北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

流苏树花粉活力、柱头可授性和不同属间的远缘杂交初探

刘翠双 李际红 牛牧歌 孙茂桐 刘源 刘来硕 郭历阳 王锦楠

Preliminary study on pollen vitality, stigma receptivity and distant hybridization between different genera of *Chionanthus retusus*

Liu Cuishuang, Li Jihong, Niu Muge, Sun Maotong, Liu Yuan, Liu Laishuo, Guo Liyang, Wang Jinnan

引用本文:
刘翠双, 李际红, 牛牧歌, 孙茂桐, 刘源, 刘来硕, 郭历阳, 王锦楠. 流苏树花粉活力、柱头可授性和不同属间的远缘杂交初探[J]. 北京林业大学学报, 2024, 46(4):14–27. doi: 10.12171/j.1000–1522.20230292
Liu Cuishuang, Li Jihong, Niu Muge, Sun Maotong, Liu Yuan, Liu Laishuo, Guo Liyang, Wang Jinnan. Preliminary study on pollen vitality, stigma receptivity and distant hybridization between different genera of *Chionanthus retusus*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(4):14–27. doi: 10.12171/j.1000–1522.20230292

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20230292

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于SRAP分子标记的流苏树天然群体遗传多样性研究

Genetic diversity analysis of *Chionanthus retusus* natural population based on SRAP molecular markers

北京林业大学学报, 2020, 42(12): 40–50. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200212

无髯鸢尾种间杂交障碍分析

Analysis on the barriers of interspecific hybridization in beardless irises

北京林业大学学报, 2018, 40(4): 96–101. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20170351

短生育期‘骄阳’百合的育性分析及2n配子诱导

Fertility analysis and 2n gametes induction of *Lilium* FA hybrids ‘Jiaoyang’ in short growth period

北京林业大学学报, 2020, 42(7): 106–112. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20190425

青黑杨杂种三倍体花粉母细胞减数分裂染色体行为及其花粉变异研究

Meiotic chromosome behavior of pollen mother cells and pollen variation in triploid hybrid between section Tacamahaca and sect. Aigeiros of *Populus*

北京林业大学学报, 2019, 41(7): 75–82. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20190099

黄连花花期动态及其授粉特性研究

Flowering dynamics and pollination characteristics of *Lysimachia davurica*

北京林业大学学报, 2019, 41(6): 129–137. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20180279

转基因三倍体毛白杨花粉活力及枯落物外源基因检测

Pollen vigor and detection of exogenous genes of litter for transgenic triploid *Populus tomentosa*

北京林业大学学报, 2019, 41(7): 91–100. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20190105

DOI:10.12171/j.1000−1522.20230292

流苏树花粉活力、柱头可授性和不同属间的远缘杂交初探

刘翠双　李际红　牛牧歌　孙茂桐　刘　源　刘来硕　郭历阳　王锦楠
（山东农业大学林学院，山东泰山森林生态系统国家定位观测研究站，黄河下游森林培育国家林业和草原局重点实验室，山东 泰安 271018）

摘要:【目的】探讨流苏树全雄花和两性花的花粉活力、柱头可授性的变化、有效授粉期和不同属间的远缘杂交，为改良流苏树花色和杂交育种提供依据。**【方法】**采用花粉离体培养法对流苏树、连翘和丁香进行花粉活力测定；利用联苯胺–过氧化氢法检测流苏树两性花柱头可授性；以流苏树‘雪早花’为母本，丁香、连翘为父本，利用蒙导法授粉，开展属间杂交研究；授粉后，通过荧光显微镜分别观察 2 个杂交组合与 2 个对照组合花粉管的伸长生长情况，并对果实的表型和杂种胚进行观察；授粉 70 d 后胚开始固化时，进行杂种苗的培育。**【结果】**(1)流苏树全雄花和两性花的花粉活力差异显著，全雄花花粉活力(55.91%)显著高于两性花花粉活力(42.94%)。(2)新鲜连翘花花粉活力为 65.72%，−20 ℃ 条件下贮藏 28 d 花粉活力为 12.78%；新鲜丁香花花粉活力为 66.21%，−20 ℃ 条件下贮藏 15 d 花粉活力为 26.35%。(3)流苏树柱头可授性在不同花发育时期呈现：盛花期 > 始花期 > 末花期 > 花蕾期，最佳授粉时间为盛花期。(4)授粉后对花粉管的伸长进行荧光观察发现，蒙导授粉后 2 个杂交组合花粉管均能伸入胚珠完成授精。(5)2 种杂交组合授粉 37 d 后胚开始形成，70 d 后开始固化，胚结构快速生长，120 d 果实发育成熟，最终获得蒙导丁香杂交组合的种子 121 粒，蒙导连翘杂交组合的种子 63 粒。(6)授粉 70 d 后，选用每个杂交组合固化的 60 个杂种胚进行无菌苗培育，获得蒙导丁香杂交组合的杂种苗 18 株，连翘杂交组合的杂种苗 14 株。**【结论】**流苏树的全雄花花粉活力明显高于两性花；−20 ℃ 条件下能够较长时间地贮存连翘和丁香的花粉，保证流苏树花期授粉的需求；流苏树柱头可授性在盛花期最强，此时进行蒙导法授粉，可有效保证远缘杂交的顺利实施，并为获得不同花色流苏树新品种奠定基础。

关键词：流苏树；蒙导法授粉；花粉活力；柱头可授性；远缘杂交
中图分类号：S792.99；S685.99　**文献标志码：**A　**文章编号：**1000−1522(2024)04−0014−14
引文格式：刘翠双，李际红，牛牧歌，等. 流苏树花粉活力、柱头可授性和不同属间的远缘杂交初探［J］. 北京林业大学学报，2024，46(4)：14−27. Liu Cuishuang, Li Jihong, Niu Muge, et al. Preliminary study on pollen vitality, stigma receptivity and distant hybridization between different genera of *Chionanthus retusus*［J］. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(4): 14−27.

Preliminary study on pollen vitality, stigma receptivity and distant hybridization between different genera of *Chionanthus retusus*

Liu Cuishuang　Li Jihong　Niu Muge　Sun Maotong　Liu Yuan　Liu Laishuo
Guo Liyang　Wang Jinnan
(Mountain Tai Forest Ecosystem Research Station of National Positioning Observation, Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration for Silviculture of the Lower Reaches of Yellow River, College of Forestry, Shandong Agricultural University, Taian 271018, Shandong, China)

Abstract: ［**Objective**］ This paper aims to explore the pollen viability, stigma receptivity, effective pollination period, and interspecific distant hybridization between the male and hermaphroditic flowers of

收稿日期: 2023−10−26　**修回日期:** 2023−11−27
基金项目: 山东省重点研发计划“重大科技创新工程”项目(2021 LZGC 023)，山东省农业科技资金“林业科技创新”(2019 LY 001)。
第一作者: 刘翠双。主要研究方向：林木遗传育种。Email：15615644230@163.com　地址：271000 山东省泰安市泰山区岱宗大街 61 号山东农业大学。
责任作者: 李际红，博士，教授。主要研究方向：林木遗传育种。Email：jhli@sdau.edu.cn　地址：同上。
本刊网址: http://j.bjfu.edu.cn；http://journal.bjfu.edu.cn

Chionanthus retusus and provide a foundation for improving flower color and hybrid breeding of *Chionanthus retusus*. [**Method**] The pollen viability of *Chionanthus retusus*, *Forsythia suspensa* and *Syringa oblata* was determined by pollen in vitro culture method. The stigma receptivity of hermaphroditic flowers of *Chionanthus retusus* was detected by benzidine-hydrogen peroxide method. Using *Chionanthus retusus* 'Xuezaohua' as the female parent and *Forsythia suspensa* and *Syringa oblata* as the male parent, intergeneric hybridization research was carried out by mento pollen pollination method. After pollination, we observed the elongation and growth of pollen tubes in two hybrid combinations and two control combinations using the benzidine blue fluorescence microscopy, as well as examined the characteristics of the resulting fruits and hybrid embryos. After 70 d of pollination, when the embryo began to solidify, hybrid seedlings were cultivated. [**Result**] (1)There was a significant difference in pollen viability between the male flower and hermaphrodite flower. The pollen viability of the male flower (55.91%) was significantly higher than that of the hermaphrodite flower (42.94%). (2) The pollen vitality of fresh *Forsythia suspensa* pollen vitality was 65.72%, and the pollen viability of *Forsythia suspensa* stored for 28 d at −20 ℃ was 12.78%. The pollen viability of fresh *Syringa oblata* pollen vitality was 66.21%, and the pollen viability of *Syringa oblata* stored for 15 d at −20 ℃ was 26.35%. (3) The stigma receptivity of *Chionanthus retusus* presented in different flower development stages: full flowering stage > initial flowering stage > final flowering stage > bud stage, and the best pollination time was full flowering stage. (4) Fluorescence observation of pollen tube elongation after mento pollen pollination revealed that the pollen tubes of both hybrid combinations were able to extend into the ovule for fertilization. (5) After 37 d of pollination, embryos began to form in two hybrid combinations, and after 70 d, the solidified embryo structure began to grow rapidly. After 120 d, the fruit matured. Finally, 121 seeds of the mento pollen pollination in *Syringa oblata* hybrid combination and 63 seeds of the mento pollen pollination in *Forsythia suspensa* hybrid combination were obtained. (6) After 70 d of pollination, 60 hybrid embryos solidified from each hybrid combination were selected for sterile seedling cultivation, resulting in 18 hybrid seedlings from the mento pollen pollination in *Syringa oblata* hybrid combination and 14 hybrid seedlings from the mento pollen pollination in *Forsythia suspensa* hybrid combination. [**Conclusion**] The pollen viability of male flowers in the *Chionanthus retusus* is significantly higher than that of hermaphroditic flowers. Storing the pollen of *Forsythia suspensa* and *Syringa oblata* at −20 ℃ for an extended period ensures the pollination requirements for the *Chionanthus retusus*. The stigma receptivity of *Chionanthus retusus* is strongest during the full flowering stage, and pollination using the mento pollen pollination method can effectively ensure the smooth implementation of distant hybridization and lay the foundation for obtaining new varieties of *Chionanthus retusus* with different flower colors.

