



## 4种绣球花粉离体萌发研究

刘国宇<sup>1,2</sup>,王 庆<sup>1,2</sup>,张文波<sup>3</sup>,刘安成<sup>1,2</sup>,赵雪艳<sup>1,2</sup>,李 艳<sup>1,2</sup>

(1. 陕西省西安植物园(陕西省植物研究所),西安 710061;2. 陕西省植物资源保护与利用工程技术研究中心,西安 710061;3. 西安市农业技术推广中心,西安 710061)

**摘要** 通过探究‘棉花糖’、‘精灵’、‘银边绣球’和蜡莲绣球花粉离体萌发和花粉贮藏条件,为绣球杂交育种等研究工作提供参考。采用单因素试验和正交试验研究蔗糖、硼酸和氯化钙浓度对4种绣球花粉离体萌发的影响,在此基础上进一步探讨光照度、萌发温度、贮藏温度对绣球花粉萌发的影响。结果表明,在单因素试验中,蔗糖和硼酸在一定浓度范围内对4种绣球花粉萌发起促进作用,超过一定浓度则抑制萌发;适量的氯化钙对‘精灵’花粉离体萌发有促进作用,对‘棉花糖’、银边绣球和蜡莲绣球花粉离体萌发均有一定程度的抑制作用。正交试验中,适合‘棉花糖’和银边绣球花粉萌发的最佳培养基均为  $A_2B_3C_1$ ,即蔗糖 100 g/L+硼酸 300 mg/L+氯化钙 15 mg/L,萌发率分别为 32.65%和 35.07%;‘精灵’花粉萌发的最佳培养基为  $A_3B_2C_1$ ,即蔗糖 150 g/L+硼酸 150 mg/L+氯化钙 15 mg/L,萌发率为 83.59%;蜡莲绣球的最佳培养基为  $A_1B_1C_1$ ,即蔗糖 30 g/L+硼酸 30 mg/L+氯化钙 15 mg/L,萌发率为 21.38%。4种绣球花粉萌发最佳光照度为 200 lx,最适温度为 25℃和 30℃;‘棉花糖’、‘精灵’和银边绣球花粉中短期贮藏的适宜温度为-80℃,蜡莲绣球花粉贮藏的适宜温度为-20℃。

**关键词** 绣球花粉;离体萌发;正交试验;贮藏温度;光照度

绣球(*Hydrangea macrophylla*)又名八仙花、粉团花、紫阳花,是绣球科绣球属植物,原产于中国和日本。绣球园艺品种繁多,花色艳丽,花序硕大,花期长,可作观赏灌木、鲜切花和盆栽花卉,具有极高的观赏价值。我国应用的绣球品种主要是从欧洲等国家进口<sup>[1-2]</sup>。我国野生绣球资源丰富,是绣球属植物资源的中心,但是国内绣球属植物育种研究相对落后,野生资源开发利用不足<sup>[3-4]</sup>。

杂交育种是绣球新品种选育的重要途径,而花粉活力是影响杂交育种的重要因素<sup>[5-6]</sup>。因此,在进行杂交前明确花粉活力,可以在一定程度上规避杂交风险,提高育种效率<sup>[7]</sup>。花粉活力测定方法有 TTC 染色法、I<sub>2</sub>-KI 染色法、孢粉染色法和离体萌发法等<sup>[8]</sup>。花粉离体萌发法是模拟花粉在柱头上的自然萌发状态,可以更接近真实地反映花粉在植物体内的萌发率<sup>[9-11]</sup>。花粉离体萌发率取决于花粉本身的活力和花粉萌发条件两个因

素<sup>[12]</sup>。不同植物花粉萌发时对营养成分的需求不同。韩勇等<sup>[13]</sup>对‘爱莎’等大花绣球花粉进行了离体萌发试验,筛选出所试品种最适培养基为“蔗糖 10%+硼酸 50 mg/L+氯化钙 30 mg/L”。绣球园艺品种和国内丰富的野生种杂交可以选育具有自主知识产权的兼观赏性和适应性的优良品种,但是大多数园艺品种和野生种存在花期不遇,所以花粉的管理也尤为重要。花粉管理包括采集时间和储存等<sup>[14]</sup>。目前关于绣球花粉的研究多集中在花粉粒形态特征方面<sup>[15-18]</sup>,关于野生绣球和园艺品种花粉活力的报道较少。本试验选择园艺绣球品种‘棉花糖’、‘精灵’、银边绣球和秦岭的蜡莲绣球,采用花粉离体萌发法,筛选最佳蔗糖、硼酸和氯化钙组合作为萌发基质,研究温度、光照度、萌发时间和贮藏温度对绣球花粉萌发率的影响,为绣球杂交育种工作的开展提供参考依据。

收稿日期:2023-04-23 修回日期:2023-06-12

基金项目:陕西省重点研发计划一般项目——农业领域(2022NY-180);陕西省重点研发计划重点产业创新链(群)——农业领域(2022ZDLNY03-09)。

第一作者:刘国宇,女,副研究员,主要从事观赏植物引种驯化、栽培、品种选育及有效成分研究。E-mail:liuguoyu1983@126.com

通信作者:李 艳,女,研究员,主要从事观赏植物资源引种驯化、栽培生理及景观配置研究。E-mail:5214352@126.com

# 1 材料与amp;方法

## 1.1 花粉的采集与amp;处理

‘棉花糖’、‘精灵’、‘银边绣球’和蜡莲绣球均种植在陕西省西安植物园(陕西省植物研究所),于5月盛花期采集‘棉花糖’、‘精灵’、‘银边绣球’花粉,6月盛花期采集蜡莲绣球花粉。均选取生长健壮、无病虫害绣球植株,于9:00—10:00取当日散粉的花朵,用硫酸纸包裹带回实验室,收集花粉,进行离体萌发试验,同时,用于后续试验的花粉用硫酸纸包裹后立即放入干燥剂中,分别置于常温 25 ℃、4 ℃、-20 ℃和-80 ℃保存。

## 1.2 方法

### 1.2.1 离体萌发法测定花粉活力

配制所需蔗糖

表 1 单因素试验的质量浓度梯度

Table 1 Single factorial experiment

因素 Factors	水平 Levels									
蔗糖/(g · L <sup>-1</sup> ) Sucrose	0	15	30	50	100	150	200	300		
硼酸/(mg · L <sup>-1</sup> ) Boric acid	0	15	30	50	100	150	200	300	350	400
氯化钙/(mg · L <sup>-1</sup> ) Calcium chloride	0	15	30	50	100	150	200	300		

