

梁 露,孔德政,刘卓星,等. 荷花花粉活力的检测方法比较分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(2):131-136.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.02.022

# 荷花花粉活力的检测方法比较分析

梁 露<sup>1,2,3</sup>, 孔德政<sup>1</sup>, 刘卓星<sup>2,3</sup>, 李瀚纯<sup>2,3</sup>, 刘青青<sup>2,3</sup>, 刘凤栗<sup>2,3</sup>, 张大生<sup>2,3</sup>, 田代科<sup>2,3</sup>

(1. 河南农业大学风景园林与艺术学院,河南郑州 450002;2. 上海辰山植物园/中国科学院上海辰山植物科学研究中心,上海 201602;  
3. 上海市资源植物功能基因组学重点实验室,上海 201602)

**摘要:**为探究快速有效地检测荷花花粉活力的方法,选出适用于大部分荷花花粉萌发的培养基,筛选花粉活力较高的品种,以 11 份不同资源荷花的花粉为材料,利用离体培养法、 $I_2-KI$  染色法、2,3,5- 氯化三苯基四氮唑(TTC) 染色法对荷花花粉活力进行检测。结果表明, $I_2-KI$  染色法和 TTC 染色法检测得到的花粉染色率均与离体培养得到的萌发率结果不符。易建莲花粉萌发率在 5-1 培养基(10% PEG 4000、0.02% 硼酸、0.1% 蔗糖)上最高,为 9.86%。野生莲中的泰国莲、越南莲的花粉离体萌发率分别为 16.45%、16.67%,品种荷花中单洒锦的离体萌发率则高达 18.46%。由研究结果得出:(1)3 种花粉活力测定方法中,离体培养法适用于检测荷花的花粉活力,而  $I_2-KI$  染色法和 TTC 染色法并不适合;(2)适合荷花花粉萌发的培养基是含 10% PEG 4000、0.02% 硼酸、0.1% 蔗糖的液体培养基;(3)野生莲中,泰国莲、越南莲的花粉活力较高,而在品种荷花中,单洒锦的花粉活力最高。

**关键词:**荷花;花粉活力;染色;培养基; $I_2-KI$  染色法;TTC 染色法

**中图分类号:**S682.320.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)02-0131-06

莲别称荷花,是莲科(Nelumbonaceae)莲属(Nelumbo)的多年生挺水植物,是最古老的双子叶植物之一,目前仅存有美洲莲(Nelumbo lutea)和亚洲莲(N. nucifera)2 个种。荷花集观赏、食用、药用等功能于一体,具有重要的文化价值、经济价值、生态价值<sup>[1-2]</sup>。

花粉是植物体上起生殖作用的雄配子体<sup>[3]</sup>,其活力直接影响到植物受精和结实过程,较高的花粉活力可以提高植物的结实率和育种成效。荷花花粉含有丰富的类黄酮,目前针对荷花药用价值的研究较多<sup>[4-5]</sup>,而对其活力的研究较少<sup>[6]</sup>。全世界目前已有的 2 000 多个荷花品种主要由中国和日本培育而成<sup>[7]</sup>,育种方法主要是自然杂交和人工杂交,少部分采用物理或化学诱变方法<sup>[8-10]</sup>,然而在荷花杂交过程中常出现不结实或结实率低的问题。因此,了解花粉活力情况对于荷花杂交育种过程至关

重要,如不同种类的荷花花粉活力是否存在差异及差异多大,如何更有效地检测荷花的花粉活力,如何更有效地储藏花粉使其活力保存较长时间等问题目前尚不清楚。

离体培养法和染色法是测定植物花粉活力的常用方法,已经在百合<sup>[11]</sup>、牡丹<sup>[12]</sup>、巴旦木<sup>[13]</sup>、菊花<sup>[14]</sup>、君子兰<sup>[15]</sup>等植物中得到了广泛应用。本研究以不同资源荷花的花粉为试验材料,分别采用离体培养法、碘-碘化钾( $I_2-KI$ )染色法、2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法进行活力检测,以离体培养法作为参照,比较 2 种染色方法的测定结果,从而对不同资源荷花的花粉活力进行比较分析。