Key words: *Chionanthus retusus*; recognition pollen; pollen vitality; stigma receptivity; distant hybridization

流苏树（*Chionanthus retusus*）为木犀科（Oleaceae）流苏树属（*Chionanthus*）落叶乔木，主要分布在中国、日本和朝鲜半岛等地，是我国优良的乡土树种，也是优良的园林绿化树种，盛花期时，满树白花，如覆霜盖雪，故称“四月雪”[1−3]。自然界中，流苏树属植物为雄全异株，有全雄花和两性花 2 种类型，全雄花仅有雄蕊，两性花同时具有雌蕊和雄蕊[4]。

雄全异株在被子植物中所占比例较少，但在木犀科中却比较普遍，例如桂花（*Osmanthus fragrans*）、短丝木犀（*O. serrulatus*）等。在雄全异株植物研究过程中发现，两性株和雄株的花粉活力存在差异。郝日明等[5]在桂花的研究过程中发现：两性株产生的花粉有一定的活力，但较雄性株花粉活力差。杨国栋等[6]在短丝木犀中也发现，雄花花粉活力显著高于两性花。而雄全异株流苏树两性花和全雄花花粉活力的相关研究鲜见报道。

杂交育种是新品种选育的一种重要的手段，在杂交过程中果实坐果依赖双受精过程的完成，其中花粉是植物的雄配子，柱头为花粉的附着及萌发、花粉管的伸长提供基础。花粉活力的保持、柱头的发育及可授性一直是研究者们关注的焦点[7]。柱头的寿命有限，并且因物种不同有很大差异，从花后数小

时到数天不等，如：百香果（*Passiflora edulis*）柱头可授性在开花 7 h 较强，花后 20 h 可授性降低，较弱[8]；而狭瓣辣木（*Moringa stenopetala*）的柱头活性可维持数天[9]。花粉在常温下的寿命更加有限：白丁香[10]（*Syringa oblata* var. *alba*）花粉常温下保存 7 d 后即失去活力；自然条件下，连翘（*Forsythia suspensa*）[11]花粉寿命仅可维持 10 d。因此，探究花粉活力的保持方法和柱头可授性变化规律，对提高杂交育种效率具有重要的实际意义。研究学者进一步发现：属间杂交可以突破种的界限，获得特异性更加突出的新品种，但因父、母本亲和性差，仅能获得少量杂交种，如紫薇属（*Lagerstroemia*）与黄薇属（*Heimia*）属间杂交[12]，以及夏蜡梅（*Sinocalycanthus chinensis*）与光叶红蜡梅（*Calycanthus floridus* var. *oblongifolius*）属间杂交[13]，均获得了极少量杂交种。为克服杂交不亲和性，常在具有生活力的不亲和花粉中混入一些被杀死的亲和花粉，使柱头被蒙骗，不能识别不亲和的花粉，从而实现受精。这种已丧失亲和力的花粉起到蒙导作用，故被称为蒙导花粉，这种方法因而被命名为蒙导授粉法。蒙导授粉法在杂交育种中被广泛应用[14]，如：在牡丹（*Paeonia suffruticosa*）和芍药（*P. lactiflora*）远缘杂交过程中，通过蒙导授粉将杂交种的结实率提高至 21.43%[15]；在三角枫（*Acer buergerianum*）和金沙槭（*Acer paxii*）中，以蒙导授粉法进行杂交育种，从而获得了杂交种[16]。而孙博文等[17]在甜瓜（*Cucumis melo*）远缘杂交后，通过胚培养，有效提高了远缘杂交的结实率，获得了更多的杂种苗。

流苏树作为优良的观赏树种，花色仅见白色，花部的相关研究主要集中在花香等方面[18]，其花粉活力、柱头的可授性和杂交育种等相关方面的研究鲜见报道[19]。本研究将对流苏树全雄花和两性花的花粉活力进行检测；并以流苏树两性株‘雪早花’（*Chionanthus retusus* ‘Xuezaohua’）为母本，探究其柱头可授性的变化规律，以丁香（*Syringa oblata*）和连翘（*Forsythia suspensa*）的花粉为父本，采用蒙导法进行属间杂交，观察花粉管的伸长，统计坐果率，以及观察杂种胚和果实表型，后进行杂种苗培育，旨在探究流苏树属间杂交的可行性，为流苏树的花色改良奠定基础，为加快流苏树的种质创新进程提供依据。

1 材料与方法

1.1 花粉材料

2021—2023 年，3 月 28—31 日于山东农业大学泮河校区收集连翘花粉；4 月 8—10 日于泰山林科院收集丁香花粉；4 月 20 日左右于山东农业大学泮河校区采取流苏树全雄花的花粉，于山东农业大学植保站采集流苏树‘雪早花’两性花花粉；干燥后冻存，用于后续试验。流苏树全雄花和两性花的解剖结构如图 1 所示。



A. 全雄花解剖图；B. 两性花解剖图。比例尺为 5 mm。A, anatomical map of all male flowers; B, anatomical map of hermaphrodite flowers. The scale is 5 mm.

图 1 流苏树全雄花和两性花解剖图

Fig. 1 Anatomical map of all male and hermaphrodite flowers of *Chionanthus retusus*

1.2 研究方法

1.2.1 不同温度条件下花粉活力测定

参照杨延红等[20]和纪文跃等[21]方法，离体培养连翘、丁香的花粉，设置室温、4 ℃、−20 ℃ 3 个温度条件，在 0～27 d 的时间内，每隔 3 d 各取 3 个温度条件下的花粉进行花粉活力测定。同样参照何艳霞等[4]对流苏树全雄花花粉和两性花‘雪早花’花粉离体培养，温度设置如上，在 0～18 d 的连续观察中，每隔 3 d 各取 3 个温度条件下的花粉进行花粉活力测定，每次设置 3 个重复，每个重复观察 5 个视野。花粉活力为萌发花粉数量占花粉总数量的百分比，并取 3 年测定结果的均值。

1.2.2 ‘雪早花’柱头的可授性检测

前期研究[22]发现：流苏树两性株‘雪早花’花期分为花蕾期（4 月 10—13 日）、始花期（4 月 15—17 日）、盛花期（4 月 19—23 日）、末花期（4 月 25—30 日）

4 个时期。每天 09：00—11：00，采集‘雪早花’花蕾期 1～2 d，始花期 1～3 d，盛花期 1～4 d，末花期 1 d 的流苏树小花，每次采集 20 个柱头，后置于塑封袋中，带至实验室即刻进行柱头可授性检测。参照王其刚等[23]和孙建等[24]方法，利用联苯胺–过氧化氢反应液检测柱头可授性，柱头可授性强弱依照柱头周围的反应液产生的气泡数量判断，并分为 4 级（1 级标记为−/+；2 级标记为+；3 级标记为++；4 级标记为+++）。

1.2.3　杂交组合和对照组合的设定

连续 3 年以‘雪早花’为母本，分别以丁香混合花粉（高温灭活的母本亲和花粉与丁香花粉质量比为 1∶1）和连翘混合花粉（高温灭活的母本亲和花粉与连翘花粉质量比为 1∶1）为父本，进行蒙导授粉，记为杂交组合 N1 和 N2，并设置 2 个对照组合 CK1 和 CK2。N1 具体为：母本花药尚未开裂，柱头明亮时去雄，随即授丁香混合花粉，重复 3 d，共授粉 2 800 朵小花。N2 具体为：母本花药尚未开裂，柱头明亮时去雄，随即授连翘混合花粉，重复 3 d，共授粉 2 000 朵小花。CK1 具体为：母本不去雄，套袋，自花授粉，共授粉套袋保护 700 朵小花。CK2 具体为：不去雄，不套袋，开放式传粉，挂牌标记，共选择 300 朵小花。

1.2.4　4 种组合的花粉管伸长观测

连续 3 年分别采集 4 个组合（N1、N2、CK1、CK2）中授粉 3 d 后 6、8、10、16、24、48、72 h 的雌蕊，每个时期分别采集 10 个雌蕊，用 FAA（50% 乙醇、冰醋酸、甲醛体积比为 18∶1∶1）固定 24 h 以上，4 ℃ 冰箱保存。参照薛志霞等[25]的方法并做了部分优化，将固定好的雌蕊依次放入 70%、50%、30% 浓度的乙醇处理 5 min，后用蒸馏水清洗 3 次，浸于 2 mol/L NaOH 溶液中，置于 60 ℃ 水浴锅中软化 30 min，再用蒸馏水清洗 3 次，用滤纸吸去多余的水分，放入 0.1% 苯胺蓝溶液中染色。将染色完全的材料去除花萼后压片，在荧光显微镜下观察柱头上的花粉萌发和花粉管生长情况，并拍照。每个组合每次选取 5 个雌蕊，3 次重复。观测结果取 3 年的均值。

1.2.5　4 种组合的杂种胚发育、果实表型观察和坐果率统计

连续 3 年，对 4 个组合（N1、N2、CK1、CK2）中授粉 7、14、21、30、60、90、120 d 的果实表型特征进行拍照记录，并对 2 种杂交组合授粉 37～120 d 后杂种胚的变化过程进行观察，120 d 时，对 4 个组合的坐果率进行统计，坐果率为坐果数占总授粉花朵数的百分比，结果取 3 年坐果率的均值。

