

DOI:10.12171/j.1000-1522.20230368

板栗‘燕山早丰’柱头可授性和最适授粉时间

刘淑玟 郭素娟

(北京林业大学, 林木资源高效生产全国重点实验室, 森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要:【目的】探明板栗‘燕山早丰’柱头可授性和杂交花粉活力的有效检测方法及其日变化规律, 筛选板栗‘燕山早丰’最适授粉时间, 为实现其高效杂交育种提供理论依据。【方法】以河北省迁西县主栽板栗品种‘燕山早丰’为母本, 选择与其花期相近且具有多粒、矮化等特异性状的‘王钱大栗’‘短枝芽变’‘三屯红栗’为父本, 分别于雌雄盛花期不同时段进行人工授粉试验。首先, 采用联苯胺-过氧化氢法和 MTT 染色法测定柱头可授性, TTC、I₂-KI、醋酸洋红染色法和离体萌发法测定花粉活力。然后, 在此基础上, 于盛花期单日 08:00—18:00 每隔 2 h 取样, 通过分析柱头可授性和花粉活力的日变化规律、坐果率和结实率等指标, 探究‘燕山早丰’的最适授粉时间。【结果】(1)采用联苯胺-过氧化氢法与 MTT 染色法检测‘燕山早丰’柱头可授性, 前者反应迅速且柱头出现大量气泡, 后者柱头变色用时较长。(2)醋酸洋红染色法对花粉活力检测效果最好, 花粉活力均在 75% 以上, I₂-KI 染色法次之, 其他方法效果不明显。(3)盛花期单日 10:00—12:00 柱头可授性和花粉活力最好。(4)不同杂交组合中, 结实率最高值均出现在 08:00—12:00 授粉时段, 以‘王钱大栗’和‘三屯红栗’为父本结实率最高。【结论】板栗‘燕山早丰’最适杂交授粉时段为盛花期单日 10:00—12:00。研究结果将为板栗人工杂交育种的成功提供理论指导, 同时对解析板栗生殖生物学特性和繁殖机制具有重要意义。

关键词: 板栗; 授粉时间; 柱头可授性; 联苯胺-过氧化氢; 花粉活力

中图分类号: S664.2 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2025)01-0085-10

引文格式: 刘淑玟, 郭素娟. 板栗‘燕山早丰’柱头可授性和最适授粉时间 [J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(1): 85-94. Liu Shuwen, Guo Sujuan. Stigma receptivity and optimal pollination time of chestnut ‘Yanshanzaofeng’ [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(1): 85-94.

Stigma receptivity and optimal pollination time of chestnut ‘Yanshanzaofeng’

Liu Shuwen Guo Sujuan

(State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] The objective of this study is to investigate the effective detection method and variation law of stigma receptivity of chestnut ‘Yanshanzaofeng’ and hybrid pollen viability, and to screen the optimal pollination time of chestnut ‘Yanshanzaofeng’, so as to provide a theoretical basis for the realization of efficient hybrid breeding. [Method] The main chestnut variety ‘Yanshanzaofeng’ in Qianxi County, Hebei Province of northern China was selected as the female parent, and varieties ‘Wangqiandali’, ‘Duanzhiyabian’ and ‘Santunhongli’ were selected as the male parents with feature such as multi-seed and dwarf, and the artificial pollination experiments were carried out at different time of flowering periods. Firstly, benzidine-hydrogen peroxide and MTT staining were used to determine stigma receptivity, TTC, I₂-KI and magenta acetate staining and in vitro germination method were used to determine pollen viability, and then on this basis, samples were taken every 2 h from 08:00 to 18:00 on a single day during the full

收稿日期: 2023-12-22 修回日期: 2024-04-25

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD2200400), 林业和草原科技成果国家级推广项目(2020133118)。

第一作者: 刘淑玟。主要研究方向: 经济林(果树)培育与利用。Email: 2661242172@qq.com 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学林学院。

责任作者: 郭素娟, 教授。主要研究方向: 经济林(果树)培育与利用。Email: gwangzs@263.net 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

flowering period. The optimal pollination time of ‘Yanshanzaofeng’ was explored by analyzing the variation law of stigma receptivity and pollen viability, fruit setting rate and seed setting rate. [Result] (1) Benididine-hydrogen peroxide and MTT staining were used to detect the stigma receptivity of ‘Yanshanzaofeng’, the former had a rapid response and a large number of bubbles appeared on the stigma, and the latter took a long time for stigma to change color. (2) Magenta acetate staining had the best effect on pollen viability, with the pollen viability above 75%, followed by I₂-KI staining, and the effect of other methods was not obvious. (3) The stigma receptivity and pollen viability were best from 10:00 to 12:00 in the full flowering period. (4) Among different hybrid combinations, the highest seed setting rate occurred during the pollination period from 08:00 to 12:00, and the seed setting rate of ‘Wangqiandali’ and ‘Santunhongli’ as the male parents was the highest. [Conclusion] The most suitable hybrid pollination time for chestnut ‘Yanshanzaofeng’ is 10:00–12:00 on a single day during the full flowering period. The results of this study will provide theoretical guidance for the success of artificial cross-breeding of chestnut, and great significance for analyzing the reproductive biological characteristics and reproductive mechanism of chestnut.

Key words: chestnut; pollination time; stigma receptivity; benzidine-hydrogen peroxide; pollen viability

板栗(*Castanea mollissima*)属于壳斗科(Fagaceae)栗属(*Castanea*)植物,是我国重要的木本粮食树种之一,其果实营养价值高,除富含淀粉外,还有蛋白质、脂肪、矿物质和维生素等营养物质,深受消费者喜爱,具有较高的经济价值^[1]。目前我国板栗种植规模和总产量均居世界第一,但由于板栗喜光,枝条顶端优势强,结果部位外移快且自交不亲和,其结实率低,效益低下^[2]。因此,培育具有优质、高产、短枝型等优良性状的板栗新品种具有重要的现实意义。

现阶段分子辅助育种已被广泛应用到植物育种工作中,但板栗新品种的培育仍以杂交育种为主^[3],如:新品种‘明丰2号’(*C. mollissima* ‘Mingfeng 2’)是以‘燕明’(*C. mollissima* ‘Yanming’)为母本、‘燕山早丰’(*C. mollissima* ‘Yanshanzaofeng’)为父本杂交培育而来^[4];‘南垂5号’(*C. mollissima* ‘Nanchui5’)则是以母本‘垂枝’(*C. mollissima* ‘Chuzhi’)与父本‘南沟1号’(*C. mollissima* ‘Nangou1’)杂交培育得来^[5]。在杂交授粉过程中,如何提高成功率,以获取丰富的杂种资源是板栗育种亟待解决的问题。较高活性的花粉和柱头是授粉成功的关键^[6],准确把握花粉与柱头活性检测方法,探明其日变化规律,明确最适杂交授粉时间,可有效提高板栗杂交育种成功率。

