

地被菊花粉活力和储藏性研究

吕晋慧*, 赵 耀, 王 媛, 冯雁梦, 李艳锋, 孔一昌

(山西农业大学林学院, 山西太谷 030801)

摘 要: 以地被菊 (*groundcover chrysanthemum*) 品种 ‘毛白玉’、‘粉芙蓉’ 的新鲜花粉为材料, 采用离体萌发法对花粉活力进行测定, 并观察花粉萌发及花粉管生长情况。试验结果表明: 外源 Ca^{2+} 显著促进了花粉萌发和花粉管生长, 硼酸对花粉萌发没有显著影响; 花序中部筒状花的花粉活力显著高于花序外部和内部筒状花的花粉; 遮荫降低了花粉活力; ‘毛白玉’ 和 ‘粉芙蓉’ 花粉在室温下可分别储藏 8 和 6 d, 4 °C 下可分别储藏 25 d 和 20 d, -20 °C 下可储藏 25 d, -80 °C 下可分别储藏 21 和 18 d。-80 °C 储藏前干燥处理 2 h 的花粉, 储藏后花粉活力显著高于干燥处理 4 h 和 6 h 的花粉。预冻处理显著降低了花粉活力。-80 °C 储藏的花粉采用 35 °C 解冻 2 min 或冰上解冻效果较好。

关键词: 地被菊; 花粉; 活力; 储藏性

中图分类号: S 682.1¹

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 12-2483-08

Studies on Viability and Storage Characteristics of Pollen of Groundcover Chrysanthemum

Lü Jin-hui*, ZHAO Yao, WANG Yuan, FENG Yan-meng, LI Yan-feng, and KONG Yi-chang

(College of Forestry, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China)

Abstract: In the study, the pollen viability of the cultivars ‘Maobaiyu’ and ‘Fenfurong’ was determined *via culture in vitro*, and the pollen germination and pollen tube growth were observed. The results showed that the pollen germination rate and growth of pollen tubes were promoted significantly by Ca^{2+} but not influenced by H_3BO_3 ; The viability of pollen collected from middle parts of inflorescences was significantly higher than that from external or inside of inflorescence. Shading decreased pollen viability. Pollen viability decreased with increasing storage time under different temperatures. The appropriate storage time of pollen was 8 days and 6 days at room temperature, 25 days and 20 days at 4 °C, 21 days and 18 days at -80 °C respectively for ‘Maobaiyu’ and ‘Fenfurong’, and 25 days at -20 °C for both cultivars. Desiccation duration for 2 hours could increase the viability of pollen stored at -80 °C, producing better results than that of 4 hours and 6 hours treatments. The pre-freezing treatment reduced pollen germination. The methods of defrosting frozen pollens at 35 °C for two minutes or in trash ice were better than other defrosting treatments.

Key words: groundcover chrysanthemum; pollen; pollen viability; storage characteristic

收稿日期: 2012-07-17; **修回日期:** 2012-10-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30972021); 高等学校优秀青年学术带头人支持计划项目 (201002); 山西农业大学中青年学科带头人及学术骨干计划项目

* E-mail: lujinhui11@126.com

地被菊 (*groundcover chrysanthemum*) 抗逆性强, 开花繁茂, 群体花期长, 但大多数地被菊为短日照敏感型品种, 花期集中在秋季, 易受早霜危害。培育短日照不敏感型地被菊品种是重要育种目标之一, 而花粉活力和花期不遇是影响地被菊育种的关键因素。有关菊花花粉活力的研究大多集中在花粉活力检测方法及离体萌发培养基的筛选方面 (Yang & Endo, 2005; 赵宏波 等, 2005, 2006; 杨际双 等, 2007; 王涛 等, 2010; 吕晋慧 等, 2011)。

笔者前期就培养基重要组成成分、温度和不同采集时间等对花粉活力的影响进行了研究, 发现不同时间采集的同一品种花粉, 活力差异较大 (吕晋慧 等, 2011), 花粉萌发可能受光照强度、空气湿度、温度、植株生长发育阶段等因素的影响。花期不遇也是困扰地被菊花期育种的主要瓶颈。花粉储藏可在一定程度上解决花期不遇问题, 也可规避不良生态因子对授粉受精的影响。

有关菊花花粉储藏研究相对较少, 仅见杨际双等 (2007) 和王涛等 (2010) 对菊花花粉储藏做了初步研究。影响花粉储藏的因素较多, 尚没有详细报道。本试验在前期研究基础上, 对影响花粉活力的因素进行进一步研究, 旨在筛选并获得适宜的储藏温度和储藏时间, 为解决花期不遇问题提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及花粉采集

