandan, ZHANG Yang, LI Guirong. Determination of pollen viability, pollen quantity, and stigma receptivity for different grape cultivars[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(4): 113-116.

[36] 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.

[37] 周琴, 史杰玮, 马广莹. 5个萱草品种花粉生活力和柱头可授性比较分析[J]. 分子植物育种, 2022, 20(24): 8272-8278.

ZHOU Qin, SHI Jiawei, MA Guangying. Comparative analysis of pollen viability and stigma receptivity of five *Hemerocallis fulva* cultivars[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(24): 8272-8278.

[38] 叶正文, 杜纪红, 苏明申, 李六林, 张绍铃. 桃92个品种的花粉量及其萌发特性的差异[J]. 园艺学报, 2010, 37(4): 525-531.

YE Zhengwen, DU Jihong, SU Mingshen, LI Liulin, ZHANG Shaoling. Cluster analysis for the quantity and germinating characteristics of the pollens from 92 peach cultivars[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(4): 525-531.

[39] 王斯妤, 钟敏, 廖光联, 陈璐, 徐小彪. 不同猕猴桃雄株花粉量及花粉活力差异研究[J]. *江西农业大学学报*, 2017, 39(3): 460-467.

WANG Siyu, ZHONG Min, LIAO Guanglian, CHEN Lu, XU Xiaobiao. Comparison of pollen quantity and pollen viability of 41 male plants in *Actinidia*[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2017, 39(3): 460-467.

[40] SOARES T L, DE JESUS O N, DE SOUZA E H, DE OLIVEIRA E J. Reproductive biology and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential[J]. *Scientia Horticulturae*, 2015, 197: 339-349.

[41] 骆东灵, 张颢, 邱显钦, 晏慧君, 王其刚, 王慧纯, 蹇洪英, 马长乐. 22个蔷薇野生资源的花粉活力和柱头可授性分析[J/OL]. *分子植物育种*, 2023: 1-13. (2023-04-11). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230411.1109.002.html>.

LUO Dongling, ZHANG Hao, QIU Xianqin, YAN Huijun, WANG Qigang, WANG Huichun, JIAN Hongying, MA Changle. Studies on the pollen viability and stigma receptivity of 22 wild rose germplasm resources[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 2023: 1-13. (2023-04-11). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230411.1109.002.html>.

[42] KAKANI V G, REDDY K R, KOTI S, WALLACE T P, PRASAD P V V, REDDY V R, ZHAO D. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature[J]. *Annals of Botany*, 2005, 96(1): 59-67.

[43] 王啸博, 曹颖, 郭伟, 马琳, 刘秀丽. 玉兰亚属44种(品种)的花粉形态特征研究[J]. *园艺学报*, 2023, 50(11): 2417-2434.

WANG Xiaobo, CAO Ying, GUO Wei, MA Lin, LIU Xiuli. Morphological characteristics of pollen from 44 species of subgen. *Yulania*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2023, 50(11): 2417-2434.

[44] 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 pollen traits of different male plants of *Actinidia arguta*[J]. *Non-wood Forest Research*, 2023, 41(1): 255-264.

[45] 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.

[46] 朱国英. 水稻雄性不育生物学[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2000: 143-146.

ZHU Guoying. Biology of sterile rice[M]. Wuhan: Wuhan University Press, 2000: 143-146.