

白花树花粉生活力检测方法与贮藏特性研究

吴君¹, 李因刚¹, 柳新红^{1*}, 何云核², 石从广¹, 朱光权¹

(1. 浙江省林业科学研究院, 浙江 杭州 310023; 2. 浙江农林大学, 浙江 临安 311300)

摘要:以江西吉水种源的白花树花粉为研究材料,进行了扫描电子显微镜下的花粉形态结构观察以及采用离体培养基法、 I_2 -KI 和 TTC 染色等花粉生活力测定方法的比较研究,探讨了不同贮藏条件对花粉萌发的影响。研究表明:白花树花粉粒为长球型,具3孔沟,外壁面具细网状纹饰;花粉平均极轴长 $52.33 \pm 0.577 \mu\text{m}$,平均赤道轴长 $26.89 \pm 0.502 \mu\text{m}$;3种花粉生活力测定方法中以离体培养基法最有效,花粉萌发的最佳组合为:10%蔗糖 + $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼酸 + $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{GA}_3$ + 3 h;花粉最佳贮藏条件为 -80°C 密封保存,贮藏 180 d 后花粉的萌发率仍可达 40.97%。

关键词:白花树;花粉;生活力;萌发;贮藏

中图分类号:S722

文献标识码:A

Detection Methods of Pollen Viability and Storage Characteristics of *Styrax tonkinensis*

WU Jun¹, LI Yin-gang¹, LIU Xin-hong¹, HE Yun-he², SHI Cong-guang¹, ZHU Guang-quan¹

(1. Zhejiang Forestry Academy, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 2. Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: With the *Styrax tonkinensis* from Jishui, Jiangxi Province, the morphological structure of pollen was observed under SEM. The storage methods determining the pollen viability were compared among culture *in vitro*, I_2 -KI staining and TTC staining. Meanwhile, the effects of different storage condition on pollen germination was investigated. The results show that the pollen of *S. tonkinensis* with microreticulate ornamentation in outer wall is 3-colpate and prolate. The average polar and equatorial axis of the pollen is $52.33 \pm 0.577 \mu\text{m}$ and $26.89 \pm 0.502 \mu\text{m}$. The method of culture *in vitro* is the most effective to the determination of pollen viability. The best combination for pollen germination is 10% sucrose, $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ boric acid, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{GA}_3$, 3 h. -80°C sealed storage is the best storage condition to keep the vitality of pollen. After 180 days' storage, the germination rate of the pollen is still as high as 40.97%.

Key words: *Styrax tonkinensis*; pollen; germination; viability; storage

白花树(*Styrax tonkinensis* Pierre)又名越南安息香,俗称“东京野茉莉”,安息香科安息香属落叶乔木,为热带、亚热带阳性树种^[1]。材质轻软,木纤维较长,是理想胶合板和纸浆用材;树脂称“安息香”,是贵重药材,有开窍清神,行气活血,止痛功效,并可制造高级香料^[2-3];种仁含油率 56.00%~62.80%,

不饱和脂肪酸含量达 90.16%~91.45%,是发展生物柴油的优良树种^[4-5];花白色成串,清香,花期 4~6 月,盛开时繁花似雪,极具观赏价值^[6-7]。白花树是集材用、药用、油用和观赏等多种价值于一身的树种,近几年引起了研究者的广泛重视,并从不同角度进行了大量研究^[8-13],但有关其花粉生活力和贮

收稿日期:2012-12-28

基金项目:浙江省重大科技专项重点项目(2008C12019)、浙江省创新团队建设与人才培养项目(2010F20014)和浙江省省院合作林业科技项目(2010SY05)共同资助。