在对荷花进行人工杂交前,先对花粉活力进行准确有效的检测,选出花粉活力强的品种作为父本,进而选择合适的杂交母本,是保证杂交育种工作顺利开展和提高效率的重要条件。本研究期望得出有效、快速地检测荷花花粉活力的方法,从而筛选出花粉活力较高的荷花品种,为荷花新品种的高效培育奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

表 1 中的试验材料为取自上海辰山植物园国家荷花资源圃的 11 份不同资源的荷花,包括美洲莲、

收稿日期:2021-05-11

基金项目:上海市绿化和市容管理局科技攻关项目(编号:G162402、G182412)。

作者简介:梁 露(1996—),女,河南信阳人,硕士研究生,主要从事园林植物育种研究。E-mail:1165134110@qq.com。

通信作者:田代科,博士,研究员,博士生导师,主要从事观赏植物资源分类评价、种质创新及重要性状遗传机制研究。E-mail:dktian@cemps.ac.cn。

亚洲莲及亚美杂交莲,均为单瓣型(图 1),因考虑到单瓣型荷花雄蕊发育正常,花粉活力通常更高。试验材料采集时选择天气晴朗的 08:00 左右,选取开花第 2 天的荷花,荷花花蕾在开花前用种子袋套上,避免因蜜蜂采蜜导致授粉杂交。试验于 2020 年 7—9 月在上海辰山植物园中国科学院上海辰山植物科学研究中心的观赏植物资源及创新利用研究组 247 实验室内完成。

1.2 试验方法

1.2.1 花粉的收集 用一次性唇刷将花粉从花药上轻刷下来,放在培养皿中的硫酸纸上,盖上培养皿备用。

1.2.2 培养基的选择 影响花粉萌发的主要因素



A—美洲黄莲; B—印度莲; C—泰国莲; D—越南莲; E—江溪红莲; F—黑龙江野生莲; G—绍兴红莲; H—单洒锦; I—建选 17 号; J—易建莲; K—肯之梦

图1 本研究所用荷花材料的形态

有蔗糖、硼酸等<sup>[16]</sup>。聚乙二醇(PEG)可以促进种子萌发<sup>[17]</sup>,也可以使花粉缓慢水合,从而较长时间地维持花粉膨压,对花粉萌发也有一定的促进作用<sup>[18-20]</sup>。由前期的试验结果可知,荷花在固体培养基上的萌发率较低,结合孙春青等的方法<sup>[21]</sup>,最终选用液体培养基。

为了得到适用于大多数荷花花粉萌发的培养基,设置 PEG-4000(含量分别为 0、10%、15%)、蔗糖(含量分别为 0、5%、10%)、硼酸(含量分别为 0、0.01%、0.02%)3 个因素的 3 个水平,共设计 15 种组成不一的培养基(表 2),并选择 3 个荷花品种的花粉做培养基筛选试验,分别为粉霸王、易建莲、巨姚。分别将 3 个荷花品种的花粉撒于 15 种培养基上,在培养箱中于 30℃ 培养 4 h 后,使用奥林巴斯 BX43 正置显微镜,在放大 10 倍的条件下观察花粉的萌发情况,统计萌发率。在离体培养法中,当花粉管的长度大于花粉粒的直径时视为萌发<sup>[22]</sup>。上述每个处理设置 3 个重复,每个重复观察 3 个视野。

