

花序开放程度、栽培温度和贮藏条件对菊花品种‘钟山金阳’花粉萌发的影响

蔡依凡, 滕年军, 蒋甲福, 陈发棣, 管志勇, 陈素梅, 房伟民^①

(南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 采用离体培养法和杂交实验法, 以菊花品种‘钟山金阳’(*Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’)为实验材料, 比较了不同的花序开放程度(花序开放天数和散粉阶段)、栽培温度和贮藏条件对其花粉萌发的影响。离体培养结果表明: 在花序开放的第2至第7天花粉萌发率为22.6%~17.3%, 第9天为7.7%, 第11天仅为2.8%; 在散粉的第1阶段(第1和第2轮管状花散粉)和第2阶段(第3和第4轮管状花散粉)花粉萌发率分别为19.5%和17.8%, 第3阶段(全部管状花散粉)花粉萌发率仅为9.4%, 表明随花序的开放和散粉阶段的延续, 花粉萌发率均呈逐渐降低的趋势。在昼/夜温度5℃/0℃、10℃/5℃、15℃/10℃、20℃/15℃、25℃/20℃和30℃/25℃条件下栽培一定时间, 其花粉萌发率和花粉管长度均有明显差异; 其中, 10℃/5℃栽培组培养4.0 h的花粉萌发率最高(23.0%), 而30℃/25℃栽培组培养0.5 h的花粉萌发率最低(1.2%); 15℃/10℃和20℃/15℃栽培组培养4.0 h的花粉管长度较长(分别为144.4和146.1 μm), 而30℃/25℃栽培组培养0.5 h的花粉管长度最短(38.3 μm)。在不同贮藏温度下[4℃、-20℃和室温(约25℃)], 新鲜和干燥花粉的萌发率均随贮藏时间的延长逐渐下降, 但降幅存在明显差异; 其中, 新鲜花粉贮藏12 d后花粉萌发率从21.4%降至5.0%以下, 干燥花粉贮藏26 d后花粉萌发率降至5.0%以下; 总体上看, 干燥花粉的萌发率和贮藏时间均高于新鲜花粉, 以-20℃条件下贮藏的干燥花粉萌发率最高且可贮藏至50 d以内。杂交实验结果显示: 用不同栽培温度下的品种‘钟山金阳’的花粉对品种‘钟山粉碟’(‘Zhongshanfendie’)进行人工授粉, 在柱头上花粉萌发数差异明显; 其中, 10℃/5℃栽培组的花粉萌发数最多(55.5), 30℃/25℃栽培组的花粉萌发数最少(8.8), 且二者间差异显著($P < 0.05$)。综合分析结果表明: 花序开放天数、散粉阶段、栽培温度及贮藏条件对菊花品种‘钟山金阳’的花粉萌发率均有明显影响。根据研究结果, 建议菊花品种‘钟山金阳’花粉的最佳采集时期为花序开放的7 d内且为第1至第4轮管状花散粉阶段, 栽培温度应维持在10℃左右, 而且采集的花粉应置于-20℃干燥条件下贮藏。

关键词: 菊花品种‘钟山金阳’; 散粉阶段; 栽培温度; 贮藏条件; 花粉萌发率

中图分类号: Q944.58; Q945.5; S682.1⁺1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2018)03-0056-09
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2018.03.08

Effects of inflorescence opening degree, cultivating temperature and storage condition on pollen germination of *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’ CAI Yifan, TENG Nianjun, JIANG Jiafu, CHEN Fadi, GUAN Zhiyong, CHEN Sumei, FANG Weimin^① (College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2018, 27(3): 56-64

Abstract: Taking *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’ as experimental material, the effects of different inflorescence opening degrees (inflorescence opening days and dispersal stages), cultivating temperatures, and storage conditions on its pollen germination were compared by using *in vitro* culture and hybridization experiment methods. The results of *in vitro* culture show that pollen germination rate of

收稿日期: 2018-02-22

基金项目: 上海市种业发展项目[沪农科种字(2016)第1-14号]; 江苏省农业三新工程(SXGC[2017]002)

作者简介: 蔡依凡(1993—), 女, 安徽马鞍山人, 硕士研究生, 主要从事观赏植物遗传育种及栽培技术方面的研究。

^①通信作者 E-mail: fangwm@njau.edu.cn

inflorescence opening from the second to the seventh day is 22.6%–17.3%, that of the ninth day is 7.7%, and that of the eleventh day is only 2.8%. Pollen germination rates in the first dispersal stage (the first and the second rounds of tubular flower dispersal) and the second dispersal stage (the third and the fourth rounds of tubular flower dispersal) are 19.5% and 17.8%, respectively, that of the third dispersal stage (all tubular flower dispersal) is only 9.4%, indicating that pollen germination rate shows a tendency of gradually decreasing with extending of inflorescence opening and dispersal stage. There are obvious differences in pollen germination rate and pollen tube length under cultivating for a certain time at day/night temperatures of 5 °C/0 °C, 10 °C/5 °C, 15 °C/10 °C, 20 °C/15 °C, 25 °C/20 °C and 30 °C/25 °C. In which, pollen germination rate of 10 °C/5 °C cultivation group cultured for 4.0 h is the highest (23.0%), while that of 30 °C/25 °C cultivation group cultured for 0.5 h is the lowest (1.2%). Pollen tube lengths of 15 °C/10 °C and 20 °C/15 °C cultivation groups cultured for 4.0 h are longer (144.4 and 146.1 μm, respectively), while that of 30 °C/25 °C cultivation group cultured for 0.5 h is the shortest (38.3 μm). At different storage temperatures [4 °C, -20 °C and room temperature (about 25 °C)], germination rates of fresh and dry pollens decrease gradually with prolonging of storage time, but there is an obvious difference in decreasing amplitude. In which, pollen germination rate of fresh pollen after storage for 12 d decreases from 21.4% to below 5.0%, that of dry pollen after storage for 26 d falls to below 5.0%. On the whole, germination rate and storage time of dry pollen are higher than those of fresh pollen, and germination rate of dry pollen stored at -20 °C is the highest and can be stored within 50 d. The results of hybridization experiment show that cultivar ‘Zhongshanfendie’ is pollinated artificially with pollen of cultivar ‘Zhongshanjinyang’ at different cultivating temperatures, the difference in germination number of pollens on stigma is obvious; in which, germination number of pollens of 10 °C/5 °C cultivation group is the most (55.5), and that of 30 °C/25 °C cultivation group is the least (8.8), and the difference between them is significant ($P < 0.05$). The results of comprehensive analysis show that pollen germination rate of *C. morifolium* ‘Zhongshanjinyang’ is obviously affected by inflorescence opening day, dispersal stage, cultivating temperature, and storage condition. According to results of this study, it is suggested that the best collection period of pollen of *C. morifolium* ‘Zhongshanjinyang’ is within 7 d of inflorescence opening and the first to the fourth rounds dispersal stage of tubular flower, cultivating temperature should be maintained at about 10 °C, and collected pollen should be stored at -20 °C dry condition.

