

郭英姿,贾文庆,周秀梅,等. 早开堇菜花粉生活力研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(13):191-194.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.13.047

早开堇菜花粉生活力研究

郭英姿, 贾文庆, 周秀梅, 刘会超, 郭怀刚, 何松林, 杜晓华, 王艳丽, 穆金艳, 朱小佩

(河南科技学院园艺园林学院,河南新乡 453003)

摘要:以早开堇菜新鲜花粉为试材,使用扫描电镜观察花粉表观形态,采用双重二因素试验用离体培养法研究不同培养基组分对花粉萌发的影响,筛选最佳的贮藏方法,并探讨花粉形态结构与花粉萌发之间的关系。结果表明:蔗糖和硼酸对花粉萌发具有促进作用。在 280 g/L 蔗糖和 240 mg/L 硼酸的条件下花粉萌发率最高,为 72.29%;在 90 mg/L GA_3 和 200 mg/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 的条件下花粉萌发率峰值为 82.48%。确定花粉离体培养最佳的培养基为:蔗糖 280 g/L、 GA_3 90 mg/L、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 200 mg/L、硼酸 240 mg/L。花粉萌发率随贮藏时间的延长呈下降趋势,相同时间内贮藏温度越低花粉萌发率越高,早开堇菜花粉最佳的贮藏的条件为 -80°C ;花粉形态与其萌发率之间有相关性。

关键词:早开堇菜;生活力;萌发;培养基成分;贮藏

中图分类号: S567.23*9.035.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2019)13-0191-04

早开堇菜(*Viola prionantha* Bunge)又名早花地丁,为堇菜科堇菜属多年生草本植物。全草药用,有活血化瘀,除脓消炎;捣烂涂于患处,可排脓、活血和生肌^[1]。植株低矮,春季返青比较早,植株长势茂盛,在早春和晚秋开花,花期集中,花型奇特、色泽醒目、株型雅致,具有较高的观赏价值。早开堇菜有适应性广、生长迅速、抗逆性强、竞争力强等特点,可广泛用于地被、林下地被、花境、花坛、缀花草坪等,具有广阔的园林开发应用前景^[2-3]。

杂交培育新品种是改良植物的重要途径,也是植物资源开发利用的主要方法。堇菜属植物生殖特性的研究是提高堇菜属植物育种效率的基础。在进行人工授粉、杂交育种时都需要大量花粉,杂交育种有时因花期不遇、空间障碍等原因,必须有效地贮藏花粉,花粉寿命长短对植物授粉受精结实繁殖能力等方面具有重要意义^[4]。在授粉前对花粉进行生活力的测定,可以避免因使用低生活力的花粉而造成育种时间和成本的浪费,以便对杂交结果进行分析和研究^[5]。而花粉萌发生活力测定是人工筛选或杂交育种的前提,离体培养法是检测花粉萌发率最准确的方法之一。花粉长期贮藏对种质保存和杂交育种十分重要,长期保存花粉的必要条件就是低温处理。目前国内学者对早开堇菜的资源概况^[2-3,6]、生物学特性^[7]、挥发性成分^[1]、抗性^[8]等进行了深入的研究,但对其花粉生活力及贮藏的研究尚未见报道。为此本研究采用离体培养法对早开堇菜花粉萌发特性进行探讨,探究了早开堇菜

花粉萌发的最适培养基及最佳贮藏方法,并分析了花粉形态与萌发率之间的关系,以期为早开堇菜的杂交育种和花粉储藏提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料的采集与处理

试验于 2017 年 3 月上旬展开,选择晴天 08:30—11:00,在河南科技学院校园内采集早开堇菜初花期含苞待放花朵为宜,此时花粉还未散出,花粉量大、生活力好。带回实验室后,一部分用镊子剥取花药置于放有硫酸纸的培养皿内,置于 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养箱内散粉 24 h 后,收集花粉,待扫描花粉形态备用。一部分新鲜花粉直接用于离体萌发试验,待测花粉生活力。其余花粉干燥后装入放有硅胶的离心管密封保存,设置常温、 4°C (低温)、 -20°C 、 -80°C (超低温)4 种贮藏温度,进行长期贮藏。