1.2.3 离体培养法 配制培养基,将培养基置于干

表 1 花粉活力测试荷花种类

序号	中文名	种类	花色	花型
1	美洲黄莲	美洲莲(野生莲)	黄色	单瓣
2	印度莲	亚洲莲(野生莲)	粉红色	单瓣
3	泰国莲	亚洲莲(野生莲)	粉红色	单瓣
4	越南莲	亚洲莲(野生莲)	粉红色	单瓣
5	江溪红莲	亚洲莲(野生莲)	粉红色	单瓣
6	黑龙江野生莲	亚洲莲(野生莲)	淡粉色	单瓣
7	绍兴红莲	亚洲莲(品种)	淡粉色	单瓣
8	单洒锦	亚洲莲(品种)	复色	单瓣
9	建选 17 号	亚洲莲(品种)	淡粉色	单瓣
10	易建莲	亚美杂交莲(品种)	紫红色	单瓣
11	肯之梦	亚美杂交莲(品种)	淡黄色(尖粉色)	单瓣

表 2 不同组分培养基的比较试验

培养基	PEG-4000 含量(%)	蔗糖含量 (%)	硼酸含量 (%)
1-1	0	0	0
1-2	0	5	0
1-3	0	10	0
1-4	0	0	0.01
1-5	0	0	0.02
2-1	10	0	0
2-2	10	5	0
2-3	10	10	0
2-4	10	0	0.01
2-5	10	0	0.02
3-1	15	0	0
3-2	15	5	0
3-3	15	10	0
3-4	15	0	0.01
3-5	15	0	0.02

净的凹面载玻片上,取花粉均匀撒在培养基上,然后将其放入内置湿润滤纸的培养皿中,在培养箱中

于 30 ℃ 培养 4 h 后,镜检观察花粉的萌发情况,统计萌发率。每个处理设置 3 个重复,每个重复观察 3 个视野。

1.2.4 I<sub>2</sub> - KI 染色法 配制 I<sub>2</sub> - KI 溶液(称量 0.2 g KI 溶于 8 mL 蒸馏水中,充分溶解后,加入 0.1 g I<sub>2</sub> 定容至 30 mL,振荡使其充分溶解)于棕色滴瓶中,避光备用。取适量花粉于 PCR 管中,将 PCR 管用锡箔纸包裹避光,再向管中加入 200 μL I<sub>2</sub> - KI 溶液,轻轻振荡混匀,然后在黑暗条件下染色 5 min。滴 2~3 滴染色液于载玻片上,镜检观察,被染成蓝色的花粉视为有活力,未被染色的花粉则视为无活力。上述每个处理设置 3 个重复,每个重复观察 3 个视野。

1.2.5 TTC 染色法 配制 0.5% TTC 溶液(称量 0.05 g TTC 溶于 10 mL 磷酸缓冲液中)于棕色滴瓶中,避光备用,溶液需现配现用。取适量花粉于 PCR 管中,将 PCR 管用锡箔纸包裹避光,再向管中加入 200 μL TTC 溶液,轻轻振荡混匀,然后放入 37 ℃ 培养箱中黑暗染色 15 min。滴 2~3 滴染色液于载玻片上,镜检观察,被染成红色的花粉是有活力的,未被染色的花粉是无活力的。上述每个处理设置 3 个重复,每个重复观察 3 个视野。

1.3 数据处理

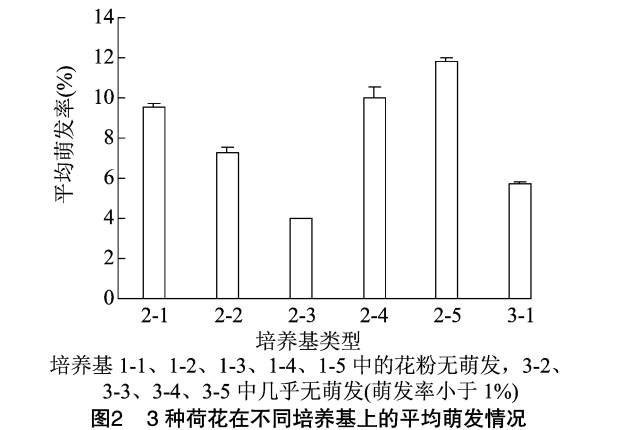
用 Excel 对数据进行统计分析。离体培养法的花粉活力计算公式:花粉萌发率 = 已萌发的花粉粒数/花粉粒总数 × 100%;染色法的花粉活力计算公式:花粉染色率 = 已染色的花粉粒数/花粉粒总数 × 100%。