Key words: *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’; dispersal stage; cultivating temperature; storage condition; pollen germination rate

菊花 (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) 隶属于菊科 (Asteraceae) 菊属 (*Chrysanthemum* Linn.), 是中国十大传统名花和世界四大切花之一, 拥有极高的观赏和经济价值, 市场需求量极大^[1]。菊花是异花授粉植物, 目前常规的育种方式为杂交育种^[2], 花粉萌发率是决定其杂交结实的重要因子之一^[3]。人为操作不当、连续阴雨和极端高温或低温等因子均可影响花粉萌发, 从而导致露天杂交菊花的结实率降低^[4]; 同时, 为解决花期不遇的问题还需要对花粉进行贮藏^[5]。研究菊花的最适取粉时期以及花粉适宜的萌发温度和贮藏条件对菊花杂交育种具有十分重要的意义。

花粉萌发率和花粉管长度是植物花粉生活力的重要表现^[6], 而花粉生活力评估在作物品种改良和育种以及花粉贮藏期的状态监测等研究工作中尤为重要。花粉萌发除了受自身遗传特性的影响外, 还与

外界环境因子的影响有关^[5]。目前, 对菊花花粉萌发的研究大多集中在培养条件和培养方法^[7]以及花粉生活力检测方法比较^[8]等方面, 其中, 赵宏波等^[7]的研究结果显示: 在 8 °C ~ 20 °C 的培养温度下, 菊花的花粉萌发率随温度升高有所增加, 说明培养温度对花粉萌发率有一定影响。但目前人们对外界环境温度、贮藏条件以及花序开放进程对菊花花粉萌发的影响还缺乏必要的了解。南汝斌等^[9]认为, 高温会导致菊花花粉大量败育、花粉萌发率降低、花粉管生长受阻以及杂交母本柱头受粉能力降低, 这些影响效应均可导致菊花杂交不结实, 但目前未得到详实研究数据的支持。

花期不遇也是困扰菊花杂交育种的主要问题, 而花粉贮藏可在一定程度上解决这个问题^[3, 10-12]。王涛等^[3]对一些菊花品种混合花粉的生活力和贮藏力进行了研究, 认为花粉不宜干燥贮藏。而相关研究结

果^[13-16]显示:花粉贮藏的适宜条件通常为低温、低湿及冷冻干燥环境等,二者结论并不一致,具体原因有待深入研究。

为探明影响菊花花粉萌发的因子,明确适宜的取粉时期以及花粉萌发温度,在前人研究的基础上,作者研究了不同的花序开放程度、栽培温度和贮藏条件对菊花品种‘钟山金阳’(‘Zhongshanjinyang’)花粉萌发的影响,并筛选出适宜的花粉贮藏条件,以期为提高菊花杂交育种效率及解决其花期不遇问题提供基础研究数据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试菊花品种‘钟山金阳’和‘钟山粉碟’(‘Zhongshanfendie’)插穗由南京农业大学菊花种质资源保存中心提供,其中,品种‘钟山粉碟’仅作为杂交实验的母本供试。于2016年6月22日将菊花品种‘钟山金阳’和‘钟山粉碟’各400条插穗扦插于105孔穴盘中,扦插基质为V(草炭):V(珍珠岩)=1:1的混合基质^[17],进行常规水分管理;于7月2日插穗生根后选择长势基本一致且生长状况良好的扦插苗定植于营养盆(口径13 cm、高10 cm)内,每盆3株,栽培基质为V(蛭石):V(珍珠岩):V(营养土)=3:1:1的混合基质^[18];置于南京农业大学湖熟菊花基地室外露天栽培,进行常规栽培管理,约10 d浇水1次。于2016年10月中下旬开花时选取发育状况基本一致、健壮、无病虫害的盆栽苗供试。

主要仪器:Olympus BX 41 光学显微镜(日本Olympus公司);RXZ型智能人工气候培养箱(温度误差1℃,温度范围0℃~50℃,宁波江南仪器厂);Leica DM6 B 荧光显微镜(德国Leica公司)。

1.2 方法

1.2.1 花序开放天数和散粉阶段设置及离体花粉萌发率测定 于2016年11月3日从供试植株上选取50个初开但未散粉的管状花花序进行套袋并挂牌;于次日开始检查套袋花序的散粉情况,在花序最外轮管状花开始散粉时进行标记;在散粉开始后的第2至第5天、第7天、第9天和第11天,分别剪下3个套袋花序,将花粉抖落至预先装入花粉离体培养基^[7]的培养皿中,于20℃培养箱中(全日照70%光强)培养;4 h后用光学显微镜观察离体花粉的萌发状况,