目前,植物花粉活力检测方法多样,如2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染色法、碘-碘化钾(I₂-KI)法、MTT染色法、离体萌发法、墨水染色法等^[7-9]。在柱头可授性检测方面,多数学者采用联苯胺-过氧化氢法^[10-11]检测柱头可授性,部分研究采用MTT染色法^[12]、直接授粉法等^[13]。前期板栗花粉活力研究发现,不同板栗品种采用不同花粉活力测定方法,结果存在较大差异。陈可可^[14]采用TTC染色法检测

5个板栗品种花粉活力发现,‘泰安薄壳栗’(*C. mollissima* ‘Tainbaoke’)花粉活力最高可达72.18%;覃腾^[15]以广西4个板栗品种为研究对象,采用离体萌发法检测其花粉活力,发现‘封开2号’(*C. mollissima* ‘Fengkai2’)萌发率最高,但仅为15.76%。在板栗柱头可授性研究方面,王倩^[16]采用联苯胺-过氧化氢法检测了不同时期燕山板栗柱头可授性,发现盛花期柱头可授性最强;周晶^[17]采用联苯胺-过氧化氢法检测板栗‘燕山红’(*C. mollissima* ‘Yanshanhong’)柱头可授性发现,柱头可授性高峰值出现于盛花期单日08:00—12:00。以上研究对花粉活力和柱头可授性的测定方法和日变化规律进行了初步探索,但并未将花粉活力、柱头可授性日变化规律与其坐果率、结实率、空苞率等进行综合分析。

为准确把握板栗最适授粉时间,提高板栗杂交育种成功率,为后期的良种培育提供充足的杂种资源,本研究首次以河北省迁西县主栽国审板栗品种‘燕山早丰’(果肉质细腻、味香甜、熟食品质上等、丰产、质感效应较强)为母本^[18-19],父本选择具有多粒、矮化等特异性状的‘王钱大栗’(*C. mollissima* ‘Wangqiandali’)、‘短枝芽变’(*C. mollissima* ‘Duanzhiyabian’)、‘三屯红栗’(*C. mollissima* ‘Santunhongli’),采用联苯胺-过氧化氢法、MTT法检测母本柱头可授性,采用TTC染色法、I₂-KI法、醋酸洋红染色法、离体萌发法等检测花粉活力,通过研究盛花期花粉活力、柱头可授性、不同时间授粉对结实情况的影响,筛选‘燕山早丰’柱头可授性和杂交花粉活力的适宜检测方法,探明两者的日变化规律,筛选出最适杂交授粉时间。研究结果将为板栗人工杂交育种的成功提供理论指导,同时对解析板栗生

殖生物学特性及繁殖机制具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 试验地概况

试验地位于河北省唐山市迁西县北京林业大学经济林(板栗)育种与栽培试验实践基地(40°18' N, 118°54' E), 属暖温带大陆性季风气候, 年平均气温 10.1 °C, 最低月平均气温-6.5 °C, 最高月平均气温 25.4 °C。年平均降水量 817 mm, 其中 5—10 月降雨量 657.6 mm, 占全年降水量的 88%。年平均相对湿度 59%, 年平均无霜期 176 d, 全年日照 2 581.5 h, 日照充足。该地属于低山丘陵区, 土壤质地为沙壤土, pH 6.44, 有机质含量 2.89 mg/g, 土壤肥力为中等水平^[20]。

1.2 试验材料

材料为 11 年生板栗品种‘燕山早丰’‘王钱大栗’‘短枝芽变’‘三屯红栗’, 长势优良, 无病虫害, 株行距 4 m × 3 m, 平均树高 4.3 m, 冠幅 4.0 m × 4.5 m, 树体为三主枝, 开张角度 > 60°, 树形为自然开心形。

1.3 研究方法

1.3.1 试验设计

参照周晶^[17]研究结果, 选择盛花期进行人工授粉。选取长势一致且健壮的板栗试验树 60 株, 包括‘燕山早丰’45 株, ‘王钱大栗’‘短枝芽变’‘三屯红栗’各 5 株。40 株‘燕山早丰’作为母本进行柱头可授性检测与授粉试验, 5 株‘燕山早丰’用于花粉活力检测; ‘王钱大栗’‘短枝芽变’‘三屯红栗’为父本, 用于花粉活力日变化规律研究与授粉试验。各杂交授粉组合为‘燕山早丰’♀ × ‘王钱大栗’♂、‘燕山早丰’♀ × ‘短枝芽变’♂、‘燕山早丰’♀ × ‘三屯红栗’♂和 1 个自交组合‘燕山早丰’♀ × ‘燕山早丰’♂。

1.3.2 人工授粉

每授粉组合选择 10 株母树, 每棵母树去雄套袋后, 于盛花期单日 08:00—18:00 每隔 2 h 进行杂交授粉。采用随机区组设计, 以单株为试验小区, 共 10 个重复。各授粉组合每株母树每授粉时段在冠层中部东、南、西、北 4 个方向外围各均匀选取 3 个长势相近且健壮的雌花簇, 1 个授粉时段每母株共选取 12 个雌花簇, 每个授粉组合每时段授粉 120 个雌花簇, 4 个组合共选取 2 400 个雌花簇。授粉时去掉套袋, 用毛笔蘸取花粉轻轻点涂雌花柱头上, 授粉完成后立即套袋。

1.3.3 花粉活力测定方法筛选

在上午 08:00—10:00, 采集‘燕山早丰’雄花盛花期的雄花序, 每株树均从东、南、西、北 4 个方向取样, 混合后分别采用 TTC 染色法^[21]、醋酸洋红染色

法^[22]、I₂-KI 染色法^[23]、离体萌发培养法^[24]测定花粉活力, 并以清水作为对照, 筛选板栗花粉活力适宜检测方法。

1.3.4 花粉活力日变化规律研究

在 08:00—18:00 每隔 2 h 采集‘燕山早丰’‘王钱大栗’‘短枝芽变’‘三屯红栗’的雄花盛花期的花粉, 选择 1.3.3 筛选出的花粉活力检测方法进行花粉活力日变化规律研究。

1.3.5 柱头可授性检测方法筛选

从 40 株‘燕山早丰’授粉母株中随机选取 15 株, 在雌花盛花期每株树冠层中部东、南、西、北 4 个方向各均匀选取 3 个雌花簇, 在上午 08:00—10:00 采集柱头, 分别利用联苯胺-过氧化氢法^[25]和 MTT 染色法^[26]测定柱头可授性, 并以清水作为对照, 筛选板栗柱头可授性适宜检测方法。联苯胺-过氧化氢法判定标准: 若柱头周围产生气泡数量多且体积较大, 则柱头可授性很强(+++); 若柱头周围产生大量小气泡, 则柱头可授性较强(++); 若柱头周围产生少量气泡, 则柱头可授性较弱(+); 若柱头无气泡产生, 则柱头无可授性(-)。MTT 染色法判定标准: 若柱头具有可授性, 则柱头被染成深蓝色或黑色, 颜色由浅变深, 柱头可授性由弱变强; 若没有可授性, 则柱头没有颜色反应。