1.2.3 培养基的正交试验 在单因素试验的基础上,为探索绣球花粉离体萌发的最佳培养基配方,采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交设计,研究培养基组分中蔗糖(A)、硼酸(B)、氯化钙(C) 3个因素的各个水平对绣球花粉离体萌发的影响,因素水平见表 2。

表 2 正交试验 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)因素水平

Table 2 Factors and levels table of orthogonal design L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)

水平 Levels	A 蔗糖质量浓度/(g/L) Sucrose	B 硼酸质量浓度/(mg/L) Boric acid	C 氯化钙质量浓度/(mg/L) Calcium chloride
1	30	30	15
2	100	150	30
3	150	300	50

1.2.4 不同光照度对绣球花粉离体萌发率的影响 利用筛选出的最优培养基,在 25 ℃下,将绣球花粉分别置于 0、50、200、500、1 000、2 000、3 000、4 000 lx 光照度下离体萌发 16 h,统计绣球花粉萌发率,筛选出最佳光照度。

1.2.5 不同温度下萌发时间对绣球花粉离体萌发率的影响 利用筛选出的最优培养基及最佳光照度,研究绣球花粉在 20、25、30 ℃下萌发时间为 1.5、3、5、8、12、16、24 h 的离体萌发率。

1.2.6 贮藏温度对绣球花粉萌发率的影响 在筛选出的最优培养基、最佳光照度及适宜萌发温度下,对在 25、4、-20、-80 ℃贮藏 0(对照

糖、硼酸、氯化钙质量浓度的培养基,滴 1 滴于载玻片上,用棉签蘸取花粉后轻弹撒于培养液上,每种花粉 3 个重复。将载玻片放在有湿润滤纸的培养皿中,盖上盖子,在光照培养箱中培养后,在显微镜下观察萌发情况。统计萌发率时随机选取不少于 50 粒花粉的 5 个视野,花粉管长度超过花粉粒直径的计为萌发,计算花粉萌发率,取平均值。花粉萌发率(%) = 萌发的花粉数/视野内花粉粒总数 × 100%。

1.2.2 培养基的单因素试验 参照韩勇等<sup>[13]</sup>关于大花绣球花粉萌发试验的方法,分别对蔗糖、硼酸、氯化钙进行单因素试验(表 1)。通过萌发率统计结果确定 3 种成分的浓度用于下一步正交试验。

CK)、20、40、60、80、100 d 的绣球花粉进行离体萌发,统计萌发率。

## 1.3 数据处理

采用 Excel 2010 软件绘制图表,采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。

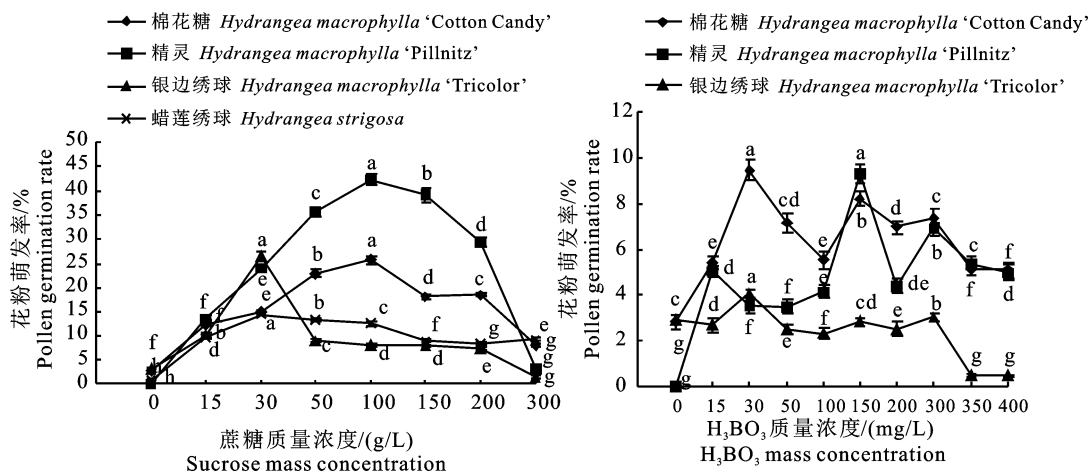
# 2 结果与分析

## 2.1 单因素对绣球花粉萌发率的影响

通过对蔗糖、硼酸、氯化钙的单因素试验,结果表明,3 个单因素对不同绣球花粉离体萌发的影响不同(图 1)。蔗糖对 4 种绣球花粉萌发作用显著,变化趋势整体均呈倒“V”型,当蔗糖质量浓度为 100 g/L 时,‘棉花糖’和‘精灵’花粉萌发率最大,分别为 25.73% 和 42.33%;蔗糖质量浓度为 30 g/L 时,‘银边绣球’和蜡莲绣球花粉萌发率最大,分别为 26.52% 和 14.35%。硼酸对 4 种绣球花粉离体萌发的作用不尽相同,‘棉花糖’、‘精灵’和‘银边绣球’的萌发曲线均为双峰型,‘棉花糖’花粉萌发的两个最大峰值分别出现在硼酸质量浓度为 30 mg/L 和 150 mg/L,‘精灵’的两个峰值分别出现在硼酸质量浓度为 150 mg/L 和 300 mg/L,‘银边绣球’的两个峰值分别出现在 30 mg/L 和 300 mg/L;不同硼酸质量浓度下蜡莲绣球花粉萌发率均较低,≤2.02%(文中未显示蜡莲

绣球数据)。适量的氯化钙对‘精灵’花粉离体萌发有一定的促进作用,不添加氯化钙时萌发率为 0,随着 Ca<sup>2+</sup> 质量浓度增大花粉萌发率显著提高,质量浓度为 30 mg/L 时萌发率最大,为 2.38%,当质量浓度增加到 300 mg/L 时萌发率降为 0;单

独添加氯化钙对‘棉花糖’‘银边绣球’和蜡莲绣球花粉离体萌发均有一定程度的抑制作用,且萌发率均较低(文中未显示数据)。通过单因素试验对 4 种绣球花粉离体萌发率影响的综合分析,确定表 2 中的因素水平进行正交试验。



同一曲线上不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同  
 Different letters in the same curve indicate significant difference ( $P < 0.05$ ), the same below

图 1 不同绣球品种花粉在单因素试验中的萌发率

Fig. 1 Pollen germination rate of different *Hydrangea macrophylla* varieties in single-factor experiments