1.2 方法

1.2.1 花粉形态观察 将干燥的花粉均匀撒布在黑色导电胶上,放在扫描电镜下观察拍照。选取有代表性的花粉粒进行观察,各类型的花粉粒测 20 粒,取平均值,记录花粉的极轴和赤道长度并计算 P/E 值;观察花粉远极面、近极面和局部的外壁纹饰、网眼大小、网脊宽度,测量并记录数据。

1.2.2 不同蔗糖、硼酸处理对花粉萌发的影响 试验采用二因素完全随机处理方法,共 36 个组合,浓度梯度分别为:蔗糖:蒸馏水作为对照,蔗糖浓度设为 200、230、260、280、310 g/L;硼酸:蒸馏水作为对照,硼酸浓度设为 200、220、240、260、280 mg/L。各培养基均加入 9 g/L 琼脂, pH 值调至 5.8。用玻璃棒滴培养液于凹玻片的凹处,装满为止,稍冷却后用干净的毛笔蘸取少许花粉均匀撒播于培养基表面。将凹玻片放入铺有湿滤纸的培养皿内。置于 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温培养箱、相对湿度保持 70%~80%,暗培养 15 h 后,放在 NIKON 50i 显微镜下拍照并统计萌发率。花粉管长度大于花粉粒直径视为萌发,每处理重复 3 次,每重复观察 3 个视野,每视野 ≥ 100 粒花粉,统计萌发率^[9-10]。

收稿日期:2018-04-01

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD01B07);河南省基础与前沿项目(编号:162300410157);河南省高等学校重点科研项目(编号:17A21005);河南省科技创新杰出人才计划(编号:174200510004);国际合作领域-科技攻关(编号:172102410053);大学生“百农英才”创新项目(编号:BNYC2016-2-19)。

作者简介:郭英姿(1992—),女,硕士研究生,研究方向为观赏植物种质资源与创新利用。E-mail:guoyz2017@126.com。

通信作者:贾文庆,副教授,硕士生导师,主要从事园林植物栽培技术与应用研究工作。E-mail:jiawq2012@126.com。

花粉萌发率 = 花粉萌发粒数 / 花粉总粒数 × 100%。

1.2.3 不同赤霉素、硝酸钙处理对花粉萌发的影响 在试验得出的最佳培养基中加入 GA₃、Ca(NO₃)₂，在此基础上采用二因素完全随机处理试验，依据不同处理的花粉萌发率，确定最佳的 GA₃ 和 Ca(NO₃)₂ 浓度。浓度梯度分别为：GA₃：蒸馏水作为对照，GA₃ 浓度设为 30、60、90、120、150 mg/L，Ca(NO₃)₂：蒸馏水作为对照，Ca(NO₃)₂ 浓度设为 50、100、150、200、250 mg/L，pH 值调至 5.8。花粉萌发的测定方法同上。

1.2.4 不同贮藏温度对早开堇菜花粉萌发的影响 将真空干燥的花粉，设置常温、4℃（低温）、-20℃、-80℃（超低温）4 种贮藏温度，将花粉装入放有硅胶干燥剂的 5 mL 试管中，用棉花封口。贮藏 60、120、180、240、300、360 d 后，分别从 4 种贮藏条件的离心管中各取出少许花粉（-80℃下贮藏的花粉放 -20℃预理解冻，在 -20℃冰箱中冷冻的花粉应在 4℃的冰箱中缓冲 15 min 后再培养），取少许采用试验所得最佳培养基培养测定萌发率，以新鲜花粉的萌发率作对照，

