

# 植物花粉保存技术研究进展<sup>1</sup>

刘晓娜<sup>1,2,3</sup>, 王培国<sup>2,3</sup>, 贾鸿昌<sup>3,4</sup>, 梁昕<sup>5</sup>, 姜丽伟<sup>2,3</sup>, 孙佰全<sup>2,3</sup>, 孙艳辉<sup>3</sup>, 夏灵石<sup>1,2,3</sup>,  
张金梅<sup>3</sup>, 韩天富<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>东北农业大学农学院, 黑龙江哈尔滨 150030; <sup>2</sup>三亚中国农业科学院国家南繁研究院, 海南三亚 572000; <sup>3</sup>中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; <sup>4</sup>黑龙江省农业科学院黑河分院, 黑龙江黑河 164399; <sup>5</sup>黑河市农业农村服务中心, 黑龙江黑河 164399)

**摘要:** 花粉作为植物雄性生殖细胞的载体, 蕴含该物种的成套单倍体核基因组信息。花粉长期保存对于植物学研究、作物育种、农业生产和植物遗传多样性保护具有重要意义。本文总结了影响花粉生活力的因素及测定方法, 探讨了花粉干燥保存、低温保存、超低温保存和有机溶剂保存技术的研究进展。文章还分析了这些技术在植物育种和遗传资源保护中的应用, 同时提出未来研究方向, 为推动花粉保存技术创新提供参考。

**关键词:** 花粉; 生活力; 保存技术; 遗传资源

## Progress of Plant Pollen Preservation Technology

LIU Xiaona<sup>1,2,3</sup>, WANG Peiguo<sup>2,3</sup>, JIA Hongchang<sup>3,4</sup>, LIANG Xin<sup>5</sup>, JIANG Liwei<sup>2,3</sup>, SUN Baiquan<sup>2,3</sup>, SUN  
Yanhui<sup>3</sup>, XIA Lingshi<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Jinmei<sup>3</sup>, HAN Tianfu<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang;

<sup>2</sup>National Nanfan Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Sanya 572000, Hainan;

<sup>3</sup>Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;

<sup>4</sup>Heihe Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heihe 164399, Heilongjiang;

<sup>5</sup>Heihe Municipal Center of Agricultural and Rural Service, Heihe 164399, Heilongjiang)

**Abstract:** Pollen, serving as the essential carrier of plant male reproductive cells, encapsulates a complete set of haploid nuclear genomic information specific to a given plant species. The long-term preservation of pollen holds immense significance for botanical research, crop breeding, agricultural production, and the conservation of plant genetic diversity. This article comprehensively reviews the factors affecting pollen viability and the methods for its detection. It also summarizes the research advancements in pollen preservation techniques, such as drying, low-temperature, ultra-low temperature, and organic solvent storage methods. The authors further analyze the applications of pollen preservation in plant breeding and genetic resource conservation and deliberate on the

收稿日期: 2025-02-01

网络出版日期: 2025-03-28

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20250201002>

第一作者研究方向为大豆分子育种, E-mail: liuxiaona112600@163.com

通信作者: 韩天富, 研究方向为大豆育种技术创新与新品种选育, E-mail: hantianfu@caas.cn

**基金项目:** 国家重点研发计划 (2023YFD1201300); 三亚中国农业科学院国家南繁研究院“南繁专项” (YBXM2428)

**Foundation projects:** National Key R&D Program of China (2023YFD1201300); Nanfan Special Project of CAAS (YBXM2428)

prospects of future research. The aim is to offer a reference for promoting innovation in pollen preservation technologies.

**Keywords:** pollen; vitality; preservation techniques; genetic resource

作为植物遗传资源的关键载体，花粉蕴含了物种单倍体基因组的完整信息<sup>[1]</sup>，在现代育种工作中具有不可替代的作用。然而，花粉对外界环境极为敏感，易失活，这一特性给种质资源的长期保存带来了重大挑战。因此，探究高效、稳定的花粉保存技术成为植物学研究的重要课题。

早在 19 世纪 60 年代，Visser 等<sup>[2]</sup>首次提出将苹果与梨的花粉置于低温条件储存，可以延长花粉的寿命。进入 20 世纪 80 年代，超低温技术的逐渐应用推动了植物营养器官（包括花粉）保存技术的发展。美国、英国和印度等国的科研人员在这一领域取得了显著进展。例如，印度园艺研究所成功保存了来自分属 15 个科和 40 个物种的 600 份种质花粉，其中部分样品已保存超过 15 年，并且保存效果良好<sup>[3]</sup>。

尽管我国在花粉保存技术研究方面起步较晚，但近年来，花粉保存技术已在多种农作物<sup>[4]</sup>、果树<sup>[5]</sup>、观赏植物<sup>[6]</sup>以及中草药<sup>[7]</sup>等植物中得到了广泛应用。江雨生等<sup>[8]</sup>将 4 个桃、梨品种的花粉在超低温环境下储藏 365 d，与新鲜花粉对比，发现授粉结实率、离体萌发率等均无显著差异。此外，自 1992 年以来，胡晋等<sup>[9-10]</sup>探索花粉超低温保存技术在杂交水稻育种中的应用，发现超低温（-196°C）条件下保存的恢复系花粉依然能保持较高花粉生活力<sup>[10]</sup>。

在种质创新与作物遗传改良的进程中，杂交育种始终占据着主导地位。然而，在进行品种间杂交时，育种家常常面临多重挑战，包括杂交双亲时空上的隔离<sup>[11]</sup>、短暂的杂交时间窗口<sup>[12]</sup>、不稳定的气候条件和病虫害<sup>[13]</sup>、花粉不足<sup>[14]</sup>以及自然条件下花粉寿命较短<sup>[15]</sup>等问题。通过保存花粉并确保其生活力，使其能够随时取用，从而为克服这些挑战提供更多可能性<sup>[16]</sup>。综上所述，植物花粉保存技术的不断优化与应用不仅在保护植物遗传资源方面发挥着重要作用，还为应对育种中的各种挑战提供了关键策略。

## 1 影响花粉生活力的因素

花粉生活力（Pollen viability）通常是指花粉维持受精能力的时间长短<sup>[17]</sup>。研究表明，成熟花粉的活力维持机制与其独特的细胞壁结构密切相关：由外壁和内壁构成的双层结构不仅通过富含孢粉素、脂类及蛋白质的复合基质形成物理屏障，还通过渗透压调节系统贮存丰富的代谢底物和酶系统，从而在特定环境条件下实现自主代谢调控，延长其生存期<sup>[18]</sup>。

花粉的生活力受众多因素的影响。内在因素涉及遗传背景、花粉类型及其发育阶段等；外部因素则与温度、湿度、光照等环境参数显著相关。

### 1.1 遗传因素

不同物种和基因型的花粉生活力存在显著差异。研究结果显示，不同分类单元（如葫芦科、禾本科、蔷薇科等）植物花粉的寿命在自然条件下呈现显著的种属特异性：瓜类（<5 h）、水稻（<10 min）、玉米