以花粉管长度大于花粉粒直径视为花粉萌发标准;每个散粉日期观察15个视野,统计离体花粉萌发率并拍照记录。

于2016年11月3日至10日,选择晴天10:00至14:00,在供试植株上分别选择第1和第2轮管状花散粉、第3和第4轮管状花散粉以及全部管状花散粉的花序各3个,立即用冰盒带回实验室,用干燥毛笔分别将各散粉阶段的花粉扫至培养皿中,按照上述条件和方法培养并测定离体花粉萌发率。

1.2.2 栽培温度设置及离体花粉萌发率和花粉管长度测定 设置栽培温度分别为昼/夜温度5℃/0℃、10℃/5℃、15℃/10℃、20℃/15℃、25℃/20℃和30℃/25℃,共6个处理温度。

于2016年11月3日,选择长势基本一致且多数花序初开但未散粉的植株,标记初开但未散粉的花序,剪去植株上多余的花蕾和已散粉花序;将供试植株分别置于前述设置的栽培温度、空气相对湿度(70±5)%、光照时间为7:00至17:00、全日照70%光强的环境中,每处理组15盆;每日观察散粉情况,待5~10 d后各栽培组的花序陆续散粉时,立即采集新鲜花粉,按照上述条件培养花粉,并于培养0.5、1.0、2.0、3.0和4.0 h后取样,按照上述方法测定离体花粉萌发率;同时,用光学显微镜观察并测量花粉管长度,每处理组随机测量30根花粉管长度。

1.2.3 杂交实验及柱头上发粉萌发数测定 选择同花期田间自然开放的盆栽菊花品种‘钟山粉碟’为母本,用上述在不同昼/夜温度下栽培的菊花品种‘钟山金阳’的花粉进行人工授粉。人工授粉时,将过量花粉涂抹在母本植株已经去雄花序的柱头上,以保证每个柱头上均有足量的花粉;授粉24 h后,每处理组均采集5个杂交花序,剥离小花后立即用FAA固定液固定,置于4℃冰箱中保存。固定48 h后,参照文献^[19]中的方法制片和染色,并用荧光显微镜观察花粉在柱头上的萌发情况,若花粉经去离子水清洗后仍可以黏附在柱头上则视为萌发;各处理组均观察30个柱头,记录每个柱头上萌发花粉的数量并拍照记录。

1.2.4 贮藏条件设置及离体花粉萌发率测定 设置花粉贮藏温度分别为4℃、-20℃和室温(约25℃),供试花粉状况分别为干燥花粉和新鲜花粉,共6个处理组,分别为干燥花粉于4℃贮藏、新鲜花粉于4℃贮藏、干燥花粉于-20℃贮藏、新鲜花粉于-20℃贮

藏、干燥花粉于室温贮藏、新鲜花粉于室温贮藏。用干燥毛笔采集第1至第4轮散粉花序的新鲜花粉,每处理组采集30个花序的花粉混合,分装;干燥花粉是将花粉分装后置于变色硅胶干燥剂中,用塑料盒子密封后于前述温度条件下贮藏,新鲜花粉则直接分装后于前述温度条件下贮藏;贮藏时间50 d,前22 d每隔1 d取样1次,之后由于离体花粉萌发率下降趋于稳定,每隔3 d取样1次,按照上述方法测定离体花粉萌发率。

上述实验均重复3次。

1.3 数据统计与分析

按照公式“花粉萌发率=(已萌发花粉数/花粉总数)×100%”计算上述各处理的花粉萌发率。采用EXCEL 2010软件进行数据统计和整理,采用SPSS 20.0统计分析软件对数据进行单因素方差分析和差异显著性检验($P<0.05$)。

2 结果和分析

2.1 花序开放程度对离体花粉萌发率的影响

2.1.1 花序开放天数对离体花粉萌发率的影响 随花序开放天数的延长,菊花品种‘钟山金阳’的离体花粉萌发率见图1。离体培养结果显示:在花序开放的第2至第7天,花粉萌发率呈缓慢下降的趋势,第2天的花粉萌发率为22.6%,第7天的花粉萌发率下降至17.3%,较第2天的花粉萌发率下降了23.5%。而花序开放的第7至第11天,花粉萌发率急剧下降,其中,第9天的花粉萌发率仅为7.7%,较第7天的花粉萌发率下降了55.5%;第11天的花粉萌发率仅为2.8%,几乎所有花粉失去萌发力。总体上看,菊花品

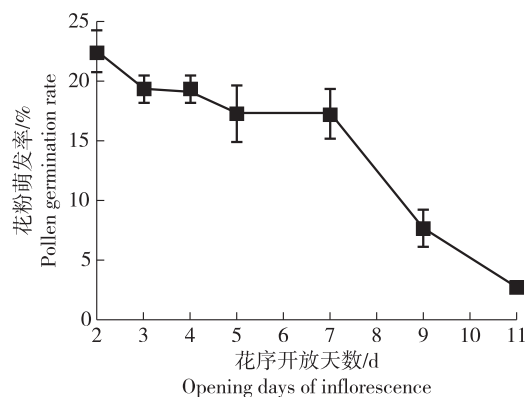


图1 菊花品种‘钟山金阳’花序开放天数对离体花粉萌发率的影响
Fig. 1 Effect of opening days of inflorescence of *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’ on *in vitro* pollen germination rate

种‘钟山金阳’的花粉萌发率随花序开放天数的延长呈逐渐降低的趋势。

2.1.2 散粉阶段对离体花粉萌发率的影响 菊花品种‘钟山金阳’的管状花花序从初开但未散粉(图版I-1)到全部散粉大致分为3个阶段,即:第1和第2轮管状花散粉,为第1阶段(图版I-2);第3和第4轮管状花散粉,为第2阶段(图版I-3);全部管状花散粉,为第3阶段(图版I-4)。