2.2 正交试验对 4 种绣球花粉萌发的影响

在单因素试验基础上,为寻求蔗糖、硼酸、氯化钙的最佳组合,从中选取适宜的质量浓度梯度设计三因素三水平 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验(表 3)。结果显示,4 种绣球在不同培养基上的花粉萌发率具有显著差异。其中,‘棉花糖’在组合 6(A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>) 上的萌发率最高为 32.65%,最低组合 2(A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) 为 13.13%,相差 19.52%;‘精灵’在组合 8(A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) 上的萌发率最高为 83.59%,最低

组合 2(A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) 为 38.76%,相差 44.83%;‘银边绣球’在组合 6(A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>) 上的萌发率最高为 35.07%,最低组合 9(A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>) 为 18.14%,相差 16.93%;蜡莲绣球在组合 1(A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) 上的萌发率最高为 21.38%,最低组合 7(A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>) 为 5.00%,相差 16.38%。4 种绣球花粉离体萌发率由大到小依次为‘精灵’>‘银边绣球’>‘棉花糖’>蜡莲绣球,最优培养分别为 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>、A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>。

表 3 绣球花粉离体萌发正交试验

Table 3 Orthogonal experiment for *Hydrangea macrophylla* pollen germination in vitro

编号 Serial number	因素 Factor			萌发率/% Germination rate			
	A 蔗糖/ (g/L) Sucrose	B 硼酸/ (mg/L) Boric acid	C 氯化钙/ (mg/L) Calcium chloride	‘棉花糖’ <i>Hydrangea macrophylla</i> ‘Cotton Candy’	‘精灵’ <i>Hydrangea macrophylla</i> ‘Pillnitz’	‘银边绣球’ <i>Hydrangea macrophylla</i> ‘Tricolor’	蜡莲绣球 <i>Hydrangea strigosa</i>
1	30	30	15	17.69±0.53 e	40.16±1.24 g	26.86±0.60 b	21.38±0.75 a
2	30	150	30	13.13±0.39 h	38.76±1.15 h	22.97±0.67 d	16.26±0.48 b
3	30	300	50	14.77±0.55 g	47.05±1.30 f	22.96±0.71 d	5.50±0.28 h
4	100	30	30	16.21±0.43 f	53.92±1.31 e	21.35±0.57 e	11.74±0.40 e
5	100	150	50	19.85±0.44 cd	55.09±1.49 d	25.88±0.62 c	13.79±0.43 d
6	100	300	15	32.65±0.64 a	54.14±1.03 de	35.07±0.86 a	14.22±0.48 c
7	150	30	50	20.61±0.42 b	68.99±1.41 c	23.34±0.56 d	5.00±0.20 i
8	150	150	15	19.88±0.58 c	83.59±1.88 a	26.91±0.56 b	7.11±0.15 g
9	150	300	30	19.49±0.51 d	75.72±1.61 b	18.14±0.33 f	8.13±0.20 f

注:数据为“平均值±标准差”(n=3)。同列不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05),下同。

Note: Datas are “mean±standard deviation”(n=3). Different lowercase letters within the same columns indicate significant differences (P<0.05) among treatments, the same below.

各因素在不同水平上的平均值(Ki)及极差(R)分别反映了不同因素各水平对绣球花粉萌发率的影响情况及该因素对绣球花粉萌发率的影响程度, Ki 值越大, 萌发率越高, R 值越大, 该因素影响越大<sup>[19]</sup>。由直观分析可知, 在‘棉花糖’花粉萌发中, 蔗糖(A)、硼酸(B)、氯化钙(C) 3 个因素的 Ki 最大值分别为 K2、K3、K1, 3 个因素对花粉萌发率影响的 R 值大小依次为蔗糖(A) > 氯化钙(C) > 硼酸(B); ‘精灵’花粉萌发中 3 个因素的 Ki 最大值分别为 K3、K2、K1, R 值大小依次为蔗糖(A) > 硼酸(B) > 氯化钙(C); 银边绣球花粉萌发中 3 个因素的 Ki 最大值分别为 K2、K3、K1, R 值大小依次为氯化钙(C) > 蔗糖(A) > 硼酸(B); 蜡莲绣球花粉萌发中 3 个因素的 Ki 最大值均为 K1, R 值大小依次为蔗糖(A) > 氯化钙(C) > 硼酸(B)。直观分析结果可看出, 影响花粉萌发 3 因素 Ki 最大值组合与表 3 中各绣球花粉萌发率最大值一致; ‘棉花糖’、‘精灵’和蜡莲绣球花粉萌发率影响最大的因素为蔗糖, ‘银边绣球’影响最大的因素为氯化钙。方差分析结果表明, 蔗糖对‘精灵’花粉萌发率达到显著影响, 是‘精灵’花粉萌发最关键因素, 其他因素影响均不显著; 3 因素对‘棉花糖’、‘银边绣球’和蜡莲绣球影响均不显著。

**2.3 光照度对 4 种绣球花粉萌发的影响**

在 25 °C 条件下, 分别在最优培养基上进行光照度对花粉萌发率影响试验。从图 2 可以看出, 光照度对 4 种绣球花粉离体萌发率有显著影响。4 种绣球花粉萌发率最大光照度均为 200 lx。在 0 lx(黑暗)和 50 lx 光照条件下, ‘棉花糖’、‘精灵’和‘银边绣球’花粉萌发率均显著高于 500 lx 及更强光照下的萌发率, 且随着光照度增大花粉萌发率显著降低, 当光照度为 4 000 lx 时, 较最大萌发率分别降低 28.35%、64.55%和 24.89%。蜡莲绣球在 0 lx(黑暗)和 50 lx 光照度与较高光照度下花粉萌发率差异不显著。可见, 4 种绣球花粉萌发均在弱光照条件下进行。

**2.4 不同温度下培养时间对绣球花粉离体萌发率的影响**

花粉萌发是花粉细胞内一系列生化反应的结果, 温度是影响生化反应进行的基本条件之一<sup>[20]</sup>。选择最优培养基及 200 lx 光照度, 分别在 20 °C、25 °C、30 °C 下观察 4 种绣球花粉离体萌发情况, 结果见图 3。由图 3 可知, 4 种绣球花粉均