2 结果与分析

2.1 培养基的筛选

如图 2 所示,在 PEG - 4000 浓度为 0 的培养基上,1 - 1、1 - 2、1 - 3、1 - 4、1 - 5 培养基中的花粉未萌发;在 PEG - 4000 含量为 15% 的培养基上,3 - 2、3 - 3、3 - 4、3 - 5 培养基中的花粉几乎未萌发(萌发率 < 1%);在 PEG - 4000 含量为 10% 的培养基上,2 - 1、2 - 2、2 - 3、2 - 4、2 - 5 培养基中的花粉萌发情况较好。由此看出,适宜含量的 PEG - 4000 确实可以提高荷花花粉的萌发率,但当含量过高时,反而会抑制其萌发。同时发现,蔗糖含量为 0 时,花粉的萌发率较高,蔗糖含量为 5%、10% 时,花粉的萌发率偏低,表明萌发率随着蔗糖含量升高而降低。而花粉萌发率在硼酸含量为 0.02% 的培养基上较

高,在硼酸含量为 0.01% 的培养基上较低。在 2 - 5 培养基上,易建莲荷花品种的平均花粉萌发率最高。综合考虑,为了满足大多数荷花的花粉都能良好萌发且萌发条件一致,选择 2 - 5 培养基用于花粉萌发。



选择易建莲进行进一步的试验,然而由于 2 - 5 培养基的蔗糖含量为 0,因此设定 PEG - 4000 含量为 10%、硼酸含量为 0.02%,添加不同含量的蔗糖再次进行培养基试验。由表 3 可以看出,易建莲花粉在 5 种培养基上的萌发率随着蔗糖含量的升高而先升高后降低,在 5 - 1 培养基上达到最高值,为 9.86%,说明一定浓度的蔗糖可以促进花粉萌发,但当蔗糖含量过高时,花粉萌发反而被抑制。最终选择 5 - 1 培养基作为测定荷花花粉活力的液体培养基,其配方:10% PEG - 4000 + 0.02% 硼酸 + 0.1% 蔗糖。

表 3 培养基蔗糖浓度优化试验

培养基	PEG - 4000 (%)	蔗糖 (%)	硼酸 (%)	易建莲萌发率 (%)
2 - 5	10	0	0.02	8.83
5 - 1	10	0.1	0.02	9.86
5 - 2	10	1	0.02	7.60
5 - 3	10	5	0.02	4.92
5 - 4	10	15	0.02	0.70

2.2 2 种染色法的观测效果

在本试验中,I<sub>2</sub> - KI 染色法、TTC 染色法均能对荷花的花粉进行有效染色(图 3 - B、图 3 - C)。在显微镜下,花粉形态清晰,但 2 种染色方法的着色区分度有较大差异。经 I<sub>2</sub> - KI 染色后,大多数荷花花粉均呈褐黑色或黄褐色,极少数有未着色的花粉粒。经 TTC 染色后,荷花花粉呈红色或淡红色,部分花粉粒未着色,易区分。

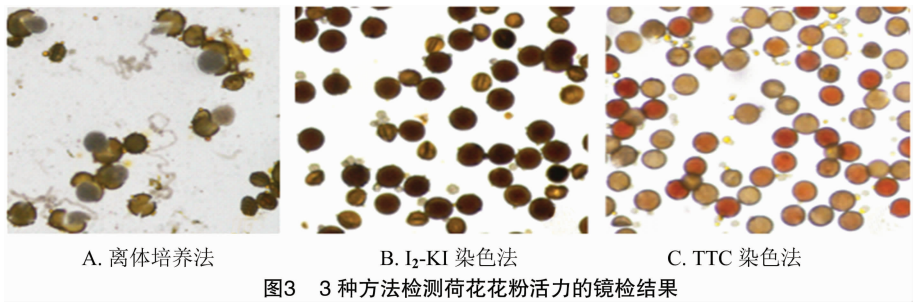


图3 3种方法检测荷花花粉活力的镜检结果

2.3 3种花粉活力检测方法的比较

用3种方法检测荷花花粉活力发现,离体培养法和TTC染色法检测得到的所有荷花花粉的活力均低于45%,而I<sub>2</sub>-KI染色法检测得到的荷花花粉活力均高于70%(表4、图3)。