测定方法同上。

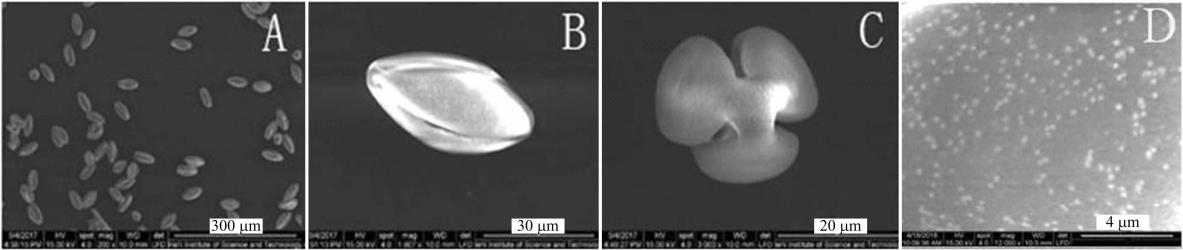
1.3 数据分析

采用 DPS 数据分析软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 早开堇菜表观形态

从图 1-A、图 1-B 可以看出早开堇菜花粉粒均为长椭圆形，早开堇菜花粉粒平均极轴长为 21.93 μm，平均赤道轴长约 10.08 μm，P/E≈2.176，属于小型花粉。其中少数呈卵型或不规则形状。从图 1-B、图 1-C、图 1-D 可以看出，早开堇菜花粉表面较为光滑，为小穴状雕饰纹，网脊细而弯曲，较为均匀。早开堇菜花粉粒形态呈两侧对称，花粉赤道面观长椭圆形，两端渐窄，极面观三裂圆形，花粉具 3 孔沟^[11]，沟膜较明显，延伸至两极，萌发沟呈两极宽中间窄，沟宽约 0.88 μm，沟长快达到花粉粒两端，长度平均约 18.02 μm，沟区有光滑的沟膜。



A.群体观；B.赤道面观；C.极面观；D.花粉外壁纹饰
图1 早开堇菜花粉扫描电镜观察

2.2 蔗糖、硼酸对花粉萌发率的影响

不同蔗糖、硼酸浓度对早开堇菜花粉萌发的影响差异显著（表 1、图 2）。表 1 表明，早开堇菜在蔗糖、硼酸浓度都为 0 和单独添加蔗糖或者硼酸时萌发率都较低，在恒温培养箱（25±1）℃持续培养 15 h 后，空白培养基花粉的萌发率仅为 20.27%，单独使用蔗糖时，随着蔗糖浓度的增加，花粉的萌发率呈先上升后降低的趋势。蔗糖浓度为 280 g/L，萌发率最高，达 25.76%，显著高于其他处理；但随着蔗糖浓度持续增加，花粉的萌发率呈下降趋势，在蔗糖的浓度为 300 g/L 时，花粉萌发率降至 22.91%。

硼能促进糖的吸收与代谢，且有利于花粉管壁的形成，减少花粉破裂，提高花粉的萌发率，促使花粉管生长伸长^[7]。

表 1 结果显示，单独使用硼酸时，早开堇菜花粉萌发率随着硼酸质量浓度的增加呈先增加后下降的趋势。硼酸的质量浓度为 240 mg/L 时，早开堇菜的花粉萌发率最高，达 31.74%；随着硼酸浓度持续增加，花粉萌发率显著下降，当硼酸的质量浓度为 280 mg/L 时，花粉的萌发率仅为 26.82%。

这表明高质量浓度蔗糖、硼酸对花粉萌发有抑制作用。研究结果显示：供试的 36 种培养基中，蔗糖和硼酸浓度分别为 280 g/L、240 mg/L 时，花粉萌发率最高，达 72.29%，显著高于其他组合，可以表明该培养基为早开堇菜花粉萌发的最佳培养基。这表明添加一定含量的蔗糖、硼酸对早开堇菜花粉萌发具有明显的促进作用。