( $\approx 24$  h)、高粱 (<5 h)、苹果 ( $\approx 192$  h) 等物种的活力差异与雄配子体发育相关基因簇 (如 Pollen-specific leucine-rich repeat proteins) 的表达有关<sup>[19]</sup>。在种内, 基因型效应也相当突出。侯亚欣等<sup>[20]</sup>研究发现, 在 30℃ 条件下, 同域分布的 5 种柽柳属植物中, 长穗柽柳的花粉萌发率高达 92.06%, 而刚毛柽柳的花粉萌发率仅为 25.91%。

## 1.2 花粉类型

植物花粉的类型也会影响其生活力。成熟花粉细胞由一个营养细胞、一个生殖细胞或生殖细胞产生的两个精子组成。根据花粉母细胞减数分裂时形成花粉粒的核数目, 被子植物的花粉可以分为二核型、三核型以及混合型三类<sup>[21]</sup>。例如, 豆科、石蒜科、百合科、兰科等花粉属于二核型, 而禾本科、菊科、忍冬科等花粉则属于三核型<sup>[18]</sup>。Hoekstra 等<sup>[22]</sup>研究发现, 三核型花粉比二核型花粉具有更强的呼吸作用和代谢能力, 这种增强的生理活动导致三核型花粉的失活速度更快、寿命更短, 且在离体状态下更难以长期保存。

## 1.3 环境条件

花粉活力维持受环境因子 (温度、湿度和光照等) 的协同调控, 其机制涉及能量代谢与氧化还原稳态的动态平衡。通常情况下, 低温、低湿和无氧环境可抑制线粒体活性, 有助于花粉的保存; 相反, 在高温、高湿和有氧环境中, 花粉的呼吸作用增强, 生理代谢活跃, 导致营养物质消耗加速, 进而缩短寿命<sup>[23]</sup>。光环境调控研究显示, 黑暗条件下的野生龙蒿花粉萌发率显著高于光照条件, 进一步证实了光照条件对花粉生活力的影响<sup>[24]</sup>。此外, 病虫害和环境污染 (如化学物质、重金属等) 也是影响花粉生活力的重要环境因素。

## 1.4 其他因素

花粉活力还受母体生理状态、花粉发育时期等因素的影响。花粉在其形成和成熟过程中所需的营养及生理状态对其生活力至关重要。如果母体植物在花粉发育期间营养不良或生理状态不佳, 可能导致花粉发育不良, 进而影响其生活力。不同时期采集的花粉生活力差异明显。例如, Marchant 等<sup>[25]</sup>发现月季花粉在花朵半开放状态下具有最高的生活力; Craddock 等<sup>[26]</sup>的研究表明, 山茱萸花药刚开裂时采集的花粉保存效果最佳。因此, 在花粉的采集与保存过程中, 需要综合考虑以上因素, 以确保花粉的生活力和有效性。

# 2 花粉生活力的测定方法

花粉生活力直接影响授粉效果和杂交组配的成败, 因此, 在植物花粉保存过程中, 提前测定花粉生活力对种质资源保存和育种至关重要<sup>[27]</sup>。常用的花粉生活力测定方法包括离体萌发法、染色法和杂交授粉法。每种方法具有不同的优缺点, 适用于不同的实验需求。

## 2.1 离体萌发法

离体萌发法是将花粉置于含特定成分的培养基中离体培养, 利用显微镜观察花粉管的伸长情况<sup>[28]</sup>。不

同植物花粉萌发所需培养基的组分和浓度存在差异（表 1）。培养基的主要成分是蔗糖和硼酸，蔗糖的作用是提供合适的渗透压和花粉管形成所需能量，硼酸的作用是促进花粉管的萌发<sup>[29]</sup>。花粉萌发的标准通常为花粉管的伸长长度至少达到或超过花粉的直径<sup>[30]</sup>。该方法直观且准确，但操作复杂且易受外界环境影响。

表 1 不同植物花粉离体萌发的培养基成分与培养条件

Table 1 Medium components and culture conditions for in vitro pollen germination of different plants

物种 Species	培养基成分 (g/L) Medium component	培养条件 Culture condition
大豆 Soybean <sup>[31]</sup>	蔗糖 192, 聚乙二醇 75, 硼酸 0.15, 氯化钙 0.5, 赤霉素 0.0689	25℃, 培养 20 min
玉米 Maize <sup>[32]</sup>	蔗糖 120, 琼脂 8.5, 硼酸 0.10, 氯化钙 0.3	25℃, 培养箱中培养 24 h
柑橘 Citrus <sup>[5]</sup>	蔗糖 150, 琼脂 10.0, 硼酸 0.10, 硝酸钙 1.0, 硝酸钾 0.1, 硫酸镁 0.3, pH 6.5	25℃, 黑暗培养 8-16 h
番茄 Tomato <sup>[33]</sup>	蔗糖 200, 硼酸 0.10, 硝酸钙 0.3, 硝酸钾 0.1, 硫酸镁 0.2	22℃ 或 30℃, 培养 6 h
葡萄 Grape <sup>[34]</sup>	蔗糖 200	27℃, 培养 5 h
辣椒 Hot pepper <sup>[35]</sup>	蔗糖 150, 琼脂 8.0, 硼酸 0.10, 硝酸钙 0.3, 硝酸钾 0.1, 硫酸镁 0.2, pH 6.5	22℃ 或 30℃, 培养 6 h
西瓜 Watermelon <sup>[36]</sup>	蔗糖 100, 琼脂 10.0, 硼酸 1.00	28℃, 黑暗培养 2.5 h
椰枣 Date palm <sup>[37]</sup>	蔗糖 150, 硼酸 0.10, 硝酸钙 0.3, 硝酸钾 0.1, 硫酸镁 0.2	23℃, 黑暗培养 2 h
椰子 Coconut <sup>[38]</sup>	蔗糖 80, 琼脂 10.0, 明胶 10.0, 硼酸 0.10	25℃, 黑暗培养 1.5 h
槟榔 Arecanut <sup>[38]</sup>	蔗糖 25, 琼脂 10.0, 明胶 10.0, 硼酸 0.10	25℃, 黑暗培养 1.5 h

## 2.2 染色法

染色法是利用染色剂与花粉中酶的氧化还原反应引起的颜色变化来反映花粉的生活力。常用的染色法有 I<sub>2</sub>-KI（碘-碘化钾）染色法<sup>[39]</sup>、TTC（2, 3, 5-三苯基氯化四氮唑）染色法<sup>[40]</sup>、醋酸洋红染色法<sup>[41]</sup>、联苯胺染色法<sup>[30]</sup>、FDA-PI（双色荧光）染色法<sup>[30]</sup>和红墨水染色法等（表 2）。该方法操作简单快速，但未发育、不育和败育的花粉也会被染色，导致最终反映的生活力偏高<sup>[30]</sup>。