1.3.6 柱头可授性日变化规律研究

在 08:00—18:00 每隔 2 h 采集‘燕山早丰’盛花期的柱头, 选择 1.3.5 筛选出的柱头可授性检测方法进行柱头可授性日变化规律研究。

1.3.7 结实情况统计

授粉 20 d 后去除纸袋, 使球苞自然生长, 统计坐果率、落果率, 9 月上旬果实成熟后, 计算结实率、空苞率。坐果率为未凋落雌花簇数与授粉雌花簇数的比值, 落果率为凋落雌花簇数与授粉雌花簇数的比值, 空苞率为空苞数与授粉雌花簇数的比值, 结实率为果实成熟时的结实苞数与授粉雌花簇数的比值^[15]。

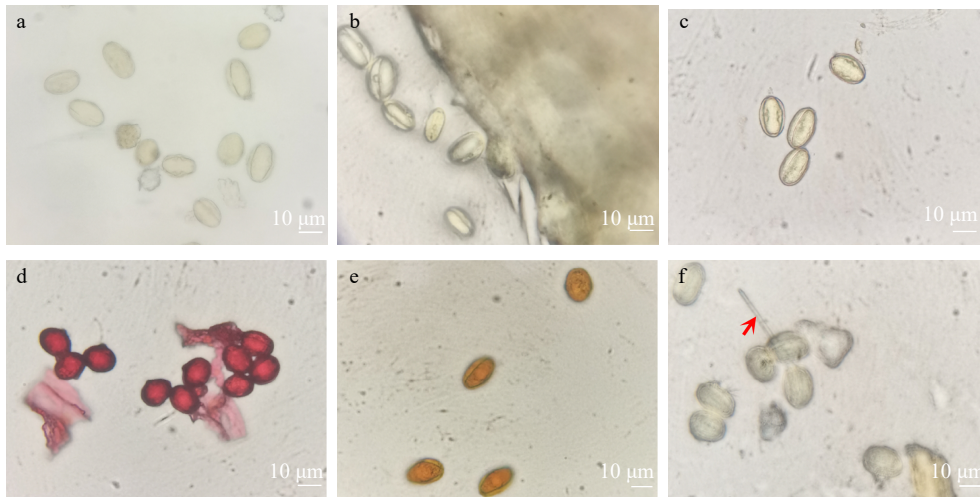
1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 软件进行整理, SPSS 26.0 进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 花粉活力适宜检测方法筛选

花粉在清水处理的情况下, 颜色均为淡黄色, 接近半透明, 分为形状规则的卵圆形与形状不规则两种形态(图 1a)。0.5% 和 2% 的 TTC 染色法的染色效果均不明显, 延长染色时间后花粉依旧呈淡黄色(图 1b, 1c), 故此方法不适合板栗花粉活力检测。醋酸洋红染色法效果明显, 有活力的花粉呈鲜红色, 形



a. 清水对照; b. 0.5%TTC 染色法; c. 2%TTC 染色法; d. 醋酸洋红染色法; e. I₂-KI 染色法; f. 离体萌发法

图1 不同方法测定‘燕山早丰’花粉活力效果

Fig. 1 Effects of different methods on measuring pollen viability of ‘Yanshanzaofeng’

状呈规则的卵圆形,而无活力花粉未着色,体积小且形状不规则(图1d);该方法操作简单,染色时间短,效果好,有活力花粉与无活力花粉较易辨别,可作为板栗花粉活力检测方法。I₂-KI染色法染色效果明显,有活力花粉颜色呈深棕色,无活力花粉不着色,但两者之间存在色浅、黄褐色的花粉,花粉活力较难判别,故此方法也不适合板栗花粉活力检测(图1e)。离体萌发培养法可以直接观察到花粉的萌发情况(图1f),可判断花粉是否具有活力,但花粉离体培养耗时较长,且培养条件较为严苛,易染菌,需要在无菌且温度恒定的环境下培养,花粉整体萌发率较低。

综合反应条件、反应时间、判断标准等方面,发现醋酸洋红染色法更适合进行板栗盛花期单日花粉活力规律研究。

2.2 不同板栗品种盛花期单日花粉活力变化规律

采用醋酸洋红染色法测定不同板栗品种单日内花粉活力变化规律,结果如表1所示。各品种盛花期单日内花粉活力均保持在75%以上,但不同品种板栗花粉在单日内不同时间活力存在差异。‘短枝芽变’和‘三屯红栗’单日内花粉活力波动较小,最高值均出现在10:00—12:00。‘燕山早丰’‘王钱大栗’单日

内花粉活力波动相对较大,但花粉活力最高值也出现在10:00—12:00,最低值出现时段存在差异。其中,‘燕山早丰’10:00—12:00花粉活力显著高于16:00—18:00,‘王钱大栗’10:00—12:00花粉活力显著高于其余时间花粉活力。综上,以这4个品种为父本时,应该选择上午10:00—12:00采集花粉,此时花粉活力最高。

2.3 柱头可授性适宜检测方法筛选

采用联苯胺-过氧化氢法检测‘燕山早丰’柱头可授性,由于板栗柱头形状结构限制,染色效果不佳,仅有柱头尖端可观察到轻微蓝色反应;但其表面气泡反应明显,区分度较高。柱头表面只产生少量气泡,且气泡体积较小,柱头可授性较弱,标记为+,记1分(图2a-1);柱头表面产生较多小气泡,柱头可授性较强,标记为++,记2分(图2a-2);柱头表面迅速产生大量气泡,且均匀附着整个柱头,柱头可授性最强,标记为+++ ,记3分(图2a-3)。

采用MTT染色法检测柱头可授性,短时间内柱头表面无明显颜色变化,避光染色1h后,染色情况较为明显,有活力的柱头顶部变为黑色,且随着柱头可授性增强,染色长度逐渐增大。具体而言,仅有柱

表1 不同板栗品种盛花期花粉活力变化

Tab. 1 Changes in pollen viability of different chestnut cultivars at full flowering stage

%

时段	‘燕山早丰’	‘短枝芽变’	‘王钱大栗’	‘三屯红栗’
08:00—10:00	84.78ab	90.47a	83.71b	88.58a
10:00—12:00	90.71a	91.32a	87.26a	88.97a
12:00—14:00	80.65ab	88.93a	75.34c	82.23a
14:00—16:00	81.14ab	90.63a	79.49c	83.76a
16:00—18:00	78.63b	86.89a	78.26c	80.53a