作者简介:吴君(1988—),女,浙江上虞人,硕士研究生,主要从事观赏植物资源研究;E-mail:wujun2456@126.com

* 通讯作者:研究员,E-mail:lsluixh@163.com

藏特性的研究尚为空白。花粉是种子植物自然条件下遗传信息交流的载体^[14],花粉萌发能力的高低直接关系到受精过程能否顺利完成及结实量的多少,也是植物杂交育种成败的关键。本文以江西吉水源地的白花树花粉为试验材料,研究其花粉形态、花粉生活力和贮藏条件,对白花树生殖生物学研究、杂交育种和扩繁等工作具有现实意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

研究对象为浙江省林业科学研究院试验苗圃内(120°01'29"E, 30°13'08"N,海拔31 m)的白花树试验林,种源地为江西吉水,年龄为4 a。在试验林内随机选取5株盛花期植株为花粉采集母树。于2012年5月17日至19日,取母树树冠东南西北4个方向的气球期开花小枝带回实验室进行水培。待散粉后剪下花朵,将花粉抖到硫酸纸上,自然干燥后混合并转入离心管密封保存。

1.2 花粉形态观测

采用扫描电镜观测。将干燥花粉均匀撒在贴有导电胶带的样品台上,置日立E104S型离子溅射仪中喷镀金膜5 min,于日立S-3400N型扫描电子显微镜下观察和拍照。观察5个花粉群体,共随机选取50粒花粉测量极轴(P)、赤道轴(E)长度及极轴与赤道轴比值(P/E)。

1.3 花粉生活力测定

1.3.1 TTC(2,3,5-氯化三苯基四氮唑)染色法

取少数花粉置于载玻片上,加1~2滴0.5% TTC溶液,盖上盖玻片。放置35℃恒温箱中15 min,在Olympus-200型显微镜下观察。凡被染成深红色的花粉,生活力为强;淡红次之;无色的为不具生活力或不育花粉。观察2个制片,每片取3个视野,每视野统计50粒。

花粉生活力 = 被染红的花粉数量 / 观察花粉数量 × 100%

1.3.2 I₂-KI(碘-碘化钾)染色法 取少量花粉置于载玻片上,加1~2滴I₂-KI溶液,盖上盖玻片置于20℃恒温箱30 min,凡有生活力的花粉被染成蓝色。统计方法同1.3.1。

1.3.3 离体培养基法 以10 g·L⁻¹的琼脂固体培养基为营养基质,采用L₉(3⁴)正交试验设计(表1),研究蔗糖(A)、硼酸(B)、和GA₃(C)培养时间(D)等4个因素不同水平对花粉萌发的影响。将花粉均

匀地撒于滴有固体培养基的凹面载玻片上,放入铺有湿滤纸的培养皿里,加盖。培养条件为25 ± 2℃,全光照培养。每处理2个重复,每重复取3个视野,每视野测量20个花粉花粉管。试验数据用Excel 2007、SPSS20和SAS9.1软件进行处理分析。

花粉萌发率(%) = 花粉管长度大于花粉直径的花粉数量 / 观察花粉数量 × 100%

表1 L₉(3⁴)正交设计表

水平	蔗糖/% (A)	硼酸/(g·L ⁻¹) (B)	GA ₃ /(mg·L ⁻¹) (C)	培养时间/h (D)
1	5	0.05	50	1
2	10	0.1	100	2
3	20	0.2	200	3

1.4 花粉贮藏方法

以上述花粉作为试验材料,设置25℃(常温)、4℃(低温)、-80℃(超低温)3种贮藏条件(离心管密封保存)。从离体培养法中筛选出最优处理,对3种不同条件下花粉贮藏5、10、15、20、25、30、40、50、60、90、120、150和180 d后的萌发率进行测定,试验操作步骤、培养条件及统计方法同1.3.3。

2 结果与分析

2.1 花粉形态观测

将花粉置于扫描电镜下拍照观察,结果显示,白花树花粉粒平均极轴长52.33 ± 0.577 μm,平均赤道轴长26.89 ± 0.502 μm, P/E ≈ 1.96,极轴大于赤道轴,为长球型,两端狭尖(图1:1)。花粉具3条萌发沟,且明显细长,长至近两端;极面观3瓣裂圆形,赤道面长圆形(图1:2~4)。花粉外壁具细网状纹饰,网眼大小不一,圆形或椭圆形(图1:5)。