不同散粉阶段菊花品种‘钟山金阳’的离体花粉萌发率见表1。离体培养结果显示:在散粉的第1和第2阶段,花粉萌发率分别为19.5%和17.8%,二者间无显著差异;第3阶段的花粉萌发率仅为9.4%,分别较第1和第2阶段降低了51.8%和47.2%,且显著($P<0.05$)低于前2个阶段。总体上看,菊花品种‘钟山金阳’的花粉萌发率随花序散粉阶段的延续呈逐渐降低的趋势。

表1 菊花品种‘钟山金阳’花序的散粉阶段对离体花粉萌发率的影响($\bar{X}\pm SD$)

Table 1 Effect of dispersal stage of inflorescence of *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’ on *in vitro* pollen germination rate ($\bar{X}\pm SD$)

散粉阶段 Dispersal stage	散粉的管状花 Dispersal tubular flower	花粉萌发率/% ¹⁾ Pollen germination rate ¹⁾
第1阶段 The first stage	第1和第2轮 The first and the second rounds	19.5±1.3a
第2阶段 The second stage	第3和第4轮 The third and the fourth rounds	17.8±2.4a
第3阶段 The third stage	全部 All	9.4±1.6b

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P<0.05$).

2.2 栽培温度对花粉萌发的影响

2.2.1 栽培温度对离体花粉萌发率和花粉管长度的影响 在不同温度条件下栽培一定时间后菊花品种‘钟山金阳’的离体花粉萌发率及花粉管长度见表2;

花粉形态变化见图版I-5~10。

离体培养结果显示:在培养0.5 h时,5℃/0℃(昼/夜温度,下同)栽培组的花粉萌发率最高(12.0%),30℃/25℃栽培组的花粉萌发率最低

(1.2%),总体上与其他栽培组均有显著($P<0.05$)差异。在培养1.0 h时,15℃/10℃栽培组的花粉萌发率最高(17.4%),30℃/25℃栽培组的花粉萌发率最低(2.9%),总体上与其他栽培组均有显著差异。在培养2.0、3.0和4.0 h时,10℃/5℃栽培组的花粉萌发率均最高(分别为24.6%、22.2%和23.0%),30℃/25℃栽培组的花粉萌发率均最低(分别为3.3%、3.1%和4.1%),总体上与其他栽培组均有显著差异。总体上看,在培养0.5~4.0 h内,随培养时间的延长各栽培组的花粉萌发率均不断升高,在培养4.0 h时达到最高。

随菊花品种‘钟山金阳’植株栽培温度的升高,花粉萌发率呈先升高后降低的趋势。从最终(花粉培养4.0 h)的花粉萌发率看,10℃/5℃栽培组的花粉萌发率最高,25℃/20℃和30℃/25℃栽培组的花粉萌发率分别为11.1%和4.1%,较10℃/5℃栽培组分别降低了51.7%和82.2%,差异显著;此外,10℃/5℃和15℃/10℃栽培组的花粉萌发率显著高于20℃/15℃、25℃/20℃及30℃/25℃栽培组。研究结果显示:以花粉萌发率为指标,10℃/5℃栽培组的花粉活力最高。

由表2还可见:不同栽培温度对菊花品种‘钟山金阳’离体花粉的花粉管长度有明显影响。在培养0.5 h时,30℃/25℃栽培组的花粉管长度最短,为

38.3 μm,显著低于其他栽培组;在培养1.0 h时,15℃/10℃和20℃/15℃栽培组的花粉管长度较长,分别为126.8和118.7 μm,显著高于其他栽培组;在培养2.0 h时,15℃/10℃栽培组的花粉管长度最长,达到146.1 μm,显著高于其他栽培组;在培养3.0 h时,10℃/5℃、15℃/10℃和20℃/15℃栽培组的花粉管长度较长,分别为133.8、142.3和144.1 μm,显著高于25℃/20℃和30℃/25℃栽培组;在培养4.0 h时,15℃/10℃和20℃/15℃栽培组的花粉管长度分别为144.4和146.1 μm,显著高于5℃/0℃、25℃/20℃和30℃/25℃栽培组。总体上看,在花粉离体培养过程中,前2.0 h的花粉管生长迅速,3.0 h后基本停止生长,培养4.0 h后15℃/10℃和20℃/15℃栽培组的花粉管长度最长。研究结果显示:栽培在25℃/20℃和30℃/25℃高温和5℃/0℃低温条件下可明显抑制菊花品种‘钟山金阳’的花粉活力,导致其花粉管生长受阻。

综上所述,菊花品种‘钟山金阳’的花粉萌发率和花粉管长度对栽培温度的响应略有差异;栽培在10℃/5℃低温条件下有利于其花粉维持较高的萌发率,而栽培在15℃/10℃和20℃/15℃温度条件下有利于其花粉管的生长。

2.2.2 栽培温度对柱头上花粉萌发数的影响 在不同温度条件下栽培一定时间后采集菊花品种‘钟山金

表2 不同栽培温度对菊花品种‘钟山金阳’离体花粉萌发率及花粉管长度的影响($\bar{X}\pm SD$)

Table 2 Effects of different cultivating temperatures on *in vitro* pollen germination rate and length of pollen tube of *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’ ($\bar{X}\pm SD$)