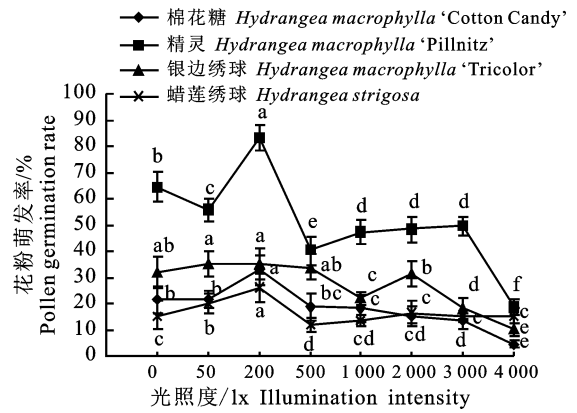


图 2 不同光照度下 4 种绣球花粉离体萌发率

Fig. 2 Pollen germination of *Hydrangea macrophylla* in vitro under different light intensity

在 20 °C 时萌发速率和萌发率最低, ‘棉花糖’、‘银边绣球’和蜡莲绣球均在培养时间为 16 h 时达到最大萌发率, ‘精灵’在 24 h 达到最大萌发率。‘棉花糖’花粉在 25 °C 和 30 °C 下培养时间为 16 h 时达到最大萌发率, 且差异不显著; ‘精灵’、‘银边绣球’和蜡莲绣球花粉在 25 °C 和 30 °C 下均分别在 16 h 和 12 h 达到最大萌发率, 且两个温度下的最大萌发率均差异不显著。综上分析可知, 25 °C 和 30 °C 均为 4 种绣球花粉适宜萌发温度, 温度过低不利于花粉萌发。

**2.5 贮藏温度对 4 种绣球花粉萌发率的影响**

图 4 显示, 随着贮藏时间的延长, 4 种绣球花粉萌发率均逐渐降低, 且总体趋势为先快后慢。在室温 25 °C 条件下, 4 种绣球花粉萌发率均急速下降, 第 20 天时, ‘棉花糖’、‘精灵’、‘银边绣球’和蜡莲绣球花粉萌发率分别降低到 3.29%、11.75%、5.24% 和 7.49%; 当贮藏时间为 60 d 时, 萌发率均为 0, 这可能是由于较高温度下花粉呼吸作用强, 营养消耗多, 导致花粉活力迅速下降。随着贮藏温度降低, ‘棉花糖’、‘精灵’和‘银边绣球’花粉萌发率均逐渐增加, 而蜡莲绣球是在 -20 °C 贮藏时萌发率最高。绣球花粉在各低温贮藏下萌发率降低差异显著, ‘棉花糖’花粉在贮藏 100 d 时, -80 °C、-20 °C 和 4 °C 条件下萌发率分别降低到对照(CK)的 22.37%、16.97% 和 8.70%, ‘精灵’花粉萌发率分别降低到对照(CK)的 29.82%、20.91% 和 4.06%, 蜡莲绣球分别为对照(CK)的 37.71%、43.30% 和 2.35%。‘银边绣球’花粉在 -80 °C 条件下贮藏 100 d 萌发率降低到对照(CK)的 51.13%, 且与贮藏 80 d 差异不显著, -20 °C 和 4 °C 条件下萌发率分别降低到对



照(CK)的 22.29% 和 9.39%。综上可知, -80 °C 适合‘棉花糖’、‘精灵’和‘银边绣球’花粉

的中短期贮藏,且‘银边绣球’花粉萌发率下降最慢;-20 °C 更适合蜡莲绣球花粉的贮藏。

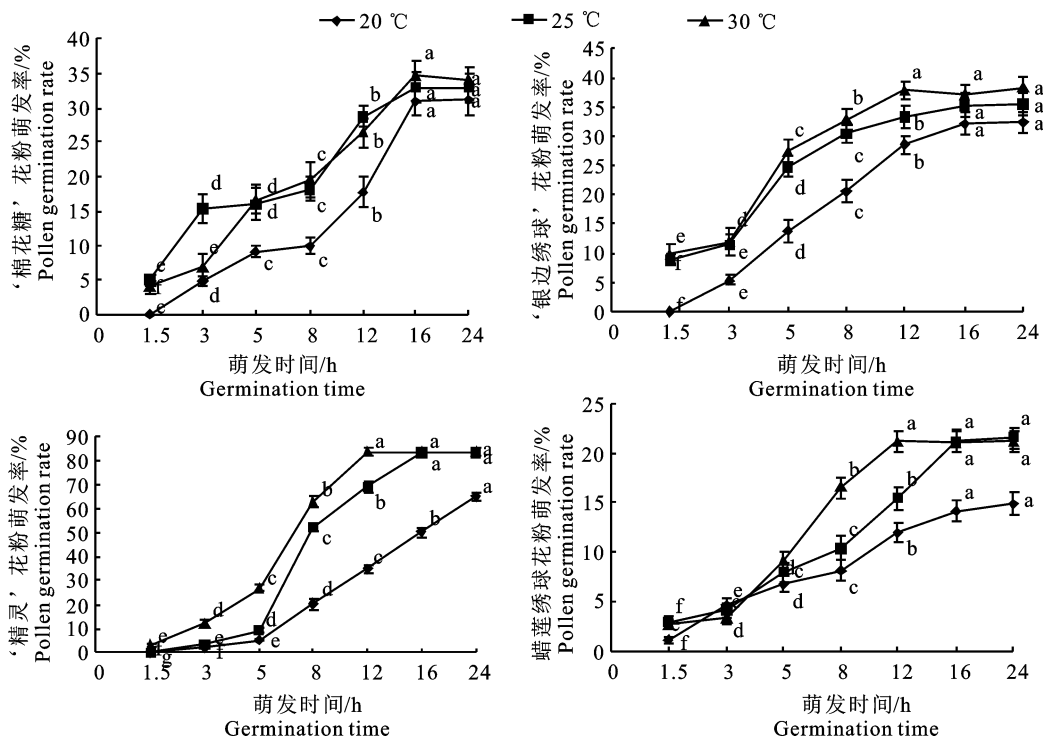


图 3 不同温度下不同培养时间的绣球花粉萌发率

Fig. 3 Germination rate of *Hydrangea macrophylla* at different culture time under different temperatures