离体培养法使用前期试验得到的最适培养基来检测不同荷花的花粉活力。由图4可以看出,用离体培养法检测得到11种不同资源的荷花花粉萌发率均低于20.00%,其中单洒锦的花粉活力最高,为18.46%,黑龙江野生莲的花粉活力最低,为6.70%。

使用I<sub>2</sub>-KI染色法测定荷花花粉活力时,染色后的花粉呈褐黑色或黄褐色,在显微镜观察下发现其色差不明显,同时花粉着色率极高,仅有少数花粉

表4 3种不同方法检测得到的荷花花粉活力

荷花种类	离体培养萌发率 (%)	I <sub>2</sub> -KI 染色率 (%)	TTC 染色率 (%)
美洲黄莲	10.05	71.78	18.14
印度莲	10.77	83.86	19.13
泰国莲	16.45	84.07	19.41
越南莲	16.67	86.99	43.39
江溪红莲	10.15	78.78	11.24
黑龙江野生莲	6.70	83.51	20.46
绍兴红莲	8.06	84.71	17.24
单洒锦	18.46	78.91	26.24
建选17号	12.80	87.64	13.76
易建莲	9.86	75.10	22.94
肯之梦	16.73	75.77	18.55

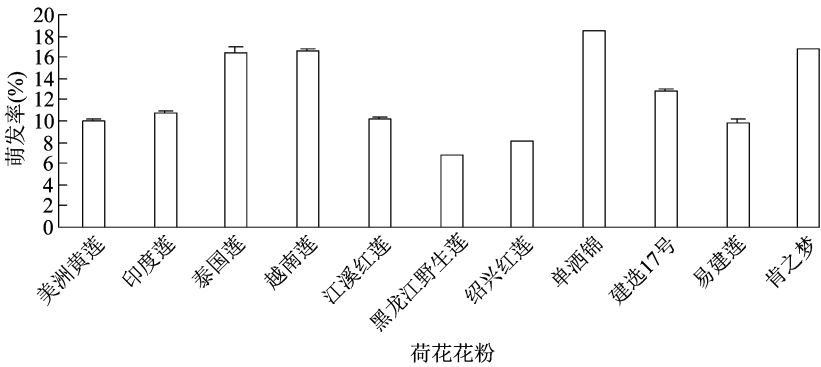


图4 离体培养法测定的荷花花粉活力

未着色。因此,如果仅以着色率来表示花粉的活力,那么I<sub>2</sub>-KI染色法检测得到的不同荷花花粉的活力均超过70%(图5),这与离体培养得到的结果严重不符,因此认为这种染色法不适合用于检测荷花花粉的活力。

使用TTC染色法测定荷花花粉活力时,不同荷花检测得到的花粉活力差别较大。由图6可以看出,越南莲的花粉活力最高,达到了43.39%,江溪红莲的花粉活力最低,为11.24%。与离体培养结果比较可知,TTC染色法测得的花粉活力明显偏高,此方法虽然容易操作,染色后花粉的着色情况容易

区分,但是得到的结果普遍高于离体培养法,且与离体培养中得到的染色率比例不一致,不能准确反映花粉活力,因此该方法也不适用于荷花花粉活力的检测。

3 讨论与结论

花粉活力直接影响杂交授粉后卵子受精和结实率的结果,因此,杂交育种试验之前需要了解荷花花粉的活力,优先选择花粉活力高的品种作为父本,更利于新品种的成功培育<sup>[23-25]</sup>。测定花粉活力的方法较多,不同植物适用的检测方法不同。花粉