1.2.6　2 种杂交组合杂种苗培育

参照李旭新等[26]的方法，于授粉后 70 d 左右，杂种胚开始固化时，取 2 种杂交组合产生的杂交果实去除果肉，在流水下冲洗 30 min，然后转移到超净台中，用 75% 的乙醇浸泡 1 min，浸泡结束后用无菌水冲洗 4～5 次，再用 0.1% 升汞浸泡 5 min，浸泡结束后用无菌水冲洗 4～5 次，摊开晾在无菌滤纸上吸干水分。用无菌解剖刀和镊子剥除种壳、种皮及胚乳，获取杂种胚。每个杂交组合采集 60 个胚。设置空白培养基和加入水解酪蛋白（0、300 mg/L）的培养基，将无菌的杂种胚分别接入培养基中，每瓶接 3 个，设置 3 个重复，共 40 瓶。统计胚的生长情况、杂种苗的成苗率，并将杂种苗进行移植驯化。

1.3　数据统计分析

采用 Microsoft Excel 2019 软件进行数据分析和图表的绘制；SPSS Statistics 20.0 软件进行统计分析，包括单因素方差分析及多重比较。

2　结果与分析

2.1　流苏树两性花和全雄花花粉活力的差异分析

不同温度条件、不同贮藏时间下流苏树两性花、全雄花 2 类花粉的活力变化见表 1，其中，在同一温

表 1　不同温度条件下贮藏不同天数两性花和全雄花的花粉活力

Tab. 1　Pollen vitality of hermaphrodite and male flowers stored for different days under varied temperature conditions

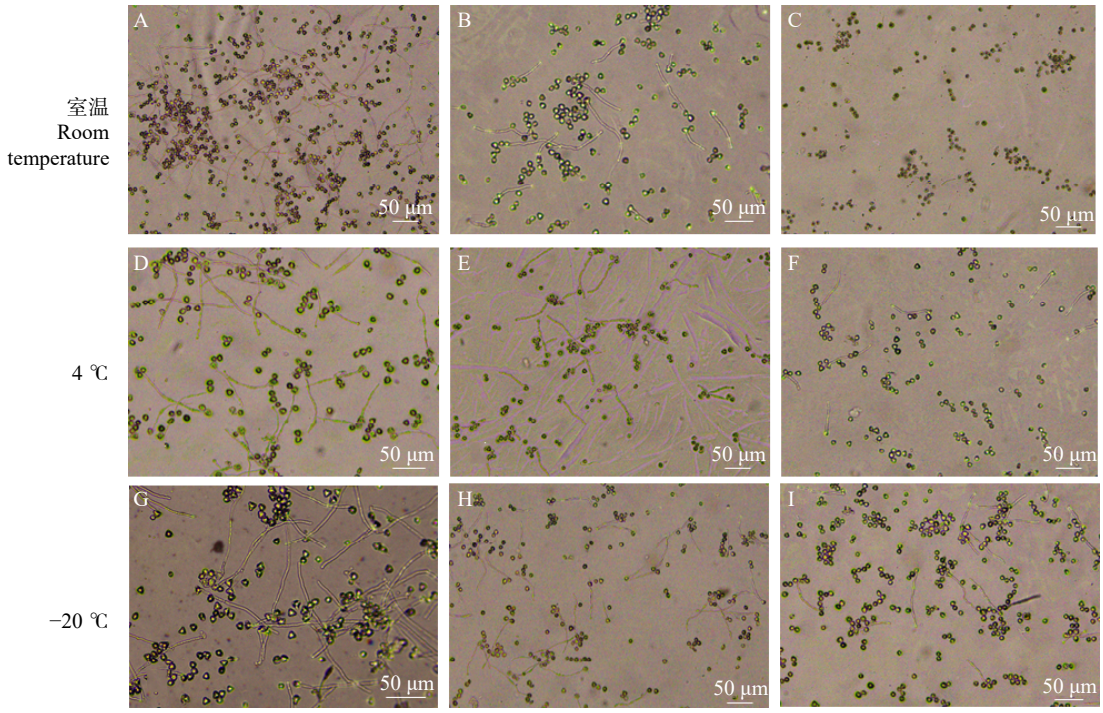
贮藏天数 Storage days	花粉活力 Pollen viability/%					
	室温 Room temperature		4 ℃		−20 ℃	
	两性花 Hermaphrodite flower	全雄花 All male flowers	两性花 Hermaphrodite flower	全雄花 All male flowers	两性花 Hermaphrodite flower	全雄花 All male flowers
0	42.94 ± 3.30b	55.91 ± 1.03a	42.94 ± 3.30b	55.91 ± 1.03a	42.94 ± 3.30d	55.91 ± 1.03a
3	22.71 ± 2.84d	31.04 ± 2.68c	31.63 ± 2.19c	41.48 ± 2.69b	37.08 ± 2.63e	50.77 ± 2.12b
6	14.24 ± 1.83e	22.70 ± 1.06d	22.12 ± 1.59d	32.22 ± 1.42c	31.72 ± 3.18f	46.71 ± 2.52c
9	6.67 ± 0.76f	13.11 ± 0.93e	14.00 ± 2.77e	22.92 ± 2.37d	25.49 ± 1.42g	40.18 ± 3.94d
12	0 ± 0g	7.03 ± 0.02f	10.49 ± 1.48fg	12.87 ± 0.98ef	22.19 ± 1.00h	35.49 ± 2.94e
15	0 ± 0g	0 ± 0g	0 ± 0h	7.51 ± 1.00g	17.72 ± 1.90i	21.93 ± 1.93h
18			0 ± 0h	0 ± 0h	10.27 ± 1.70j	15.27 ± 0.21i

注：不同小写字母表示同一温度、同一贮藏天数下两类花粉活力差异显著（$P < 0.05$）。Note: different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level in the vitality of two types of pollen under the same temperature and storage days.

度同一贮藏时间下，全雄花的花粉活力显著高于两性花花粉活力。室温条件下，贮藏 0 d 的两性花、全雄花 2 类花粉活力分别为 42.94% 和 55.91%，分别在贮藏 12 d、15 d 后失去活力；4 ℃ 条件下，两性花、全雄花 2 类花粉分别贮藏 15 d、18 d 后失去活力；而−20 ℃ 条件下能够有效保存花粉的活力，贮藏 18 d 的两性花、全雄花 2 类花粉活力仍高达 10.27%、15.27%。以全雄花花粉萌发动态变化为例（图 2），室温条件下，贮藏 0 d 时视野内有大量花粉萌发，贮藏 9 d 花粉萌发数几乎为 0（图 2C），4 ℃ 条件下贮藏 15 d 后萌发数近乎为 0（图 2F），−20 ℃ 条件下贮藏 18 d 仍可见部分花粉萌发（图 2I）。

2.2 连翘和丁香的花粉活力测定

为保证流苏树花期不同属间杂交的顺利进行，对父本（连翘和丁香）不同温度、不同贮藏时间条件下的的花粉活力进行观测，结果（表 2）显示：在连翘



A ~ C. 室温下贮藏 0、3、9 d 的花粉萌发情况；D ~ F. 4 ℃ 下贮藏 9、12、15 d 的花粉萌发情况；G ~ I. −20 ℃ 下贮藏 12、15、18 d 的花粉萌发情况。A–C, pollen germination status after 0, 3, and 9 d of storage at room temperature; D–F, pollen germination status after 9, 12, and 15 d of storage at 4 ℃; G–I, pollen germination after storage at −20 ℃ for 12, 15, and 18 d.

图 2 不同贮藏温度下全雄花花粉萌发动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of pollen germination of Male flowers under different storage temperatures

表 2 不同温度条件下贮藏不同天数连翘和丁香的花粉活力

Tab. 2 Pollen vitality of *Forsythia suspensa* and *Syringa oblata* stored for different days under varied temperature conditions

贮存天数 Storage days	花粉活力 Pollen viability/%					
	室温 Room temperature		4 ℃		−20 ℃	
	连翘 *Forsythia suspensa*	丁香 *Syringa oblata*	连翘 *Forsythia suspensa*	丁香 *Syringa oblata*	连翘 *Forsythia suspensa*	丁香 *Syringa oblata*
0	65.72 ± 3.65a	66.21 ± 2.79a	65.72 ± 3.65a	66.21 ± 2.79a	65.72 ± 3.65a	66.21 ± 2.79a
3	42.30 ± 2.10b	38.44 ± 3.03b	58.52 ± 3.65b	57.68 ± 3.67b	62.57 ± 4.12ab	65.33 ± 5.21ab
6	10.10 ± 0.92c	9.20 ± 0.75c	45.71 ± 2.67c	40.56 ± 2.79c	55.30 ± 2.63bc	56.12 ± 3.65bc
9	0 ± 0d	0 ± 0d	27.60 ± 1.02d	30.50 ± 0.65d	46.91 ± 1.65cd	40.78 ± 3.01c
12			12.32 ± 0.69e	15.60 ± 1.01e	35.16 ± 1.32cde	37.64 ± 2.13cd
15			9.32 ± 0.75f	8.96 ± 0.12f	27.92 ± 1.12de	26.35 ± 1.56de
18			0 ± 0g	0 ± 0g	22.60 ± 1.63def	20.45 ± 1.34ef
21					16.45 ± 0.98ef	17.60 ± 1.05efg
24					14.30 ± 0.91efg	12.02 ± 0.85fgh
27					12.78 ± 0.74fh	10.35 ± 0.98ghi

注：不同小写字母表示同一温度下同一物种花粉贮藏不同天数活力差异显著（$P < 0.05$）。Note: different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level in vitality of the same pollen stored for different days at the same temperature.