栽培温度/℃ ¹⁾ Cultivating temperature ¹⁾	不同培养时间的花粉萌发率/% ²⁾ Pollen germination rate at different culturing times ²⁾				
	0.5 h	1.0 h	2.0 h	3.0 h	4.0 h
5/0	12.0±1.9a	14.7±1.7b	15.1±1.6c	14.9±0.8b	16.0±0.8cd
10/5	9.3±0.7b	15.3±1.7ab	24.6±1.9a	22.2±1.5a	23.0±1.3a
15/10	8.4±0.9b	17.4±0.8a	19.6±0.5b	19.3±0.9ab	18.2±0.7bc
20/15	4.8±0.8c	9.9±0.7c	14.9±1.6c	15.2±1.0b	15.4±2.5d
25/20	2.4±0.5d	7.2±0.4d	9.3±1.2d	9.1±1.3c	11.1±0.6e
30/25	1.2±0.3d	2.9±0.9e	3.3±0.9e	3.1±0.3d	4.1±0.1f

栽培温度/℃ ¹⁾ Cultivating temperature ¹⁾	不同培养时间的花粉管长度/μm ²⁾ Length of pollen tube at different culturing times ²⁾				
	0.5 h	1.0 h	2.0 h	3.0 h	4.0 h
5/0	57.8±10.5a	84.8±5.2b	102.8±7.7c	123.0±6.5ab	123.0±13.0bc
10/5	59.6±12.6a	70.5±4.1b	103.9±12.4c	133.8±19.5a	132.2±7.7ab
15/10	59.2±7.3a	126.8±22.0a	146.1±4.3a	142.3±12.1a	144.4±11.6a
20/15	71.5±4.4a	118.7±1.6a	123.6±6.6b	144.1±1.9a	146.1±6.3a
25/20	64.2±3.7a	82.2±13.2b	106.2±11.5c	101.9±8.2bc	110.4±12.3c
30/25	38.3±6.2b	67.7±7.1b	69.4±3.3d	88.4±16.9c	79.9±3.5d

1) “/”前后的数值分别为昼温和夜温 Values before and behind “/” are day and night temperatures, respectively.

2) 同列中不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P<0.05$).

阳’的花粉并以菊花品种‘钟山粉碟’为母本进行授粉,在柱头上花粉形态的变化分别见图版 I-11~16;柱头上的花粉萌发数见表 3。

杂交实验结果显示:10℃/5℃和15℃/10℃栽培组品种‘钟山金阳’的花粉在品种‘钟山粉碟’柱头上的花粉萌发数分别为55.5和46.1,显著高于其他

栽培组,并且伸入到柱头中的花粉管大多清晰可见(图版 I-12~13),说明在这2个栽培温度条件下植株花粉活力较强,使花粉萌发率较高,在柱头上的萌发状况也较佳。5℃/0℃和20℃/15℃栽培组的花粉在柱头上的花粉萌发数分别为25.9和23.1,并且有部分花粉已经长出花粉管(图版 I-11,14)。而25℃/20℃和30℃/25℃栽培组的花粉在柱头上的花粉萌发数很少,分别仅为10.6和8.8,显著低于其他栽培组,且仅个别花粉长出花粉管(图版 I-15~16),说明栽培在25℃/20℃和30℃/25℃温度条件下植株花粉活力较弱,导致花粉萌发状况较差。

表 3 不同温度栽培的菊花品种‘钟山金阳’的花粉在品种‘钟山粉碟’柱头上萌发数的比较($\bar{X} \pm SD$)

Table 3 Comparison on germination number of pollens of *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’ cultivated in different temperatures on stigma of cultivar ‘Zhongshanfendie’ ($\bar{X} \pm SD$)

栽培温度/℃ ¹⁾ Cultivating temperature ¹⁾	花粉萌发数 ²⁾ Germination number of pollen ²⁾
5/0	25.9±2.0c
10/5	55.5±3.3a
15/10	46.1±4.2b
20/15	23.1±2.0c
25/20	10.6±1.8d
30/25	8.8±1.4d

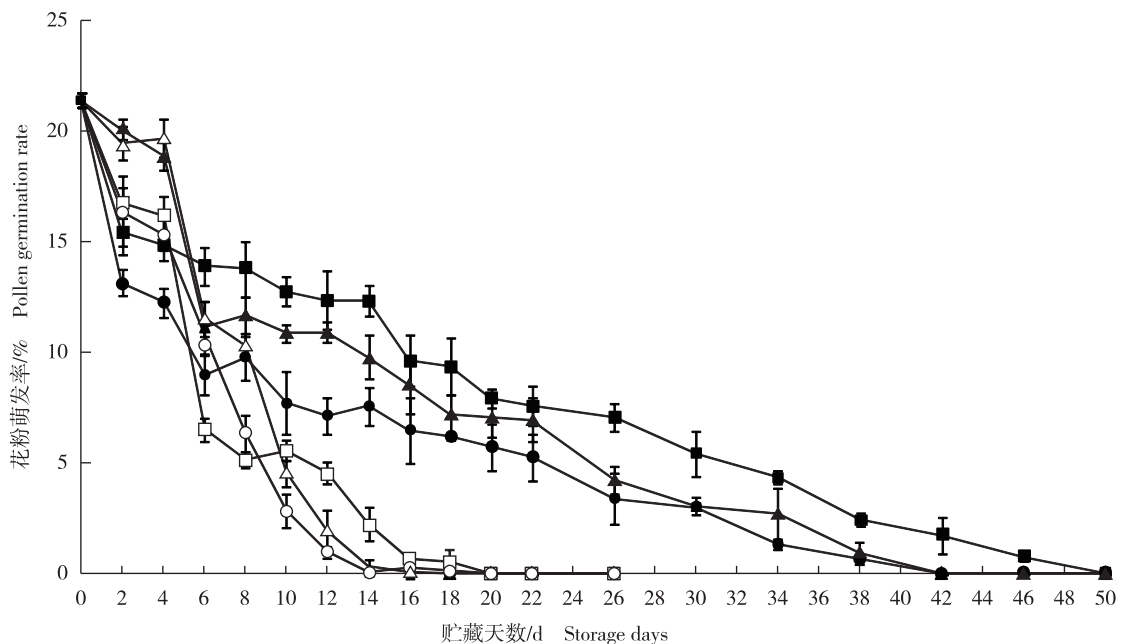
¹⁾“/”前后的数值分别为昼温和夜温 Values before and behind “/” are day and night temperatures, respectively.