2.2 花粉生活力测定

2.2.1 TTC染色法 利用TTC染色法进行白花树花粉生活力的测定结果表明(图2:1),有生活力的花粉均被染成深红色,生活力较弱的花粉中心染成淡红色,无生活力花粉未被染色;花粉的平均生活力为56.86%。但生活力较弱的花粉与无生活力的花粉不容易区分,所以此法不适宜作为测定该花粉生活力的最佳方法。

2.2.2 I₂-KI染色法 按照试验设置条件,在显微镜下观察花粉均呈黄褐色,未见染成蓝色,说明I₂-KI染色方法对该花粉不易染色,也不适合作为测定其花粉生活力的染色剂(图2:2)。

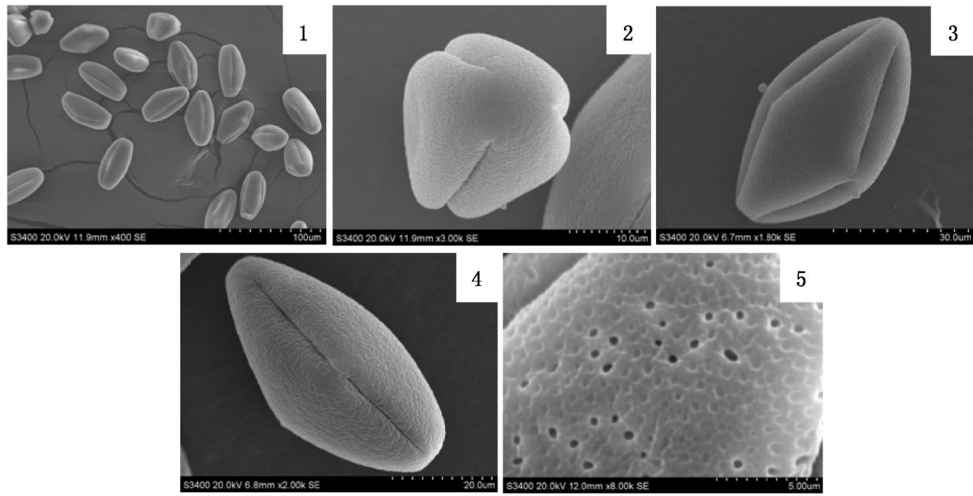
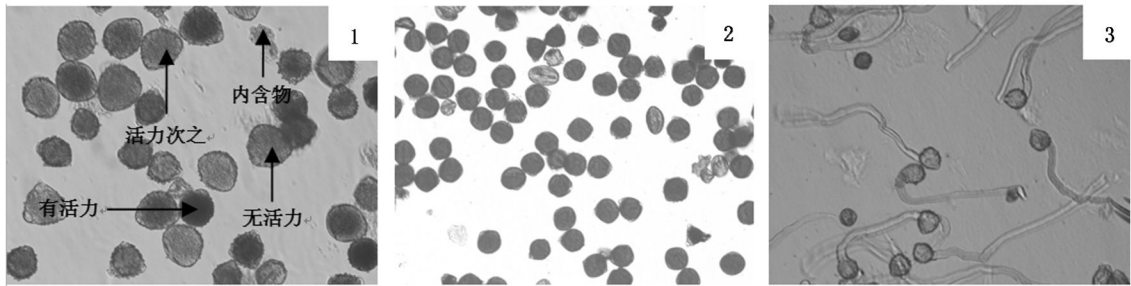


图 1 1. 花粉群体 400 × ;2. 花粉极面观 3 000 × ;3 花粉赤道面观 1 800 × ;
4. 花粉赤道面观 2 000 × ;5. 花粉外壁纹饰 8 000 ×