注:不同小写字母表示同一品种单日内不同时间花粉活力存在显著差异($P < 0.05$)。下同。

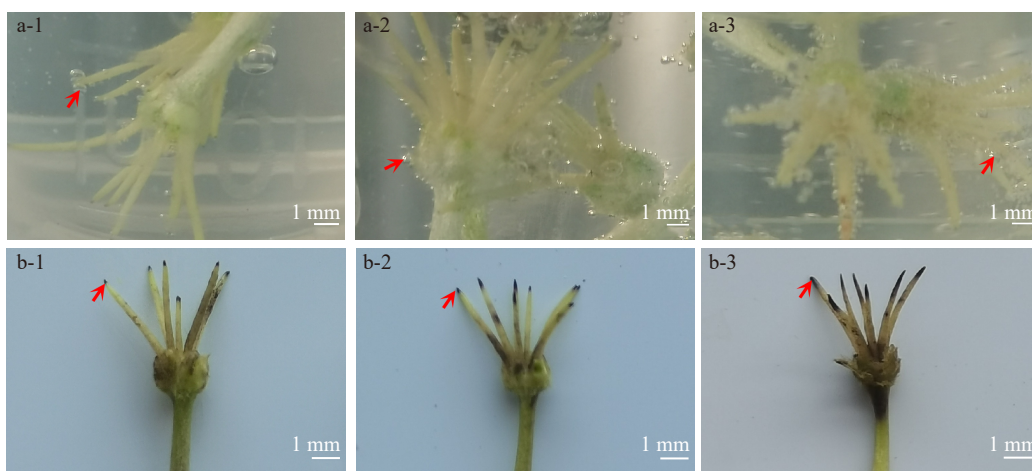


图2 联苯胺-过氧化氢(a)和 MTT 染色法(b)检测‘燕山早丰’柱头可授性

Fig. 2 Detecting stigma receptivity of ‘Yanshanzaofeng’ according to benzidine hydrogen peroxide method (a) and MTT method (b)

头尖端部分染色,染色面积微小,呈点状,此柱头可授性较弱(图 2b-1);柱头尖端面积染色面积增大,其柱头底部也部分染色,即柱头可授性较强(图 2b-2);柱头尖端染色部分延伸至柱头中部,且花柱上端也有部分染色,此柱头可授性极强(图 2b-3)。

综上,联苯胺-过氧化氢法和 MTT 染色法都可以判断板栗柱头可授性强弱。综合考虑染色时长、可操作性等因素,在实际生产中,采用联苯胺-过氧化氢法检测板栗柱头可授性更适宜。因而,选择联苯胺-过氧化氢法进行板栗盛花期单日柱头可授性变化规律研究。

2.4 ‘燕山早丰’盛花期单日柱头可授性变化规律

表 2 显示:‘燕山早丰’盛花期单日内不同时段柱头均具有可授性,整体呈现出“上升—下降—上升—下降”的变化趋势。上午 08:00—10:00 柱头就已经具有较强可授性,10:00—12:00 可授性达到最高,柱头表面具有大量气泡;随后急剧下降,12:00—14:00 可授性要明显低于其他时段,之后可授性又重新升高,于 14:00—16:00 达到日变化第 2 个高峰,16:00—18:00 可授性降低(图 3)。

2.5 盛花期单日不同授粉时间对板栗结实情况的影响

各杂交组合中,不同时间授粉落果率与坐果率

均无显著差异,但结实率与空苞率在不同授粉时间存在显著差异(图 4)。“燕山早丰”×“王钱大栗”杂交组合在盛花期 08:00—10:00 与 10:00—12:00 时段授粉,其结实率分别高达 79.30% 与 80.36%,显著高于 12:00—14:00 与 16:00—18:00 两个授粉时段(图 4);且在 10:00—12:00 时段授粉,3 粒坚果球苞结实率相较于其他授粉时段最高,达 55.10%(表 3);空苞率在 10:00—12:00 授粉时段最低,仅为 14.74%,而 16:00—18:00 授粉时段的空苞率高达 37.88%,二者差异达到显著水平。

在‘燕山早丰’×‘短枝芽变’杂交组合中,结实率在 08:00—10:00 授粉时段最高(59.35%),10:00—12:00 时段的结实率与 08:00—10:00 时段相比略有下降(56.10%),并显著高于 12:00—14:00 授粉时段(图 4);3 粒坚果球苞结实率以 10:00—12:00 时段最高(43.72%)(表 3);空苞率则以 10:00—12:00 授粉时段最低(27.64%),12:00—14:00 与 16:00—18:00 的空苞率则高达 46.34% 与 44.59%,均显著高于 10:00—12:00(图 4)。

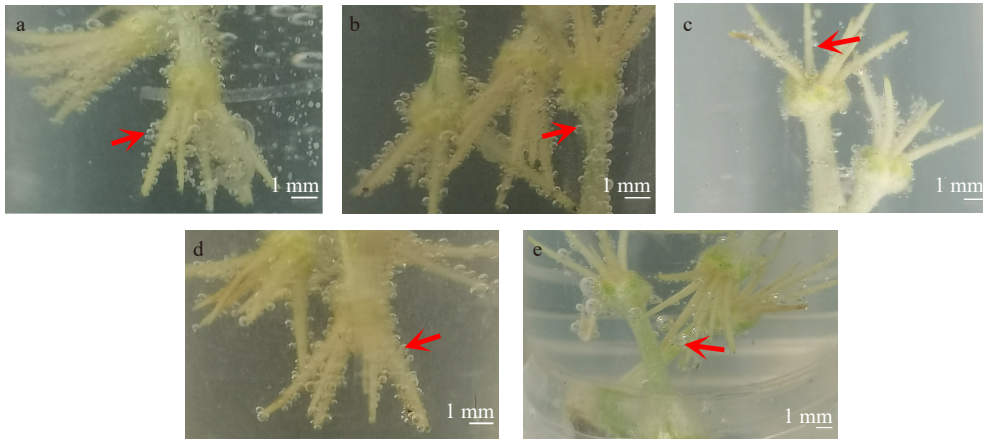
在‘燕山早丰’×‘三屯红栗’杂交组合中,08:00—10:00、10:00—12:00 授粉时段的结实率较高,达 76.42%、78.86%,16:00—18:00 结实率最低

表 2 联苯胺-过氧化氢法检测‘燕山早丰’盛花期单日不同时间柱头可授性

Tab. 2 Detecting single day stigma receptivity during full flowering period of ‘Yanshanzaofeng’ by benzidine-hydrogen peroxide method

时段	柱头反应	柱头可授性
08:00—10:00	浸泡在溶液中 3~5 min 后,柱头表面出现大量气泡,且体积较大	+++
10:00—12:00	浸泡溶液 3 min 左右,柱头表面出现大量气泡,气泡密集且体积较大	+++
12:00—14:00	浸泡溶液 5 min 后,柱头表面出现少量气泡,体积较小	+
14:00—16:00	浸泡溶液 5 min 后,柱头表面出现气泡,气泡密集	+++
16:00—18:00	浸泡溶液 5 min 后,柱头表面出现大体积气泡,但数量较少	++