表 2 不同染色方法在花粉生活力检测中的应用

Table 2 Application of different staining methods in pollen viability detection

染色方法 Staining methods	原理 Principle	适用花粉类型 Applicable pollen type	操作步骤 Operational procedure	结果判断 Result judgement	优缺点 Merit and demerit	注意事项 Notice
I <sub>2</sub> -KI 染色法 I <sub>2</sub> -KI staining method	淀粉与碘结合显色	含淀粉的成熟花粉	1. 取花粉于载玻片上; 2. 加 I <sub>2</sub> -KI 染色液, 35℃ 恒温染色 30 min; 3. 显微镜观察。	有活力: 花粉呈蓝色 无活力: 花粉呈黄褐色或无色	优点: 操作简单 缺点: 仅适用于淀粉积累型花粉, 不适用于未成熟花粉	染色液需现配现用
TTC 染色法 TTC staining method	脱氢酶活性还原 TTC 为红色甲臜	大多数花粉	1. 取花粉于载玻片上; 2. 加 TTC 染色液, 35℃ 恒温染色 30 min; 3. 显微镜观察。	有活力: 花粉呈红色 活力弱: 花粉呈淡红色 无活力: 花粉无色	优点: 灵敏度高 缺点: 需控制温度和时间, 长时间处理可能导致假阳性	染色液需避光保存

表 2 (续)

染色方法 Staining methods	原理 Principle	适用花粉类型 Applicable pollen type	操作步骤 Operational procedure	结果判断 Result judgement	优缺点 Merit and demerit	注意事项 Notice
醋酸洋红染色法 Acetic carmine staining method	细胞核染色	核型清晰的花粉	1. 取花粉于载玻片上; 2. 加醋酸洋红染色液, 35℃恒温染色 20 min; 3. 显微镜观察。	有活力: 花粉呈深红色 无活力: 花粉呈浅红色或无色	优点: 可观察核形态 缺点: 需经验判断, 染色时间长	染色液浓度需适中
联苯胺染色法 Benzidine staining method	过氧化物酶催化联苯胺显色	含活性酶的花粉	1. 取花粉于载玻片上; 2. 加联苯胺染色液, 室温染色 5-10 min; 3. 显微镜观察。	有活力: 花粉呈红色 活力弱: 花粉呈淡红色 无活力: 花粉无色	优点: 快速灵敏 缺点: 试剂有毒	染色液需现配现用; 染色液需避光保存
FDA-PI 染色法 FDA-PI staining method	活细胞酯酶分解 FDA 释放荧光素	所有类型花粉	1. 取花粉于载玻片上; 2. 加 FDA 染色液, 染色 10-15 min; 3. 荧光显微镜观察。	有活力: 细胞质和细胞核发出绿色荧光 无活力: 不发光或荧光微弱	优点: 结果直观准确 缺点: 需荧光显微镜, 成本较高	避光操作; 染色液需现配现用
红墨水染色法 Red ink staining method	细胞膜完整性检测	大多数花粉	1. 取花粉于载玻片上; 2. 加红墨水, 染色 5-10 min; 3. 显微镜观察。	有活力: 花粉无色 活力弱: 花粉呈淡红色 无活力: 花粉呈红色	优点: 成本低、操作快速 缺点: 准确性较低, 染色时间需严格控制, 易受背景色干扰	红墨水需稀释

### 2.3 杂交授粉法

杂交授粉法是评估花粉生活力最真实且具有实际应用价值的方法<sup>[21]</sup>。选择已知基因型和标志性状的母本植株, 将花粉授于母本柱头, 依据结实率和杂交后代真实性评估花粉的生活力<sup>[42]</sup>。该方法更具实用性, 但所需时间较长, 且易受外界因素如机械损伤、病虫害等的影响<sup>[43]</sup>。

## 3 花粉保存技术研究进展

### 3.1 干燥保存技术

干燥保存技术是指通过降低花粉的水分含量, 减少其代谢活动, 从而延长花粉生活力的一种保存方法。花粉保存后的生活力与其水分含量紧密相关, 较低的水分含量有助于防止冷冻过程中产生冰晶, 避免细胞结构损伤<sup>[44-45]</sup>。Oreto 等<sup>[46]</sup>的研究表明, 经过适度脱水的洋葱花粉在低温保存后仍能保持较高的萌发率, 说明适度干燥处理对于花粉的低温冷冻保存是必不可少的<sup>[47]</sup>。因此, 花粉保存前的脱水处理至关重要。

早期的干燥保存技术主要依赖自然风干, 但随着研究的深入, 人们发现不同的干燥方法和温度也会影响花粉的生活力。沈健等<sup>[48]</sup>发现, 南瓜花粉在自然风干条件下比在硅胶干燥法下保存效果更好, 因此自然

风干法被认为是南瓜花粉的最佳干燥方式。杨帆等<sup>[49]</sup>发现, 对于澳洲坚果花粉保存而言, 自然干燥法和干燥皿干燥法的效果显著优于烘箱干燥法。古吉等<sup>[50]</sup>研究了不同干燥方法对两个烟草品种花粉活力及耐贮藏性的影响, 发现采用 25℃ 下干燥 12 h 的处理方式能够有效保持花粉的活力。

干燥保存技术的优点在于操作相对简单、成本较低、对设备要求不高, 适合于一些对干燥条件耐受性较强的花粉。但其缺陷也较为明显, 过度干燥可能导致花粉细胞结构受损, 降低花粉生活力<sup>[51]</sup>。此外, 不同花粉对干燥条件的耐受性差异较大, 需要针对具体花粉种类进行优化 (表 3)。

表 3 不同花粉保存技术的原理及优缺点

Table 3 The principle, advantages and disadvantages of different pollen preservation techniques

保存技术	原理	优点	缺点
Preservation technology	Principle	Merit	Defect
干燥保存	降低花粉含水量, 抑制	操作简单, 成本低	保存时间有限, 对一些对干燥敏感的花粉效果不佳
Drying preservation	代谢活动		
低温保存	低温减缓代谢速率	设备要求相对不高, 较为经济, 能满足一般短期保存需求	保存时间相对有限, 不适用于长期保存, 且对温度波动较敏感
Low temperature preservation			
超低温保存	超低温 (液氮, -196℃)	可实现花粉长期保存, 为珍稀植物种质资源保存提供有力手段	需要液氮设备, 成本较高, 操作复杂, 且解冻过程需严格控制避免冰晶损伤
Ultra-low temperature preservation	完全抑制代谢		
有机溶剂保存	有机溶剂脱水并固定结构	设备需求相对简单, 可有效抑制微生物侵染	适用花粉种类有限, 有机溶剂可能对花粉产生潜在毒性, 影响长期保存效果
Organic solvent preservation			

### 3.2 低温保存技术

低温保存技术是一项专门用于在低温环境下长期或短期保存花粉以保持其活性的技术<sup>[52]</sup>。其原理是通过降低温度, 显著降低花粉细胞代谢强度和能量消耗, 从而帮助其在较长时间内维持生理功能和形态结构<sup>[53]</sup>。

兰思仁等<sup>[54]</sup>发现, 4℃ 条件下保存 30 d 的茵芋花粉生活力是室温条件下保存花粉的 3.64 倍。Mesnoui 等<sup>[55]</sup>的研究结果表明, 在 -20℃ 条件下保存的枣椰树花粉在生活力和坐果率方面表现最佳。宋常美等<sup>[56]</sup>对红枫湖樱桃花粉的研究表明, 在 -80℃ 及 -20℃ 条件下保存 1 年的花粉与新鲜花粉在授粉坐果率上并无显著差异。Wang 等<sup>[57]</sup>的研究显示, 在 -86℃ 条件下保存 1 年的荔枝花粉, 其萌发率显著高于其他温度 (4℃、15℃、25℃、30℃) 条件下保存 1 年的花粉。总体而言, 低温环境能够显著延长花粉的保存期限。