1. 花粉 TTC 染色;2. 花粉 I₂-KI 染色;3 花粉萌发(离体培养基法)

图 2 花粉生活力的 3 种测定方法

2.2.3 离体培养基法 花粉萌发率和花粉管长度是花粉生活力的最直观体现。花粉萌发率是衡量花粉生活力状况的主要标志,同时花粉管长度亦在一定程度上反应花粉的生活力状况^[15]。

试验结果(表 2)显示,在不同培养条件下,白花树花粉均能萌发。处理 4 萌发率最高,平均为 60.24%,花粉管平均长度 483.33 μm;处理 1 萌发率最低,平均仅 35.36%,花粉管平均长度 94.55

μm。极差数据(表 3)表明,蔗糖是影响花粉萌发率的主要因素,其它依次是培养时间、GA₃ 和硼酸。对于花粉管生长来说,其主要因素是培养时间,其它依次是 GA₃、硼酸和蔗糖。表 2 结果可知,最适宜白花树花粉萌发以及花粉管生长最优组合均为 10% 蔗糖 + 0.05 g · L⁻¹ 硼酸 + 100 mg · L⁻¹ GA₃ + 3 h(处理 4:A₂B₁C₂D₃)。

表 2 不同因素对白花树花粉萌发及花粉管生长的试验结果

处理	蔗糖/%	硼酸/ (g · L ⁻¹)	GA ₃ / (mg · L ⁻¹)	培养时间/ h	萌发率/%			花粉管长度/μm		
					重复 1	重复 2	均值	重复 1	重复 2	均值
1	5	0.05	50	1	35.53	35.19	35.36	92.12	96.97	94.55
2	5	0.1	100	2	47.98	44.53	46.25	328.18	354.55	341.36
3	5	0.2	200	3	42.07	48.10	45.08	286.06	295.15	290.61
4	10	0.05	100	3	58.41	62.06	60.24	421.21	545.45	483.33
5	10	0.1	200	1	51.10	35.17	43.13	222.42	157.58	190.00
6	10	0.2	50	2	49.56	59.93	54.74	217.88	178.77	198.32
7	20	0.05	200	2	61.78	52.48	57.13	368.18	392.12	380.15
8	20	0.1	50	3	50.75	57.92	54.33	345.45	393.33	369.39
9	20	0.2	100	1	51.39	47.34	49.37	123.03	192.12	157.58

表3 不同因素对白花树花粉萌发及花粉管生长的极差分析

项目		蔗糖/%	硼酸/(g·L ⁻¹)	GA ₃ /(mg·L ⁻¹)	培养时间/h
萌发率	\bar{K}_1	41.86	50.91	48.15	42.62
	\bar{K}_2	53.02	47.91	51.95	52.71
	\bar{K}_3	54.64	49.73	48.45	53.22
	极差	12.78	3.00	3.81	10.60
花粉管长	\bar{K}_1	242.17	320.34	220.75	147.37
	\bar{K}_2	290.55	300.25	325.42	306.61
	\bar{K}_3	302.37	215.21	286.92	381.11
	极差	60.20	103.84	106.67	233.74

方差分析(表4)结果显示,4个因素中只有蔗糖和培养时间对萌发率的影响达到了显著水平。从图3看出,在5%蔗糖浓度条件下的花粉萌发率显著低于在10%和20%条件下的,说明随着蔗糖浓度的增

加花粉萌发率也相应提高。在培养时间上(图4),培养1h的花粉萌发率与2h和3h有显著性差异,培养时间的延长有利于花粉萌发。

表4 不同因素对白花树花粉萌发及花粉管生长的方差分析

项目	因素	自由度	平方和	均方	F值	P值
萌发率	蔗糖	2	479.807	239.903	7.48*	0.012
	硼酸	2	27.418	13.709	0.43	0.665
	GA ₃	2	53.6634	26.832	0.84	0.464
	时间	2	428.782	214.391	6.68*	0.017
花粉管长	蔗糖	2	12208.754	6104.377	3.71	0.067
	硼酸	2	36659.472	18329.736	11.14**	0.003
	GA ₃	2	34793.902	17396.951	10.58**	0.004
	时间	2	171077.866	85538.933	52.00**	<.000