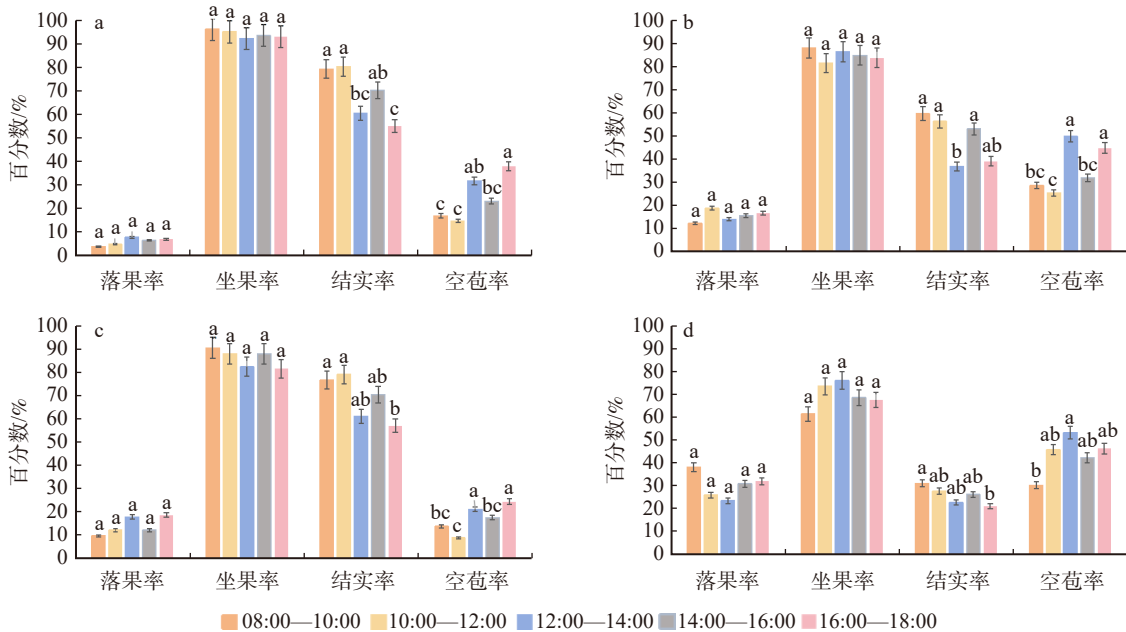
注:+++。柱头可授性极强;++。柱头可授性较强;+。柱头具可授性。



a. 08:00—10:00; b. 10:00—12:00; c. 12:00—14:00; d. 14:00—16:00; e. 16:00—18:00

图3 联苯胺-过氧化氢法检测‘燕山早丰’盛花期单日柱头可授性

Fig. 3 Detecting single day stigma receptivity during blooming period of ‘Yanshanzaofeng’ by benzidine-hydrogen peroxide method



a. ‘燕山早丰’♀ × ‘王钱大栗’♂; b. ‘燕山早丰’♀ × ‘短枝芽变’♂; c. ‘燕山早丰’♀ × ‘三屯红栗’♂; d. ‘燕山早丰’♀ × ‘燕山早丰’♂。不同小写字母表示同一授粉组合单日内不同时间授粉后结实情况存在显著差异 ($P < 0.05$)。

图4 各授粉组合盛花期单日不同时段授粉结果

Fig. 4 Pollination results of different combinations at varied times in a single day during blooming period

(56.91%), 与上午差异达到显著水平(图4); 3粒坚果球苞结实率以 08:00—10:00 时段最高(53.41%), 10:00—12:00 时段略有下降(50.98%)(表3); 空苞率则在 10:00—12:00 授粉时段最低(8.94%), 显著低于 12:00—14:00 和 16:00—18:00 授粉时段。

在‘燕山早丰’ × ‘燕山早丰’自交组合中, 结实率均在 30% 左右(图4)。在 08:00—10:00 授粉时段, 结实率最高(31.32%), 空苞率最低(30.38%); 在 16:00—18:00 授粉时段结实率最低(21.21%)(图4)。结实的球苞大多只含有 1 粒坚果, 2 粒坚果球苞与 3 粒坚果球苞结实率均以 08:00—10:00 最高, 16:00—18:00 最低; 空苞率则以 12:00—14:00 最高, 达 53.54%(表3)。相比其他杂交组合, 自交组合中

的结实率较低, 落果率与空苞率较高; 但是结实率最高值出现在上午授粉时段, 这与其他杂交组合相同(图4)。

综合不同板栗品种授粉组合在不同时段授粉后的结实指标可以得出, 结实率和 3 粒坚果球苞结实率最高值均出现在上午。因此, 为提高板栗杂交授粉结实率, 应选择上午进行板栗杂交授粉。

3 讨论

3.1 花粉活力检测

前人系统研究花粉活力发现, 不同植物有不同的适宜检测方法。如: 花生(*Arachis hypogaea*)花粉活力的最适检测方法为离体萌发法与红墨水染色法^[7],

表 3 各授粉组合盛花期单日不同时间授粉结实情况

Tab. 3 Pollination and seed setting at different times of a single day during blooming period of each pollination combination

授粉组合	授粉时段	结实率(1粒)/%	结实率(2粒)/%	结实率(3粒)/%	总结实率/%
‘燕山早丰’♀ × ‘王钱大栗’♂	08:00—10:00	10.76a	14.71a	53.83a	79.30a
	10:00—12:00	9.64a	15.62a	55.10a	80.36a
	12:00—14:00	12.24a	17.78a	30.58b	60.60bc
	14:00—16:00	5.21a	20.96a	44.24ab	70.42ab
	16:00—18:00	12.35a	12.92a	29.86b	55.12c
‘燕山早丰’♀ × ‘短枝芽变’♂	08:00—10:00	10.59a	8.07ab	40.69a	59.35a
	10:00—12:00	4.98a	7.40ab	43.72a	56.10a
	12:00—14:00	7.13a	3.25b	26.20ab	36.59b
	14:00—16:00	5.67a	12.61a	34.56a	52.85a
	16:00—18:00	7.28a	8.01ab	23.62ab	38.90ab
‘燕山早丰’♀ × ‘三屯红栗’♂	08:00—10:00	3.25b	19.76a	53.41a	76.42a
	10:00—12:00	10.60a	17.28ab	50.98a	78.86a
	12:00—14:00	14.65a	17.31ab	29.02b	60.98ab
	14:00—16:00	13.82a	17.32ab	39.06ab	70.20ab
	16:00—18:00	11.38a	16.50b	29.02b	56.91b
‘燕山早丰’♀ × ‘燕山早丰’♂	08:00—10:00	23.80a	4.70a	2.82a	31.32a
	10:00—12:00	21.12a	4.17ab	2.50ab	27.79ab
	12:00—14:00	17.63a	3.25ab	1.95ab	22.83ab
	14:00—16:00	20.07a	3.96ab	2.38ab	26.40ab
	16:00—18:00	16.84a	2.73b	1.64b	21.21b

