

紫玉兰花粉离体萌发及模拟降水、温度对其开花的影响

江 丽¹, 俞丽霞¹, 曹英芝¹, 施德法², 黄佳佳¹, 费星溶¹, 陈建华¹, 吕洪飞^{1,3*}

(1. 浙江师范大学化学与生命科学学院, 金华 321004; 2. 浙江科技学院建筑工程学院, 杭州 310023;

3. 浙江理工大学生命科学院, 杭州 310018)

摘 要: 以紫玉兰花粉为材料, 采用离体萌发法研究不同培养基组分对紫玉兰花粉萌发和花粉管生长的影响, 确定花粉萌发的最佳培养条件, 并用 25/10℃、15/10℃、有水和无水 4 种条件交互处理观察紫玉兰单花的开花进程。研究表明: (1) 紫玉兰花粉萌发的最佳培养基是 3%蔗糖 + 0.003%~0.005%硼酸 + 0.02%氯化钙; (2) 花粉萌发率和花粉管长度达到最大值为 6 h; (3) 15/10℃处理的紫玉兰花瓣明显比 25/10℃的大; (4) 有水处理的紫玉兰花瓣比无水处理的花瓣干重大; (5) 有水处理的表皮细胞排列整齐且比无水处理的表皮细胞大; (6) 紫玉兰花药开裂散粉需在干燥环境下进行。本研究对延长花期、增大花瓣面积、提高其观赏价值以及杂交育种具有重要意义。

关键词: 紫玉兰; 花粉活力; 温度; 降水; 单花

中图分类号: S685.99

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2015)06-0943-06

In vitro pollen germination and effects of simulated precipitation and temperature on flowering of *Magnolia liliflora* Desr.

JIANG Li¹, YU Lixia¹, CAO Yingzhi¹, SHI Defa², HUANG Jiajia¹, FEI Xingrong¹, CHEN Jianhua¹, LYU Hongfei^{1,3}

(1. College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004;

2. School of Civil Engineering and Architecture, Zhejiang University of Science & Technology, Hangzhou 310023;

3. College of Life Sciences, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018)

Abstract: The effects of medium components on pollen germination and pollen tube growth of *Magnolia liliflora* Desr. were studied using in vitro culture. *M. liliflora* was subjected to four environmental conditions/treatments (25/10℃, 15/10℃, with water or without water) for flowering. The results showed that the best medium for pollen germination was 3% sucrose, 0.003% -0.005% boric acid plus 0.02% calcium chloride. The optimum time was 6 h for pollen germination and pollen tube growth. The petals were obviously bigger in the 15/10℃ treatment than that in the 25/10℃ treatment. The dry weight of petals was higher in the water treatment than that of the water-free treatment. The epidermal cells appeared to be bigger and much uniform in the water treatment. Anther dehiscence required a dry environment. This research shows significance for improving the ornamental value and facilitating cross breeding of *M. liliflora* with extended blooming period and enlarged petals.

Key words: *Magnolia liliflora*; pollen viability; temperature; precipitation; single flower

紫玉兰(*Magnolia liliflora* Desr.), 又名木兰、辛夷, 为木兰科木兰属大型灌木, 是珍贵的中国特有植物, 具有很高的观赏价值和药用价值^[1-2], 已有 2500 多年的栽培历史, 主要分布在中国云南、福建、湖北等地, 生长于海拔 300~1600 m 的地区, 一般生长在山坡林缘^[3-4]。先花后叶, 其花生于枝顶或叶

腋, 花蕾形如毛笔尖, 单生, 花大, 花瓣 6~10 片, 花色呈紫色或紫红色, 十分娇艳^[5]。目前对紫玉兰的研究主要集中在紫玉兰的繁育和栽培系统^[3,6]、组织培养^[7]、光合和荧光特性^[8-10]。而对其花粉活力、开花进程的研究较少。