表 1 不同质量浓度的蔗糖、硼酸对花粉萌发率的影响

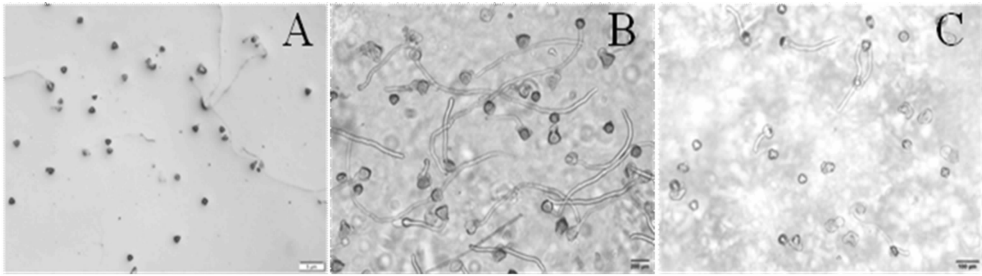
蔗糖质量浓度 (g/L)	不同硼酸质量浓度下花粉萌发率(%)					
	0 mg/L	200 mg/L	220 mg/L	240 mg/L	260 mg/L	280 mg/L
0	20.27 ± 0.01hI	20.25 ± 0.01hI	25.9 ± 0.04ghHI	31.74 ± 0.06gH	27.28 ± 0.03ghHI	26.82 ± 0.02ghHI
200	21.26 ± 0.01hI	51.19 ± 0.03efG	66.92 ± 0.13cC	68.86 ± 0.02cAB	67.28 ± 0.04cB	66.97 ± 0.01cC
230	21.37 ± 0.01hI	57.46 ± 0.05deF	64.3 ± 0.04dC	65.66 ± 0.05cC	63.83 ± 0.12dC	61.12 ± 0.06cdE
260	22.93 ± 0.01hHI	48.34 ± 0.04fFG	62.84 ± 0.05efG	64.62 ± 0.03dC	67.34 ± 0.02cC	64.48 ± 0.03dC
280	25.76 ± 0.01ghHI	43.11 ± 0.07fG	68.59 ± 0.1cAB	72.29 ± 0.05aA	63.61 ± 0.04dC	51.14 ± 0.03efG
300	22.91 ± 0.01hHI	57.14 ± 0.06deF	52.11 ± 0.02efG	63.89 ± 0.05dC	70.45 ± 0.02bAB	65.68 ± 0.03cC

注：表中不同小写、大写英文字母分别表示在 0.05、0.01 水平上差异显著。下表同。

2.3 赤霉素、硝酸钙对花粉萌发率的影响

赤霉素是影响花粉萌发的重要因素之一。由表 2 可以看出，赤霉素添加后，早开堇菜花粉萌发率有较显著的变化，呈

先增加后降低的趋势。赤霉素为 90 mg/L 时，萌发率达到了峰值，为 78.34%，当赤霉素浓度为 150 mg/L 时，萌发率随赤霉素浓度增加反而下降，为 57.14%，这表明高质量浓度的赤



A. 不含蔗糖、硼酸下萌发(4×); B. 蔗糖质量浓度 280 g/L、硼酸质量浓度 240 mg/L(10×);
C. 蔗糖质量浓度 300 g/L、硼酸质量浓度 280 mg/L(10×)

图2 早开堇菜花粉萌发的扫描电镜观察

表2 不同浓度的赤霉素、硝酸钙对花粉萌发率的影响

赤霉素质量浓度 (g/L)	不同硝酸钙质量浓度下花粉萌发率(%)					
	0 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	200 mg/L	250 mg/L
0	72.29 ± 0.31ghHI	68.90 ± 0.44IL	59.74 ± 0.51nN	70.94 ± 0.42ijIJ	72.82 ± 0.37ghH	69.87 ± 0.43jklJKL
30	71.19 ± 0.01hiHI	75.26 ± 0.12fFG	65.53 ± 0.23mM	76.28 ± 0.60efFG	75.30 ± 0.33fFG	75.48 ± 0.23fFG
60	76.46 ± 0.50eEFG	78.31 ± 0.34cCD	77.00 ± 0.48deEF	78.84 ± 0.22cCD	79.12 ± 0.55cCD	79.70 ± 0.60cBC
90	78.34 ± 0.28cCD	74.84 ± 0.07fG	79.62 ± 0.80cCD	79.34 ± 0.42cCD	82.48 ± 0.31aA	81.00 ± 0.51bB
120	69.11 ± 0.05klJKL	70.59 ± 0.26ijkJK	69.29 ± 0.56IKL	72.16 ± 0.38gH	76.14 ± 0.23efEFG	77.35 ± 0.07dDE
150	57.14 ± 0.02oO	55.11 ± 0.05pP	53.89 ± 0.36qP	59.45 ± 0.19nN	54.68 ± 0.37pP	59.88 ± 0.53nN