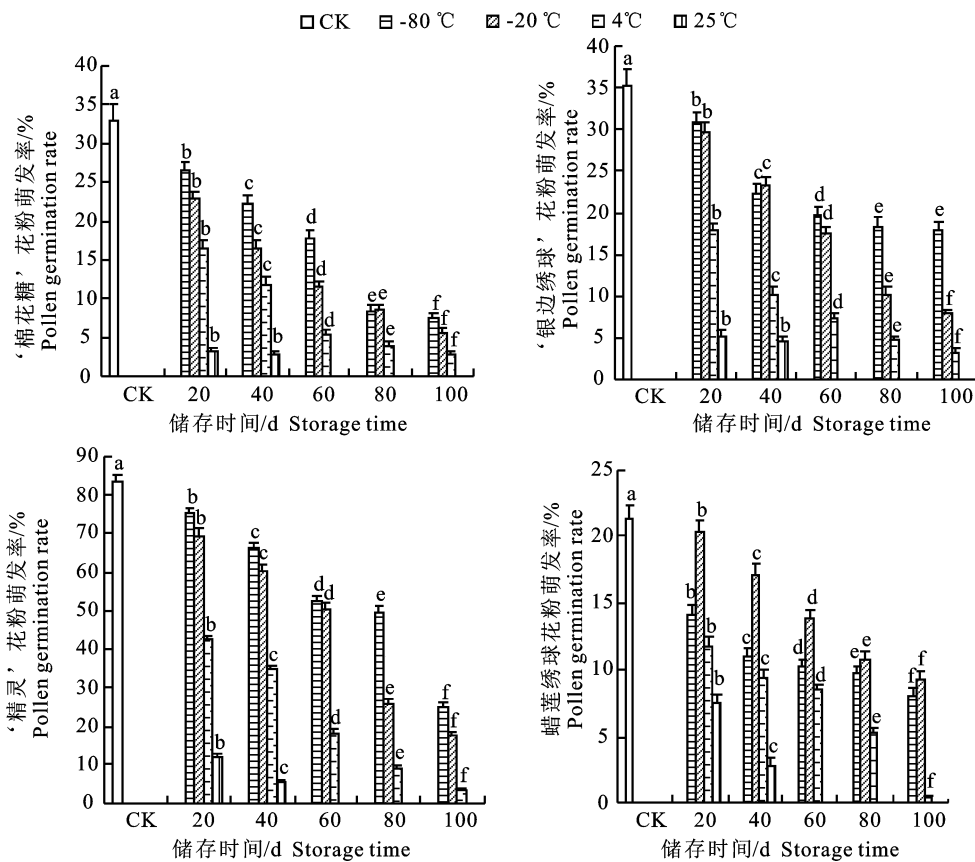


图 4 不同贮藏温度下绣球花粉萌发率的变化

Fig. 4 Pollen germination rate of *Hydrangea macrophylla* under different storage temperatures

### 3 结论与讨论

花粉萌发率是衡量花粉活力的主要标志,花粉萌发受自身发育状况、培养基组分、光照、温度、储存条件等环境因子的影响<sup>[21]</sup>。花粉离体萌发一般是在培养基上进行,蔗糖是培养基的主要成分之一,既是花粉粒萌发及花粉管壁合成的主要营养物质,又是花粉代谢的重要碳源及细胞的渗透调节物质<sup>[22]</sup>。蔗糖质量浓度过高过低都会影响花粉萌发,必须控制在合理范围内。冯建文等<sup>[23]</sup>研究表明,‘嘎啦’苹果花粉萌发率随着蔗糖质量浓度加大而逐渐增加,当蔗糖为 80 g/L 时萌发率最大,当蔗糖的添加量继续增大时,花粉萌发率呈下降趋势。本研究中,‘棉花糖’‘精灵’‘银边绣球’和蜡莲绣球分别在蔗糖质量浓度为 100 g/L、100 g/L、30 g/L、30 g/L 时花粉萌发率最大,依次为 25.73%、42.33%、26.52%、14.35%,随着蔗糖质量浓度增大,萌发率均降低,与上述研究结果一致。硼酸的作用主要是硼离子能与蔗糖形成络合物,易于通过质膜,促进糖的吸收与代谢<sup>[24]</sup>。本研究结果表明,硼酸对‘棉花糖’‘精灵’‘银边绣球’和蜡莲绣球花粉萌发均有不同程度的促进作用,且硼酸质量浓度过高或者过低均会抑制花粉萌发。Wang 等<sup>[25]</sup>认为,适宜质量浓度的外源  $Ca^{2+}$  能够促进花粉离体萌发。本研究中,  $Ca^{2+}$  为‘精灵’花粉萌发的必须因素,适宜质量浓度的氯化钙对‘精灵’花粉萌发有显著的促进作用,质量浓度为 30 mg/L 时萌发率最大,300 mg/L 时萌发率为 0。杨界等<sup>[26]</sup>发现  $Ca^{2+}$  抑制狭叶重楼花粉的萌发。郭丽等<sup>[27]</sup>研究表明,  $Ca^{2+}$  对大岩桐花粉萌发虽不具备促进作用,但对花粉管的生长具有显著的促进作用。本研究的单因素试验中,氯化钙对‘棉花糖’‘银边绣球’和蜡莲绣球花粉萌发均有一定程度的抑制作用,但在正交试验中与蔗糖、硼酸的最佳组合,对萌发率有一定的促进作用,原因可能是 3 因素之间的协同作用,具体机制有待进一步研究。

光照对植物花粉萌发的影响因植物种类而不同。张忠镇等<sup>[28]</sup>研究发现,1 600~2 000 lx 是元宝枫花粉萌发的最佳光照度,低于 800 lx 不利于花粉萌发;彭向永等<sup>[29]</sup>也发现,增加光照度可以提高蒿柳花粉萌发率,低于 1 200 lx 不利于花粉萌发。与以上结果不同,西番莲花粉在 0 lx(黑暗)条件下的离体萌发率最高,花粉管生长最

佳<sup>[30]</sup>;遮阳不仅有利于延长猪牙花花粉活力保持时间,还能增强花粉活力<sup>[31]</sup>。本研究发现,4 种绣球均在 0 lx(黑暗)或弱光环境下花粉萌发率较高,光照度为 200 lx 时萌发率最高,随着光照度增加萌发率逐渐降低,这可能是由于绣球自身特性以及生长环境导致的。