花粉具有较高萌发活力, 是完成受精的必要条

收稿日期: 2015-02-11

基金项目: 浙江省科技特派员团队项目(2012T2T223)资助。

作者简介: 江 丽, 硕士研究生。E-mail: 992858598@qq.com

* 通信作者: 吕洪飞, 教授, 博士生导师。E-mail: luhongfei0164@163.com

件,也是提高坐果率的前提^[11],以及采取必要措施控制花期、开花数目、保持花固有品质、促进繁殖是提高观赏植物价值的前提。早期采集花粉、贮存花粉、花粉生活力测定以及了解降水、气温对开花进程的影响是进行人工辅助授粉或育种不可缺少的基础性工作^[12]。为此,本试验对紫玉兰花粉的活力进行测定从而探讨出离体萌发培养基各组分最适的浓度,最适培养时间以及降水,温度对开花进程的影响,为紫玉兰繁殖育种提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本试验材料为紫玉兰的花及花粉,均采自浙江师范大学校园内的南向树冠中部枝条。其树龄为10年且开花多年,植株健康无病虫害,栽培于肥沃土壤。

1.2 方 法

1.2.1 花的采集 根据花开放程度分为4个阶段:未开放、微开放、开放但花药未开裂和开放且花药开裂。在晴朗的天气,每个阶段随机摘取5朵紫玉兰花。

1.2.2 花的大小及质量 将花分成花瓣、雌蕊和雄蕊3个部分,拍照后用软件ImageJ测量每朵花的花瓣面积、柱头长度、花药长度宽度,并统计花药个数,称量各部分鲜重。再用硫酸纸袋存放,放入干燥器中干燥,达到恒重后,用天平称出各部分的干重。根据所得数据比较各个阶段花朵形态特征的变化。

1.2.3 花粉的采集和处理 采集开裂、但未散粉的花药,迅速带回实验室,收集花粉备用。将收集到的花粉用硫酸纸包好,再放入塑料袋中,扎紧袋口,将其置于-18℃冷冻室中贮藏,备用。

1.2.4 花粉活力的离体萌发法测定 花粉萌发采用液体培养法,培养基的基本成分同B-K试液(Brewbaker and Kwack)^[13]。将已配好的培养基置于青霉素小瓶内,培养基不超过小瓶的2/3,用解剖针挑取花粉,放入青霉素小瓶内,摇匀,放入25℃的培养箱中摇床培养12h后,用胶头滴管吸取一滴培养液,置于载玻片上,制成临时装片,进行观察统计。每个梯度选取15个视野,统计每个视野的萌发的花粉数量和花粉粒总数。每个梯度随机选取15粒萌发的花粉粒,在电子显微镜下拍照,用软件ImageJ^[14]测量花粉管的长度。

在探讨每个培养基因子时,以不加该因子作为参照,设置不同的浓度。蔗糖设置5个浓度梯度:

0%、1%、3%、5%、10%和15%,氯化钙设置5个浓度梯度:0%、0.005%、0.01%、0.02%和0.03%,硼酸设置6个浓度梯度:0%、0.001%、0.003%、0.005%、0.007%和0.009%,分别进行单因子筛选。

以3%的蔗糖浓度,0.003%的硼酸浓度,0.02%的氯化钙浓度为培养基,离体培养花粉。每隔2h取出,统计花粉萌发率和测量花粉管的长度,以确定花粉萌发的最适时间。花粉管长度大于花粉粒直径视为萌发。

1.2.5 模拟降水及温度对紫玉兰花的影响 采集未开放的花蕾20个,均连带10cm的枝条,分成A、B、C、D组,用配制好的水培溶液培养^[15],并且每天更换。将A、B组放在25/10℃的培养箱中,A组每天进行水处理,B组不做水处理;将C、D组放在15/10℃的培养箱中,C组每天进行水处理,D组不做水处理。

4个培养箱(规格为60cm×60cm×160cm)用于本试验,且均能控制温度、光照、湿度。培养箱昼夜时长设置分别为10h和14h,白天光照强度均为 $(150 \pm 10) \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,相对湿度为 $(85 \pm 5)\%$ 。水处理的每个试验组每隔0.5h喷施蒸馏水0.1L。