霉素使花粉萌发受到抑制。

硝酸钙对早开堇菜花粉的萌发具有一定的相关性。硝酸钙晶体易溶于水,可以随其他易溶试剂直接加入蒸馏水中配制培养基。由表2可知,在最佳蔗糖浓度280 g/L的培养基中加入Ca²⁺后,很明显抑制了早开堇菜花粉的萌发,随着硝酸钙质量浓度不断增大,花粉萌发率呈先增加后下降的趋势,硝酸钙浓度为250 mg/L时,早开堇菜花粉萌发率降至69.87%,萌发率明显低于无硝酸钙时的72.29%。Ca(NO₃)₂的质量浓度为200 mg/L时,早开堇菜花粉的萌发率达到峰值,为72.82%。

供试的36种培养基中,赤霉素和硝酸钙浓度分别为90 g/L、200 mg/L时,花粉萌发率最高,达82.48%,显著高于其他组合。综上所述,依据不同组合的花粉萌发率,确定早开堇菜花粉萌发的最适培养基为:蔗糖280 g/L + GA₃90 mg/L + Ca(NO₃)₂200 mg/L + 硼酸240 mg/L。

2.4 不同贮藏时间和温度对早开堇菜花粉萌发的影响

图3结果表明,贮藏环境对早开堇菜花粉的萌发率影响显著,贮藏不同时间后花粉活力差异较大。在4种贮藏温度条件下,随着贮藏时间延长,早开堇菜花粉萌发率均呈下降趋势。室温下萌发率下降最快,贮藏120 d后,花粉几乎丧失生活力,贮藏时间最短;与室温相比,4℃条件下花粉贮藏时间明显延长,随着贮藏时间的延长,萌发率呈缓慢下降的趋势,贮藏360 d萌发率下降到38.8%;-20℃贮藏条件下,花粉萌发率下降趋势较4℃条件下的小很多,贮藏360 d后萌发率仍有52.91%;-80℃条件下贮藏的花粉萌发率下降幅度较小,变化曲线较平缓,显著优于4℃和-20℃,贮藏360 d后,花粉萌发率仍达61.69%,花粉管形态正常。综上所述,适宜早开堇菜花粉贮藏的条件为-80℃。

3 小结与讨论

花粉形态是植物分类鉴定、确定亲缘关系远近的重要指

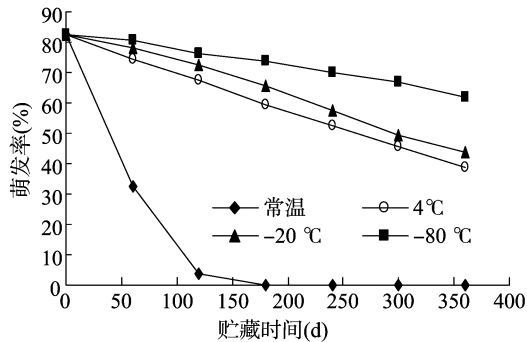


图3 不同贮藏时间和贮藏温度对早开堇菜花粉萌发的影响

标。物种不同,花粉的形态、结构及大小也有差异^[12]。本研究结果表明:早开堇菜属于小型花粉,表面光滑,早开堇菜畸形花粉所占比率(13.18%),与离体萌发法所得萌发率(82.48%)结合来看,二者具有一定关系,说明花粉萌发与花粉形态有相关性。分析出现畸形花粉原因可能是早开堇菜繁殖力差,花粉败育。

离体萌发法操作简便、快速,结果直观可靠,几乎适用于所有植物的花粉生活力测定,但不同的材料需要不同的培养基^[13]。本试验通过二因素完全随机处理试验,筛选出最适宜早开堇菜花粉萌发的培养基组合为:蔗糖280 g/L + GA₃90 mg/L + Ca(NO₃)₂200 mg/L + 硼酸240 mg/L。