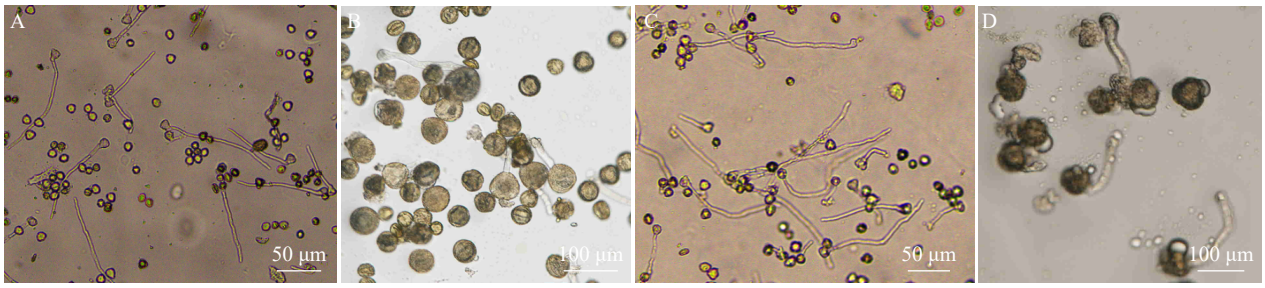
中，室温条件下，贮存 0 d 的连翘花粉活力为 65.72%，贮藏 6 d 活力降至 10.1%，4 ℃ 条件下贮藏 15 d 活力降至 9.32%，−20 ℃ 条件下贮藏 27 d 后花粉活力仍有 12.78%，贮藏 28 d 视野中仍见部分花粉萌发（图 3A ~ B），满足流苏树与连翘属间杂交授粉的需要；在丁香中，室温条件下，贮存 0 d 的丁香花粉活力为 66.21%，贮藏 6 d 活力降为 9.20%，4 ℃ 条件下贮藏 15 d 后降至 8.96%，−20 ℃ 条件下贮藏 15 d 后花粉活力仍为 26.35%，视野中可见大部分花粉萌发（图 3 C ~ D），同样保证了流苏树与丁香属间杂交授粉的需要。

2.3　‘雪早花’柱头的可授性变化分析

表 3 显示，‘雪早花’的柱头可授性整体表现出随着花期先升高后降低的趋势。具体表现为：花蕾期 1 d、2 d 柱头呈浅绿色，浸入检测液几乎无气泡，柱头可授性为 1 级（标记为−/+）（图 4A ~ B，表 3）；始花期 1 d、2 d、3 d，柱头颜色呈绿色，产生气泡数量变多，柱头可授性增加，为 2 级（标价为+）（图 4C ~ E，表 3）；盛花期 1 d、2 d、3 d，柱头颜色变黄，产生气泡数量增至最多，柱头可授性到达最高，为 4 级（标记为+++）（图 4F ~ I，表 3）；末花期 1 d，柱头变为黄褐色，产生的气泡减少，可授性降为 1 级（标记为+）（图 4K ~ L，表 3）。由此可知：‘雪早花’在盛花期的柱头可授性最高，在此时期蒙导授粉，能够进一步保证流苏树不同属间杂交的成功。

2.4　杂交组合和对照组合花粉管的伸长变化

蒙导法授粉后，观察 2 种杂交组合和 2 种不同对照组合花粉管伸长情况，结果见表 4 和图 5。授粉 6 h 后，CK2 花粉管即开始伸长，花粉管数量为 30 个（图 5 D1，表 4）。授粉后 8 h，其他 3 个组合的花粉管才开始伸长（图 5 A1 ~ C1，表 4）。授粉 16 h 后，4 种不同组合花粉管继续伸长且数量均达到最大值，数量分别为 35 条、25 条、13 条、45 条（图 5 A2 ~ D2，表 4）。授粉 24 h 后，部分花粉管停止伸长（图 A3 ~ D3），CK2 有 26 个花粉管伸长至雌蕊 1/2 处（表 4，图 5 D3）；N1 组合次之，有 20 个花粉管伸长至 1/4 处（表 4，图 6 A3）；N2 组合花粉管伸长较慢，有 15 条花粉管伸长至 1/8 处（表 4，图 6 B3）；CK1 组合花粉管伸长最慢，仅有 10 条伸长至雌蕊 1/10 处（表 4，图 5 C3）。72 h 后观察，4 个组合均有少量花粉管伸长至胚珠，完成受精，分别为 15 条、10 条、5 条和 20 条（表 4，图 5A4 ~ D4）。由此可见，4 个组合中，均有部分花粉管在 24 h 后停止伸长，无法至胚珠完成受精。总体来说，伸长至胚珠的花粉



A ~ B. −20 ℃ 条件下贮藏 28 d 的连翘花粉活力；C ~ D. −20 ℃ 条件下贮藏 28 d 的丁香花粉活力。A−B, the pollen vitality of *Forsythia suspensa* stored at −20 ℃ for 28 d; C−D, the pollen vitality of *Syringa oblata* stored at −20 ℃ for 28 d.

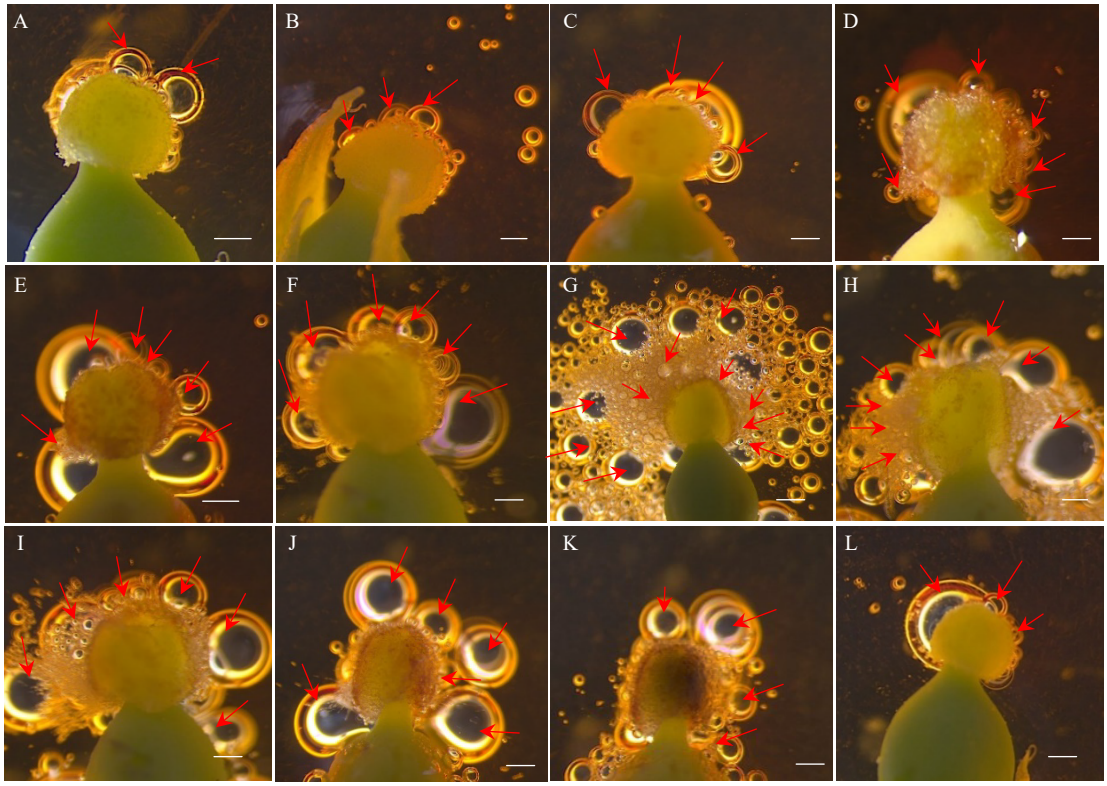
图 3　−20 ℃ 条件下贮藏 28 d 的连翘和贮藏 15 d 的丁香的花粉活力

Fig. 3　Pollen vitality of *Forsythia suspensa* stored for 28 d and *Syringa oblata* stored for 15 d at −20 ℃

表 3　不同开花时期‘雪早花’花柱头颜色和可授性等级

Tab. 3　Style head colors and acceptability levels of *Chionanthus retusus* ‘Xuezaohua’ under different flowering periods

开花时期 Flowering period		柱头颜色 Stigma color	柱头可授性 Stigma receptivity
花蕾期 Budding stage	1 d	浅绿色 Light green	−/+
	2 d	浅绿色 Light green	−/+
始花期 Initial flowering stage	1 d	绿色 Green	+
	2 d	绿色 Green	++
	3 d	绿色 Green	++
盛花期 Full flowering stage	1 d	黄绿色 Yellow green	+++
	2 d	黄绿色 Yellow green	+++
	3 d	黄色 Yellow	+++
	4 d	淡黄褐色 Light tan	++
末花期 Final flowering stage	1 d	黄褐色 Tan	+



A ~ B. 花蕾期 1、2 d; C ~ E.始花期 1、2、3 d; F. 盛花期 1 d; G ~ H. 盛花期 2 d; I ~ J. 盛花期 3、4 d; K ~ L. 末花期 1 d。箭头指向表示气泡。A−B, budding stage 1, 2 d; C−E, initial flowering stage 1, 2, 3 d; F, full flowering stage 1 d; G−H, full flowering stage 2 d; I−J, full flowering stage 3, 4 d; K−L, final flowering period 1 d. Arrows pointing to indicate bubbles.