观察紫玉兰单花的开花情况,包括开花顺序、花瓣状态、花药开裂情况,持续到花谢结束观察。

每朵花选取最大的两个花瓣,并在花瓣的固定部位取上表皮和下表皮的细胞,制作临时装片。在显微镜下观察表皮细胞,并拍照,每个装片拍3张。用ImageJ软件测量细胞的大小,比较不同处理的紫玉兰花瓣表皮细胞的大小。将剩余的花分成花瓣、雌蕊和雄蕊3个部分,以一朵花为单位,放入硫酸纸袋中。将纸袋放入干燥器中,恒重后称量各部分的质量并记录数据。比较不同处理后,花各部位的质量。

1.2.6 数据统计分析 用Microsoft Excel 2007进行数据管理;用IBM spss statistics 20中的Duncan复极差法进行差异性分析。

2 结果与分析

2.1 花的形态特征

如图1所示紫玉兰花开放的4个阶段的花瓣图片。各个时期的花瓣、雄蕊、雌蕊的干重和鲜重如表1以及各阶段花瓣面积、雌蕊和花药长度如表2。

随着紫玉兰花的开放,花瓣、雌蕊的鲜重,干重、花瓣面积、花药长度、花药宽度均变大,柱头变长且第IV时期与第I时期存在显著性差异($P < 0.05$)。雄蕊的干重和鲜重在第1阶段到第3阶段增

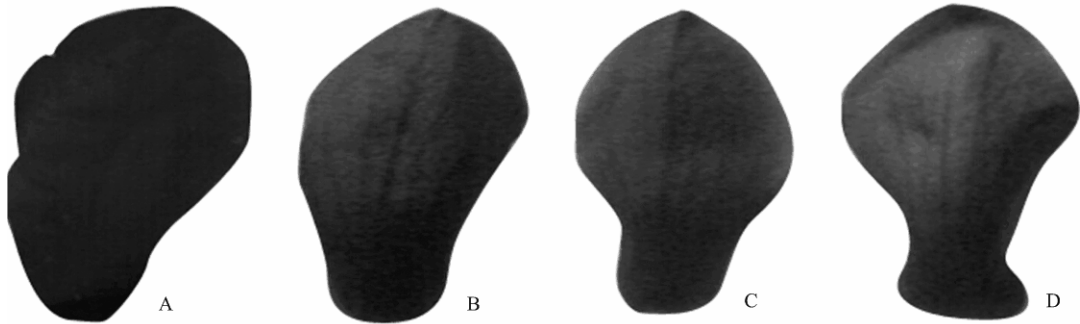
大,而在第 4 阶段雄蕊干重呈现减少趋势。

2.2 单因素试验确定培养基各组分最佳浓度

2.2.1 蔗糖

从图 2 可知,在一定范围内,随着蔗糖浓度的增加,花粉萌发率逐渐上升,花粉管长度伸长,当蔗糖浓度达到 3% 时,花粉萌发率 28.32%,

花粉管最长,达到 1250.68 μm ,当蔗糖浓度大于 3% 时,花粉的萌发受到抑制作用。蔗糖浓度为 15% 时,花粉萌发率仅有 0.13%。试验得出最佳蔗糖浓度为 3%。



A. 花未开放; B. 花微开; C. 花开放但花药未开裂; D. 花开放且花药开裂。标尺 Bar: A-B=10 mm

A. The petal of unopened flower; B. The petal of slightly opened flower; C. The petal of fully opened but anther not dehiscent flower; D. The petal of fully opened and anther dehiscent flower