²⁾同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

2.3 贮藏条件对离体花粉萌发率的影响

在不同温度条件下将菊花品种‘钟山金阳’的新鲜和干燥花粉分别贮藏50d,离体花粉萌发率的变化见图2。离体培养结果显示:未经贮藏的新鲜花粉萌发率为21.4%,但在4℃、-20℃和室温(约25℃)条件下,随贮藏时间的延长,新鲜和干燥花粉的萌发率均逐渐降低,但降幅存在明显差异。

由图2可见:在不同温度下贮藏40d内,干燥花粉仍保持一定的萌发率,之后逐渐降至0.0%。在4℃条件下,花粉萌发率在贮藏的前4d缓慢下降至



—▲—: 干燥花粉于4℃贮藏 Dry pollen being stored at 4℃; —△—: 新鲜花粉于4℃贮藏 Fresh pollen being stored at 4℃; —■—: 干燥花粉于-20℃贮藏 Dry pollen being stored at -20℃; —□—: 新鲜花粉于-20℃贮藏 Fresh pollen being stored at -20℃; —●—: 干燥花粉于室温(约25℃)贮藏 Dry pollen being stored at room temperature (about 25℃); —○—: 新鲜花粉于室温贮藏 Fresh pollen being stored at room temperature.

图 2 花粉贮藏条件对菊花品种‘钟山金阳’离体花粉萌发率的影响

Fig. 2 Effect of pollen storage condition on *in vitro* pollen germination rate of *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’

18.9%,之后大幅下降,第6天降至11.1%,第26天降至5.0%以下,至第42天花粉萌发率降至0.0%,表明4℃适于干燥花粉的短期贮藏。在-20℃条件下,花粉萌发率在贮藏第2天降至15.5%,之后缓慢下降,第34天降至5.0%以下,至第50天降至0.0%,且总体上贮藏于-20℃的干燥花粉萌发率高于贮藏于4℃和室温的干燥花粉。在室温条件下,花粉萌发率快速下降,贮藏至第2天时较贮藏前降低了38.4%,第26天降至5.0%以下,至第42天降至0.0%。且总体上室温条件下贮藏的干燥花粉萌发率均低于低温(4℃和-20℃)贮藏的干燥花粉。

由图2还可见:新鲜花粉在不同温度下贮藏至20d,花粉萌发率均降至0.0%。在4℃条件下,花粉萌发率在贮藏的前4d下降缓慢,之后大幅下降,第6天降至11.5%,第10天降至5.0%以下,至第18天降至0.0%,且贮藏的前8d的花粉萌发率均高于贮藏于-20℃的新鲜花粉。在-20℃条件下,花粉萌发率在贮藏初期快速下降,在第6天降至6.5%,之后下降缓慢,第12天降至5.0%以下,至第20天降至0.0%,且在贮藏10d后花粉萌发率均高于4℃和室温贮藏的新鲜花粉。在室温条件下,花粉萌发率也在贮藏初期快速下降,在第10天降到5.0%以下,至第14天即降至接近0.0%,且室温贮藏的新鲜花粉萌发率一直低于4℃贮藏的新鲜花粉。

总体上看,在4℃、-20℃和室温条件下,菊花品种‘钟山金阳’的干燥花粉在贮藏26d后花粉萌发率均降至5.0%以下,而新鲜花粉则在贮藏12d后花粉萌发率即降至5.0%以下,说明干燥花粉更便于贮藏,其中,-20℃最利于干燥花粉贮藏,且可贮藏至50d以内,其中以34d内为宜。

3 讨论和结论

菊花外围舌状花为雌花,中部管状花为两性花,多数菊花的管状花由数十至数百个小花组成,靠近舌状花的最外轮管状花为第1轮,由外向内依次开放。杨际双等^[20]的研究结果表明:在菊花的同一朵花序中,外围管状花的花粉生活力高于中心管状花。吕晋慧等^[21]的研究结果表明:菊花花序中间管状花的花粉活力显著高于外部和中心的管状花。本研究结果表明:按照由外至内的开放次序,菊花品种‘钟山金阳’花序的第1和第2轮管状花首先散粉,且离体花

粉萌发率均高于第3和第4轮管状花,花序开放7d内离体花粉萌发率均较高。形成这一现象的原因为:菊花花粉属于三核花粉,在常温等自然条件下代谢活跃、养分消耗快,且通常较二核花粉活力下降快,因而,首先开放的第1和第2轮管状花的花粉活力均较高,而开放第7天同一花序上所有的管状花均已散粉,留存在花序内的花粉为不同散粉阶段的混合花粉,部分前期散粉的花粉活力降低,导致花粉萌发率下降^[22]。说明在人工授粉过程中,可以根据菊花花序的开放状态初步判断其花粉活力,并尽量采集开放7d内花序的花粉。

在(32±2)℃/(18±2)℃高温条件下菊花花粉大量败育、花粉萌发率降低、花粉管生长受阻以及母本雌蕊柱头接受花粉的能力降低^[9]。在本研究中,栽培在30℃/25℃高温条件下,对菊花品种‘钟山金阳’的花粉活力有明显影响,导致其离体花粉萌发率和柱头上花粉萌发数均降低,且花粉管的生长受阻;而栽培在10℃/5℃温度条件下菊花品种‘钟山金阳’的离体花粉萌发和柱头上花粉的萌发数均较高,表明这一栽培温度对其花粉活力的影响较小,可能与菊花具有喜凉爽特性有关。另外,栽培于10℃/5℃温度条件下菊花品种‘钟山金阳’的离体花粉萌发率最高,而栽培在20℃/15℃温度条件下其离体花粉管生长情况最佳,表明菊花品种‘钟山金阳’的离体花粉萌发率与花粉管生长对栽培温度的响应存在一定差异。