图 4 ‘雪早花’不同花期的柱头可授性

Fig. 4 Stigma acceptability of *Chionanthus retusus* ‘Xuezaohua’at different flowering stages

表 4 杂交组合和对照组合花粉管伸长情况

Tab. 4 Elongation of pollen tubes in hybrid and control combinations

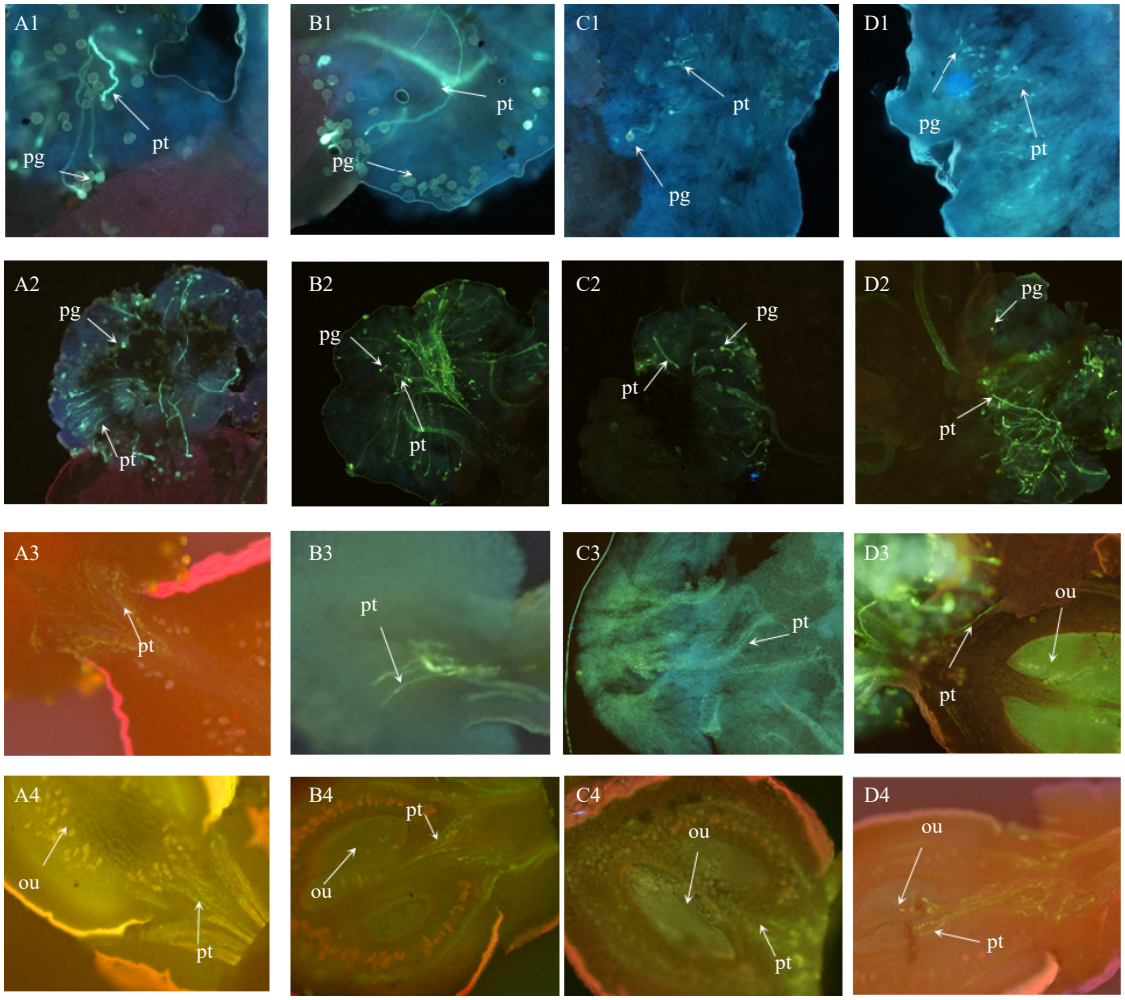
授粉时间 Pollination time/h	流苏树 × 丁香混合花粉 *Chionanthus retusus* × *Syringa oblata* mixed pollen（N1）		流苏树 × 连翘混合花粉 *Chionanthus retusus* × *Forsythia suspense* mixed pollen（N2）		自花传粉 Self pollination（CK1）		自然状态下 In natural state（CK2）	
	伸长位置 Extended position	该位置花粉管数量/条 Number of pollen tubes at this location/piece	伸长位置 Extended position	该位置花粉管数量/条 Number of pollen tubes at this location/piece	伸长位置 Extended position	该位置花粉管数量/条 Number of pollen tubes at this location/piece	伸长位置 Extended position	该位置花粉管数量/条 Number of pollen tubes at this location/piece
6	n		n		n		1/16	30
8	1/15	25	1/16	16	1/18	5	1/10	36
10	1/12	30	1/15	20	1/16	12	1/8	40
16	1/8	35	1/10	25	1/12	13	1/6	45
24	1/4	20	1/8	15	1/10	10	1/2	26
48	1/2	16	1/4	12	1/4	5	3/4	24
72	1	15	1	10	1	5	1	20

注：n. 未萌发；分数表示花粉管长度与雌蕊长度的比值。Notes: n, not germinating; the fraction represents the ratio of pollen tube length to pistil length.

管数量和花粉管的伸长速度均为 CK2 > N1 > N2 > CK1，蒙导法授粉保证了 N1 和 N2 的花粉管正常伸长，并达胚珠授精，完成了不同属间的远缘杂交。

2.5 杂交组合和对照组合授粉过程及果实表型特征的变化和坐果率统计分析

授粉后对 2 种杂交组合和 2 种对照组合进行持续观察，坐果率和胚、果实的变化见表 5 和图 6 ~ 图 7。表 5 显示：N1 共授粉 2 800 朵小花，N2 授粉 2 000 朵小花，CK1 授粉 700 朵小花，CK2 授粉 300 朵小花。4 个组合授粉时子房均呈黄绿色，柱头饱满呈黄色（图 6 A1 ~ D1），授粉后 7 d 柱头变褐，果实数量未发生变化，仍为 100%，（表 5，图 6 A2 ~ D2）；授



A1 ~ A4. N1 授粉后 8、16、24、72 h 的花粉管伸长情况；B1 ~ B4. N2 授粉后 8、16、24、72 h 的花粉管伸长情况；C1 ~ C4. CK1 授粉后 8、16、24、72 h 的花粉管伸长情况；D1 ~ D4. CK2 授粉后 6、16、24、72 h 的花粉管伸长情况。pg. 花粉粒；pt. 花粉管；ou. 胚珠。A1−A4, pollen tube elongation at 8, 16, 24, and 72 h after N1 pollination; B1−B4, pollen tube elongation at 8, 16, 24, and 72 h after N2 pollination; C1−C4, pollen tube elongation at 8, 16, 24, and 72 h after CK1 pollination; D1−D4, pollen tube elongation at 6, 16, 24, and 72 h after CK2 pollination. pg, pollen grains; pt, pollen tubes; ou, ovules.

图 5　2 种杂交组合和 2 种对照组合花粉管伸长情况

Fig. 5　Elongation of pollen tubes in two hybrid combinations and two control combinations

表 5　两种杂交组合和两种对照组合果实数量和坐果率

Tab. 5　Number and setting rate of fruits in two hybrid combinations and two control groups

授粉天数 Pollination days	参数 Parameter	N1	N2	CK1	CK2
7	果实总粒数 Total number of fruits	2 800	2 500	700	300
	坐果率 Fruit setting rate/%	100	100	100	100
14	果实总粒数 Total number of fruits	1 732	1 368	368	213
	坐果率 Fruit setting rate/%	61.86	54.72	52.57	71.00
21	果实总粒数 Total number of fruits	1 279	656	192	137
	坐果率 Fruit setting rate/%	45.68	26.24	27.43	45.67
30	果实总粒数 Total number of fruits	380	228	80	74
	坐果率 Fruit setting rate/%	13.57	9.12	11.43	24.67
60	果实总粒数 Total number of fruits	259	161	26	30
	坐果率 Fruit setting rate/%	9.25	6.44	3.71	10.00
90	果实总粒数 Total number of fruits	189	79	22	25
	坐果率 Fruit setting rate/%	6.75	3.16	3.14	8.33
120	果实总粒数 Total number of fruits	121	63	13.37	24.51
	坐果率 Fruit setting rate/%	4.31	2.51	1.91	8.17



A1 ~ A6. 授粉后 0、7、14、21、60 和 120 d N1 果实表型变化；B1 ~ B6. 授粉后 0、7、14、21、60 和 120 d N2 果实表型变化；C1 ~ C6. 授粉后 0、7、14、21、60 和 120 d CK1 果实表型变化；D1 ~ D6. 授粉后 0、7、14、21、60 和 120 d CK2 果实表型变化。A1−A6, phenotypic changes in N1 fruits at 0, 7, 14, 21, 60, and 120 days after pollination; B1−B6, phenotypic changes in N2 fruit at 0, 7, 14, 21, 60, and 120 days after pollination; C1−C6, phenotypic changes in CK1 fruit at 0, 7, 14, 21, 60, and 120 days after pollination; D1−D6, phenotypic changes in CK2 fruit at 0, 7, 14, 21, 60, and 120 days after pollination.