图 1 紫玉兰花瓣形态

Figure 1 The morphological of *M. liliflora* petals

表 1 开花过程中不同时期不同部分的含水量变化

Table 1 The water content of related part of *M. liliflora* flowering process

| 时期 Period | 花瓣鲜重 Fresh weight of petal | 雌蕊鲜重 Fresh weight of pistil | 雄蕊鲜重 Fresh weight of stamen | 花瓣干重 Dry weight of petal | 雌蕊干重 Dry weight of Pistil | 雄蕊干重 Dry weight of stamen |
|--------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| I | 2.180±0.454 ^c | 0.063±0.013 ^c | 0.229±0.025 ^b | 0.234±0.049 ^c | 0.008±0.005 ^c | 0.057±0.006 ^b |
| II | 2.531±0.571 ^{bc} | 0.068±0.013 ^{bc} | 0.220±0.042 ^b | 0.265±0.064 ^{bc} | 0.011±0.002 ^{bc} | 0.053±0.010 ^b |
| III | 3.404±0.826 ^{ab} | 0.090±0.022 ^{ab} | 0.309±0.040 ^a | 0.427±0.032 ^{ab} | 0.015±0.004 ^{ab} | 0.080±0.014 ^{ab} |
| IV | 4.438±0.839 ^a | 0.098±0.015 ^a | 0.241±0.034 ^b | 0.420±0.092 ^a | 0.017±0.003 ^a | 0.069±0.012 ^a |

注:不同的小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

Note: Lowercase letters represent significant difference at the 0.05 level. The same below.

表 2 紫玉兰开花过程中花瓣面积和雌雄蕊相关结构变化数值

Table 2 The value changed of petal area and the related structure of pistil and stamen by *M. liliflora* flowering process

| 时期 Period | 花瓣面积/ mm^2 Petal area | 花药长度/mm Anther length | 花药宽度/mm Anther width | 柱头长度/mm Stigma length |
|--------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|
| I | 997.234±212.373 ^b | 6.699±0.555 ^b | 0.937±0.137 ^b | 10.004±1.461 ^b |
| II | 1082.031±285.881 ^b | 6.203±0.759 ^b | 1.010±0.147 ^b | 10.325±0.853 ^{ab} |
| III | 1448.276±328.117 ^a | 7.157±0.566 ^a | 1.022±0.138 ^b | 11.479±0.823 ^a |
| IV | 1622.747±326.934 ^a | 7.571±0.666 ^a | 1.142±0.162 ^a | 11.488±0.593 ^a |

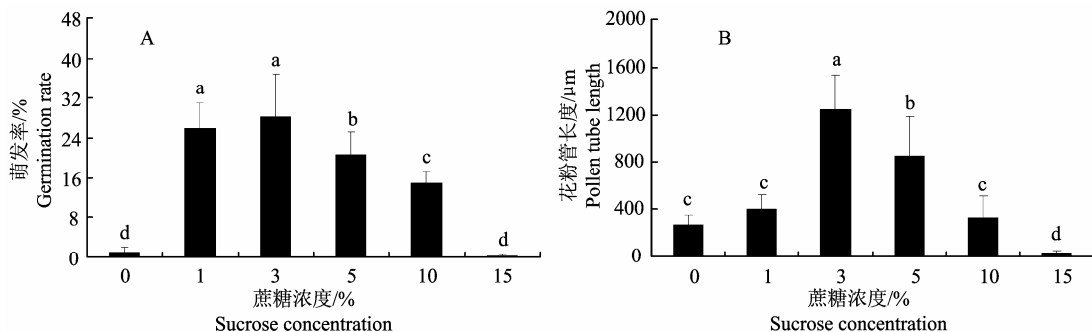


图 2 蔗糖浓度对花粉萌发率 (A) 及花粉管生长 (B) 的影响

Figure 2 Effects of sucrose concentration on pollen germination rate (A) and tube length (B) of *M. liliflora*