试验于 2011 年 8—11 月山西农业大学林学院中心实验室和试验苗圃进行。供试材料为地被菊 (*groundcover chrysanthemum*) 品种 ‘粉芙蓉’ 和 ‘毛白玉’, 初花期 8 月下旬, 盛花期 9 月上中旬。其中, ‘毛白玉’ 购自北京林业大学, ‘粉芙蓉’ 为山西农业大学选育品种。

9 月 10—25 日晴天 13:00, 用干燥毛笔轻轻刷取新鲜花粉, 装于 1.5 mL 离心管中, 迅速带回实验室, 备用。

以 $\text{ME}_3 + \text{PEG}4000\ 150\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖}\ 100\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为基本培养基 (赵宏波 等, 2005; 吕晋慧 等, 2011), 采用离体萌发法测定花粉活力。花粉萌发率 (%) = 萌发花粉粒数/花粉粒总数 $\times 100$ 。

1.2 不同处理对花粉萌发率的影响

1.2.1 硼酸和 Ca^{2+} 对花粉萌发的影响

硼酸 (H_3BO_3) 和 Ca^{2+} 对花粉萌发率的影响分别做单因素试验。 H_3BO_3 设 0、25、50、100 和 $150\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 等 5 个处理 (每处理中 Ca^{2+} 为 $600\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); Ca^{2+} 设 0、300、600 和 $900\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 等 4 个处理 (每处理中 H_3BO_3 含量为 $50\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 第 5 处理 Ca^{2+} 为 $600\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (不加 H_3BO_3)。接种 ‘毛白玉’ 新鲜花粉, 观测比较 H_3BO_3 和 Ca^{2+} 对花粉萌发率的影响。

1.2.2 同一花序不同部位花粉活力比较

菊花外围舌状花为雌花, 中部筒状花为两性花。

‘毛白玉’ 筒状花 6~7 轮。自靠近舌状花的第 1 轮筒状花开始计数, 由外向内依次为第 1 轮、第 2 轮……筒状花。将筒状花分为 3 部分, 即花序外部筒状花 (第 1、2 轮筒状花)、中部筒状花 (第 3、4 轮筒状花) 和内部筒状花 (第 5~7 轮筒状花)。分别选取不同部位筒状花花粉即将成熟的花序, 挂牌标记, 采粉前一天用毛刷刷去已散粉花粉, 套袋, 第 2 天采集新鲜花粉, 接种并统计其花粉萌发率。

1.2.3 遮荫对花粉活力的影响

以 ‘毛白玉’、‘粉芙蓉’ 为材料, 花蕾露色时进行遮荫处理, 设 0 (对照)、40%、60% 和 80%

等 4 个处理。采集不同遮荫处理下花序中部筒状花花粉，接种并比较不同遮荫处理对花粉萌发率的影响。

1.3 不同储藏条件对花粉活力的影响

全光照下取‘毛白玉’、‘粉芙蓉’盛花期花序中部的新鲜花粉（下同），置离心管中室温储藏，每 2 d 检测花粉活力。

取‘毛白玉’、‘粉芙蓉’新鲜花粉于硫酸纸上，室温自然干燥 2 h，以不经干燥的新鲜花粉为对照，置 4 ℃和 - 20 ℃冰箱保存，每 5 d 检测花粉活力。

取‘毛白玉’、‘粉芙蓉’新鲜花粉，置室温自然干燥 0 h、2 h、4 h 和 6 h 后经预冻处理（将花粉置 - 20 ℃下 12 h），以不经预冻处理的花粉为对照，置 - 80 ℃超低温冰箱保存，3 d 后检测花粉活力，比较干燥和预冻处理对花粉活力的影响。

以‘毛白玉’、‘粉芙蓉’新鲜花粉室温自然干燥 2 h，置 - 80 ℃冰箱储藏 3 d 后解冻。解冻方法：常温解冻、冰上解冻（0 ~ 2 ℃）、35 ℃水浴解冻 1 min、35 ℃水浴解冻 2 min、35 ℃水浴解冻 5 min 和逐步解冻（将 - 80 ℃保存的花粉取出于 - 20 ℃下放置 12 h，然后冰上解冻）6 种处理，检测花粉活力。