蔗糖是花粉萌发的营养物质和能量来源,不同植物种类甚至品种其花粉离体培养对蔗糖浓度要求不同。这可能是由于不同植物、品种的花粉细胞中内含物含量不同,要求适宜的细胞壁内外渗透压才能生长。胞内渗透压低于胞外,易造成胞内水分外渗,高于胞外则造成细胞过分膨胀,都不利于花粉细胞生长^[14]。本研究结果表明,蔗糖是影响早开堇菜花粉萌发的主要因子,蔗糖的质量浓度为280 g/L时,花粉萌发效率达到峰值,当蔗糖的质量浓度超过280 g/L时,萌发率和蔗糖

质量浓度成反比,原因可能是蔗糖质量浓度低,渗透压就比较低,会导致花粉壁破裂,内容物流出,花粉萌发率降低;蔗糖的质量浓度高时,发生质壁分离,又阻碍了花粉的发育^[15]。适量硼也是花粉萌发和生长所必需的,硼酸有助于糖的吸收和利用,提高新陈代谢,硼还参与早开堇菜花粉组织的形成,可以减少花粉破裂,提高耗氧速度,有利于花粉管组织的合成和花粉管的伸长生长^[16-19],本试验结果显示:硼酸的质量浓度为240 mg/L时,早开堇菜的花粉萌发率达到峰值,为31.74%;随着硼酸浓度持续增加,萌发率随硼酸质量浓度的增大而降低,分析可能的原因是硼的含量过多,抑制了花粉的新陈代谢,从而影响和抑制花粉活力。赤霉素可刺激花粉的萌发,促进花粉管生长,提高萌发率。大部分赤霉素促进花粉萌发的研究结果显示:50 mg/L以下的低浓度赤霉素对花粉萌发和花粉管生长有明显的促进作用^[8]。本研究结果表明,90 mg/L GA₃对早开堇菜花粉萌发具有明显的促进作用,这表明,低浓度的赤霉素能促进早开堇菜花粉萌发,120 mg/L的GA₃出现抑制作用。Ca²⁺诱导花粉管产生一定的趋向性,使花粉管朝Ca²⁺浓度高的方向生长。硝酸钙的主要作用是提供钙元素,补充氮元素,具有快速补给钙、氮的特点^[16,20]。Ca²⁺的浓度影响着花粉管的生长速度和形态特征,但花粉萌发和生长都需要控制在一定的组分浓度内,过高、过低均不利于花粉管的萌发和生长^[15],关于早开堇菜Ca²⁺诱导花粉管的研究尚未见报道,本试验结果表明,200 mg/L硝酸钙对早开堇菜花粉萌发具有促进作用。

本试验结果显示,早开堇菜花粉萌发率最高一般维持在80%左右,推断花粉生活力的强弱主要取决于种(品种)自身的遗传特性,但培养基、培养温度等其他外界条件也会影响到花粉萌发率^[21-23],有待于进一步研究。