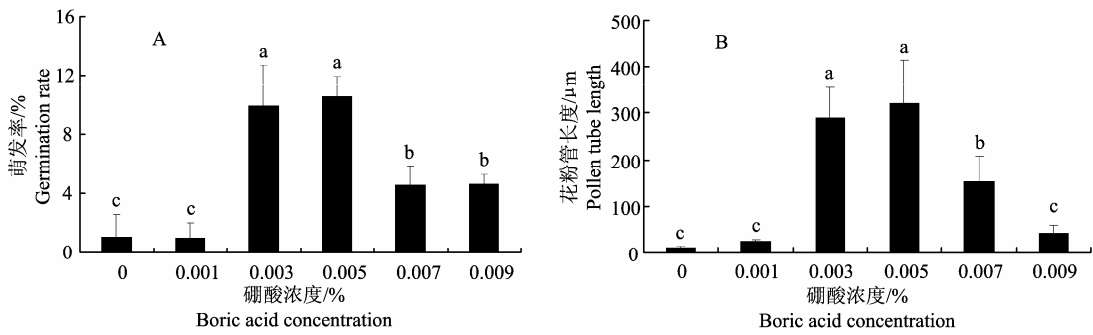


图 3 硼酸浓度对花粉萌发率 (A) 及花粉管生长 (B) 的影响

Figure 3 Effects of boric acid concentration on pollen germination rate (A) and tube length (B) of *M. liliflora*

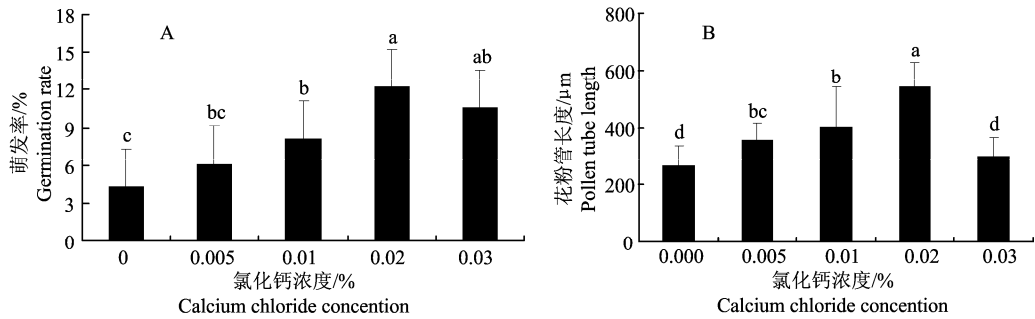


图 4 氯化钙浓度对花粉萌发率 (A) 及花粉管生长 (B) 的影响

Figure 4 Effects of calcium chloride concentration on pollen germination rate (A) and tube length (B) of *M. liliflora*

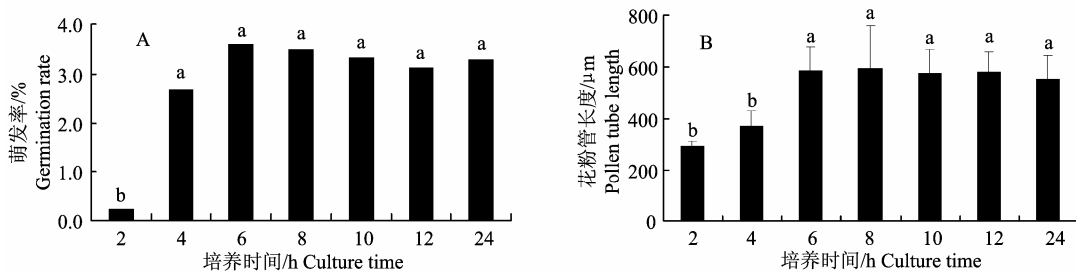


图 5 培养时间对花粉萌发率 (A) 及花粉管生长 (B) 的影响

Figure 5 Effects of culture time on pollen germination rate (A) and tube length (B) of *M. liliflora*