注:*表示在0.05水平上显著,**表示在0.01水平上显著。

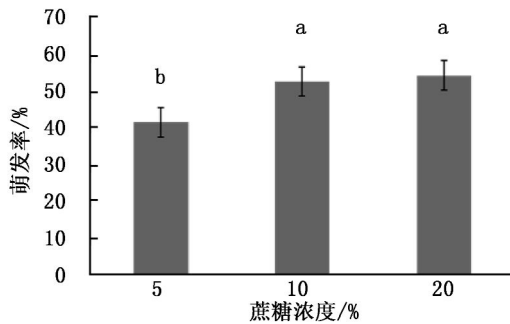


图3 蔗糖浓度对花粉萌发率影响

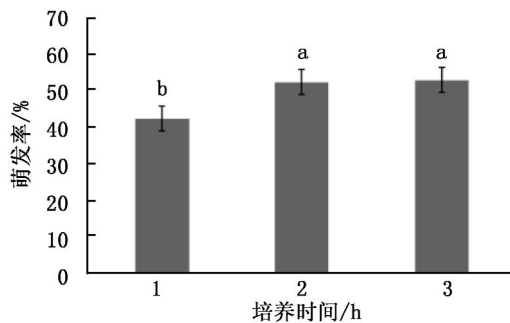


图4 培养时间对花粉萌发率影响

表4结果表明,硼酸、GA₃和培养时间对花粉管长度有极显著影响。从图5可知,随着硼酸浓度的增加,花粉管长度呈下降趋势,可见本试验中对花粉管生长的最适硼酸浓度为0.05 mg·L⁻¹,高质量浓度的硼酸呈现抑制作用。从图6可知,在GA₃浓度水平上,100 mg·L⁻¹为最适浓度,浓度增加后也同样出现抑制作用。时间因素上(图7),花粉管长度与培养时间成正比,3h培养时间使得花粉管长度达到最佳,而3h以后的培养时间对花粉管生长的影响情况,需进一步试验研究。

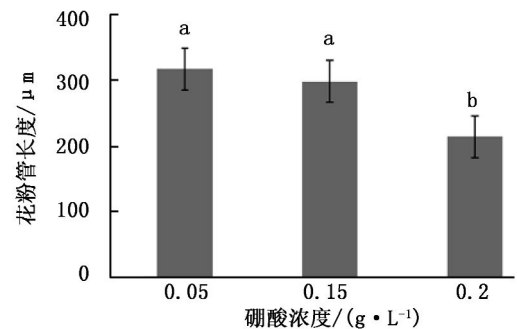


图5 硼酸浓度对花粉管影响

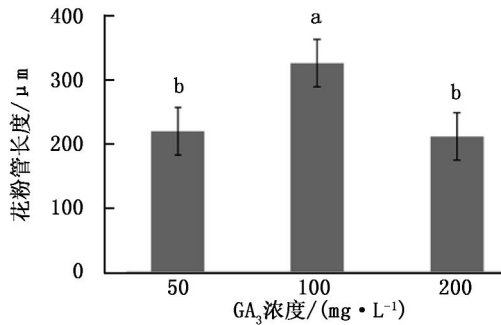
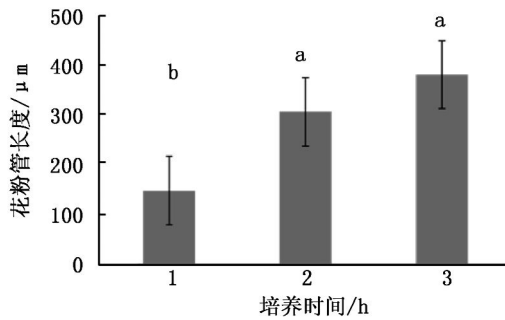
图6 GA₃浓度对花粉管影响