以‘毛白玉’、‘粉芙蓉’新鲜花粉室温自然干燥 2 h，置 - 80 ℃冰箱储藏，选择最佳解冻方法进行解冻，每 3 d 检测 1 次花粉活力。

1.4 数据统计

所得数据采用 SPSS 软件进行方差分析和邓肯氏新复极差法进行多重比较，其中，百分数需经反正弦转换。

2 结果与分析

2.1 地被菊花粉活力研究

2.1.1 硼酸和 Ca²⁺对地被菊花粉萌发的影响

硼酸对花粉萌发和花粉管生长没有显著影响（表 1）。而 Ca²⁺缺乏时花粉萌发率仅为 4.99%，外源 Ca²⁺显著促进了花粉萌发（*P* < 0.01），但不同浓度的外源 Ca²⁺处理间没有显著差异。Ca²⁺存在条件下，添加或缺失硼酸对花粉萌发没有影响（表 1）。

由图 1 可看出，外源 Ca²⁺缺失时，花粉管生长缓慢，大部分花粉管粗且短，外源 Ca²⁺显著促进了花粉管伸长生长。

2.1.2 花序不同部位花粉活力比较

不同部位筒状花的花粉活力差异显著（*P* < 0.05），其中花序中部筒状花的花粉活力显著高于外部和内部筒状花的花粉（图 2）。

2.1.3 遮荫对花粉活力的影响

遮荫显著影响了‘毛白玉’和‘粉芙蓉’花粉活力（*P* < 0.01）。全光照下花粉活力显著高于遮荫处理（图 3）。适度遮荫下，花粉活力虽然下降，但仍有较高活力，可以进行杂交授粉。

表 1 H₃BO₃ 和 Ca²⁺对地被菊花粉萌发的影响

Table 1 Effect of H₃BO₃ and Ca²⁺ on pollen's germination

H ₃ BO ₃ / (mg · L ⁻¹)	萌芽率/% Germination	Ca ²⁺ / (mg · L ⁻¹)	萌芽率/% Germination
0	37.24 ± 0.045A	0	4.99 ± 0.085B
25	34.94 ± 0.04A	300	25.13 ± 0.0187A
50	30.76 ± 0.024A	600	30.50 ± 0.013A
100	38.68 ± 0.025A	900	28.30 ± 0.03A
150	35.00 ± 0.014A	600	28.69 ± 0.016A
		(- H ₃ BO ₃)	

注：不同大写字母分别表示在 0.01 水平上差异显著。

Note: Different capital letters in the same column meant significantly difference at 0.01.

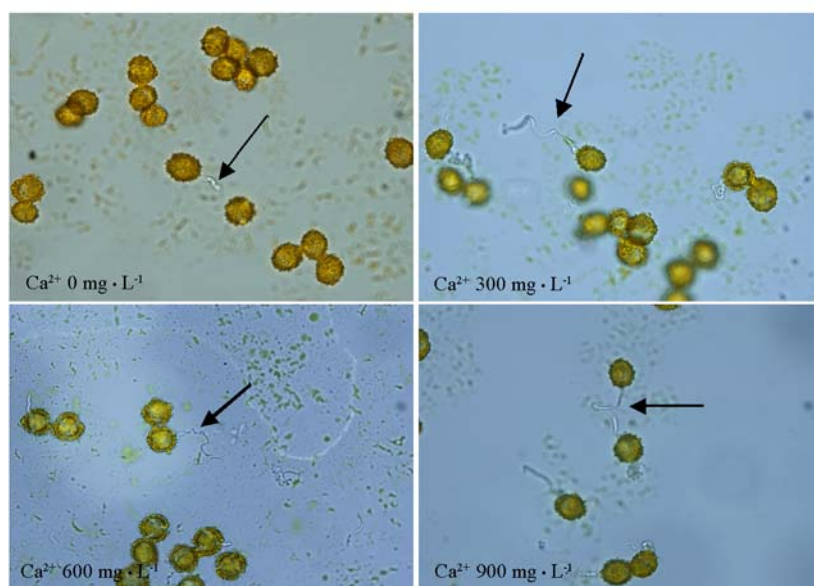


图 1 不同浓度 Ca^{2+} 对花粉萌发的影响
Fig. 1 Effect of Ca^{2+} on pollen's germination

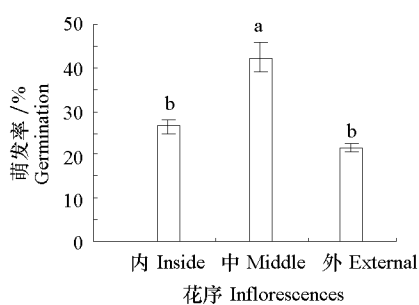


图 2 花序不同部位花粉活力比较
Fig. 2 The difference of pollen's germination among different part of inflorescence