花粉贮藏是植物种质资源保存和花期不遇品种进行杂交工作的关键,有效的花粉贮藏方法是保育工作顺利进行的重要基础<sup>[32]</sup>。花粉在贮藏期间持续地进行呼吸等代谢活动,不间断地消耗着自身营养物质,导致花粉生活力下降直至丧失,而贮藏温度是影响花粉活力保持物质降解或者转化速度的最主要因素之一<sup>[33]</sup>。对大多数植物而言,贮藏温度越低,花粉寿命越长;贮藏时间越长,花粉生活力越低。赵萍等<sup>[34]</sup>试验结果表明,与 4 °C 和 -20 °C 相比, -80 °C 储存 190 d 的紫斑牡丹花粉仍有较高活性和萌发率,适用于花粉的长期保存。本研究中,‘棉花糖’‘精灵’和‘银边绣球’花粉在 -80 °C 中短期贮藏优于 25 °C、4 °C 和 -20 °C,与上述研究结果基本一致。Kumari 等<sup>[35]</sup>发现 -20 °C 比 -80 °C 更适宜罗勒属植物花粉贮藏。蜡莲绣球花粉贮藏的各个阶段, -20 °C 条件下的花粉萌发率均高于 -80 °C,这可能一方面是由于在超低温条件下,蜡莲绣球中的保护酶受低温刺激活性迅速下降,对花粉内部清除活性氧的能力减弱,导致花粉极易衰老与死亡;另一方面可能由于蜡莲绣球花粉湿度过高,花粉细胞结冰导致细胞膜受损<sup>[36]</sup>。绣球花粉贮藏过程中花粉湿度对萌发率的影响有待进一步研究。适宜的花粉贮藏方式和条件可以为绣球育种工作的顺利进行提供技术保障。

#### 参考文献 Reference:

- [1] 屈连伟. 绣球花新品种选育——种子收获和播种[J]. 中国花卉园艺, 2013(8):30-32.  
QU L W. Breeding of new varieties of *Hydrangea macrophylla*—seed harvesting and sowing [J]. *China Flower Horticulture*, 2013(8):30-32.
- [2] 邓衍明, 韩勇, 齐香玉, 等. 绣球属植物种质资源分析及其花色可调性和叶斑病抗性比较[J]. 植物资源与环境学报, 2018, 27(4):90-100.  
DENG Y M, HAN Y, QI X Y, et al. Analysis on germplasm resources of species in *Hydrangea* Linn. and comparisons on their flower color variability and resistance to leaf-spot disease [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2018, 27(4):90-100.
- [3] 陈爽. 秦岭地区八仙花属植物种质资源调查保存与评价

- 研究[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2021.
- CHEN SH. Investigation, preservation and evaluation of *Hydrangea* germplasm resources in Qinling Mountains[D]. Yangling Shaanxi:Northwest A&F University,2021.
- [4] 吴凡,江俊浩,卢山,等. 中国绣球属种质资源及其利用研究进展[J]. 园艺学报,2022,49(9):2037-2050.
- WU F,JIANG J H,LU SH,*et al.* Research progress on germplasm resources and utilization of *Hydrangea* in China [J]. *Acta Horticulturae Sinica*,2022,49(9):2037-2050.
- [5] 李振勤,耿芳,聂瑞敏,等. 不同贮藏条件下滇山茶花粉萌发与花粉活力保存[J/OL]. 分子植物育种,2021[2022-03-16]. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=1u4N9e-cd2SdOwOLW7p\\_IMXTCBR-RGIlJ02\\_GmRXjtdjB7MOGhIfH-uHOo8J7emgAKqTfG6-ZZuXREw\\_Tgygkiz\\_pWyhXG4WOx7N1jzBDk4heWH0mzkACuA=&uniplatform=NZKPT&language=gb](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=1u4N9e-cd2SdOwOLW7p_IMXTCBR-RGIlJ02_GmRXjtdjB7MOGhIfH-uHOo8J7emgAKqTfG6-ZZuXREw_Tgygkiz_pWyhXG4WOx7N1jzBDk4heWH0mzkACuA=&uniplatform=NZKPT&language=gb).
- LI ZH Q,GENG F,NIE R M,*et al.* Pollen germination and viability preservation of *Camellia reticulata* under different storage conditions[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*,2021 [2022-03-16]. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=1u4N9e-cd2SdOwOLW7p\\_IMXTCBR-RGIlJ02\\_GmRXjtdjB7MOGhIfH-uHOo8J7emgAKqTfG6-ZZuXREw\\_Tgygkiz\\_pWyhXG4WOx7N1jzBDk4heWH0mzkACuA=&uniplatform=NZKPT&language=gb](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=1u4N9e-cd2SdOwOLW7p_IMXTCBR-RGIlJ02_GmRXjtdjB7MOGhIfH-uHOo8J7emgAKqTfG6-ZZuXREw_Tgygkiz_pWyhXG4WOx7N1jzBDk4heWH0mzkACuA=&uniplatform=NZKPT&language=gb).
- [6] 张伟,关文灵,宋杰,等. 4个三角梅品种花粉离体萌发及活力测定优化[J/OL]. 分子植物育种,2022[2022-09-20]. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=1u4N9e-cd2S243Xd\\_3dW9jCeHka2kL\\_EOPHqE0v1iBwmqVpIrNrHBvd\\_6oG7YQLHm0dskmG\\_YnU9lZFbeb3777IWsak2dfCskTo8W1pe1a-Zv36hFXdFg\\_Cg=&uniplatform=NZKPT&language=gb](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=1u4N9e-cd2S243Xd_3dW9jCeHka2kL_EOPHqE0v1iBwmqVpIrNrHBvd_6oG7YQLHm0dskmG_YnU9lZFbeb3777IWsak2dfCskTo8W1pe1a-Zv36hFXdFg_Cg=&uniplatform=NZKPT&language=gb).
- ZHANG W,GUAN W L,SONG J,*et al.* Optimization of in vitro pollen germination and viability determination of four *Bougainvillea* cultivars [J/OL]. *Molecular Plant Breeding*,2022[2022-09-20]. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=1u4N9e-cd2S243Xd\\_3dW9jCeHka2kL\\_EOPHqE0v1iBwmqVpIrNrHBvd\\_6oG7YQLHm0dskmG\\_YnU9lZFbeb3777IWsak2dfCskTo8W1pe1a-Zv36hFXdFg\\_Cg=&uniplatform=NZKPT&language=gb](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=1u4N9e-cd2S243Xd_3dW9jCeHka2kL_EOPHqE0v1iBwmqVpIrNrHBvd_6oG7YQLHm0dskmG_YnU9lZFbeb3777IWsak2dfCskTo8W1pe1a-Zv36hFXdFg_Cg=&uniplatform=NZKPT&language=gb).
- [7] DENG Y M,TENG N J,CHEN S M,*et al.* Reproductive barriers in the intergeneric hybridization between *Chrysanthemum grandiflorum* (Ramat.) Kitam. and *Ajanía przewalskii* Poljak. (Asteraceae) [J]. *Euphytica*,2010,174:41-50.
- [8] 段青,蔡晶晶,杜文文,等. 大丽花花粉活力及离体萌发研究[J]. 中国农学通报,2022,38(7):52-61.
- DUAN Q,CAI J J,DU W W,*et al.* Pollen viability and in vitro germination of *Dahlia* cultivars [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*,2022,38(7):52-61.
- [9] STONE J L,THOMSON J D,DENT-ACOSTA S J. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments:a review [J]. *American Journal of Botany*,1995,82(9):1186-1197.
- [10] 张超仪,耿兴敏. 6种杜鹃花属植物花粉活力测定方法的比较研究[J]. 植物科学学报,2012,30(1):92-99.
- ZHANG CH Y,GENG X M. Comparative study on methods for testing pollen viability of the six species from genus *Rhododendron* [J]. *Plant Science Journal*,2012,30(1):92-99.
- [11] 郝丽红,陈燕,杨柳慧,等. 不同品种观赏贝母花粉活力与萌发率比较[J]. 西北农业学报,2016,25(7):1062-1066.
- HAO L H,CHEN Y,YANG L H,*et al.* Pollen vitality and germination rate of different varieties of ornamental *Fritillaries* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*,2016,25(7):1062-1066.
- [12] 刘安成,尉倩,李淑娟,等. 几种忍冬属植物花粉离体萌发研究[J]. 西南大学学报(自然科学版),2016,38(7):76-81.
- LIU A CH,YU Q,LI SH J,*et al.* Study on pollen germination in vitro for several species of *Lonicera* [J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*,2016,38(7):76-81.
- [13] 韩勇,刁春武,施亚晨,等. 大花绣球花粉离体萌发培养基的筛选及花粉萌发率和花药含粉量的测定试验[J]. 上海蔬菜,2022(1):70-72,91.
- HAN Y,DIAO CH W,SHI Y CH,*et al.* Screening of pollen germination medium in vitro and determination of pollen germination rate and anther powder content of *Hydrangea macrophylla* [J]. *Shanghai Vegetables*,2022(1):70-72,91.
- [14] SIDHU R K. Pollen storage in vegetable crops:a review [J]. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*,2019,1,599-603.
- [15] 郝刚,胡启明. 绣球亚科花粉形态的研究[J]. 热带亚热带植物学报,1996,4(3):26-31.
- HAO G,HU Q M. A study of pollen morphology of Hydrangeoideae (Hydrangeaceae) [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*,1996,4(3):26-31.
- [16] 张梅,夏常英,傅连中,等. 绣球属(*Hydrangea* L.)及近缘属花粉形态的研究[J]. 广西植物,2019,39(3):297-311.
- ZHANG M,XIA CH Y,FU L ZH,*et al.* Pollen morphology of *Hydrangea* L. (Hydrangeaceae) and its related genera [J]. *Guihaia*,2019,39(3):297-311.
- [17] 黄丽娟,孙强. 不同类型绣球属花粉形态特征观察[J]. 安徽农业科学,2020,48(5):1-3,8.
- HUANG L J,SUN Q. Observation on pollen morphology of different types of *Hydrangea* L. [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*,2020,48(5):1-3,8.
- [18] 周静伟,吴晓梦,周慧晶,等. 10个八仙花品种花粉粒形态扫描电镜观察[J]. 分子植物育种,2021,19(21):7240-7250.
- ZHOU J W,WU X M,ZHOU H J,*et al.* Observation of pollen grains of ten *Hydrangea* varieties with scanning electron microscope (SEM) [J]. *Molecular Plant Breed-*