注: 不同小写字母表示同一授粉组合单日内不同时段授粉后结实情况存在显著差异($P < 0.05$)。

薄壳山核桃(*Carya illinoensis*)的花粉采用 MTT 染色法着色效果最佳^[8], 多花黄精(*Polygonatum cyrtonema*)的花粉活力最适检测方法为 TTC 染色法^[27]。TTC 试剂是依靠呼吸作用产生的 NADH_2 或 NADPH_2 对花粉进行染色。本试验中 TTC 试剂无法使板栗花粉着色, 这可能是由于板栗自身呼吸作用产生的脱氢酶较少, 无法达到理想的染色状态。此外, 利用 I_2 -KI 对花粉进行染色时, 染色效果会因直链淀粉与支链淀粉的比例不同而产生差异^[28]。当花粉直链淀粉含量高时, 会被试剂染为蓝色, 如芝麻(*Sesamum indicum*)^[23]、油茶(*Camellia oleifera*)^[29]; 反之则为紫红色, 如花生^[7]、百合(*Lilium lancifolium*)^[30]等。醋酸洋红染液则是根据花粉内物质积累量对花粉进行染色, 正常花粉物质积累较多, 对醋酸洋红的吸附作用与亲和力强, 易被染为深红色, 反正, 呈淡红色或无色, 如油菜(*Brassica campestris*)^[31]。本研究中, 醋酸洋红染色法、 I_2 -KI 染色法均可将‘燕山早丰’花粉成功染色, 但是醋酸洋红染色法操作简单, 染色快速, 有活力花粉与无活力花粉易辨别, 结果准确; 而 I_2 -KI 染色法中存在浅色、黄褐色的介于有活力和无活力之间的花粉, 活力界定具有主观性, 花粉活力较难准确判别。因而, 建议生产上使用醋酸洋红染色法检测‘燕山早丰’花粉活力。

3.2 柱头可授性检测

利用联苯胺-过氧化氢法检测柱头可授性, 主要是依靠柱头表面有活力的过氧化氢酶, 试剂中的过氧化氢在酶的作用下产生强氧化性的原子氧, 将联苯胺氧化变色, 并产生气泡。故当柱头表面气泡体积较大, 数量较多时, 柱头具有较强可授性, 反之则柱头可授性较弱。此方法已广泛用于植物柱头可授性检验, 如川贝母(*Fritillaria cirrhosa*)^[32]、兜兰(*Paphiopedilum*)^[33]等。MTT 染色法检测柱头可授性主要依据柱头表面活性酶与试剂反应变色原理, 可授性较强的柱头被染为深色, 且染色面积较大, 反之柱头颜色较浅^[34-35]。本试验采用联苯胺-过氧化氢法和 MTT 染色法检验‘燕山早丰’的柱头可授性, 其反应结果与其他植物基本相同, 但 MTT 染色法检验板栗柱头可授性耗时较长, 可能导致错过最适授粉时间。因此, 在生产上可选取联苯胺-过氧化氢法快速检测柱头可授性, 为杂交授粉提供指导。

3.3 花粉活力与柱头可授性日变化规律

花粉活力是决定授粉成功的重要因素, 柱头是植物承接花粉的部位, 二者对于准确把握植物授粉时间有重要意义, 共同决定植物育种成功率^[36]。不同植物的花粉活力与柱头可授性变化规律不同^[23,37], 因此, 植物育种授粉前, 应准确掌握花粉活力和柱头

的变化规律,由此得到最适授粉时间,提高育种成功率。

本研究发现,上午 08:00—12:00 柱头可授性与花粉活力均较强,而在正午 12:00—14:00 柱头可授性较弱,且此时花粉活力显著降低,这可能与空气温度、湿度变化有关。板栗柱头为针状形,在雌花成熟过程中可观察到柱头尖端有蛋白质、脂类、多糖等分泌物溢出^[38],中午温度升高,空气湿度降低,导致柱头分泌物内酶活性降低,柱头可授性降低。这与温度对甜樱桃(*Prunus avium*)柱头可授性的影响结果^[39]相一致。此外,正午高温导致板栗花粉活力降低,这与辣椒(*Capsicum annuum*)的研究结果^[40]相似。正午过后,气温降低,日照强度减弱,柱头内酶活性增强,柱头可授性与花粉活力回升;傍晚气温继续下降导致柱头可授性与花粉活力又重新降低。本研究得出的柱头可授性变化规律与周晶^[17]对板栗柱头可授性的研究结果基本一致,且本研究中板栗花粉活力检测方法和变化规律方面的内容也弥补了板栗相关研究的缺失。

3.4 杂交授粉时间与结实情况

授粉时间显著影响授粉受精完成情况,如周建辉等^[41]对厚皮甜瓜(*Cucumis melo*)进行不同时间杂交授粉,发现 06:00—12:00 授粉种子发芽率较高。对西瓜(*Citrullus lanatus*)^[42]、西葫芦(*Cucurbita pepo*)^[43]的研究也证实上午授粉比下午效果好,主要表现为坐果率较高,结籽数量多。此外,对玉米(*Zea mays*)进行不同时间授粉处理,发现不同自交系均在 09:00—11:00 和 16:00—18:00 授粉果穗的结实性状较好^[44]。这与本研究得到的板栗 08:00—12:00 与 14:00—16:00 杂交授粉结实情况较好的结果相似,即最适授粉时间均避开了正午时段。除可以根据授粉结实情况筛选植物授粉时间外,也可根据柱头可授性和花粉活力筛选植物的适宜授粉时间。对青杨派树种进行柱头可授性检测,发现最佳授粉期为花序顶部露出芽鳞 84~96 h^[45]。本研究中,上午 10:00—12:00 进行授粉结实效果优良,这与前期柱头可授性与花粉活力变化规律的结果相符合,进一步验证了此时段为板栗最适杂交授粉时间。

通过将 3 个杂交授粉组合与自交授粉结实情况相对比,可以看出‘燕山早丰’存在明显的自交不亲和现象,其自交落果率与空苞率均较高,而结实率较低。不同杂交授粉组合间结实情况也存在差异,以‘王钱大栗’‘三屯红栗’为父本的授粉组合的结实率和 3 粒坚果球苞结实率与以‘短枝芽变’为父本的授粉组合存在较大差距,即存在明显的花粉直感效应,这与前人的研究结果^[19]一致。后续在进行板栗杂交

育种和种质优化时,宜选取性状优良的品种为父本,以丰富子代板栗优良性状。

4 结 论

本研究首次以国审板栗品种‘燕山早丰’为试验对象,筛选其柱头可授性与花粉活力的高效便捷检测方法,并在此基础上以其为母本进行了多组合的分时段授粉,从而筛选出板栗适宜的杂交授粉时段。研究得到以下主要结论。

(1)板栗‘燕山早丰’柱头可授性最适检测方法为联苯胺-过氧化氢法,花粉活力最适检测方法为醋酸洋红染色法。

(2)盛花期单日内柱头可授性呈“上升—下降—上升—下降”趋势,且以 10:00—12:00 时间段柱头可授性最强,此时段不同父本板栗品种的花粉活力也最高。

(3)不同杂交组合中,总结实率与 3 粒坚果球苞结实率最高值均出现在 08:00—12:00。

综合上述结果,实际生产中建议在上午 10:00—12:00 对‘燕山早丰’杂交授粉。研究结果不仅为优化板栗人工杂交授粉技术,提高板栗杂交授粉成功率,以获得充足的杂种资源提供了理论指导,同时有助于丰富板栗生殖生物学内容,揭示其繁殖机制。本研究设置的授粉试验时间梯度为 2 h,在后续研究中可将时间梯度细化,以期筛选出更加精确的最适授粉时间,从而获得更理想的结实效果。