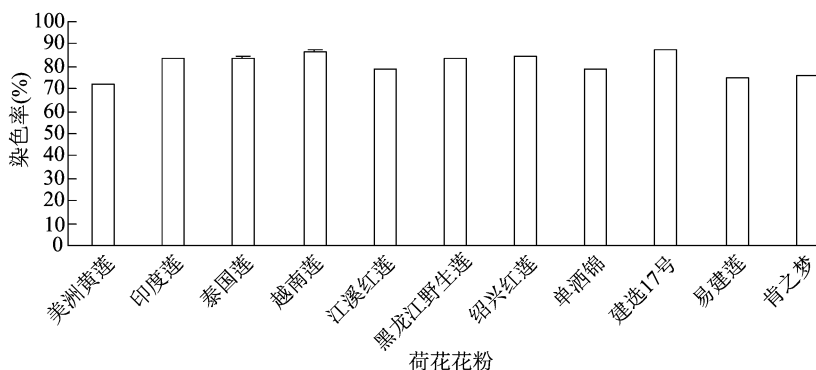
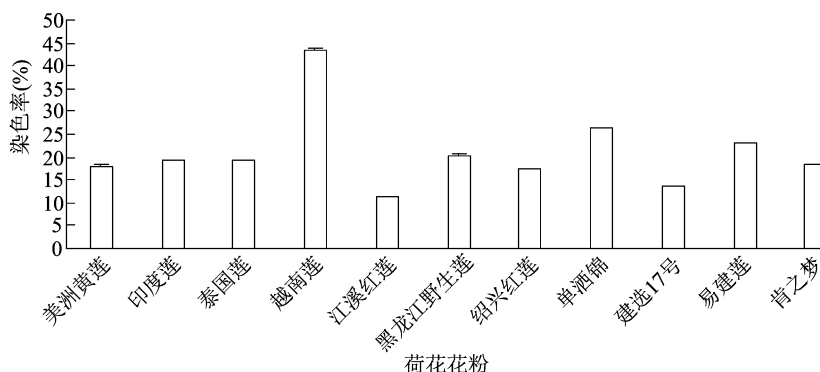
图5 I<sub>2</sub>-KI 染色法测定的荷花花粉活力

图6 TTC 染色法测定的荷花花粉活力

活力检测多采用染色法,因其操作过程简易、试验耗时少、能在较短时间内测定花粉活力等优点而被应用于各种植物中。研究发现,大部分检测方法得到的花粉活力高于实际活力<sup>[3]</sup>。孙光玲等研究发现,花粉活力的测定以离体培养法更可靠<sup>[26]</sup>。于璐通过对不同番茄品种花粉活力的测定得出,TTC 染色法比 I<sub>2</sub>-KI 染色法更适用<sup>[27]</sup>。王士泉对于四川牡丹同时使用亚历山大染色法、TTC 染色法和 I<sub>2</sub>-KI 染色法进行花粉活力的测定,并对其结果进行比较,认为四川牡丹更适用 I<sub>2</sub>-KI 染色法<sup>[28]</sup>。詹妮等发现,用离体培养法、过氧化物酶法和 I<sub>2</sub>-KI 染色法检测的大叶相思的花粉活力无显著差异<sup>[29]</sup>。

本试验选用离体培养法、I<sub>2</sub>-KI 染色法和 TTC 染色法来检测荷花的花粉活力。试验得到适合所取试验材料萌发的培养基是含 10% PEG 4000、0.02% 硼酸、0.1% 蔗糖的液体培养基。本试验结果表明,不同种类荷花花粉活力有一定差异,甚至有的花粉活力差异十分显著。在野生莲中,泰国莲、越南莲的花粉活力最高,而黑龙江野生莲的花粉活力最低,可能因为泰国莲和越南莲是热带莲,与北方资源相比更适应上海夏季的高温,而我国北方的黑龙江野生莲属于从北向南的引种,表现出长势较弱和开花较少的特点,有些北方资源南移到上海后