图 6　2 种杂交组合和 2 种对照组合果实表型特征变化

Fig. 6　Changes in fruit phenotypic characteristics of two hybrid combinations and two control combinations



图 7　N1（A）、N2（B）2 种杂交组合授粉 37 d 后胚变化

Fig. 7　Embryo changes in N1 (A), N2 (B) two hybrid combinations after 37 d of pollination

粉 7 ~ 60 d 后果实开始膨大，且出现大量落果，果实数量急剧下降，坐果率持续降低（图 6 A2 ~ D5，表 5）；至授粉 120 d 后 N1、N2 的果实成熟呈蓝紫色（图 6 A6，B6），N1 剩余果实 121 粒，坐果率为 4.13%，

N2 剩余果实 63 粒，坐果率为 2.51%；CK1 下降最快，坐果率仅有 1.91%，CK2 坐果率为 8.17%（表 5）。观察 N1 和 N2 两个组合杂种胚的变化发现：二者在授粉 37 d 左右开始形成胚，63 d 左右杂种胚仍为水泡状，70 d 左右胚开始固化且逐渐膨大，120 d 左右胚发育成熟（图 7A ~ B）。

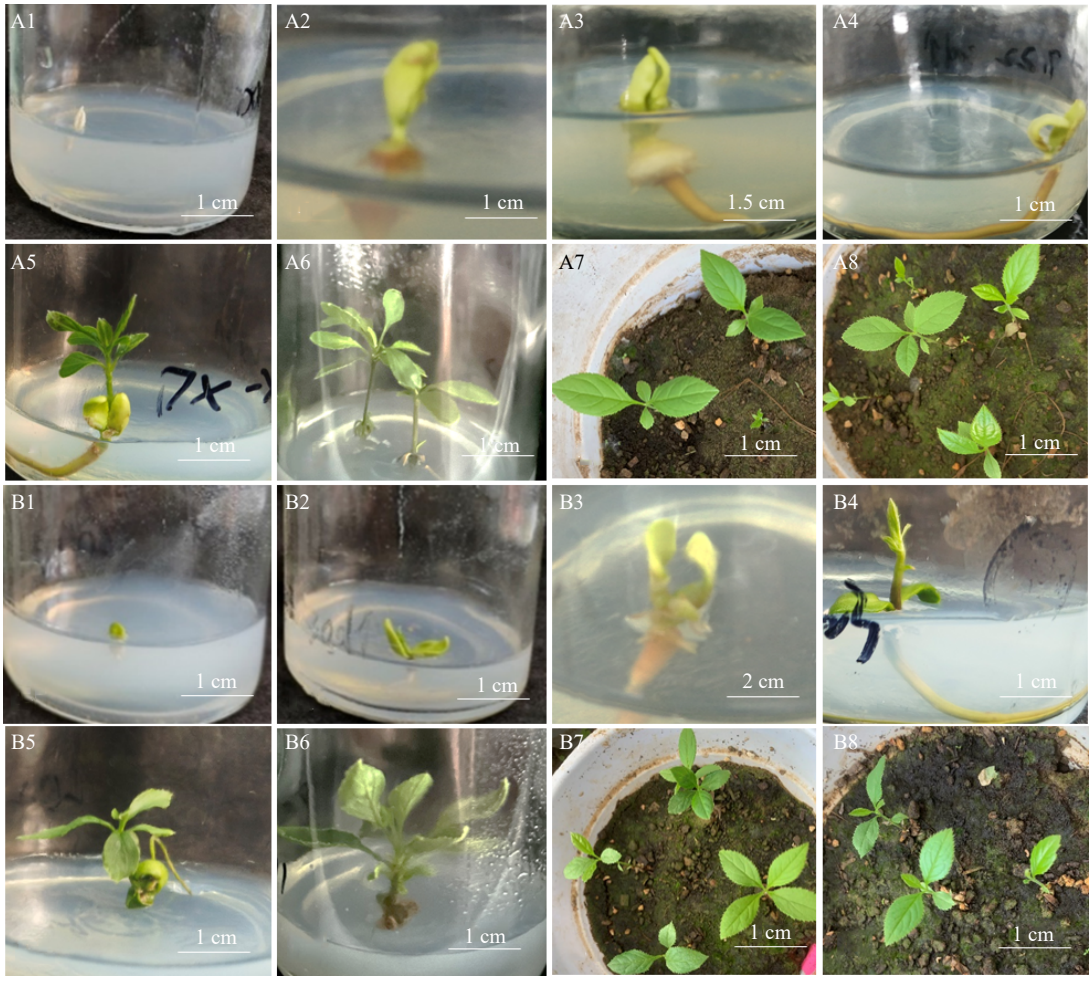
2.6　杂交组合的杂种苗培育

将授粉 70 d 后的 2 个杂交组合的胚接种培养基中，进行杂种瓶苗培育。表 6 显示：N1 的杂种胚在空白培养基中生根率为 50%、成苗率为 10%，添加水解酪蛋白后生根率升至 100%，成苗率升至 40%；N2 的杂种胚在空白培养基中生根率为 75%、成苗率为 10%，在添加水解酪蛋白的培养基中生根率上升至 100%，成苗率升至 30%。观察 2 个组合杂种胚的生长情况见图 8，培养 30 d 后杂种胚子叶变绿（图 8 A1，B1）；35 d 后子叶张开，基部开始形成愈伤

表 6　2 种培养基中杂种胚培育情况

Tab. 6　Hybrid embryos cultured in two kinds of culture medium

编号 No.	配方 Formula		杂种胚数量 Quantity of hybrid embryo	生根率 Rooting rate/%	成苗率 Seedling rate/%	杂种苗数量 Number of hybrid seedling
	基本培养 Basic training	水解酪蛋白质量浓度 Hydrolyzed casein mass concentration/（mg·L^{-1}）				
N1-1	WPM	0	20	50.0	10	2
N1-2	WPM	300	40	100.0	40	16
N2-1	WPM	0	20	75.0	10	2
N2-2	WPM	300	40	100.0	30	12



A1 ~ A6. 在添加水解酪蛋白培养基中培育 30、35、40、50、60 和 80 d 的 N1 杂种胚生长情况和生根情况；A7 ~ A8. N1 组合杂种苗移植驯化情况。B1 ~ B6. 在添加水解酪蛋白培养基中培育 30、35、40、50、60 和 80 d 的 N2 杂种胚生长情况和生根情况；B7 ~ B8. N2 组合杂种苗移植驯化情况。A1−A6, growth and rooting of hybrid embryos of N1 cultured in hydrolytic casein medium for 30, 35, 40, 50, 60, and 80 d; A7−A8, transplantation and domestication of N1 hybrid seedlings. B1−B6, growth and rooting of hybrid embryos of N2 cultured in hydrolyzed casein medium for 30, 35, 40, 50, 60 and 80 d; B7−B8, transplantation and domestication of N2 hybrid seedlings.

图 8　杂交种培育动态变化

Fig. 8　Dynamic changes of hybrid embryo rescue bottle seedlings

(图 8 A2，B2)；40 d 后开始生根(图 8 A3，B3)；50 d 后长出真叶(图 8 A4，B4)；60 d 后幼苗不断生长，长出 3～5 片叶子(图 8 A5，B5)；培养 80 d 后，待瓶苗长至 4～6 cm 时(图 8 A6，B6)，进行移植驯化(图 8A7～A8，图 8 B7～B8)，最终获得 N1 组合杂种苗 18 株，N2 组合杂种苗 14 株。结果表明：添加水解酪蛋白，可有效打破杂种胚的休眠；同时选用未成熟的胚培育杂种苗，缩短了获得杂种苗的时间。

3 讨　论

柱头是有性生殖过程中的重要元件，是识别花粉和花粉发生水合、萌发的场所，研究柱头的可授性，探明最佳的可授期，不仅能够提高坐果率，对授粉的效率也起着重要的影响，在实际生产和杂交育种过程中具有重要的意义。琉球荚蒾(*Viburnum suspensum*)柱头可授性仅持续到花后 1 d[27]，大花铁线莲(*Clematis patens*)可保持到开花第 9 天[28]，大花蕙兰(*Cymbidium hybridum*)的柱头可授性可持续到花后第 45 天[29]。本研究中，‘雪早花’的柱头在花蕾期 1～2 d 已具有可授性，盛花期 1～3 d 时柱头的可授性最高，在盛花期 4 d 柱头的可授性开始降低，这与何淼等[30]在辽吉侧金盏花(*Adonis ramose*)中的研究结果相同。除了柱头可授性外，花粉的活力也对杂交育种过程中坐果产生影响，花粉活力的持续时间与物种和品种紧密相关，辽吉侧金盏菊[30]在室温条件下花粉活力仅可持续数天，黄连(*Lysimachia davurica*)[31]在开花后 2 h 即失去花粉活性。花粉活力除受到自身遗传特性，也受到外界因素的影响。一般情况下，花粉的活力随着保存时间的延长而降低，不同贮藏温度条件下花粉生活力的下降程度和快慢不同[32]，油棕(*Elaeis guineensis*)花粉在−20 ℃ 温度下可有效贮藏 1 年[33]，椰枣(*Phoenix dactylifera*)花粉可以在−20 ℃ 真空保存 1 年以上[34]。本研究对室温、4 ℃、−20 ℃ 条件下保存的花粉分时间段进行生活力测定，结果表明：流苏树、连翘和丁香的花粉活力均随贮藏时间的延长而降低，且花粉贮藏时间不同，活力差异较大。对比 3 种贮存方式发现：温度越高，3 种花粉的活力下降越快，−20 ℃ 保存效果最好。在−20 ℃ 条件下保存的连翘和丁香花粉，有效解决了与母本流苏树之间花期存在差异的问题。