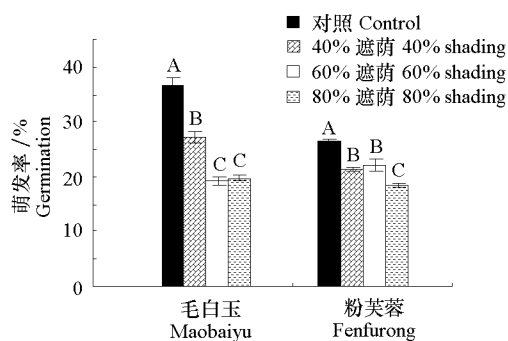


图 3 遮荫对花粉活力的影响
Fig. 3 Effect of shading on pollen's germination rate

2.2 不同储藏温度对地被菊花粉活力的影响

随储藏时间延长,两个品种花粉活力均成下降趋势(图 4),储藏时间显著影响了花粉活力($P < 0.01$)。室温条件下‘毛白玉’和‘粉芙蓉’花粉分别储藏 8 和 6 d 仍有一定活力。

干燥处理对花粉活力的影响随储藏时间延长而发生变化。4℃条件下储藏,前 5 d,经干燥处理的花粉活力显著高于新鲜花粉($P < 0.05$)。随着储藏时间的延长,花粉逐渐失水,不同处理花粉含水量趋于等同,花粉活力差异不显著。

4℃低温延长了花粉储藏时间,但随储藏时间延长,花粉活力成下降趋势(图 5)。“毛白玉”新鲜花粉和经干燥处理花粉储藏 15 d 时活力为 23.49% 和 26.57%,“粉芙蓉”储藏 10 d 时活力分别为 25.13% 和 21.48%,之后花粉活力下降。“毛白玉”、“粉芙蓉”花粉可分别储藏 25 d、20 d。

花粉在 -20℃下储藏 20~25 d 时仍有一定活力,但花粉活力较低(图 6)。干燥处理显著影响“毛白玉”花粉活力,储藏前期经干燥处理的花粉显著高于新鲜花粉($P < 0.01$),后期差异不显著。