- ing, 2021, 19(21): 7240-7250.
- [19] 张慧会, 祝遵凌. 香水莲花花粉活力测定最适培养条件分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(2): 553-560.  
ZHANG H H, ZHU Z L. Analysis of optimum culture conditions for determination of *Nymphaea hybrida* pollen vigor[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(2): 553-560.
- [20] 常海龙, 张伟, 陈俊吕, 等. 甘蔗花粉离体萌发研究[J]. 热带作物学报, 2019, 40(10): 2068-2075.  
CHANG H L, ZHANG W, CHEN J L, et al. Sugarcane pollen germination in vitro[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2019, 40(10): 2068-2075.
- [21] 李旭新, 张艳青, 冯献宾, 等. 不同培养条件对黄连木花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 西北植物学报, 2009, 29(5): 867-873.  
LI X X, ZHANG Y Q, FENG X B, et al. In vitro pollen germination and pollen tube growth of *Pistacia chinensis* Bunge[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2009, 29(5): 867-873.
- [22] FEI S, NELSON E. Estimation of pollen viability, shedding pattern, and longevity of creeping bentgrass on artificial media[J]. *Crop Science*, 2003, 43(6): 2177-2181.
- [23] 冯建文, 邹养军, 董军, 等. ‘嘎啦’苹果花粉萌发中培养基组分和培养条件优化[J]. 西北农业学报, 2016, 25(11): 1643-1649.  
FENG J W, ZOU Y J, DONG J, et al. Optimization of in vitro liquid medium component and culture condition for pollen of ‘Gala’ apple[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2016, 25(11): 1643-1649.
- [24] 王彪, 赵杨, 仇杰. 七姊妹蔷薇花粉萌发特性研究[J]. 西部林业科学, 2022, 51(3): 18-23, 39.  
WAGN B, ZHAO Y, QIU J. Pollen germination characteristics of *Rosa multiflora* var. *carnea* [J]. *Journal of West China Forestry Science*, 2022, 51(3): 18-23, 39.
- [25] WANG Q L, LU L D, WU X Q. Pollen storage and viability determination[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2002, 19(3): 365-372.
- [26] 杨界, 李燕, 罗莉, 等. 无机元素对狭叶重楼花粉萌发及花粉管生长的影响[J]. 四川农业大学学报, 2009, 27(2): 199-202.  
YANG J, LI Y, LUO L, et al. Effects of mineral elements on pollen germination and pollen tube growth of *Paris polyphylla* var. *stenophylla* [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2009, 27(2): 199-202.
- [27] 郭丽, 胡云飞, 张李玲, 等. 大岩桐花粉萌发特性探究[J]. 分子植物育种, 2020, 18(21): 7196-7202.  
GUO L, HU Y F, ZHANG L L, et al. Study on pollen germination characteristics of *Sinningia speciosa* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(21): 7196-7202.
- [28] 张忠镇, 李岱龙, 王文文, 等. 影响元宝枫花粉离体萌发的因素研究[J]. 山东林业科技, 2018(5): 40-43, 49.  
ZHANG ZH ZH, LI D L, WANG W W, et al. Study on factors affecting pollen germination in vitro of *Acer truncatum* Bunge [J]. *Shandong Forestry Science and Technology*, 2018(5): 40-43, 49.
- [29] 彭向永, 刘俊祥, 李振坚, 等. 蒿柳花粉离体萌发及花粉管生长特性[J]. 北京林业大学学报, 2017, 39(3): 81-86.  
PENG X Y, LIU J X, LI ZH J, et al. Characteristics of pollen germination and pollen tube growth in *Salix viminalis* in vitro [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2017, 39(3): 81-86.
- [30] 蔡昭艳, 苏伟强, 董龙, 等. 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 ZH Y, SU W Q, DONG L, et al. 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.
- [31] 古丽江·贾曼拜, 古力西拉·沙菩西. 不同光照条件对新疆猪牙花花粉生活力及柱头可授性的影响[J]. 南方农业学报, 2013, 44(9): 1444-1447.  
GU LI JIANG · J M B, GU LI XI LA · SH P X. Effects of different light conditions on pollen viability and stigma receptivity of *Erythronium sibiricum* [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2013, 44(9): 1444-1447.
- [32] 夏春英, 谢小敏, 刘江枫, 等. 竹叶兰花粉离体萌发及其贮藏特性[J]. 森林与环境学报, 2019, 39(5): 454-459.  
XIA CH Y, XIE X M, LIU J F, et al. In vitro germination and storage characteristics of *Arundina graminifolia* pollen [J]. *Journal of Forest and Environment*, 2019, 39(5): 454-459.
- [33] 徐叶挺, 张校立, 木巴热克·阿尤普, 等. 不同活力花粉与其内含物及水分含量变化及相关性[J]. 新疆农业科学, 2018, 55(8): 1452-1456.  
XU Y T, ZHANG X L, MUBAREK A, et al. Study on the change and correlation of inclusion and water content under different pollen vitality [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2018, 55(8): 1452-1456.
- [34] 赵萍, 唐红, 刘兴宇, 等. 储存温度对单瓣和重瓣紫斑牡丹花粉活力及生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2022, 42(12): 2052-2060.  
ZHAO P, TANG H, LIU X Y, et al. Effect of storage temperature on the activity and physiological characteristics of single and double petal *Paeonia rockii* peony pollens [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(12): 2052-2060.
- [35] KUMARI M, PRASAD A, RAHMAN L, et al. In vitro germination, storage and microscopic studies of pollen grains of four *Ocimum* species [J]. *Industrial Crops & Products*, 2022, 177: 114445-114456.
- [36] 杜晋城, 涂美艳, 周正华, 等. 核桃离体花粉贮藏条件及活力研究[J]. 西南农业学报, 2014, 27(4): 1682-1685.  
DU J CH, TU M Y, ZHOU ZH H, et al. Research of storage conditions and viability of walnut pollen in vitro [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 27(4): 1682-1685.