甚至不长立叶,因此适应能力较弱。在品种荷花中,单洒锦的花粉活力最高,推测可能与该品种适应性强、能够从古流传至今有一定关系。

比较 3 种花粉活力的测定方法可知,I<sub>2</sub>-KI 染色法、TTC 染色法均不适合用于荷花花粉活力的检测。离体培养法利用培养基对荷花花粉进行离体培养,虽然可以进行大量样本测定,但培养时间较长,不适合用于花粉活力的快速测定。在本研究中,离体培养法得到的荷花花粉萌发率均较低,分析其原因可能有以下几点:(1)荷花的花粉活力本身就低;(2)本试验的培养基未使荷花花粉达到最大萌发率,有的花粉粒出现破裂的情况,培养基组分还需要进一步探索优化;(3)培养时间长,花粉活力与实际值相比可能偏低。I<sub>2</sub>-KI 染色法操作简便快速,只需将花粉与染色液混合,并在室温下避光放置一段时间即可检测花粉活力。此方法是根据淀粉遇碘变色的原理,变色情况受淀粉中直链淀粉和支链淀粉比例的影响,直链淀粉遇碘变蓝色,支链淀粉遇碘变紫红色<sup>[30]</sup>。而在本试验中,染色后观察到花粉呈褐黑色、黄褐色,分析认为可能是染液的颜色加上直链淀粉变蓝及支链淀粉变紫红色叠加呈现的颜色。依据花粉内淀粉的染色情况来判断花粉活力可知,很可能出现已失活花粉内有淀粉



尚未水解的情况,此时花粉仍然会被染色,就可能导致染色率远高于离体培养中观察到的结果。在实际操作过程中,TTC 染色法染色液需要现配现用并避光放置,将花粉与染色液混合,并在 37 ℃ 恒温避光放置一段时间才可检测花粉活力,对试验操作技术的要求较高,很容易出现染色失败、花粉均无法着色的情况,而且其染色结果与离体培养的结果不一致,染色率高于离体萌发率,与郭蓓等的研究结果<sup>[31]</sup>一致,此方法原理是无色的 TTC 与正常活细胞中的脱氢酶反应变成红色。而部分活力弱的花粉也会产生脱氢酶,虽然含量低,但也会被染成淡红色。经分析认为,可能是本试验中的荷花花粉中部分活力弱的也着色了,淡红色与红色混合在一起,无法完全准确判定其真实颜色,导致在判断过程中受到主观影响,结果比实际萌发率偏高。在这种情况下,TTC 染色法得到的荷花花粉着色率仍然较低,说明荷花花粉活力确实偏低。

由此可见,不同种类的植物适用的花粉活力检测方法各不相同,因此需要通过试验来进行比较分析,选择出最适合研究对象的测定方法。本试验采用的离体培养法适合荷花花粉活力检测,但效率不高。 $I_2-KI$  染色法和 TTC 染色法虽然快速简便,但结果并不准确,不适合荷花花粉活力的快速检测。因此,后续仍然需要继续试验,找到更好的快速准确的荷花花粉活力检测方法。