干燥处理对‘粉芙蓉’花粉活力没有显著影响。干燥处理 2 h 的花粉经 -80°C 保存后, 活力显著高于其它处理 ($P < 0.01$) (图 7)。

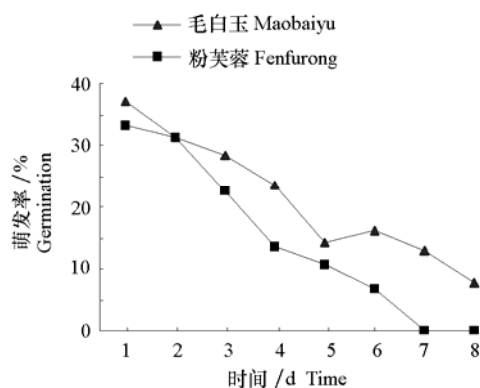


图 4 室温储藏对花粉活力的影响

Fig. 4 Effect of storage time at room temperature on pollen's germination

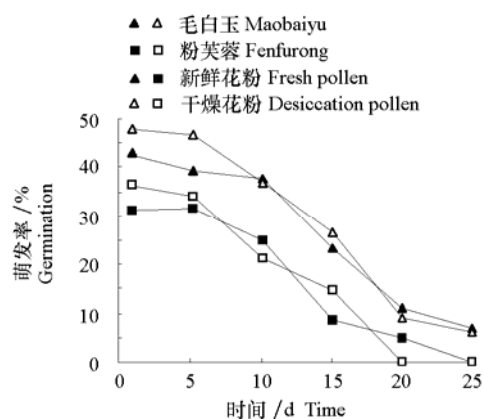


图 5 4 °C 储藏对花粉活力的影响

Fig. 5 Effect of storage time at 4 °C on pollen's germination

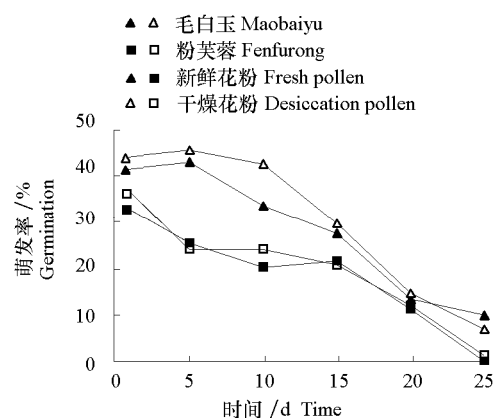


图 6 -20°C 储藏对花粉活力的影响

Fig. 6 Effect of storage time at -20°C on pollen's germination

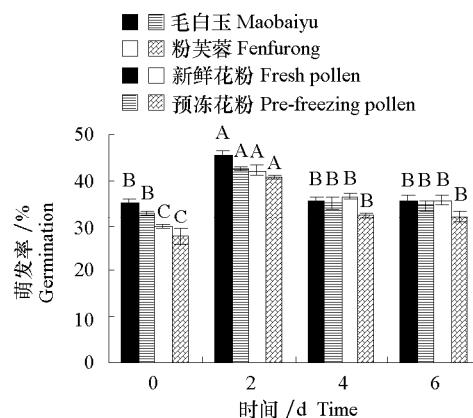


图 7 干燥和预冻处理对花粉活力的影响

Fig. 7 Effects of drying and pretreatment on pollen's germination

预冻处理显著降低了‘毛白玉’ ($P < 0.05$) 和‘粉芙蓉’ ($P < 0.01$) 花粉活力。

解冻方式对 -80°C 超低温保存花粉的活力影响显著 ($P < 0.01$), 其中, 35°C 解冻 2 min 和冰上解冻效果较好, 逐步解冻和常温解冻效果最差 (表 2)。

将新鲜花粉经室温干燥 2 h 后置 -80°C 储藏, 每 3 d 取冰冻花粉于冰上解冻 2 min, 测定活力。结果表明‘毛白玉’、‘粉芙蓉’分别可储藏约 21 d 和 18 d (图 8)。

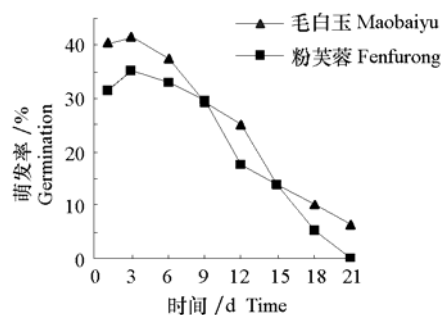


图 8 -80°C 储藏对花粉活力的影响

Fig. 8 Effect of storage time at -80°C on pollen's germination rate

表 2 不同解冻方法对地被菊花粉活力的影响
Table 2 Effect of different thawing methods on pollen's germination

/%

处理 Treatment	毛白玉 Maobaiyu	粉芙蓉 Fenfurong
常温解冻 Defrosting frozen at room temperature	18.51 ± 0.30 C	13.36 ± 0.42 D
冰上解冻 Defrosting frozen in ice	34.68 ± 0.44 A	29.20 ± 0.06 A
35 ℃解冻 1 min Defrosting frozen at 35 ℃ for 1 min	27.04 ± 0.86 B	22.57 ± 0.41 B
35 ℃解冻 2 min Defrosting frozen at 35 ℃ for 2 min	32.66 ± 0.20 A	27.98 ± 0.22 A
35 ℃解冻 5 min Defrosting frozen at 35 ℃ for 5 min	24.70 ± 0.70 B	19.18 ± 0.24 C
逐步解冻 Defrozen step by step	20.64 ± 0.50 C	13.94 ± 0.39 D

注：不同大写字母表示在 0.01 水平上差异显著。

Note: Different capital letters in the same column meant significantly difference at 0.01.

3 讨论

有研究认为硼酸可以促进蔗糖的吸收和代谢，提高花粉的萌发率。同时，有利于增加氧气的含量和吸收，参与果胶物质的合成，有利于花粉管的生长。在一定浓度范围内，外源硼酸可以促进花粉萌发和花粉管生长，浓度过高则起抑制作用（贾文庆和刘会超，2007；李旭新 等，2009）。但外源硼酸不是所有植物花粉萌发的必需条件，鹅毛竹等 5 种竹花粉、西瓜花粉在没有外源硼酸的条件萌发效果均较好（郭尚和王秀英，2006；林树燕 等，2008）。本研究也认为外源硼酸对花粉萌发和花粉管生长没有明显影响。原因可能与花粉发育状况和营养元素含量如花粉内源硼含量等有关。不同物种遗传特性也对其有影响。

Ca^{2+} 影响花粉管的生长，尤其影响花粉管的极性、顶端和定向生长（Feijó et al., 1995; Tian et al., 1998; Franklin-Tong, 1999）。贾文庆和刘会超（2007）认为在一定范围内，随 Ca^{2+} 浓度增加，花粉萌发率先升后降。赵宏波等（2005）认为加入一定量的 Ca^{2+} 后，花粉管长得较直且粗。本研究认为外源 Ca^{2+} 显著促进花粉萌发并促进花粉管的伸长生长，但对花粉管粗度没有明显影响。 Ca^{2+} 的动态变化对启动花粉萌发、调节花粉管伸长生长等具有重要作用（Tian et al., 1998; Zhang et al., 1999）。花粉萌发率和花粉管能否正常生长直接关系到高等植物的受精作用能否顺利进行（沈捷 等，2010）。秋天气温急剧下降，花粉萌发时间延长、萌发率降低、花粉管发育质量差，易导致“花而不实”的现象（兰涛 等，2010）。大多数地被菊属短日照敏感型品种，常出现种子不能正常成熟现象。外源 Ca^{2+} 促进花粉管伸长生长，有利于花粉管在花柱内的快速生长，有可能缩短授粉受精时间。另外，有研究认为外源 Ca^{2+} 可以替代花粉萌发时的群体效应（Wang et al., 2002），有利于杂交育种的顺利进行。那么在气温低、光照弱的季节，喷施外源 Ca^{2+} 是否对提高杂交率和种子成熟有促进作用将是我们下一步工作内容。