低温保存技术的优点在于能够在一定程度上延长花粉寿命, 且操作相对简单。但其缺陷在于, 不同花粉对低温的耐受性差异较大, 部分花粉在低温下保存时可能会出现生活力下降的情况<sup>[58]</sup>。此外, 低温保存需要持续的低温环境, 一旦温度波动, 可能会对花粉造成不可逆的损伤。

### 3.3 超低温保存技术

超低温保存技术是一种在极低温度（如液氮）下保存生物材料的方法，目前已成为植物种质资源长期稳定保存的重要手段<sup>[59]</sup>。液氮低温环境能够有效抑制细胞代谢活动，从而实现花粉的长期保存<sup>[60]</sup>。

早在 1922 年，Knowlton 等<sup>[61]</sup>的研究表明，金鱼草花粉在-180°C 条件下保存 12 年后仍能保持较高生活力。随后，Dutta 等<sup>[62]</sup>的研究进一步验证在-196°C 条件下，芒果花粉可长期保存。Ren 等<sup>[63]</sup>以 102 种观赏植物花粉为研究对象，发现经 8~10 年的液氮保存后，43 种植物花粉的生活力介于 10%~30%之间，36 种植物花粉的生活力介于 30%~50%之间，表明液氮保存能够使花粉在较长时间内保持较高的生活力。Xu 等<sup>[64]</sup>对 19 科 71 种观赏植物的花粉进行了超低温保存研究，发现保存 1 年后，60%的品种花粉仍具有较强的萌发力。张金梅等<sup>[65]</sup>发现，超低温保存 1 个月后的桃花粉萌发率最高可达 83.3%，即使保存 4 年，14 份样本的萌发率仍保持在 30%以上。Maryam 等<sup>[64]</sup>也证实，-196°C 是枣树花粉长期保存的最优温度。

超低温保存技术的优点在于能够有效抑制细胞代谢活动，实现花粉的长期保存，操作相对简单、成本低、空间需求小且安全性高。通过采集、干燥、低温预处理及液氮长期冷冻保存等步骤，能够显著提高花粉保存效果<sup>[65]</sup>。但其缺陷在于，部分花粉在液氮温度下可能会出现生活力下降的情况<sup>[58]</sup>，且液氮的使用需要一定的安全防护措施。

### 3.4 有机溶剂保存技术

有机溶剂保存技术是指通过将花粉浸泡于有机溶剂中去除水分，降低其代谢活动，从而有效延长其保存时间的技术<sup>[66]</sup>。常见的有机溶剂包括丙酮、苯、甲醇、氯仿和乙醚等<sup>[67]</sup>。

Iwanami 等<sup>[67-68]</sup>在 1972 年发现，多种植物花粉（如山茶、亚洲红、赤藓等）在适宜的有机溶剂中可长期保持活力。刘国俭等<sup>[69]</sup>的研究结果表明，山荆子、桃和山杏的新鲜花粉在丙酮、苯、二甲苯和乙酸乙酯中保存 1 d 后仍具有正常的授精能力。Agarwal 等<sup>[70]</sup>发现戊醇和苯对葡萄花粉的保存效果最佳。此外，刘武林等<sup>[71-72]</sup>证实桃、梨和苹果等多种花粉在有机溶剂中保存的可行性；王郁民等<sup>[73]</sup>系统评估了中华猕猴桃和美味猕猴桃花粉在多种有机溶剂中的保存效果，发现在二甲苯、甲苯、苯、1-戊醇、乙酸乙酯和己烷中，两种花粉均能维持较长时间的生活力。

有机溶剂保存技术凭借成本低、操作简便和设备需求低的优势，在花粉保存中展现了重要潜力。但其缺陷在于不同花粉对溶剂的响应存在差异，仍需进一步研究和优化<sup>[72]</sup>。

## 4 花粉保存技术的应用

### 4.1 在植物种质资源保护中的应用

植物花粉保存技术是保护遗传资源的重要手段，尤其适用于无法通过传统种子保存或其他方式保存的珍稀濒危植物。这项技术不仅有效维护了遗传多样性，还确保了丰富遗传信息的传承和利用。在现有的花粉保存技术中，超低温保存技术因其能够长期保持花粉生活力而备受关注。该技术通过显著降低细胞代谢

活动，在极低温条件下实现花粉的长期保存。目前，超低温保存技术已广泛应用于多种果树作物的花粉保存，如苹果<sup>[74]</sup>、芒果<sup>[62]</sup>、柑橘<sup>[5]</sup>、椰子<sup>[75]</sup>、桃<sup>[76]</sup>、梨<sup>[77]</sup>和樱桃<sup>[78]</sup>等。此外，该技术还扩展到了瓜菜<sup>[79]</sup>、经济作物<sup>[80]</sup>、药用植物<sup>[81]</sup>和牧草<sup>[82]</sup>等多个物种类别。例如，Jia 等人<sup>[31]</sup>对大豆花粉的超低温保存技术进行了优化，为突破大豆杂交育种中的时空限制提供了有利支持，显著推动了工程化育种的发展。

作为异地保护策略，超低温保存技术不仅在植物遗传资源保护中具有重要意义，还为作物育种提供了丰富的基因资源库，从而支持现代植物育种的多样化需求<sup>[83]</sup>。此外，这项技术为种质资源的国际交流提供了新的途径<sup>[84]</sup>，进一步提升了其在全球植物资源保护中的应用潜力。因此，植物花粉保存技术在维护现有植物遗传资源中的重要性不容忽视，加强该技术的研究、推广和应用，对于全球范围内植物遗传资源的保护和可持续利用具有深远意义。

#### 4.2 在作物育种和生产中的应用

植物花粉保存技术有效解决了育种过程中面临的诸多挑战，如不同亲本基因型间的开花期不同步、自然环境中花粉供给不足及花粉采集质量差异等问题，在推动植物育种技术革新方面发挥着越来越重要的作用<sup>[85]</sup>。

在作物育种过程中，借助发达的现代物流体系，花粉保存技术能实现资源的异地高效利用。例如，通过大豆花粉的长距离运输，实现异地异季应用，这一过程被形象地称为“鹊桥相会”<sup>[31]</sup>。在依赖雄性不育特性的杂交种生产系统中，冷冻保存的花粉可维持雄性不育群体，避免频繁种植保持系所需的资源投入，从而节省时间、土地和劳动力成本<sup>[84]</sup>。在果树生产实践中，花粉保存技术能实现花粉来源和授粉时间的精准控制，以确保水果品质的一致性和优良性<sup>[57]</sup>。随着相关技术的不断发展和完善，花粉保存技术在植物育种和生产领域的应用前景将更加广阔，应用潜力巨大。