2.2.2 硼酸 在一定范围内, 紫玉兰花粉萌发率和花粉管长度随着硼酸浓度的升高而增加, 当超过一定浓度时, 硼酸对花粉萌发起抑制作用 (图 3) 当硼酸浓度为 0.003% 和 0.005% 的情况下, 花粉管萌发率和花粉管长度相差没有显著性差异 ($P > 0.05$), 这 2 种浓度均适合紫玉兰花粉管的生长, 但超过 0.005%, 萌发率显著降低 ($P < 0.05$)。从花粉萌发率和花粉管长度的结果看, 最佳的硼酸浓度为 0.003%~0.005%。

2.2.3 钙离子浓度 培养基中, 钙离子浓度为 0% 时, 仍有花粉萌发, 这是因为花粉本身含有一定量的钙离子。在较低浓度范围内, 钙对花粉萌发起促进作用 (图 4), 钙离子浓度为 0.02% 时, 花粉萌发

率最大, 即 12.25%; 花粉管长度最长, 即 540.65 μm 。钙离子浓度大于 0.02% 时, 花粉的萌发率以及花粉管的长度降低, 所以紫玉兰花粉萌发最适钙离子浓度为 0.02%。

2.3 培养最适时间的确定

从图 5 可以看出, 培养时间小于 6 h 时, 紫玉兰花粉萌发率和花粉管长度随着培养时间的延长而增加。超过 6 h 时, 花粉管的长度稍微增加, 但与 6 h 时的差异并不显著 ($P > 0.05$)。随着培养时间的增加, 培养基中微生物量也会逐渐增加, 影响观察, 因此, 紫玉兰花粉最佳培养时间为 6 h。

2.4 温度、模拟降雨对紫玉兰开花的影响

2.4.1 开花情况 25/10 $^{\circ}\text{C}$ 有水处理的紫玉兰, 早开花 5 d, 花瓣有腐烂现象, 少许花瓣掉落, 花药均未

开裂散粉。25/10℃无水处理的紫玉兰, 早开花 3 d, 花瓣小, 花药开裂散粉。15/10℃有水处理的紫玉兰, 花瓣较大, 花药未开裂散粉。15/10℃无水处理的紫玉兰, 花瓣较小, 花药开裂散粉。15/10℃的紫玉兰

花瓣明显比 25/10℃的紫玉兰花瓣大。有水处理的紫玉兰花瓣比无水处理的紫玉兰花瓣饱满, 但有水处理的紫玉兰花药均未开裂散粉。

表 3 模拟降雨和不同温度对紫玉兰花瓣、雌蕊和花药干重的影响

| 处理 Treatment | 花瓣 Petal | 雌蕊 Pistil | 花药 Anther |
|--------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 25/10℃ 有水 25/10℃ with water | 0.339±0.037 ^{ab} | 0.012±0.005 ^a | 0.046±0.022 ^a |
| 25/10℃ 无水 25/10℃ without water | 0.281±0.038 ^b | 0.010±0.002 ^a | 0.052±0.012 ^a |
| 15/10℃ 有水 15/10℃ with he water | 0.375±0.136 ^a | 0.014±0.005 ^a | 0.074±0.021 ^a |
| 15/10℃ 无水 15/10℃ without water | 0.328±0.083 ^{ab} | 0.011±0.003 ^a | 0.068±0.017 ^a |

表 4 模拟降雨和不同温度对紫玉兰花瓣上、下表皮细胞面积的影响

| 表皮细胞面积/ μm^2 Epidermal cell area | 25/10℃ 有水 25/10℃ with water | 25/10℃ 无水 25/10℃ without water | 15/10℃ 有水 15/10℃ with water | 15/10℃ 无水 15/10℃ without water |
|--|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| 上表皮 Upper epidermal | 1360.79±77.43 ^a | 1066.79±136.22 ^c | 1382.38±48.46 ^a | 1129.27±89.73 ^b |
| 下表皮 Lower epidermal | 1369.44±69.88 ^b | 1053.46±117.76 ^d | 1414.48±52.26 ^a | 1141.71±78.36 ^c |

2.4.2 处理后花的形态特征 根据表 3, 有水处理的花瓣比无水处理的花瓣重, 雌蕊、花药的重量变化并不显著。可见, 模拟降雨处理主要影响了花瓣的生长, 而对雌蕊、花药的影响不大。