远缘杂交最大的难题是属间杂交的不亲和性，其授粉受精过程中常出现很强的生殖隔离，生殖隔离可能发生在各个阶段，如花粉管不能进入柱头，无法到达子房完成受精，胚发育不良，杂种胚死亡等[35]。相关研究表明：蒙导授粉可以有效克服受精前障碍，通过失活的与不亲和花粉混合授粉，使柱头不能识别不亲和花粉，从而使不亲和花粉管能穿过柱头进入子房，完成受精[36]。利用蒙导授粉法，苹果(*Malus pumila*)与西洋梨(*Pyrus communis*)杂交过程中，杂交结实率提高了近一倍[37]。核桃(*Juglans regia*)的杂交过程中，利用失活的核桃花粉蒙导核桃雌花，可大大降低落果率[38]。槭属(*Acer*)植物远缘杂交中，利用蒙导授粉保持了较高的坐果率，并获得了杂种苗[39]。在探究桂花杂交育种过程中，发现人工授粉可以提高桂花杂交种的结实率[40]。在百合(*Lilium* spp.)的远缘杂交中，蒙导授粉法也被证实在百合品种黄色风暴(*L.* ‘yelloween’)与精粹(*L.* ‘elite’)之间杂交表现最好[41]。油橄榄(*Olea europaea*)授粉不同品种的花粉，可以提高坐果率[42]。本研究中：自花传粉(CK1)的柱头上花粉萌发量少，花粉管伸长速度慢，且坐果率也最低；自然状态下组合(CK2)的柱头上花粉萌发数最多，花粉管的伸长速度最快，且坐果率最高；蒙导授粉后组合 N1 和 N2 的花粉在柱头上正常萌发，花粉管通过柱头伸入胚珠完成受精，且 2 种杂交组合的花粉萌发数、花粉管的伸长速度和坐果率，均明显高于自花授粉。由此推测：在雄全异株流苏树的杂交过程中，蒙导授粉可促进不亲和父本花粉管的萌发和伸长，从而提高远缘杂交的坐果率。在远缘杂交中，杂种后代易出现胚败育或退化，另外，种子易出现休眠期长、种子萌发率低、成苗困难和育种周期长等问题。随着现代技术的发展，离体胚培养成为一种有效的解决手段[43]。离体胚培养技术在百合[44]、月季[45]等观赏植物及果树[46]等经济植物的远缘杂交育种中应用效果良好，获得了用传统播种方法难以获得的杂交后代。庞曼等[47]在阿月浑子(*Pistacia vera*)与黄连木(*Pistacia chinensis*)授粉后 100 d 和 120 d，培育杂种幼胚，均获得杂种苗。Ren 等[48]将木茼蒿(*Argyranthemum frutescens*)与假匹菊(*Rhodanthemum gayanum*)远缘杂交的杂种胚成功培养成苗。试验中选用 N1、N2 未成熟的杂种胚进行离体培养，成苗率分别为 30%、40%，最终获得 N1 杂种苗 18 株和 N2 杂种苗 16 株。可见，离体培养在流苏树的远缘杂交中对保证杂种的成苗率也起到一定的作用，但其技术体系仍需进一步优化。本研究在蒙导授粉后获得杂种苗，其杂交后代的育性和花色是否存在差异等将是我们接下来重点研究的问题。

4 结　论

流苏树为雄全异株，其全雄花的花粉活力(55.91%)明显高于两性花的花粉活力(42.94%)；‘雪早花’的柱头可授性在盛花期时最高；在−20 ℃ 下贮藏连翘和丁香的花粉，于流苏树花期花粉活力分别

为 12.78%、26.35%，仍能保证授粉的需要；授粉后对花粉管的伸长进行荧光观察发现，蒙导授粉后杂交组合花粉管能够伸入胚珠完成授精。授粉 70 d 后胚开始固化时，采集胚进行杂种苗培育，能够有效打破胚的休眠，可成功得到杂种苗，并缩短成苗的时间，有待培育出不同花色的流苏树新品种。

参 考 文 献

［1］ 赵天然, 车路平, 谢会成, 等. 流苏树对 NaCl 的生理响应及耐盐阈值分析 [J]. 植物生理学报, 2022, 58(10): 1935−1945.
Zhao T R, Che L P, Xie H C, et al. Physiological response and salinity tolerance threshold analysis of *Chionanthus retusus* to NaCl stress[J]. Plant Physiology Journal, 2022, 58(10): 1935−1945.

［2］ 杨永平. 流苏树与美国流苏树园林绿化前景探讨 [J]. 安徽农业科学, 2022, 50(6): 91−93.
Yang Y P. The primary exploration of landscape engineering prospect for *Chionanthus retusus* and *C. virginicus* (Oleaceae)[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2022, 50(6): 91−93.

［3］ 周文玲, 李际红, 曲凯, 等. 珍稀树种流苏树繁殖技术的研究进展 [J]. 农学学报, 2020, 10(4): 36−41.
Zhou W L, Li J H, Qu K, et al. Research progress on reproduction techniques of rare tree species of *Chionanthus retusus* in China: research progress[J]. Journal of Agriculture, 2020, 10(4): 36−41.

［4］ 何艳霞, 孔令茜, 陈鹏臻, 等. 雄全异株流苏树的花部特征及繁育系统研究 [J]. 生态学报, 2017, 37(24): 8467−8476.
He Y X, Kong L Q, Chen P Z, et al. Floral syndrome and reproductive strategy of an androdioecious species, *Chionanthus retusus* (Oleaceae)[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(24): 8467−8476.

［5］ 郝日明, 赵宏波, 王金虎, 等. 野生桂花繁育系统的观察和研究 [J]. 植物资源与环境学报, 2011, 20(1): 17−24.
Hao M R, Zhao H B, Wang J H, et al. Observation and study on breeding system of wild *Osmanthus fragrans*[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2011, 20(1): 17−24.

［6］ 杨国栋, 钱慧蓉, 陈林, 等. 中国特有植物短丝木犀的繁育系统 [J]. 林业科学, 2018, 54(4): 17−29.
Yang G D, Qian H R, Chen L, et al. Reproduction system of *Osmanthus serrulatus*, an endemic plant to China[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2018, 54(4): 17−29.

［7］ 焦雪辉, 岳长平, 史喜兵, 等. 11 个紫薇品种花粉活力及柱头可授性日变化规律 [J]. 分子植物育种, 2022, 20(23): 7894−7901.
Jiao X H, Yue C P, Shi X B, et al. Diurnal variation of pollen viability and stigma receptivity of 11 *Lagerstroemia indica* varieties[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(23): 7894−7901.

［8］ 蔡昭艳, 董龙, 王葫青, 等. 百香果花不同发育阶段花粉活力、柱头可授性及其对坐果的影响 [J]. 果树学报, 2023, 40(5): 969−977.
Cai Z Y, Dong L, Wang H Q, et al. Pollen viability, stigma receptivity and their effect on fruit set of passion-fruit at different flower developmental stages[J]. Journal of Fruit Science, 2023, 40(5): 969−977.

［9］ 吕亚, 王愣, 马志亮, 等. 狭瓣辣木的开花动态及花粉活力和柱头可授性 [J]. 分子植物育种, 2020, 18(7): 2371−2375.
Lü Y, Wang L, Ma Z L, et al. Floral dynamics, pollen viability and stigma receptivity of *Moringa stenopetala*[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(7): 2371−2375.

［10］ 刘芊, 徐瑾, 石印, 等. 丁香属 12 种植物花粉保存方法研究 [J]. 浙江农业学报, 2014, 26(3): 615−620.
Liu Q, Xu J, Shi Y, et al. Storage methods of 12 species of lilac (*Syringa* L.) pollen[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2014, 26(3): 615−620.

［11］ 铁军, 金山, 茹文明, 等. 连翘花粉活力和柱头可授性研究 [J]. 山西大学学报 (自然科学版), 2008, 31(4): 604−607.
Tie J, Jin S, Ru W M, et al. Pollen viability and stigma receptivity of *Forsythia suspense*[J]. Journal of Shanxi University (Natural Science Edition), 2008, 31(4): 604−607.

［12］ 刘婷婷. 紫薇属与黄薇属属间杂交亲和性研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2022.
Liu T T. Wide cross compatibility between *Lagerstroemia* and *Heimia*[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2022.

［13］ 王文鹏, 周莉花, 刘华红, 等. 夏蜡梅与美国蜡梅属间杂交障碍的组织学机理 [J]. 园艺学报, 2013, 40(10): 1943−1950.
Wang W P, Zhou L H, Liu H H, et al. Histological reproductive barriers for intergeneric cross between *Sinocalycanthus chinensis* and *Calycanthus floridus* var. *oblongifolius*[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2013, 40(10): 1943−1950.

［14］ 梁正兰, 张大达, 黄娇香, 等. 棉花远缘花粉蒙导的研究 [J]. 科学通报, 1964(5): 445−448.
Liang Z L, Zhang D D, Huang J X, et al. A research on distant pollen transduction in *Gossypium hirsutum* L[J]. Chinese Science Bulletin, 1964(5): 445−448.

［15］ 贺丹, 张佼蕊, 何松林, 等. 授粉方式对牡丹和芍药远缘杂交受精前障碍的影响 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2020, 48(3): 99−106.
He D, Zhang J R, He S L, et al. Effects of pollination methods on pre fertilization barriers in *Paeonia lactiflora* × *Paeonia suffruticosa* crosses[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2020, 48(3): 99−106.

［16］ 李文芳. 三角枫与金沙槭远缘杂交技术初步研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
Li W F. Preliminary study on distant hybridization between *Acer buergerianum* Miq and *Acer paxii* Franch[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2016.