有研究认为初花期的前 1、2 d 成熟花粉不多，有活力的花粉比率较低；初花期到盛花期，成熟的花粉越来越多，有活力花粉比率随之提高；盛花期到末花期，有活力的花粉比率迅速下降（杨志 等，2006）。‘毛白玉’外部筒状花开时处于群体花期的初花期，成熟花粉较少，花粉活力较低。中部筒状花开时，处于盛花期阶段，成熟花粉较多，花粉活力显著提高。内部筒状花开时，授粉受精使子房成为主要代谢库，源端营养大量向子房转移，未成熟的花粉得不到充足营养而不能继续发育。同时，发育成熟的花粉也因营养不足而逐渐失去活力。

菊花为三核型花粉，花粉活力丧失速度快，较二核型花粉寿命短，保存困难。温度和湿度是影响花粉储藏寿命的主要因素（乔红莲 等，2010），低温、低氧和低湿有利于花粉贮藏（李要民和陈良碧，1998）。低温延长了‘毛白玉’、‘粉芙蓉’花粉储藏时间。室温环境下，花粉呼吸作用强，生理代谢活跃，花粉失水严重，活力下降迅速，储藏效果较差。低温降低了花粉呼吸作用、水分代

谢等, 延长了花粉活力。但 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储藏没有大幅度延长‘毛白玉’、‘粉芙蓉’花粉寿命, 与 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储藏相比, 没有显著优势, 杂交育种中可选择 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储藏地被菊花粉。不同物种或品种的花粉适宜储藏温度不同。乔红莲等 (2010) 研究认为百合品种‘Brunello’花粉适合 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏, 而兰州百合花粉适合 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻贮藏。傅鸿妃和张明方 (2005) 认为 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 适合网纹甜瓜花粉的保存, 超低温保存没有延长红桉木花粉保存时间 (周楠楠 等, 2010)。 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 可能不是‘毛白玉’和‘粉芙蓉’花粉储藏的最佳温度。另外, 不同物种的花粉耐储性不同, 网纹甜瓜只能保存 7 d (傅鸿妃和张明方, 2005), 月月竹 48 h 内花粉失去活力 (林树燕 等, 2008b)。二乔玉兰花粉在 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下可分别保存 1 年、1 年和 2 年, 桃和美国山核桃 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下可保存 10 年 (张亚利 等, 2006)。超低温 ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) 是否有利于延长地被菊花粉寿命需进一步研究。另外, 花粉寿命及耐储性可能与花粉蛋白质和淀粉等含量有关 (李要民和陈良碧, 1998)。有关蛋白质、碳水化合物等对花粉寿命和耐贮性的影响机制有待进一步研究。

花粉含水量是影响花粉储藏的重要因素之一 (石思信 等, 1987; 王玉萍 等, 2003)。花粉含水量高, 在冷冻过程中花粉细胞容易结冰, 易造成冰冻伤害, 影响花粉活力, 但干燥时间过长, 花粉含水量过低也会影响花粉活力。 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存前对花粉进行预冻处理降低了地被菊花粉活力, 这点与王玉萍等 (2003) 的研究结果相左。预冻处理下, 花粉经两次结冰过程, 花粉细胞易受伤害, 影响了花粉活力的保持。超低温保存的花粉置室温时, 环境发生巨大变化, 花粉需要一个恢复过程 (Withers, 1985)。本研究结果显示冰上解冻和 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 解冻 2 min 效果显著好于其他处理。可能是这两种方法在解冻过程中不易形成二次结冰, 防止细胞脱水, 有利于花粉活力的保持。