图7 培养时间对花粉管影响

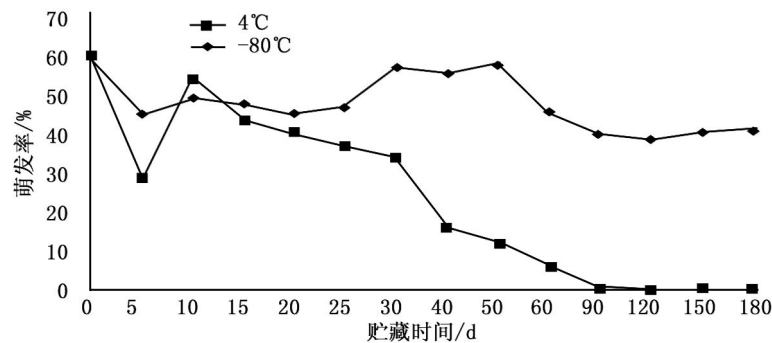


图8 4℃和-80℃不同贮藏条件下白花树花粉萌发情况

3 结论与讨论

3.1 花粉形态

花粉形态特征是探讨植物起源、演化及亲缘关系的重要特征之一。不同树种的花粉其形态、结构及大小也有差异。花粉形态特征不同,杂交技术也不同。经扫描电镜观察,白花树花粉粒平均极轴长 $52.33 \pm 0.577 \mu\text{m}$,平均赤道轴长 $26.89 \pm 0.502 \mu\text{m}$,P/E ≈ 1.96 ,长球型,属大中型花粉粒。花粉具3条萌发沟,明显、细长,花粉外壁具细网状纹饰。安息香属植物中的赛山梅(*Styrax confusus* Hemsl.)、中华安息香(*Styrax chinensis* Hu et S. Y. Liang)、大花安息香(*Styrax grandiflorus* Griff.)等的花粉粒形状从球形到超长球形不等,极轴长在 $32 \sim 67 \mu\text{m}$ 之

2.3 花粉贮藏特性

常温保存的白花树花粉5d后生活力迅速下降为0,说明花粉在室温贮藏条件下活力下降极快,可能因为温度高而增加了花粉内部呼吸强度,导致花粉营养枯竭;室温内的温度、湿度又会使花粉很快脱水变质而最终死亡。

如图8所示,4℃条件下贮藏的花粉生活力呈先减后增再减的趋势,且波动较大。花粉贮藏10d时,活力高达54.04%;10d后花粉生活力随着贮藏时间增加而下降;30d后,花粉生活力下降速度加快,贮藏60d时其生活力仅为5.87%;到90d时,花粉完全失去生活力。-80℃条件下贮藏的花粉生活力变化比较平缓。0~5d时,花粉生活力出现短暂的下降趋势。贮藏5~25d,生活力保持相对平衡状态,平均为46.63%。25d之后花粉生活力呈上升趋势,30~50d时高达57.00%。50d后花粉生活力开始缓慢下降,直至180d时,花粉仍保持较高的生活力,为40.97%。

间,赤道轴长在 $26 \sim 37 \mu\text{m}$ 之间;花粉粒都具3条萌发沟,且外壁均有细网状纹饰^[16]。由此可见,白花树花粉与其同属植物中的花粉形态极其相似。

3.2 花粉生活力的测定方法

染色法和离体萌发法是目前生产科研中常用的2种快速有效的检测方法。染色法快速、简便,但具有选择性。TTC染色法检测花粉生活力是应用较多的,如对刺五加(*Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Seem.)^[17]、黄牡丹(*Paeonia lutea* Delavay ex Franch.)^[18]的花粉生活力测定都适用。但有关研究表明,TTC和I₂-KI染色法均不适用于红花酢浆草(*Oxalis corymbosa* DC.)^[19]、紫薇(*Lagerstroemia indica* L.)^[20]、野生马蹄金(*Dichondra repens* Forst.)^[21]花粉生活力的测定。本试验中,I₂-KI染