［17］ 孙博文, 黄耀, 孙亚亭, 等. 远缘杂交结合胚培养法获得厚皮甜瓜阿鲁斯达令双单倍体 [J]. 江苏农业学报, 2022, 38(3): 775−781.
Sun B W, Hang Y, Sun Y T, et al. Production of doubled haploid in muskmelon Earl's Darling by interspecific hybridization and embryo cultur[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2022, 38(3): 775−781.

［18］ 郭海丽, 李际红, 李琴, 等. 流苏树花形态及花香成分的时空动态变化 [J]. 林业科学, 2021, 57(10): 81−92.
Guo H L, Li J H, Li Q, et al. Flower morphology and

spatiotemporal dynamics of aroma components in *Chionanthus retusus*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2021, 57(10): 81−92.

[19] 王小菁, 杨玉萍. 我国观赏花卉品质形成的功能基因研究进展 [J]. 植物学报, 2013, 48(5): 471−480.
Wang X J, Yang Y P. Research progress on functional genes involved in the quality formation of ornamental flowers in China[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2013, 48(5): 471−480.

[20] 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.
Yang Y H, Song G Q, Dong H, et al. Determination of pollen vitality and in vitro germination of pollen in *Forsythia suspense*[J]. Northern Horticulture, 2021(10): 112−117.

[21] 纪文跃, 何淼, 尉文婕, 等. 2020. 4 种丁香的开花特性与繁育系统 [J]. 东北林业大学学报, 48(12): 23−26.
Ji W Y, He M , Wei W J, et al. Preliminary study on the biological characteristics and breeding system of four species of *Syringa*[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2020, 48 (12): 23−26.

[22] 郭海丽. 流苏树不同花香成分及转录组分析 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2022.
Guo H L. Analysis of aroma components and transcriptome in *Chionanthus retusus*[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2022.

[23] 王其刚, 张颢, 蹇洪英, 等. 月季柱头形态发育进程与可授性 [J]. 西北农业学报, 2012, 21(5): 169−173.
Wang Q G, Zhang H, Jian H Y, et al. Stigma receptivity and shape development of rose[J]. Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2012, 21(5): 169−173.

[24] 孙建, 魏星, 乐美旺, 等. 芝麻繁育特性研究Ⅴ: 花粉活力与柱头可授性 [J]. 西北农业学报, 2020, 29(10): 1537−1546.
Sun J, Wei X, Le M W, et al. Study on the breeding characteristics of sesame indicum l. v.: pollen vitality and stigma receptivity[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2020, 29(10): 1537−1546.

[25] 薛志霞, 赵政阳, 党志国, 等. 红富士苹果异花授粉花柱的荧光显微观察与亲和性分析 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2011, 39(9): 118−122.
Xue Z X, Zhao Z Y, Dang Z G, et al. Observation on the cross pollinated styles of Red Fuji apple by fluorescence microscopy and the compatibility analysis[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2011, 39(9): 118−122.

[26] 李旭新. 阿月浑子杂交亲和性及杂种胚挽救研究 [D]. 郑州: 河北农业大学, 2014.
Li X X. Studies on crossing-compatibility and embryo culture of hybirds of *Pistacia vera* L.[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2014.

[27] 田伟莉, 楼啸林, 肖健, 等. 三种常绿荚蒾的花粉活力及柱头可授性研究 [J]. 中南农业科技, 2022, 43(3): 10−12, 32.
Tian W L, Lou X L, Xiao J, et al. Study on pollen vitality and stigma receptivity of three evergreen *Viburnum* species[J]. South-Central Agricultural Science and Technology, 2022, 43(3): 10−12, 32.

[28] 王非, 王园园, 张永胜, 等. 铁线莲 2 个野生种花粉活力和柱头可授性 [J]. 东北林业大学学报, 2019, 47(7): 75−78.
Wang F, Wang Y Y, Zhang Y S, et al. Pollen viability and stigma receptivity of two wild clematis species[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2019, 47(7): 75−78.

[29] 褚怡, 范义荣, 张韶伊, 等. 大花蕙兰与国兰花粉活力及柱头可授性分析 [J]. 浙江农林大学学报, 2013, 30(6): 950−954.
Chu Y, Fan Y R, Zhang S Y, et al. Pollen vitality and stigma receptivity of *Cymbidium hybridum* and Chinese orchid[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2013, 30(6): 950−954.

[30] 何淼, 张紫馥, 臧帅彤, 等. 辽吉侧金盏花的开花特性和繁育系统 [J]. 东北林业大学学报, 2023, 51(3): 54−59.
He M, Zhang Z F, Zang S T, et al. Flowering characteristics and breeding system of *Adonis ramose*[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2023, 51(3): 54−59.

[31] 雷蕾, 李芊夏, 岳莉然, 等. 黄连花花期动态及其授粉特性研究 [J]. 北京林业大学学报, 2019, 41(6): 129−137.
Lei L, Li Q X, Yue L R, et al. Flowering dy-namics and pollination characteristics of *Lysimachia davurica*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2019, 41(6): 129−137.

[32] 赵文飞, 邢世岩, 姜永旭, 等. 贮藏时间对银杏花粉保护酶活性和萌发率的影响 [J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(3): 259−263.
Zhao W F, Xing S Y, Jiang Y X, et al. Effects of storage time on germination percentage and protective enzymes activity of *Ginkgo biloba* L. pollen[J]. Plant Science Journal, 2004, 22(3): 259−263.

[33] Silva J A T, Engelmann F. Cryopreservation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)[J]. Cryobiology, 2017, 77: 82−88.

[34] Mesnoua M, Roumani M, Salem A. The effect of pollen storage temperatures on pollen viability, fruit set and fruit quality of six date palm cultivars[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 236: 279−283.

[35] 王文和, 王树栋, 赵祥云, 等. 百合远缘杂交花粉萌发及花粉管生长过程观察 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(9): 1790−1794.
Wang W H, Wang S D, Zhao X Y, et al. Process of pollen sprouting and pollen tube growth on the lily distant hybridization[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2007, 27(9): 1790−1794.

[36] 赵小慧, 马策, 阮芳, 等. 不同授粉方法对克服月季受精前障碍研究 [J]. 园艺与种苗, 2022(7): 7−9.
Zhao X H, Ma C, Ruan F, et al. Study on different pollination methods to overcome pre-fertilization barriers of rose[J]. Horticulture & Seed, 2022(7): 7−9.

[37] 沈德绪. 果树育种学 [M].2 版. 北京: 中国农业出版社，2008.
Shen D X. Fruit tree breeding[M]. 2nd ed. Beijing: China Agricultural Publishing House, 2008.

[38] 刘杜玲, 高绍棠, 陈耀峰. 远缘和失活花粉蒙导核桃无融合生殖的研究 [J]. 西北林学院学报, 1999, 14(4): 35−37.
Liu D L, Gao S T, Chen Y F. A study of apomixis characteristis of *Juglans regia* L. by distant and deactive mentor pollen[J]. Journal of Northwest Forestry University, 1999, 14(4): 35−37.

[39] 杨凯. 超低温花粉保存、离体枝条处理及胚培养技术在槭属植物远缘杂交中的应用 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.
Yang K. Application of pollen cryopreservation、branches in-vivo

andembryo rescue techniques in *Acer* plants distanthybridization [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2014.

[40] 李稚. 桂花传粉生物学与杂交育种研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2015.
Li Z. Pollination biology and cross breeding of *Osmanthus fragrans* Lour[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2015.

[41] 于洋. 百合远缘杂交不亲和性及其克服方法的研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009.
Yu Y. Studies on cross-incompatibility between distantly related of Lily and the methods to overcome[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2009.

[42] 牛二利, 沈敏, 傅玉楼, 等. 不同授粉方式对 3 个油橄榄品种结实性的影响 [J]. 浙江农业科学, 2023, 64(3): 588−592.
Niu E L, Shen M, Fu Y L, et al. Effects of different pollination methods on the fertility of three olive cultivars[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2023, 64(3): 588−592.

[43] 宇航. 树莓杂交育种技术研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2024.
Yu H. Study on raspberry cross breeding technology[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2024.

[44] 雷家军, 阮冰洁. 大花卷丹与亚洲百合、东方百合种间杂交及胚培养研究 [J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(4): 66−71.
Lei J J, Ruan B J. Interspecific hybridization between *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* Baker and Asiatic, Oriental lilies and embryo culture[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42(4): 66−71.

[45] 马策, 赵小慧, 阮芳, 等. 月季远缘杂交未成熟胚培养初探 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(19): 6468−6475.
Ma C, Zhao X H, Ruan F, et al. Studies on immature hybrid embryo culture of distant hybridization in rosa[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(19): 6468−6475.

[46] 孙晓梅, 张晓菊, 裴新辉, 等. 芍药组培丛生芽增殖及生根技术的优化 [J]. 沈阳农业大学学报, 2022, 53(1): 16−23.
Sun X M, Zhang X J, Pei X H, et al. Optimization of the propagation and rooting technigue of *Paeonia lactiflora* Buds[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2022, 53(1): 16−23.

[47] 庞曼, 李旭新, 董倩, 等. 阿月浑子与黄连木的杂种果实发育及幼胚培养研究 [J]. 园艺学报, 2012, 39(5): 970−976.
Pang M, Li X X, Dong Q, et al. Studies on fruit growth pattern and immature embryo culture of hybrids between *Pistacia vera* and *Pistacia chinensis*[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(5): 970−976.

[48] Ren X, Liu Y, Jeong B R. A two-stage culture method for zygotic embryos effectively overcomes constraints imposed by hypocotyl and epicotyl seed dormancy in *Paeonia ostii* 'Fengdan'[J]. Plants (Basel), 2019, 8(10): 356.

（责任编辑　范　娟　赵田芸
责任编委　卢孟柱）