参 考 文 献

- [1] 张宇和,柳鑫,梁维坚,等.中国果树志·板栗榛子卷[M].北京:中国林业出版社,2005.
Zhang Y H, Liu L, Liang W J, et al. Chestnut and hazelnut rolls of China Fruit Tree[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2005.
- [2] 白亚地,王小明,周国斌,等.山地板栗低产林形成原因及丰产改造技术[J].现代园艺,2023,46(8):32-34.
Bai Y D, Wang X M, Zhou G B, et al. Causes of low-yield forest formation and high-yield transformation technology of mountain chestnut[J]. Xiandai Horticulture, 2023, 46(8): 32-34.
- [3] 吴夏明,周陈平,杨敏,等.小果型非转基因番木瓜新品种黄花佑的选育[J].果树学报,2024,41(1):193-196.
Wu X M, Zhou C P, Yang M, et al. Breeding of a new non-transgenic and small-fruit sized papaya cultivar Huanghuayou[J]. Journal of Fruit Science, 2024, 41(1): 193-196.
- [4] 李颖,王广鹏,张树航,等.板栗新品种‘明丰 2 号’[J].林业科学,2015,51(11):145.
Li Y, Wang G P, Zhang S H, et al. A new variety of *Castanea mollissima* ‘Mingfeng 2’[J]. Science Silvae Sinicae, 2015, 51(11): 145.
- [5] 张树航,李颖,刘庆香,等.板栗杂交新品种‘南垂 5 号’[J].园艺学报,2016,43(1):195-196.

- Zhang S H, Li Y, Liu Q X, et al. A new hybrid chestnut cultivar ‘Nantui 5’[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(1): 195–196.
- [6] Wan X Q, Sun D C, Gao C. Flower opening dynamics, pollen-ovule ratio, stigma receptivity and stigmatic pollen germination (in-vivo) in *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai[J]. *Scientific Reports*, 2024, 14(1): 7127.
- [7] 王金花, 张健琴, 成良强, 等. 不同方法测定花生花粉活力的比较研究 [J]. *种子*, 2022, 41(8): 126–130.
- Wang J H, Zhang J Q, Cheng L Q, et al. Comparative study on pollen viability determination of peanut by different methods[J]. *Seed*, 2022, 41(8): 126–130.
- [8] 刘帅, 彭方仁. 薄壳山核桃花粉活力测定方法比较 [J]. *经济林研究*, 2023, 41(2): 110–119.
- Liu S, Peng F R. Comparison of detection methods for pollen viability of *Carya illinoensis*[J]. *Non-wood Forest Research*, 2023, 41(2): 110–119.
- [9] 马坤, 苗辰, 龚静, 等. 迷你南瓜花粉生活力的鉴定及最佳授粉时间的检测 [J/OL]. *分子植物育种*, 1–10[2024–12–14]. <http://1.13.3.94:8083/kcms/detail/46.1068.S.20220628.0845.002.html>.
- Ma K, Miao C, Gong J, et al. Identification of pollen activity and detection of optimal pollination time of mini pumpkin (*Cucurbita*)[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 1–10[2024–12–14]. <http://1.13.3.94:8083/kcms/detail/46.1068.S.20220628.0845.002.html>.
- [10] 杜学林, 刘悦明, 黄子锋, 等. 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 X L, Liu Y M, Huang Z F, et al. Comparative analysis of pollen viability and stigma receptivity of five *Bougainvillea* cultivars[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2022, 43(7): 1459–1466.
- [11] 吴斌, 杨柳, 黄东梅, 等. 小黄金西番莲柱头可授性和花粉活力分析 [J]. *分子植物育种*, 2021, 19(11): 3737–3743.
- Wu B, Yang L, Huang D M, et al. Screening of pollen viability test methods and comparative analysis of pollen viability and stigma acceptability from 25 species of *Passiflora* L.[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(11): 3737–3743.
- [12] 肖运强, 刘俊霞, 张飞. 两种葱属植物柱头可授性检测 [J]. *新疆农垦科技*, 2022, 45(1): 61–65.
- Xiao Y Q, Liu J X, Zhang F. Detection of the stigma receptivity of two allium plants[J]. *Xinjiang Farm Research of Science and Technology*, 2022, 45(1): 61–65.
- [13] 任海燕, 王永康, 赵爱玲, 等. 枣花柱头荧光染色方法的优化 [J]. *中国果树*, 2021(2): 63–65, 110.
- Ren H Y, Wang Y K, Zhao A L, et al. Optimization of the fluorescence staining method for the stigma of Chinese jujube flowers[J]. *China Fruits*, 2021(2): 63–65, 110.
- [14] 陈可可. 不同板栗品种在迁西地区开花结实规律研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2020.
- Chen K K. Research on rule of blossoming and fruiting of different varieties of Chinese chestnut in Qianxi area[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2020.
- [15] 覃腾. 广西隆安县 4 个引进板栗品种开花特性和授粉配置研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2021.
- Qin T. Study on flowering characteristics and pollination configuration of four varieties of the introduced chestnut in Long’an County of Guangxi Zhuang Autonomous Region[D]. Nanning: Guangxi University, 2021.
- [16] 王倩. 品种配置对燕山板栗结实情况及果实品质影响研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2012.
- Wang Q. Effect on fruiting conditions and nut quality from variety configuration[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2012.
- [17] 周晶. 花粉直感与土壤理化性质对板栗果实品质的影响 [D]. 北京: 北京林业大学, 2010.
- Zhou J. Effect of xenia and soil physical and chemical properties on *Castanea mollissima* Bl. fruit quality[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2010.
- [18] 于秋香. 介绍几个燕山板栗优良品种 [J]. *河北果树*, 2016(6): 28–29.
- Yu Q X. Introduce several excellent varieties of Yanshan chestnut[J]. *Hebei Fruits*, 2016(6): 28–29.
- [19] 肖鑫, 郭素娟. 不同板栗品种 (优系) 花粉的直感效应 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2023, 43(12): 44–55.
- Xiao X, Guo S J. The xenia effect of different chestnut varieties pollen (excellent clones)[J]. *Journal of Central South University of Forestry and Technology*, 2023, 43(12): 44–55.
- [20] 张亦弛, 郭素娟. 植物生长延缓剂对板栗苗枝条生长及叶片非结构性碳水化合物的影响 [J]. *南京林业大学学报 (自然科学版)*, 2020, 44(6): 85–93.
- Zhang Y C, Guo S J. Effects of plant growth retardants on the growth of branches and non-structural carbohydrates in leaves of chestnut (*Castanea mollissima*) seedlings[J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)*, 2020, 44(6): 85–93.
- [21] Shekari A, Nazeri V, Shokrpour M. Pollen viability and storage life in *Leonurus cardiaca* L.[J]. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2016, 3(3): 101–104.
- [22] Lisa B, Katharina E A, Branko Š, et al. Pollen viability of *Fraxinus excelsior* in storage experiments and investigations on the potential effect of long-range transport[J]. *Forests*, 2022, 13(4): 600.
- [23] 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 breeding characteristics of *Sesamum indicum* L. V.: pollen viability and stigma receptivity[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2020, 29(10): 1537–1546.
- [24] 蔡昭艳, 董龙, 王荫青, 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.
- [25] 张全锋, 尹新彦, 贾红姗, 等. 鸢尾属 7 个品种花粉活力及柱头可授性研究 [J]. *西部林业科学*, 2018, 47(4): 21–25.
- Zhang Q F, Yin X Y, Jia H S, et al. Pollen viability and stigma