## Pollen Germination in vitro of Four Hydrangea Species

LIU Guoyu<sup>1,2</sup>, WANG Qing<sup>1,2</sup>, ZHANG Wenbo<sup>3</sup>,  
LIU Ancheng<sup>1,2</sup>, ZHAO Xueyan<sup>1,2</sup> and LI Yan<sup>1,2</sup>

(1. Xi'an Botanical Garden of Shaanxi Province (Institute of Botany of Shaanxi Province), Xi'an 710061, China;  
2. Shaanxi Engineering Research Centre for Conservation and Utilization of Botanical Resources, Xi'an  
710061, China; 3. Xi'an Agricultural Technology Extension Center, Xi'an 710061, China)

**Abstract** In order to serve as a reference for *Hydrangea* crossbreeding studies, we conducted a study on the in vitro germination and storage conditions of pollen from four varieties: *Hydrangea macrophylla* 'Cotton Candy', *Hydrangea macrophylla* 'Pillnitz', *Hydrangea macrophylla* 'Tricolor' and *Hydrangea strigosa*. We investigated the effects of factors including sucrose, boric acid and calcium chloride concentration, on in vitro pollen germination of four *Hydrangea* species using single factor and orthogonal design. Additionally, we investigated the effects of other factors including light intensity and temperature during germination and, storage temperature of pollen, on pollen germination of *Hydrangea*. The results showed that appropriate concentration of sucrose and boric acid promoted the pollen germination of four *Hydrangea* species. However, the pollen germination was inhibited in case of the concentration beyond the appropriate values. The appropriate amount of calcium chloride promoted the pollen in vitro germinations of *Hydrangea macrophylla* 'Pillnitz' but inhibited that of *Hydrangea macrophylla* 'Cotton Candy', *Hydrangea macrophylla* 'Tricolor' and *Hydrangea strigosa*. The orthogonal experiment indicated that the optimal culture medium compositions for the pollen germination of *Hydrangea macrophylla* 'Cotton Candy' and, *Hydrangea macrophylla* 'Tricolor' were 100 g/L sucrose, 300 mg/L boric acid and, 15 mg/L calcium chloride, and the corresponding germination rates were 32.65% and 35.07%, respectively. The best medium composition for the pollen germination of *Hydrangea macrophylla* 'Pillnitz' was 150 g/L sucrose, 150 mg/L boric acid and, 15 mg/L calcium chloride, and the corresponding germination rate was 83.59%. The optimal medium composition for the pollen germination of *Hydrangea strigosa* was 30 g/L sucrose, 30 mg/L boric acid and, 15 mg/L calcium chloride, and the corresponding germination rate was 21.38%. The optimum light intensity and temperatures for the pollen germinations of four *Hydrangea* species were 200 lx and 25–30 °C, respectively. The optimum temperatures of the short-term pollen storage was –80 °C for *Hydrangea macrophylla* 'Cotton Candy', *Hydrangea macrophylla* 'Pillnitz', *Hydrangea macrophylla* 'Tricolor' and, –20 °C for *Hydrangea strigosa*.

**Key words** *Hydrangea* pollen; Germination in vitro; Orthogonal design; Storage temperature; Light intensity

**Received** 2023-04-23

**Returned** 2023-06-12

**Foundation item** The Key Research and Development Program of Shaanxi Province (No. 2022NY-180); the Key Research and Development Program of Shaanxi Province, Key Industry Innovation Chain (Group)-Agricultural Project (No. 2022ZDLNY03-09).

**First author** LIU Guoyu, female, associate research fellow. Research area: introduction and acclimation, cultivation, variety breeding and medicinal composition of ornamental plant. E-mail: liuguoyu1983@126.com

**Corresponding author** LI Yan, female, research fellow. Research area: introduction and acclimation, cultivation physiology and landscape configuration of ornamental plant. E-mail: 5214352@126.com

(责任编辑: 郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)