贮藏温度影响花粉萌发下降速度^[21],本研究结果表明,在4种贮藏温度条件下,随着贮藏时间延长,花粉萌发率均呈下降趋势,室温下萌发率下降最快,贮藏时间最短。室温贮藏120 d后花粉几乎丧失生活力,可能是因为温度高增强了花粉内部呼吸强度,从而导致花粉营养枯竭,同时室内温度、湿度又会使花粉脱水变质死亡^[21]。4℃贮藏360 d后,萌发率为43.64%,长期贮藏仍表现较高的萌发率,但-80℃低温处理后萌发率最佳,贮藏360 d后萌发率仍达到61.69%,适合花粉长期贮藏。说明温度越低越有利于早开堇菜花粉的长时间保存,这与大多数研究结果^[4,14,21]一致。这是因为花粉在贮藏过程中仍然进行新陈代谢等生命活动,低温可以使贮藏期间的花粉呼吸减弱,可溶性糖类等消耗减少,从而保持较长时间的生活力^[21,24]。与-80℃相比,4℃条件贮藏的花粉耗能低,节约生产成本。从贮藏效果看,-80℃是长期贮藏适宜的温度。堇菜属远缘杂交育种,时常花期不遇,可以利用此方法长期保存花粉,贮藏360 d后正是堇菜属植物的盛花期,为杂交育种的最佳时期。本实验室前期研究的牡丹、三色堇4℃贮藏120 d后,花粉萌发率基本降为0,推断原因可能是花粉含水量高、腐烂造成萌发率降低^[1,9]。本试验结果显示4℃经过近1年的贮藏后早开堇菜花粉仍具有较高的生活力,推断原因可能与前期的花粉干燥程度有关,具体原因有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 陈红英. 早开堇菜的挥发性成分分析[J]. 西南科技大学学报, 2010, 25(3): 22-24.
- [2] 王丽娜. 早开堇菜生活史极其生态适应性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2009: 1-2.
- [3] 孙 坤, 王庆瑞. 甘肃早开堇菜和维西堇菜引种驯化初步研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 1999, 35(4): 52-54.
- [4] 贾文庆, 刘 宇. 紫萼花粉生活力的测定[J]. 陕西农业科学, 2007(1): 46-47, 66.
- [5] 贾文庆, 尤 扬, 刘会超, 等. 矮牡丹花粉形态观察与萌发特性研究[J]. 西北林学院学报, 2012, 27(5): 76-79, 183.
- [6] 王 妍. 吉林地区堇菜属植物资源及其园林应用调查研究[J]. 现代农业科技, 2013, (20): 171-186.
- [7] 安 芳, 刘 杨. 堇菜属植物生物学特性及种间杂交试验[J]. 中国农业信息, 2015, (02): 42-43.
- [8] 刘立波, 曹 英. 干旱胁迫下早开堇菜与黑麦草的生理响应[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(7): 38-41.
- [9] 贾文庆, 刘会超, 刘露颖. 红花矮牡丹花粉贮藏及生活力研究[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(3): 460-463.
- [10] 周玉敏, 徐自警. 三色堇花粉生活力的测定[J]. 中国林副特产, 2012, (4): 28-29.
- [11] 尹祖棠, 李连方. 堇菜属植物花粉及叶表皮超微形态多样性的研究[J]. 中国农业大学学报, 2000, (3): 6-12.
- [12] 张少伟, 贾文庆, 张红兰, 等. 13个牡丹品种花粉形态及萌发率比较[J]. 东北林业大学学报, 2017, 45(10): 20-23.
- [13] 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.
- [14] 王孝鹏, 孙晓梅. 三色堇花粉生活力最佳测定方法的筛选[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(7): 2756, 2769.
- [15] 李国树, 徐成东, 李天星, 等. 几种杜鹃花花粉生活力研究[J]. 北方园艺, 2010(22): 80-83.
- [16] 律春燕, 王 雁, 朱向涛, 等. 黄牡丹花粉生活力测定方法的比较研究[J]. 林业科学研究, 2010, 23(2): 272-277.
- [17] 杨 华, 宋绪忠. 马银花花粉萌发和贮藏特性[J]. 浙江林业科技, 2015, 35(1): 49-53.
- [18] 安 勇, 张彦妮, 钱 灿. 贮藏温度及时间对百合花粉萌发率的影响[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(1): 44-45.
- [19] 刘艳萍, 朱延林, 马永涛, 等. 不同贮藏条件对紫玉兰花粉保护酶活性及萌发率的影响[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(4): 59-61.
- [20] 律春燕. 黄牡丹野生种与牡丹、芍药栽培品种远缘杂交研究[D]. 中国林业科学研究院, 2010.
- [21] 戚行江, 任海英, 梁森苗, 等. 贮藏温度和时间对杨梅和蜡杨梅花粉萌发率及保护酶活性的影响[J]. 果树学报, 2014, 31(3): 460-467.
- [22] 宋常美, 文晓鹏, 李庆宏. 红枫湖樱桃花粉超低温保存探究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(5): 117-120.
- [23] 杨 红, 顾妍, 张朝阳, 等. 不同辐射及温度处理对西瓜花粉生活力的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(2): 111-113.
- [24] Novara C, Ascari L, La Morgia V, et al. Viability and germinability in long term storage of *Corylus avellana* pollen [J]. Scientia Horticulturae, 2017, 214(5): 295-303.