- receptivity of 7 iris plants[J]. Journal of West China Forestry Science, 2018, 47(4): 21–25.
- [26] 彭建明, 李荣英, 李戈, 等. 阳春砂的开花动态及花粉活力和柱头可授性研究 [J]. 云南中医学院学报, 2011, 34(6): 11–14.
Peng J M, Li R Y, Li G, et al. Study on flowering dynamics pollen viability and stigma receptivity of *Amomum villosum*[J]. Journal of Yunnan University of Chinese Medicine, 2011, 34(6): 11–14.
- [27] 李绪杰, 盛雅娟, 张彤, 等. 多花黄精花粉萌发与传粉生物学特性 [J]. 中山大学学报 (自然科学版), 2021, 60(6): 110–120.
Li X J, Sheng Y J, Zhang T, et al. The pollen germination and pollination biology of *Polygonatum cyrtoneuma*[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2021, 60(6): 110–120.
- [28] 胡晋. 花粉的保存和生活力测定 [J]. 种子, 1992(6): 33–35, 39.
Hu J. Pollen preservation and viability determination[J]. Seed, 1992(6): 33–35, 39.
- [29] 陈世明, 王猛, 赵志珩, 等. 油茶异常落花落果现象的生殖特性 [J]. 北方园艺, 2014(2): 94–98.
Chen S M, Wang M, Zhao Z H, et al. Study on the reproductive characteristics of severe blossom and fruit dropping of *Camellia oleifera*[J]. Northern Horticulture, 2014(2): 94–98.
- [30] 曹春燕, 陈立人, 吕文涛, 等. 百合 4 个品种花粉生活力及 3 种测定方法的比较 [J]. 中国园艺文摘, 2014, 30(1): 63–65.
Cao C Y, Chen L R, Lü W T, et al. Comparison of pollen viability and three determination methods of four varieties of lily[J]. Chinese Horticultural Abstracts, 2014, 30(1): 63–65.
- [31] 刘绚霞. 醋酸洋红染色法测定油菜花粉的生活力 [J]. 陕西农业科学, 1998(1): 26–27.
Liu X X. Determination of viability of rape pollen by acetate magenta staining method[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 1998(1): 26–27.
- [32] Ma Y Z, Cui Z J, Cheng C Y, et al. Flowering characteristics and mating system of *Fritillaria cirrhosa* (Liliaceae), an endangered plant in China[J]. Brazilian Journal of Botany, 2022, 45(4): 1307–1318.
- [33] 宋一岚, 张英杰, 孙纪霞, 等. 兜兰花粉活力及柱头可授性探究 [J]. 分子植物育种, 2020, 18(2): 561–565.
Song Y L, Zhang Y J, Sun J X, et al. Pollen viability and stigma receptivity of *Paphiopedilum*[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(2): 561–565.
- [34] 叶远荣. 棱叶蒜的繁殖生物学特性 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2017.
Ye Y R. Reproductive biology characteristics of *Allium caeruleum*[D]. Urumchi: Xinjiang Agricultural University, 2017.
- [35] 李亚兰, 梁凤丽. 线叶忍冬开花动态特征与繁育系统研究 [J]. 植物研究, 2016, 36(4): 503–510.
Li Y L, Liang F L. Stamen dynamics and breeding system of *Lonicera alberti*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2016, 36(4): 503–510.
- [36] Luca P, Paolo E, Guido C. Morphological and carpological variability of walnut germplasm (*Juglans regia* L.) collected in northeastern Italy and selection of superior genotypes[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 225(11): 615–619.
- [37] 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.
- [38] René R, David S, Philippe C, et al. The triticale mature pollen and stigma proteomes-assembling the proteins for a productive encounter[J]. Journal of Proteomics, 2023, 278(2): 104867.
- [39] 纠松涛, 徐岩, 付朝斌, 等. 花发育阶段以及温度对不同品种甜樱桃柱头可授性的影响 [J]. 西北植物学报, 2020, 40(10): 1698–1705.
Jiu S T, Xu Y, Fu C B, et al. Effects of flower phenology and temperature on stigma receptivity in sweet cherry[J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2020, 40(10): 1698–1705.
- [40] 张雪莲, 罗德旭, 刘欣, 等. 高温胁迫下不同辣椒耐热性鉴定及生理生化特性研究 [J]. 江西农业学报, 2023, 35(1): 70–75.
Zhang X L, Luo D X, Liu X, et al. Identification of heat tolerance and physiological and biochemical characteristics of different peppers under high temperature stress[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2023, 35(1): 70–75.
- [41] 周建辉, 张曼, 刘文君, 等. 授粉时间和次数对厚皮甜瓜杂交制种效果的影响 [J]. 南方农业学报, 2015, 46(11): 2011–2014.
Zhou J H, Zhang M, Liu W J, et al. Effects of pollinating time and times on hybrid seed production of melon[J]. Journal of Southern Agriculture, 2015, 46(11): 2011–2014.
- [42] 郭尚, 张作刚. 不同授粉时间对西瓜坐果的影响 [J]. 中国瓜菜, 2009, 22(2): 24–25.
Guo S, Zhang Z G. Effect of different pollination times on fruit set of watermelon[J]. Chinese Cucurbits and Vegetables, 2009, 22(2): 24–25.
- [43] 孙守如, 陈艳丽, 宋留高, 等. 不同授粉时间对西葫芦种子数量与质量的影响 [J]. 河南农业大学学报, 2004, 45(3): 289–291.
Sun S R, Chen Y L, Song L G, et al. The effect of pollination time on the seed number and quality of squash[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2004, 45(3): 289–291.
- [44] 丁富功, 侯泽豪, 张迎新, 等. 玉米盛花期不同时间授粉对果穗结实性状的影响 [J]. 长江大学学报 (自然科学版), 2019, 16(10): 58–62, 6.
Ding F G, Hou Z H, Zhang Y X, et al. Effect of pollination time on maize ear trait at the full flowering stage[J]. Journal of Yangtze University (Natural Science Edition), 2019, 16(10): 58–62, 6.
- [45] 王君, 康向阳, 刘立成, 等. 青杨派树种雌蕊柱头可授性及最佳授粉时期 [J]. 北京林业大学学报, 2009, 31(4): 30–35.
Wang J, Kang X Y, Liu L C, et al. Stigma receptivity and the optimal pollination period of *Populus* spp.[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2009, 31(4): 30–35.

(责任编辑 赵田芸 吴娟
责任编辑 马履一)