色法对白花树花粉染色效果不佳;虽 TTC 染色法测定的生活力与离体培养基法最佳组合的萌发率相当,但此法测定的是花粉潜在的生活力,不等于实际的花粉萌发率^[22],且白花树活力较弱与无活力的花粉经染色后难以区分,因此2种染色法都不是测定白花树花粉生活力的最佳方法。

离体萌发法对所有花粉都适宜,此法能测出相对萌发率^[18]。一般植物花粉萌发的糖质量浓度为5%~20%;硼酸质量浓度为0.01~0.15 g·L⁻¹^[23-24]。青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja)、柚木(*Tectona grandis* Linn.)和西南桦(*Betula alnoides* Hamilt.)等物种的相关研究表明^[25-27],不同植物种类所需的最适蔗糖浓度、硼酸浓度是不同的。试验结果显示,白花树花粉萌发最适合的蔗糖和硼酸浓度分别为10%和0.05 g·L⁻¹,与上述花粉萌发所需蔗糖、硼酸浓度范围相一致。根据正交试验极差、方差分析以及花粉生活力测定物质成本等方面综合考虑,得最佳组合:10%蔗糖+0.05 g·L⁻¹硼酸+100 mg·L⁻¹ GA₃+3 h(处理4:A₂B₁C₂D₃)。离体培养基法对花粉生活力状况表现更为直观。

3.3 不同贮藏方法对花粉生活力的影响

花粉贮藏时,随着花粉内贮藏物质的消耗增多,酶活性下降,水分逐步流失,花粉生活力会逐渐下降^[28]。低温可降低花粉呼吸作用及其他生理功能,有利于花粉较长时间保持生活力^[29-31]。本试验中,室温保存的花粉5 d后完全丧失生活力。4℃条件下的花粉生活力在贮藏10 d时达最高值,而后随着储藏时间的增加而逐渐下降,且在花粉贮藏后期活力下降速度尤为明显,贮藏90 d时,花粉完全丧失生活力。说明4℃条件只适合花粉短期贮藏。在-80℃贮藏条件下,花粉贮藏前期生活力保持相对平衡状态;贮藏30~50 d时达到最高值;50 d后出现下降的趋势,贮藏180 d的花粉生活力仍达40.97%。可见,白花树花粉在超低温贮藏条件下能保持较高的生活力。可能是由于花粉在超低温的环境下呼吸速率降低,从而减慢细胞内营养物质的消耗而延长其生活力。

综合比较,白花树花粉贮藏的最佳条件为-80℃。在花粉的整个贮藏过程中,4℃的0~10 d和-80℃的0~50 d时花粉生活力有明显先下降后上升的现象,即为短期被迫休眠现象。赵继伟^[32]等在研究梨不同品种花粉生活力也出现这种现象。可能

是由于花粉在贮藏过程中,酶在低温条件下受到抑制,经过一定时间后测定,冷热交替刺激酶活性恢复,致使萌发率升高,具体原因有待进一步试验研究。

参考文献:

- [1] 中国树木志 [M]. 第2册. 北京:中国林业出版社,1994:1602-1603
- [2] 连文琰,朱兆仪,樊菊芬,等. 国产安息香的研究[J]. 药学学报,1964,11(10):700-707
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010年版(一部) [M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:138-139
- [4] 顾雁蕾. 越南安息香种子成分分析及超声波提油研究[D]. 杭州:浙江大学,2011:20
- [5] 刘光斌,黄长干,刘苑秋,等. 东京野茉莉油的提取及其制备生物柴油的初步研究[J]. 江西农业大学学报,2007,29(4):685-689
- [6] Kashio M, Johnson D V. Monographon Benzo [M]. Bangkok: RAP Publication, 2001
- [7] 黄椰林. 不同地理与生态分布植物类群的系统发育[D]. 广州:中山大学,2004:55-57
- [8] 骆昱春,杨桦,曾志光,等. 东京野茉莉木材性质分析与利用[J]. 江西农业大学学报,2007,29(1):77-80
- [9] 谢建秋,柳新红,王军峰,等. 东京野茉莉引种试验初报[J]. 浙江林业科技,2006,26(4):33-35
- [10] 潘瑞道,刘永正,沈明裕,等. 浙南木本植物引种驯化[J]. 浙江林学院学报,1991,8(4):428-438
- [11] 欧乞碱,李代芳,喻长惠,等. 中国植物油的研究 I [J]. 云南植物研究,1980,2(3):275-295
- [12] 赵勋,李因刚,柳新红. 白花树不同种源苗木光合-CO₂ 响应[J]. 江西农业大学学报,2011,33(6):1128-1133
- [13] 赵勋,李因刚,柳新红. 白花树不同种源苗木光响应特性研究[J]. 浙江林业科技,2011,31(1):1-6
- [14] 李林春,杨水平,姚小华. 普通油茶无性系花粉离体萌发特性[J]. 林业科学研究,2011,24(2):212-217
- [15] 刘光斌,黄长干,刘苑秋,等. 花粉生活力影响因素及花粉贮藏概述[J]. 中国农学通报,2005,21(4):110-119
- [16] 李天庆,曹慧娟,康木. 中国木本植物花粉电镜扫描图志 [M]. 北京:科学出版社,2011
- [17] 刘林德,张洪军,祝宁. 刺五加花粉活力和柱头可授性的研究[J]. 植物研究,2001,21(3):375-379
- [18] 律春燕,王雁,朱向涛,等. 黄牡丹花粉生活力测定方法比较研究[J]. 林业科学研究,2010,23(2):272-277
- [19] 刘会超,贾文庆,尤扬,等. 红花酢浆草花粉萌发及贮藏特性研究[J]. 江西农业大学学报,2010,32(1):185-189
- [20] 贾文庆,刘会超,姚连芳,等. 紫薇花粉萌发特性研究[J]. 西北林学院学报,2007,22(6):18-20
- [21] 刘帮龙,张晓慧,于友民,等. 野生马蹄金花粉生活力检测方法比较[J]. 草业科学,2011,28(11):1941-1944
- [22] 胡适宜. 被子植物胚胎学 [M]. 北京:人民教育出版社,1982

- [23] 张绍玲,平 伸. 梨花柱与糖蛋白质对离体花粉萌发及花粉管生产影响[J]. 园艺学报,2000,27(4):251-256
- [24] 程金水. 园林植物遗传育种[M]. 北京:中国林业出版社,2000
- [25] 冯 岚,湫香香,方升佐,等. 青钱柳花粉生活力及耐贮性的研究[J]. 北京林业大学学报,2010,32(4):121-125
- [26] 黄桂华,梁坤南,周再知,等. 柚木花粉离体萌发试验[J]. 林业科学研究,2011,24(4):527-530
- [27] 程 伟,赵志刚,曾 杰,等. 西南桦花粉离体萌发的适宜条件与萌发特征[J]. 林业科学研究,2007,20(2):209-212
- [28] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京:北京高等教育出版社,2001
- [29] Miltiadis V, Porlingis I C. Effect of temperature on pollen germination and pollen tube growth, effective pollination period and fruit set of pear [J]. Hort Science, 1985, 20(4): 733-735
- [30] Lee W, John C T, Stephen L B. Factors affecting in vitro germination and storage of jojoba pollen [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1985, 110(5):671-676
- [31] Barnabas B, Rajki E. Storage of maize (*Zea mays* L.) pollen at -196°C in liquid nitrogen [J]. Euphytica, 1976, 25(1): 747-752
- [32] 赵纪伟,李 莉,彭建营. 梨不同品种花粉生活力测定及授粉特性研究[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(1):152-156,162