#### 4.3 花粉在遗传转化中的利用

近年来，植物遗传转化技术广泛应用于作物种质创新，结合常规育种，培育出高产、优质、抗逆、抗病虫、抗除草剂等新品种，并实现大面积推广应用。但对很多植物而言，遗传转化效率低仍是制约生物技术育种应用的重大瓶颈。花粉作为自然转化载体和独特的受体，已成为植物遗传转化的新工具和新途径<sup>[86]</sup>。例如，通过根癌农杆菌真空渗透处理花粉或授粉前在柱头上滴加农杆菌悬浮液的方式，可实现矮牵牛的外源基因（35S-bar）转移<sup>[87]</sup>。此外，在蔗糖存在的条件下，温和的超声波处理能够介导高粱花粉的直接基因转移，进而产生转基因植株<sup>[88]</sup>。花粉磁转染被认为是一种高效的遗传转化技术，该方法不仅简化了传统组织培养程序，还能在短时间内通过转化种子产生转基因植物<sup>[86,89]</sup>。与传统的农杆菌介导法和基因枪法相比，该技术适用于更多种类的植物，特别是那些难以转化的材料。

此外，常规杂交育种技术的后代材料纯合所需时间长、育种周期长，育种效率较低，而双单倍体（DH, Double haploid）技术通过雄核发育（小孢子和花药培养）、雌核发育（子房和胚珠培养）以及远缘杂交产



生的纯合植株，能在一代中获得完全纯合子。例如，小麦与玉米的远缘杂交可诱导小麦产生单倍体植株，通过该方法可使得小麦杂种后代在短期内纯合、缩短育种年限、提高育种效率，同时为遗传研究提供 DH 永久性遗传群体<sup>[90]</sup>。

结合花粉介导的遗传转化技术和双单倍体技术，未来的植物育种将实现更加高效、精准的基因编辑与品种改良。随着技术的不断优化和创新应用，预计将形成更加丰富多样且适应性强的作物品种库，极大推动全球农业发展，满足日益增长的食物需求，并应对气候变化等环境挑战。

## 5 总结与展望

### 5.1 植物花粉保存技术存在的问题与挑战

花粉保存技术的研究与应用对植物种质资源的保护及人工杂交育种技术的发展具有重要意义。随着分子生物学及相关交叉学科技术的快速进步，花粉保存技术的研究不断深入。然而，该领域仍面临若干关键问题和挑战：

(1) 不同植物花粉特性差异明显：不同植物花粉的特性不同，其保存方法和适宜保存条件也不同，很难找到一种通用的保存方法来保障所有花粉的生活力。例如，不同植物花粉进行保存的适宜含水量不同，且同种植物不同品种间也存在较大差异，这使得在实际应用中难以制定统一的标准。

(2) 标准化操作流程缺乏：尽管花粉保存技术已经成功应用于多种植物，但目前尚未建立起一套标准化的操作流程。其中，涉及采集时期、花粉预处理、保护剂的选择、保存方法以及保存条件等多个方面，都需要进一步进行优化。

(3) 超低温保存机理尚不明晰：目前，针对超低温保存前后花粉生理状态、花粉膜透性以及内含物质等方面是否发生变化等问题的研究还不够全面和深入。此外，关于  $\text{Ca}^{2+}$  信使系统在花粉低温信息传递过程中所发挥的作用，以及其与抗冻蛋白产生的相关性等问题，也有待进一步展开深入研究。

(4) 保存后的遗传稳定性研究不足：当前对于保存后花粉的遗传稳定性方面的研究相对较少，难以确定保存过程是否会对花粉的遗传物质造成损伤或引发变异。

### 5.2 未来研究展望

植物花粉保存技术在植物遗传资源保护、生物多样性维护和农业生产中具有重要意义。未来的研究应重点关注以下方向：

(1) 深入研究花粉的生理和生化特性：针对不同种类的花粉，系统研究不同植物花粉的生理需求和生化特性，确保花粉在采集时处于最佳活力状态。研究环境因素（如温度、湿度、光照等）对花粉保存的具体影响机制，以制定最佳保存方案。

(2) 制定操作规程和质量控制体系：制定详细的花粉保存操作规程和标准体系，确保从花粉采集、预

处理、保存到质量检测等环节的一致性和可靠性，提高花粉保存技术的整体质量和效率。鉴于不同植物花粉的特性差异，未来需要开发更具普适性的保存方法，同时针对特定植物或品种制定个性化的保存方案，以提高花粉保存的成功率和生活力。

（3）加强遗传稳定性研究：利用分子生物学技术（如基因测序、分子标记等），系统研究保存后花粉的遗传稳定性，明确保存过程是否会导致遗传物质的损伤或变异。通过长期实验，评估不同保存方法对花粉遗传稳定性的影响，特别是超低温保存后花粉的遗传完整性和功能稳定性，为制定长期保存策略提供数据支持。

（4）建立花粉库与信息管理系统：构建标准化的花粉库是实现植物花粉长期保存和高效利用的重要基础。花粉库应具备完善的设施和环境控制系统，以确保花粉在适宜的条件下保存。此外，还应配套建立信息管理系统，详细记录花粉的来源、保存条件、活力状态和测试结果，实现对花粉样本的全程跟踪和管理，为长期保存和后续应用提供全面的数据支持。

（5）加强国际合作与交流：花粉是植物基因资源的重要载体。在全球化的背景下，整合各方的优势资源，推动各国花粉保存技术和花粉资源的共享，将提升植物遗传资源的全球化保护与高效利用。

## 参考文献

- [1] Ren R F, Li Z D, Li B L, Xu J, Jiang X R, Liu Y, Zhang K Y. Changes of pollen viability of ornamental plants after long-term preservation in a cryopreservation pollen bank. *Cryobiology*, 2019, 89: 14-20
- [2] 姬瑞. 香梨授粉营养液优化及温湿度对花粉贮藏活力的影响. 阿拉尔: 塔里木大学, 2023
- Ji R. Optimization of pollination nutrient solution of *Pyrus sinkiangensis* and influence of temperature and humidity on pollen storage activity. Aral: Tarim University, 2023
- [3] Ganeshan S, Rajasekharan P E. Current status of pollen cryopreservation research:Relevance to tropical horticulture//Engelmann F, Takagi H. Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm: Current Research Programs and Application. Japan: JIRCAS/IPGRI Publication, 2000: 360-365
- [4] Shi S, Zhang Z, Xiao J. Genetic stability in maize pollen after long-term cryopreservation. *Acta Agronomica Sinica*, 1996, 22 (4): 409-413
- [5] Chen X L, Zhang J M, Jiang D, Lu X X, Xin X, Yin G K. Cryopreservation of pollen grains of *Citrus* and other *Aurantioidae*//Rajasekharan P E, Rohini M R. Pollen Cryopreservation Protocols. New York: Springer US, 2023: 99-112
- [6] Xu J, Li B L, Liu Q, Shi Y, Peng J G, Jia M X, Liu Y. Wide-scale pollen banking of ornamental plants through cryopreservation. *Cryo Letters*, 2014, 35 (4): 312-319
- [7] El Merzougui S, Benelli C, El Boullani R, Serghini M A. The cryopreservation of medicinal and ornamental geophytes: Application and challenges. *Plants*, 2023, 12 (11): 2143
- [8] 江雨生, 高铸九. 桃, 梨花粉的超低温 (-196℃) 贮藏. *上海农业学报*, 1989, 5 (1): 1-8
- Jiang Y S, Gao Z J. Ultra-low-temperature (-196℃) storage of peach and pear pollens. *Acta Agriculturae Shanghai*, 1989, 5 (1): 1-8
- [9] 胡晋, 郭长根. 杂交水稻恢复系花粉超低温保存的研究. *浙江农业大学学报*, 1995, 21 (6): 647-648
- Hu J, Guo C G. Studies on the cryopreservation of restoring line pollen of hybrid rice. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 1995, 21 (6): 647-648
- [10] 胡晋, 郭长根. 超低温(-196℃)保存杂交水稻恢复系花粉的研究. *作物学报*, 1996, 22 (1): 72-77
- Hu J, Guo C G. Studies on the cryopreservation (-196℃) of pollen of restoring line in hybrid rice. *Acta Agronomica Sinica*, 1996, 22 (1): 72-77
- [11] Rajasekharan P E, Ganeshan S. Pollen cryopreservation protocol for rose//Rajasekharan P E, Rohini M R. Pollen Cryopreservation Protocols. New York: Springer US, 2023: 423-429
- [12] Impe D, Ballesteros D, Nagel M. Impact of drying and cooling rate on the survival of the desiccation-sensitive wheat pollen. *Plant Cell Reports*, 2022, 41 (2): 447-461
- [13] Rajasekharan P E, Ravish B S, Kumar T V, Ganeshan S. Pollen cryobanking for tropical plant species.//Normah M N, Chin H F, Reed B M. Conservation of Tropical Plant Species. New York: Springer US, 2013: 65-75
- [14] Saha K, Rajasekharan P E, Madhavi Reddy K, Mathad R C. Cryopreservation of pollen grains of hot pepper.//Rajasekharan P E, Rohini M R. Pollen Cryopreservation Protocols. New York: Springer US, 2023: 253-261
- [15] Pio L A S, Ramos J D, Pasqual M, Junqueira K P, Santos F C, Rufini J C M. Viability of citrus pollen in different storage conditions. *Cienc Agrotec*,