References

- Feijó J A, Malhó R, Obermeyer G. 1995. Ion dynamics and its possible role during *in vitro* pollen germination and pollen tube growth. *Protoplasma*, 187: 155 - 167.
- Franklin-Tong V E. 1999. Signaling and the modulation of pollen tube growth. *Plant Cell*, (11): 727 - 738.
- Fu Hong-fei, Zhang Ming-fang. 2005. Effect of preservation temperature on viability of netted-mushmelon pollen. *Journal of Fruit Science*, 22 (2): 179 - 181. (in Chinese)
- 傅鸿妃, 张明方. 2005. 保存温度对网纹甜瓜花粉生活力的影响. *果树学报*, 22 (2): 179 - 181.
- Guo Shang, Wang Xiu-ying. 2006. Effects of the different factors on vigor power of the watermelon pollen. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 21 (3): 91 - 94. (in Chinese)
- 郭 尚, 王秀英. 2006. 不同因素对西瓜花粉生活力的影响. *华北农学报*, 21 (3): 91 - 94.
- Jia Wen-qing, Liu Hui-chao. 2007. Study on pollen viability of *Malus halliana*. *Guangdong Agricultural Sciences*, (10): 32 - 34. (in Chinese)
- 贾文庆, 刘会超. 2007. 垂丝海棠花粉生活力测定的研究. *广东农业科学*, (10): 32 - 34.
- Lan Tao, Yao Yun-fa, Xiao Cai-xia, Chi Ren-man, Wang Bin, Wu Wei-ren, Qi Jian-min. 2010. The preliminary study of kenaf fertilization process by histological anatomy. *Plant Fiber Sciences in China*, 32 (2): 77 - 83. (in Chinese)
- 兰 涛, 姚运法, 肖彩霞, 池人漫, 汪 斌, 吴为人, 祁建民. 2010. 红麻受精过程的组织解剖学观察研究. *中国麻业科学*, 32 (2): 77 - 83.
- Li Yao-min, Chen Liang-bi. 1998. Vigor change of several grasses pollen stored in different temperature and humidity conditions. *Plant Physiology Communications*, 34 (1): 35 - 37. (in Chinese)
- 李要民, 陈良碧. 1998. 不同温湿条件下贮藏的 3 种禾本科植物花粉活力变化. *植物生理学通讯*, 34 (1): 35 - 37.
- Li Xu-xin, Zhang Yan-qing, Feng Xian-bin, Wang Chao, Bai Zhi-ying, Lu Bing-she. 2009. *In vitro* pollen germination and pollen tube growth of *Pistacia chinensis* Bunge. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 29 (5): 867 - 873. (in Chinese)
- 李旭新, 张艳青, 冯献宾, 王 超, 白志英, 路丙社. 2009. 不同培养条件对黄连木花粉萌发和花粉管生长的影响. *西北植物学报*, 29 (5): 867 - 873.
- Lin Shu-yan, Ding Yu-long, Zhang Hao. 2008a. Pollen germination percentage and the floral character of five bamboo species. *Scientia Silvae Sinicae*, 44 (10): 159 - 163. (in Chinese)