#### 参考文献:

- [1] 田代科,张大生. 莲叶何田田——世界荷花研究进展[J]. 生命世界,2014(6):40-45.
- [2] 孔德政. 荷花的民族植物学及河南地区品种资源研究[D]. 郑州:河南农业大学,2011.
- [3] 王钦丽,卢龙斗,吴小琴,等. 花粉的保存及其生活力测定[J]. 植物学通报,2002(3):365-373.
- [4] 高丽娇,刘佳霖,程 尚,等. 四种花粉的营养成分及含量分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2016(20):175-177.
- [5] 蒲吴倩,邵 帅,李珊珊,等. 荷花花粉的类黄酮组成[J]. 植物学报,2015,50(6):721-732.
- [6] 李 晨. 荷花花粉形态学及生活力研究[D]. 郑州:河南农业大学,2009.
- [7] 田代科. 如何识别‘中山红台’和‘至尊千瓣’[J]. 中国花卉盆景,2015(8):18-19.
- [8] 王其超,张行言. 荷花新品种选育研究初报[J]. 武汉植物学研究,1985,3(1):81-88.
- [9] 吴芳芳,原 鑫,苏少文,等. 荷花品种的花器官表型性状及花色多样性分析[J]. 河南农业大学学报,2020,54(1):24-29,37.
- [10] 刘正位,匡 晶,朱红莲,等. 莲属植物资源和育种研究进展[J]. 园艺学报,2020,47(9):1845-1858.
- [11] 孙鸿强,师桂英,冉 昇,等. 兰州百合(*Lilium davidii* var. *unicolor*)的花粉活力、柱头可授性及繁育系统[J]. 中国沙漠,2019,39(2):62-69.
- [12] 李 婷,乔 琦,李剑峰,等. 牡丹花粉生活力测定方法及其贮藏研究进展[J]. 贵州农业科学,2020,48(9):123-126.
- [13] 张翔飞,岳婉婉,刘泉鑫,等. 几种不同巴旦木花粉生活力及柱头可授性比较分析[J]. 新疆农业科学,2020,57(8):1450-1456.
- [14] 涂清芳,贾雪晴,姜自红,等. 4 种方法检测 8 个菊花品种花粉活力的比较[J]. 江苏农业科学,2019,47(2):109-111.
- [15] 岳 玲,赵兴华,冯秀丽. 君子兰花粉活力鉴定与柱头可授性研究[J]. 园艺与种苗,2021,41(1):12-15.
- [16] 贾文庆,郭英姿,赵国栋,等. 西藏黄牡丹花粉生活力、寿命及贮存生理机制研究[J]. 植物生理学报,2021,57(2):501-511.
- [17] 张紫薇,李景富. BR 和 PEG 处理生菜种子对其高温萌发的影响[J]. 基因组学与应用生物学,2017,36(8):3125-3132.
- [18] 石志棉,姬 璇,杜 勤,等. 穿心莲花粉活力测定及离体萌发特性研究[J]. 广州中医药大学学报,2019,36(4):578-584.
- [19] Hülskamp M, Kopczak S D, Horejsi T F, et al. Identification of genes required for pollen-stigma recognition in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal,1995,8(5):703-714.
- [20] 陈 奇,张树娟,孙万仓,等. 白菜型油菜花粉离体萌发液体培养基组分的优化[J]. 分子植物育种,2017,15(7):2742-2748.
- [21] 孙春青,潘跃平,戴忠良,等. 一种测定荷花花粉活力的方法: CN103430659A[P]. 2013-12-11.
- [22] Dafni A, Firmage D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications[J]. Plant Systematics and Evolution,2000,222(1/2/3/4):113-132.
- [23] 秦 瑶. 牡丹花粉活力测定与杂交亲和性研究[D]. 吉林:吉林农业大学,2018.
- [24] 秦晓君,潘 磊,牛永志,等. 烟草花粉活力检测方法筛选[J]. 云南大学学报(自然科学版),2020,42(3):592-598.
- [25] 贾良良,黄少辉,刘学彤,等. 花期高温对不同夏玉米品种花粉活力和产量的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(18):92-95.
- [26] 孙光玲,汪银生,胡乾政. 烟草花粉贮藏与活力测定[J]. 中国烟草,1994(1):20-22.
- [27] 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,2013.
- [28] 王士泉. 四川牡丹花粉生活力测定方法的比较[J]. 热带作物学报,2020,41(1):57-62.
- [29] 詹 妮,黄烈健. 大叶相思花粉离体萌发适宜条件及活力检测方法[J]. 林业科学,2016,52(2):67-73.
- [30] 胡 晋. 花粉的保存和生活力测定[J]. 种子,1992(6):33-35,39.
- [31] 郭 蓓,史芳芳,李 晨,等. 20 个荷花品种花粉活力测定及贮藏研究[J]. 河南科学,2014,32(1):29-32.