2007, 31: 147-153

[16] Hanna W W, Wells H D, Burton G W, Monson W G. Long-term storage of pearl millet pollen. *Journal of Heredity*, 1986, 77 (5): 361-362

[17] Dafni A, Firmage D. Pollen viability and longevity: Practical, ecological and evolutionary implications.//Dafni A, Hesse M, Pacini E. *Pollen and Pollination*. New York: Springer US, 2000: 113-132

[18] 王改萍, 徐涛, 彭方仁. 木本植物花粉的保存研究进展. *林业科技开发*, 2007, 21 (6): 9-11

Wang G P, Xu T, Peng F R. Research progress on the preservation of woody plant pollen. *China Forestry Science and Technology*, 2007, 21 (6): 9-11

[19] 尹佳蕾, 赵惠恩. 花粉生活力影响因素及花粉贮藏概述. *中国农学通报*, 2005, 4: 110-113, 193

Yin J L, Zhao H E. Summary of influential factors on pollen viability and its preservation methods. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 4: 110-113, 193

[20] 侯亚欣, 杨赵平, 刘香楠, 菅佳鑫, 曾思维. 同域分布 5 种怪柳属植物不同开花时期花粉活力研究. *西北林学院学报*, 2025, 40 (1): 83-91

Hou Y X, Yang Z P, Liu X N, Kan J X, Zeng S W. Pollen viability of five sympatric tamarix species in different blossom periods. *Journal of Northwest Forestry University*, 2025, 40 (1): 83-91

[21] 王慧, 张从合, 黄艳玲, 汪和廷, 方玉, 杨韦, 管昌红, 杨力, 王林, 严志. 植物花粉影响因素和保存方法研究进展. *中国农学通报*, 2023, 39 (3): 49-54

Wang H, Zhang C H, Huang Y L, Wang H T, Fang Y, Yang W, Guan C H, Yang L, Wang L, Yan Z. The influencing factors and preservation methods of plant pollen: Research progress. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2023, 39 (3): 49-54

[22] Hoekstra F A, Bruinsma J. Respiration and vitality of binucleate and trinucleate pollen. *Physiologia Plantarum*, 1975, 34 (3): 221-225

[23] Hong T D, Ellis R H, Buitink J, Walters C, Hoekstra F A, Crane J. A model of the effect of temperature and moisture on pollen longevity in air-dry storage environments. *Annals of Botany*, 1999, 83 (2): 167-173

[24] 秦勇, 包建平, 潘纷纷. 野生龙蒿花粉生活力测定及其主要影响因子. *中国园艺学会第七届青年学术讨论会论文集*. 2006: 372-374

Qin Y, Bao J P, Pan B B. Determination of pollen viability in wild *Artemisia annua* and its main influencing factors. *Proceedings of the 7th Youth Academic Symposium of the Chinese Society of Horticulture*. 2006: 372-374

[25] Marchant R, Power J B, Davey M R, Chartier-Hollis J M, Lynch P T. Cryopreservation of pollen from two rose cultivars. *Euphytica*, 1992, 66: 235-241

[26] Craddock J H, Reed S M, Schlarbaum S E, Sauve R J. Storage of flowering dogwood (*Cornus florida* L.) pollen. *HortScience*, 2000, 35 (1): 108-109

[27] Jiang Y F, Lahlali R, Karunakaran C, Warkentin T D, Davis A R, Bueckert R A. Pollen, ovules, and pollination in pea: Success, failure, and resilience in heat. *Plant, Cell & Environment*, 2019, 42 (1): 354-372

[28] Abdelgadir H A, Johnson S D, Van Staden J. Pollen viability, pollen germination and pollen tube growth in the biofuel seed crop *Jatropha curcas* (*Euphorbiaceae*). *South African Journal of Botany*, 2012, 79: 132-139

[29] 谢深喜, 罗先实, 吴月嫦. GA<sub>3</sub>、2,4-D、B 和蔗糖对梨花粉生活力及花粉生长速度的影响. *果树学报*, 2004, 21 (4): 289-294

Xie S X, Luo X S, Wu Y C. Pollen viability of asian pear and effect of PGR, B and sucrose on germination and pollen tube development. *Journal of Fruit*

Science, 2004, 21 (4): 289-294

[30] 沈健. 南瓜种质资源花粉保存方法研究及应用. 咸阳: 西北农林科技大学, 2023

Shen J. Research and application of pollen conservation methods for pumpkin germplasm resources. Xianyang: Northwest A&F University, 2023

[31] Jia H C, Liang X, Zhang L X, Zhang J M, Sapey E, Liu X Y, Sun Y H, Sun S, Yan H R, Lu W C, Han T F. Improving ultra-low temperature preservation technologies of soybean pollen for off-season and off-site hybridization. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 920522

[32] 范明霞, 杨雅婷, 苏立新, 杨双, 王贺, 高松. 玉米花粉离体萌发的研究. *中国农学通报*, 2024, 40 (17): 21-27

Fan M X, Yang Y T, Su L X, Yang S, Wang H, Gao S. Study on maize pollen germination in vitro. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2024, 40 (17): 21-27

[33] Saha K, Rajasekharan P E, Prasanna H C. Cryopreservation protocol for tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its wild relatives pollen for utilization in crop improvement.//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 341-353

[34] Rajasekharan P E, Ganeshan S, Vishwakarma P K. Cryopreservation of Grape Pollen (*Vitis* Species).//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 123-133

[35] Saha K, Rajasekharan P E, Madhavi R K, Mathad R C. Cryopreservation of pollen grains of hot pepper.//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 253-261