花粉含水量是影响花粉贮藏的重要因子之一^[23]。花粉含水量高,在冷冻过程中易造成冰冻伤害,从而影响花粉活力;而花粉含水量过低也会影响花粉活力^[21]。王涛等^[3]和毛洪玉等^[12]的研究结果表明:菊花花粉不适宜干燥贮藏。而吕晋慧等^[21]的研究结果表明:低温可延长菊花花粉的贮藏时间,且干燥花粉的贮藏时间显著长于新鲜花粉。本研究结果表明:菊花品种‘钟山金阳’干燥花粉的贮藏时间明显长于新鲜花粉,且-20℃低温下贮藏的离体花粉萌发率明显高于室温(约25℃)和-4℃低温。造成这些研究结果差异的原因可能与不同菊花品种花粉适宜的贮藏条件不同有关。在较高的贮藏温度(室温)下,花粉的呼吸作用较强,生理代谢活跃,花粉活力下降较快;而低温则可减弱花粉的呼吸作用,使其养分损耗降低,维持花粉生活力,因而,-20℃低温比较适合菊花品种‘钟山金阳’干燥花粉的长期(50d

以内)贮藏。

此外,关于菊花花粉萌发特性的研究还有待完善,尤其在花粉贮藏条件、环境因子与花粉活力的关系等方面亟需深入研究。

参考文献:

- [1] 陈俊愉. 中国花卉品种分类学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001: 1.
- [2] 李辛雷, 陈发棣. 菊花种质资源与遗传改良研究进展[J]. 植物学通报, 2004, 21(4): 392-401.
- [3] 王涛, 祝朋芳, 董玉芝. 小菊花粉生活力及贮藏力的研究[J]. 辽宁林业科技, 2010(1): 8-11.
- [4] 曾燕如, 黎章矩. 油茶花期气候对花后坐果的影响[J]. 浙江林学院学报, 2010, 27(3): 323-328.
- [5] 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.
- [6] 于璐. 不同番茄品种花药培养和花粉活力的研究[D]. 南京: 南京农业大学园艺学院, 2013: 10.
- [7] 赵宏波, 陈发棣, 房伟民. 栽培小菊和几种菊属植物花粉离体萌发研究[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(2): 22-27.
- [8] 赵宏波, 陈发棣, 房伟民. 菊属植物花粉生活力检测方法的比较[J]. 浙江林学院学报, 2006, 23(4): 406-409.
- [9] 南汝斌, 孙自然. 高温条件对菊花杂交结实的影响[J]. 中国农业科学, 1994, 27(3): 25-29.
- [10] 李丽, 刘一佳, 刘涛. 贮藏条件对12种绣线菊花粉生活力的影响研究[J]. 甘肃农业科技, 2009(8): 5-8.
- [11] 赵剑颖, 张华丽, 张西西, 等. 万寿菊花粉活力及柱头可授性研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(19): 159-163.
- [12] 毛洪玉, 崔文山, 王亚斌. 地被菊花粉萌发及花粉活力的研究[J]. 辽宁林业科技, 2004(5): 12-13, 41.
- [13] 查钱慧, 谭莎, 黄永芳, 等. 5个油茶无性系花粉贮藏特性及杂交亲和力的研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2015, 35(10): 79-82, 108.
- [14] TIRLEA D, BEAUDOIN A B, VINEBROOKE R D. Freeze-dried is as good as frozen: evaluation of differential preservation of pollen grains in stored lake sediments[J]. Review of Palaeobotany and Palynology, 2015, 215: 46-56.
- [15] 宋红霞, 侯璐芬, 武喆, 等. 贮藏温度和湿度对胡萝卜花粉生活力的影响[J]. 上海农业学报, 2011, 27(1): 65-67.
- [16] 张铭芳, 吴磊磊, 贾桂霞. 百合不同杂交系品种花粉贮藏特性分析[J]. 西北植物学报, 2013, 33(7): 1465-1472.
- [17] 张黎, 翟彦. 不同基质不同部位对菊花扦插生根的影响[J]. 西北农业学报, 2005, 14(6): 112-114.
- [18] 高飞. 中日菊花栽培常用基质[J]. 现代园艺, 2014(3): 35, 42.
- [19] 孙春青, 陈发棣, 房伟民, 等. 野菊与菊花杂交中花粉活力和柱头可授性及胚胎发育研究[J]. 西北植物学报, 2009, 29(7): 1335-1341.
- [20] 杨际双, 李占军, 王丽霞. 菊花花粉生活力及瓶插授粉研究[J]. 河南农业科学, 2007, 36(12): 92-95.
- [21] 吕晋慧, 赵耀, 王媛, 等. 地被菊花粉活力和储藏性研究[J]. 园艺学报, 2012, 39(12): 2483-2490.
- [22] SHIBA H, TAKAYAMA S, IWANO M, et al. A pollen coat protein, SP11/SCR, determines the pollen S-specificity in the self-incompatibility of *Brassica* species[J]. Plant Physiology, 2001, 125: 2095-2103.
- [23] 王玉萍, 张峰, 王蒂. 马铃薯花粉的超低温保存研究[J]. 园艺学报, 2003, 30(6): 683-686.