- 林树燕, 丁雨龙, 张 昊. 2008a. 5 种竹子花粉萌发率及开花特性. 林业科学, 44 (10): 159 - 163.
- Lin Shu-yan, Luo Ren-xiang, Ding Yu-long, Wang Fu-sheng. 2008b. Studies on the pollen viality and storage capacity in *Chimonobambusa szechuanensis*. China Forestry Science and Technology, 22 (5): 22 - 25. (in Chinese)
- 林树燕, 骆仁祥, 丁雨龙, 王福升. 2008b. 月月竹的花粉萌发力及储藏力研究. 林业科技开发, 22 (5): 22 - 25.
- Lü Jin-hui, Zhao Yao, Ren Yi, Yuan Si-an, Liu Kun, Chen Yang. 2011. Study on measuring and factors affecting on pollen germination ability of ground-cover chrysanthemum. Acta Agricuturae Boreali-Sinica, 26 (4): 189 - 193. (in Chinese)
- 吕晋慧, 赵 耀, 任 意, 袁思安, 刘 坤, 陈 阳. 2011. 地被菊花粉生活力测定及影响因素研究. 华北农学报, 26 (4): 189 - 193.
- Qiao Hong-lian, Liu Zhong-hua, Huo Xi-ying. 2010. Effects of storage temperature on viability of lily pollen. Northern Horticulture, (5): 86 - 89. (in Chinese)
- 乔红莲, 刘忠华, 霍喜颖. 2010. 贮藏温度对百合花粉生活力的影响. 北方园艺, (5): 86 - 89.
- Shi Si-xin, Tian Yue, Cao Xin-ru. 1987. Research on the maize pollen storage in liquid nitrogen. Journal of Refrigeration, (4): 56 - 60. (in Chinese)
- 石思信, 田 玥, 曹心如. 1987. 利用液态氮保存玉米花粉的研究. 制冷学报, (4): 56 - 60.
- Shen Jie, Zhu Chen-chen, Xu Jin, Shi Ji-sen. 2010. Effects of mineral elements on pollen germ ination and pollen tube growth of *Cunningham ialanceolate* (Lamb.) Hook. China Forestry Science and Technology, 24 (6): 57 - 59.
- 沈 捷, 祝晨辰, 徐 进, 施季森. 2010. 硼、钙离子对杉木花粉萌发和花粉管生长影响. 林业科技开发, 24 (6): 57 - 59.
- Tian H Q, Zhang H, Russell S D. 1998. Isolation of the male germ unit organization and function in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Plant Cell Reports, 18: 143 - 147.
- Wang Q L, Lu L D, Wu X Q. 2002. Pollen storage and viability determination. Chin Bull Bot, 19 (3): 365 - 372.
- Wang Tao, Zhu Peng-fang, Dong Yu-zhi. 2010. Pollen vitality and storage capacity of small *Chrysanthemum*. Journal of Liaoning Forestry Science Technology, (1): 8 - 11. (in Chinese)
- 王 涛, 祝朋芳, 董玉芝. 2010. 小菊花粉生活力及贮藏力的研究. 辽宁林业科技, (1): 8 - 11.
- Wang Yu-ping, Zhang Feng, Wang Di. 2003. The cryopreservation of potato pollen. Acta Horticulturae Sinica, 30 (6): 683 - 686. (in Chinese)
- 王玉萍, 张 峰, 王 蒂. 2003. 马铃薯花粉的超低温保存研究. 园艺学报, 30 (6): 683 - 686.
- Withers L A. 1985. Cryopreservation and storage of gemplasm// Dixon R A. Plant cell culture: A practical approach. Berlin: Springer-Verlag: 169 - 191.
- Yang J, Endo M. 2005. *In vitro* germination and viability of *Dendranthema* pollen. Asian Journal Plant Sciences, 4 (6): 673 - 677.
- Yang Zhi, Dong Xiao-tao, Yang Wei, Zhang Su-min. 2006. Research outline and application of apple pollen vitality. Northern Fruits, (7): 1 - 3. (in Chinese)
- 杨 志, 董晓涛, 杨 巍, 张素敏. 2006. 果树花粉生活力应用研究概况. 北方果树, (7): 1 - 3.
- Yang Ji-shuang, Li Zhan-jun, Wang Li-xia. 2007. Studies on pollen viability and vase fertilization of *Chrysanthemum*. Journal of Henan Agricultural Sciences, (12): 92 - 95. (in Chinese)
- 杨际双, 李占军, 王丽霞. 2007. 菊花花粉生活力及瓶插授粉研究. 河南农业科学, (12): 92 - 95.
- Zhang Ya-li, Tian Zhen-kun, Liu Yan. 2006. Preservation methods of pollen of *Magnolia soulangeana* Soul.-Bod. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 14 (4): 318 - 320. (in Chinese)
- 张亚利, 田振坤, 刘 燕. 2006. 二乔玉兰花粉贮存条件的比较研究. 热带亚热带植物学报, 14 (4): 318 - 320.
- Zhang Z, Tian H Q, Russell S D. 1999. Localization of myosin on sperm cell associated membranes of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Proto Plasma, 208: 123 - 128.
- Zhao Hong-bo, Chen Fa-di, Fang Wei-min. 2006. Detection methods of pollen viability of *Dendranthema*. Journal of Zhejiang Forestry College, 23 (4): 406 - 409. (in Chinese)
- 赵宏波, 陈发棣, 房伟民. 2006. 菊属植物花粉生活力检测方法的比较. 浙江林学院学报, 23 (4): 406 - 409.
- Zhao Hong-bo, Chen Fa-di, Fang Wei-min. 2005. Pollen germination *in vitro* of chrysanthemum cultivars with small inflorescences and several species of *Dendranthema*. Journal of Nanjing Agricultural University, 28 (2): 22 - 27. (in Chinese)
- 赵宏波, 陈发棣, 房伟民. 2005. 栽培小菊和几种菊属植物花粉离体萌发研究. 南京农业大学学报, 28 (2): 22 - 27.
- Zhou Nan-nan, Fang Yan-ming, Ma Cheng-tao. 2010. Red alder pollen viability and the effects of different storage methods. Journal of Nanjing Forestry University, 34 (5): 34 - 38. (in Chinese)
- 周楠楠, 方炎明, 马成涛. 2010. 红桤木花粉生活力及其贮藏方法的研究. 南京林业大学学报, 34 (5): 34 - 38.