[36] Mahapatra S, Karjee S, Rajasekharan P E, Rao E S. Cryopreservation of watermelon pollen to explore new breeding possibilities.//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 363-369

[37] de Oliveira A C A, da Silva Lédo A, Polek M, Krueger R R, Shepherd A, Volk G M. Methods for cryopreserving of date palm pollen.//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 519-525

[38] Karun A, Muralikrishna K S, Sajini K K, Rajesh M K. Cryopreservation of coconut and arecanut pollen.//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 527-540

[39] Luo S, Zhang K, Zhong W P, Chen P, Fan X M, Yuan D Y. Optimization of in vitro pollen germination and pollen viability tests for *Castanea mollissima* and *Castanea henryi*. *Scientia Horticulturae*, 2020, 271: 109481

[40] Alexander M P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technology*, 1969, 44 (3): 117-122

[41] 冯家梅, 吴雪, 姜红霞, 龙林梅. 不同品种月季的花粉生活力测定. *兴义民族师范学院学报*, 2022, 4: 109-112

Feng J M, Wu X, Jiang H X, Long L M. Determination of pollen viability of different rose varieties. *Journal of Xingyi Normal University for Nationalities*, 2022, 4: 109-112

[42] Colombo N, Galmarini C R. The use of genetic, manual and chemical methods to control pollination in vegetable hybrid seed production: A review. *Plant Breeding*, 2017, 136 (3): 287-299

[43] 刘林, 曹春信, 刘新华. 瓜菜类植物花粉超低温保存研究进展. *中国瓜菜*, 2015, 28 (2): 1-4

Liu L, Cao C X, Liu X H. Research progress in cryopreservation of cucurbit pollen. *China Cucurbits and Vegetables*, 2015, 28 (2): 1-4

- [44] Dinato N B, Imaculada Santos I R, Zanotto Vigna B B, de Paula A F, Favero A P. Pollen cryopreservation for plant breeding and genetic resources conservation. *Cryo Letters*, 2020, 41 (3): 115-127
- [45] Anilkumar G S, Rajasekharan P E. Pollen cryopreservation protocol for dragon fruit.//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 113-122
- [46] Fayos O, Echávarri B, Vallés M P, Mallor C, Garcés-Claver A, Castillo A M. A simple and efficient method for onion pollen preservation: Germination, dehydration, storage conditions, and seed production. *Scientia Horticulturae*, 2022, 305 (2): 111358
- [47] Nepi M, Franchi G G, Padni E. Pollen hydration status at dispersal: Cytophysiological features and strategies. *Protoplasma*, 2001, 216: 171-180
- [48] 沈健, 刘云飞, 白如意, 苏壮壮, 潘晓娜, 宋希梅, 程永安, 张显, 陈秀红, 马建祥. 中国南瓜花粉短期保存方法. *植物生理学报*, 2022, 58 (6): 1184-1190
- Shen J, Liu Y F, Bai R Y, Su Z Z, Pan X N, Song X M, Cheng Y A, Zhang X, Chen X H, Ma J X. Methods for short-term preservation of *Cucurbita moschata* pollen. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2022, 58 (6): 1184-1190
- [49] 杨帆, 陶丽, 陈丽兰, 范秋红, 倪书邦. 澳洲坚果花粉保存及生活力测定. *中国农学通报*, 2014, 30 (13): 126-130
- Yang F, Tao L, Chen L L, Fan Q H, Ni S B. Preservation and viability determination of *Macadamia* pollen. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30 (13): 126-130
- [50] 古吉, 乔雨, 郑昀晔, 马文广. 干燥条件及贮藏时间对烟草花粉活力的影响. *中国烟草科学*, 2018, 39 (6): 7-12
- Gu J, Qiao Y, Zheng Y Y, Ma W G. Impact of different drying conditions and storage time on tobacco pollen viability. *Chinese Tobacco Science*, 2018, 39 (6): 7-12
- [51] 王慧, 张从合, 汪和廷, 黄艳玲, 严志, 管昌红. 小麦花粉的低温和超低温保存研究. *中国种业*, 2022, 10: 66-69
- Wang H, Zhang C H, Wang H T, Huang Y L, Yan Z, Guan C H. Study on cryopreservation and ultra-cryopreservation of wheat pollen. *China Seed Industry*, 2022, 10: 66-69
- [52] 秦萌, 栗燕, 唐丽丹, 雷风雨, 王献. 紫薇花粉的贮藏方法及离体萌发研究. *河南农业大学学报*, 2012, 46 (6): 637-641
- Qin M, Li Y, Tang L D, Lei F L, Wang X. Study of storage methods and in vitro germination of *Lagerstroemia indica* pollen. *Journal of Henan Agricultural University*, 2012, 46 (6): 637-641
- [53] Du G C, Xu J G, Gao C R, Lu J, Li Q, Du J, Lv M W, Sun X. Effect of low storage temperature on pollen viability of fifteen herbaceous peonies. *Biotechnology Reports*, 2019, 21: 3-9
- [54] 兰思仁, 郑天汉, 阮淑明, 华伟平, 吴远彬. 保存温度对茵芋花粉活力的影响. *福建农林大学学报*, 2018, 47 (3): 296-303
- Lan S R, Zheng T H, Ruan S M, Hua W P, Wu Y B. Effects of storing temperature on *Skimmia reevesiana* pollen vitality. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University*, 2018, 47 (3): 296-303
- [55] Mesnoua M, Roumani M, Salem A. The effect of pollen storage temperatures on pollen viability, fruit set and fruit quality of six date palm cultivars. *Scientia Horticulturae*, 2018, 236: 279-283