(责任编辑: 郭严冬)

图版说明 Explanation of Plate

图版 I 1-4: 分别为初开未散粉以及散粉第1阶段(第1和第2轮管状花散粉)、第2阶段(第3和第4轮管状花散粉)和第3阶段(全部管状花散粉)的花序; 5-10: 分别为5℃/0℃、10℃/5℃、15℃/10℃、20℃/15℃、25℃/20℃和30℃/25℃栽培组的花粉离体培养4.0 h时的萌发状况; 11-16: 分别为5℃/0℃、10℃/5℃、15℃/10℃、20℃/15℃、25℃/20℃和30℃/25℃栽培组的花粉在柱头上的萌发状况(母本为品种‘钟山粉碟’). Pg: 花粉粒; Pt: 花粉管; St: 柱头; Sty: 花柱.

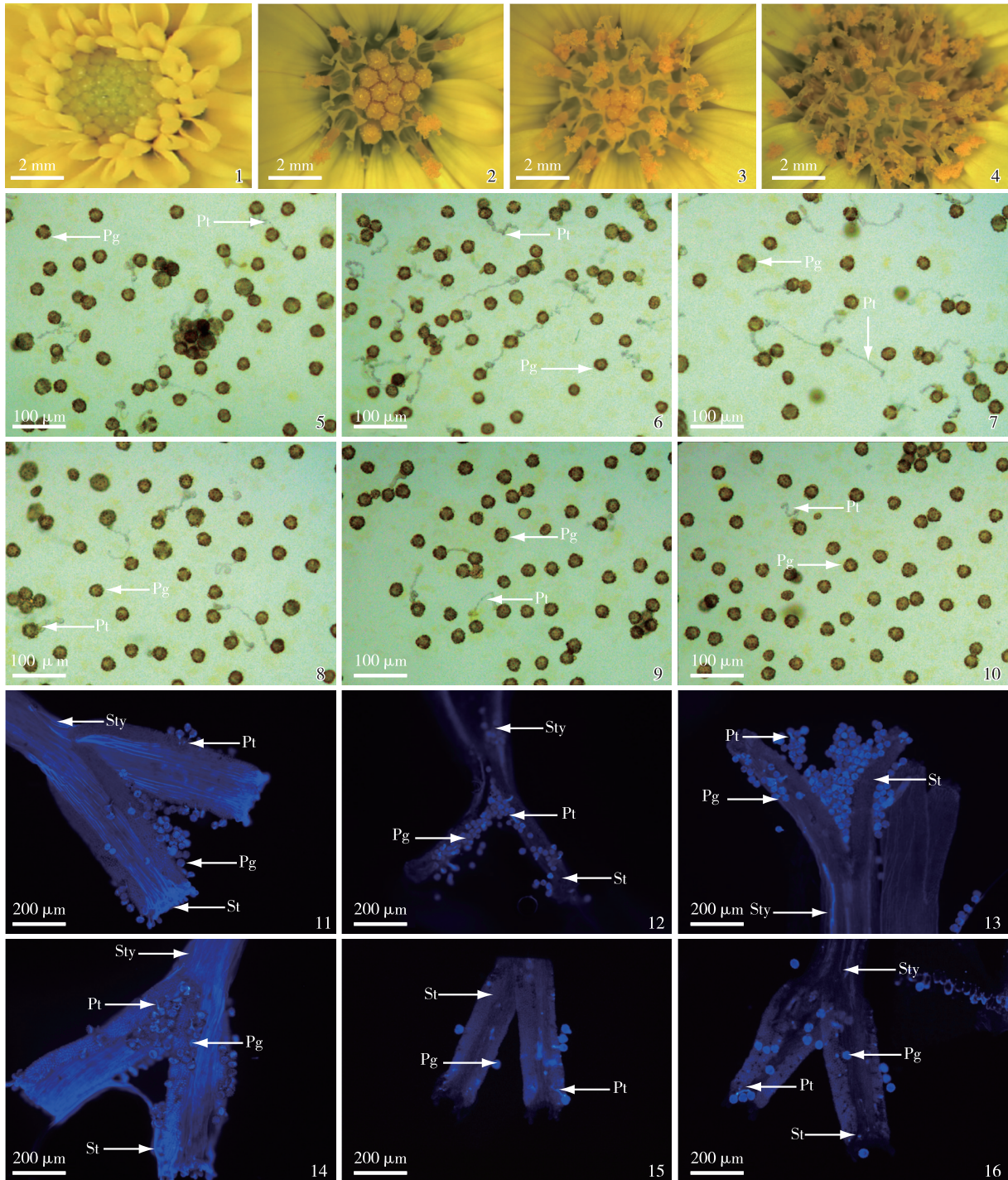
Plate I 1-4: Initial opening without dispersal and the first dispersal stage (the first and the second rounds of tubular flower dispersal), the second dispersal stage (the third and the fourth rounds of tubular flower dispersal), and the third dispersal stage (all tubular flower dispersal) of inflorescences, respectively; 5-10: Pollen germination status of 5℃/0℃, 10℃/5℃, 15℃/10℃, 20℃/15℃, 25℃/20℃, and 30℃/25℃ cultivation groups *in vitro* cultured for 4.0 h, respectively; 11-16: Pollen germination status of 5℃/0℃, 10℃/5℃, 15℃/10℃, 20℃/15℃, 25℃/20℃, and 30℃/25℃ cultivation groups on stigma (female parent is cultivar ‘Zhongshanfendie’), respectively. Pg: Pollen grain; Pt: Pollen tube; St: Stigma; Sty: Style.

蔡依凡, 等: 花序开放程度、栽培温度和贮藏条件对菊花品种‘钟山金阳’花粉萌发的影响

图版 I

CAI Yifan, et al: Effects of inflorescence opening degree, cultivating temperature and storage condition on pollen germination of *Chrysanthemum morifolium* ‘Zhongshanjinyang’

Plate I



See the explanation at the end of the text