- [56] 宋常美, 文晓鹏, 李庆宏. 红枫湖樱桃花粉超低温保存探究. 江苏农业科学, 2018, 46 (5): 117-120
- Song C M, Wen X P, Li Q H. Study on pollen cryopreservation of cherry "Hongfenghu". Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46 (5): 117-120
- [57] Wang L M, Wu J F, Chen J Z, Fu D W, Zhang C Y, Cai C H, Ou L X. A simple pollen collection, dehydration, and long-term storage method for litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). Scientia Horticulturae, 2015, 188: 78-83
- [58] 任瑞芬, 李泽迪, 姜雪茹, 张孔英, 刘燕. AsA-GSH 抗氧化系统在超低温保存后牡丹花粉活力下降中的作用机制. 植物生理学报, 2021, 57 (7): 1517-1526
- Ren R F, Li Z D, Jiang X R, Zhang K Y, Liu Y. The mechanism of ASA-GSH antioxidant system in the decreasing of *Paeonia suffruticosa* pollen viability after cryopreservation. Plant Physiology Journal, 2021, 57 (7): 1517-1526
- [59] Rajasekharan P E, Rohini M R. Pollen cryopreservation: advances and prospects.//Rajasekharan P E, Rohini M R. Pollen Cryopreservation Protocols. New York: Springer US, 2023: 1-18
- [60] Engelmann F. Plant cryopreservation: Progress and prospects. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2004, 40: 427-433
- [61] Knowlton H E. Studies in pollen with special reference to longevity. USA: Cornell University, 1922
- [62] Dutta S K, Srivastav M, Chaudhary R, Lal K, Patil P, Singh S K, Singh A K. Low temperature storage of mango (*Mangifera indica* L.) pollen. Scientia Horticulturae, 2013, 161: 193-197
- [63] 张金梅, 闫文君, 李雪, 黄斌, 张海晶, 赵剑波, 姜全, 陈晓玲. 桃花粉低温和超低温保存方法比较研究. 植物遗传资源学报, 2017, 18 (4): 670-675
- Zhang J M, Yan W J, Li X, Huang B, Zhang H J, Zhao J B, Jiang Q, Chen X L. Study on low temperature storage and cryopreservation of pollen for peach germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18 (4): 670-675
- [64] Maryam, Jaskani M J, Naqvi S A. Storage and viability assessment of date palm pollen.//Al-Khayri J M, Jain S M, Johnson D V. Date Palm Biotechnology Protocols Volume II: Germplasm Conservation and Molecular Breeding. New York: Springer US, 2017: 3-13
- [65] Rajasekharan P E, Rohini M R. Establishment of a pollen cryobank and general procedures of pollen cryopreservation.//Rajasekharan P E, Rohini M R. Pollen Cryopreservation Protocols. New York: Springer US, 2023: 43-58
- [66] 杨志, 董晓涛, 杨巍, 张素敏. 果树花粉生活力应用研究概况. 北方果树, 2006, 4: 1-3
- Yang Z, Dong X T, Yang W, Zhang S M. Overview of research on the application of fruit tree pollen vitality. Northern Fruits, 2006, 4: 1-3
- [67] Iwanami Y, Nakamura N. Storage in an organic solvent as a means for preserving viability of pollen grains. Stain Technology, 1972, 47 (3): 137-139
- [68] Iwanami Y. Retaining the viability of *Camellia japonica* pollen in various organic solvents. Plant and Cell Physiology, 1972, 13 (6): 1139-1141
- [69] 刘国俭, 张新忠, 杨秀梅. 几种果树花粉有机溶剂保存的研究. 河北林果研究, 1998, 13 (4): 339-342
- Liu G J, Zhang X Z, Yang X M. Preservation of pollen in organic solvents of several fruit species. Hebei Journal of Forestry and Orchard Research, 1998, 13 (4): 339-342
- [70] Agarwal P K. Effect of storage in organic solvents on the germination of grapevine pollen. Journal of Horticultural Science, 1983, 58 (3): 389-392

- [71] 刘武林, 马丽玲, 曹宗巽. 梨、苹果等 11 种花粉贮存在有机溶剂中的生活力研究. 园艺学报, 1985, 12 (1): 69-71
- Liu W L, Ma L L, Cao Z X. A study on the viability of 11 types of pollen stored in organic solvents, including pears and apples. *Acta Horticulturae Sinica*, 1985, 12 (1): 69-71
- [72] 刘武林, 曹宗巽. 桃、苹果花粉贮存在有机溶剂中的萌芽率、呼吸率和能育性. 植物生理学报, 1984, 10 (3): 89-96
- Liu W L, Cao Z X. Germination, respiration and fertility of pollen of *Prunus persica* and *Malus pumila* during storage in some organic solvents. *Acta Physiologiae Plantarum*, 1984, 10 (3): 89-96
- [73] 王郁民, 李嘉瑞. 猕猴桃花粉的有机溶剂保存. 落叶果树, 1992, 24 (2): 1-7
- Wang Y M, Li J R. Organic solvent preservation of kiwifruit pollen. *Deciduous Fruits*, 1992, 24 (2): 1-7
- [74] Chander S, Rajasekharan P E, Kurian R M. Pollen storage studies in sugar apple (*Annona squamosa* L.) cv. Balanagar. *Israel Journal of Plant Sciences*, 2019, 66 (3-4): 196-202
- [75] Machado C D A, Moura C R F, Lemos E E P D, Ramos S R R, Ribeiro F E, Léo A D S. Pollen grain viability of coconut accessions at low temperatures. *Acta Scientiarum-Agronomy*, 2014, 36: 227-232
- [76] Einhardt P M, Correa E R, Maria do Carmo B R. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen de pessegueiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 2006, 28: 5-7
- [77] Bhat Z A, Dhillon W S, Shafi R H S, Rather J A, Mir A H, Shafi W, Wani T A. Influence of storage temperature on viability and in vitro germination capacity of pear (*Pyrus* spp.) pollen. *Journal of Agricultural Science*, 2012, 4 (11): 128
- [78] Albuquerque N, Montiel F G, Burgos L. Influence of storage temperature on the viability of sweet cherry pollen. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2007, 5 (1): 86-90
- [79] Mastiholi L, Rajasekharan P E. Pollen cryopreservation in ash gourd (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.)//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 215-224
- [80] Decruse S W, Ajeeshkumar S, Vargheese S. Pollinia cryopreservation of selected orchid species of western ghats, india//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 401-414
- [81] Gaudet D, Yadav N S, Sorokin A, Bilichak A, Kovalchuk I. Development and optimization of a germination assay and long-term storage for *Cannabis sativa* pollen. *Plants*, 2020, 9 (5): 665
- [82] Dinato N B, Santos I R I, Leonardecz E, Burson B L, Quarin C L, de Paula A F, Fávero A P. Storage of bahiagrass pollen at different temperatures. *Crop Science*, 2018, 58 (6): 2391-2398
- [83] Salgotra R K, Chauhan B S. Genetic diversity, conservation, and utilization of plant genetic resources. *Genes*, 2023, 14 (1): 174
- [84] Rajasekharan P E, Rohini M R. Pollen Cryobanking—Implications in genetic conservation and plant breeding.//Rajasekharan P E, Rohini M R. *Pollen Cryopreservation Protocols*. New York: Springer US, 2023: 19-42
- [85] 孙果忠. 超低温保存花粉技术在温室玉米加代育种上的应用. 河北农业科学, 2013, 17 (1): 65-67



- Sun G Z. Study on the technology of pollen cryopreservation and its application on greenhouse breeding of maize. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2013, 17 (1): 65-67
- [86] Wang Z P, Zhang Z B, Zheng D Y, Zhang T T, Li X L, Zhang C, Yu R, Wei J H, Wu Z Y. Efficient and genotype independent maize transformation using pollen transfected by DNA-coated magnetic nanoparticles. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64 (6): 1145-1156
- [87] Tjokrokusumo D, Heinrich T, Wylie S, Potter R, McComb J. Vacuum infiltration of *Petunia hybrida* pollen with *Agrobacterium tumefaciens* to achieve plant transformation. *Plant Cell Reports*, 2000, 19: 792-797
- [88] Wang W Q, Wang J X, Yang C P, Li Y H, Liu L, Xu J. Pollen-mediated transformation of *Sorghum bicolor* plants. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2007, 48 (2): 79-83
- [89] Zhao X, Meng Z G, Wang Y, Chen W J, Sun C J, Cui B, Cui J H. Pollen magnetofection for genetic modification with magnetic nanoparticles as gene carriers. *Nature Plants*, 2017, 3 (12): 956-964
- [90] 杨雁. 玉米诱导小麦双单倍体育种技术的研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2023
- Yang Y. Study on the technology of maize inducedwheat double haploid breeding. Yangling: Northwest A&F University, 2023