紫玉兰花瓣的表皮细胞呈椭圆形, 存在极少量的气孔。有水处理的紫玉兰的上、下表皮细胞均比无水处理的表皮细胞大 ($P < 0.05$), 且排列整齐。经测量, 各处理后表皮细胞的平均大小如表 4。

3 讨论

蔗糖是花粉萌发及花粉管壁合成的主要营养物质来源, 对花粉萌发和花粉管的生长具有重要作用, 在花粉萌发中提供了碳源, 并起到了渗透压调节剂的作用^[16]; 若浓度过高或过低, 花粉内外渗透压不平衡, 对花粉萌发以及花粉管生长造成危害, 从而影响萌发^[17]。本项研究表明, 当蔗糖浓度为 3% 时, 内外的渗透压才能保持平衡, 从而维持紫玉兰花粉正常的生活力, 浓度继续增加时, 高的渗透压会造成花粉细胞壁的质壁分离, 从而抑制花粉萌发^[18]。硼酸离子与蔗糖结合形成络合物后易于通过质膜在组织中运输, 促进蔗糖吸收与代谢^[19]。Matoh 等^[20]的研究表明, 硼元素主要作用是和果胶类物质结合, 使酸性果胶形成酯化果胶, 酯化果胶在花粉管顶端的存在, 则有利于增加花粉管顶端的延展性。田翠婷^[21]等通过用单克隆抗体 JIM5 和 JIM7 免疫荧光标记表明, 当缺硼培养后, 酯化果胶含量则明显减少, 降低了花粉管壁的延展性。实验结果表明, 促进紫

玉兰花粉萌发的最佳硼酸浓度为 0.003%~0.005%, 与扇脉杓兰 (*Cypripedium japonicum*)^[22] 研究结果相近。钙离子主要是在蔗糖和硼的主导作用下起辅助作用的, 这种作用对花粉的萌发是一个必须的生理生化过程^[23]。Ca²⁺ 是偶联胞外与胞内生理生化反应的信使, 是动植物代谢和发育的主要调控者之一。在植物中 Ca²⁺ 主要涉及细胞骨架的组装^[24]、分泌小泡的运输和融合^[25] 等各个方面。不同植物的花粉萌发的最适钙离子浓度不同, 紫玉兰花粉萌发和花粉管伸长的最佳氯化钙浓度为 0.02%。培养时间同样对花粉萌发有影响, 时间过长过短都会影响花粉的萌发率以及花粉管的长度^[26]。本研究得到紫玉兰最适时间为 6 h。紫玉兰花粉的最佳培养基为 3% 蔗糖 + 0.003%~0.005% 硼酸 + 0.02% 氯化钙。

观赏植物的品质是其价值的重要指标^[27], 随着紫玉兰花的开放, 花瓣面积、花药长度、花药宽度均变大, 柱头变长, 说明紫玉兰花朵的开放伴随着花的生长。花开放后, 雄蕊成熟, 花药开裂散粉导致雄蕊的干重和鲜重呈先增大后减少。开花进程中, 如高低温、光照、水分不足等, 均不同程度导致其抗氧化酶活性逐渐下降, 表现为花蕾、花瓣萎焉与脱落^[28]。张福春等^[29] 采用积分回归法进行了统计学分析, 研究表明气温是影响我国木本植物物候的主要因子。郑宝强^[30] 研究了温度对杂种卡特兰开花的影响, 结果表明适宜的温度能显著地促进开花, 使花期提前。舒素芳等^[31] 以白玉兰为材料, 结果表明花期和气象因子相关性较大。本研究表明温度、降

雨的处理影响其开花进程,但所有处理的紫玉兰都能开花。在15/10℃下,紫玉兰开花较晚,生长到一定程度开花,从而积累较多的有机物,这与15/10℃处理的紫玉兰的花瓣、雌蕊和花药干重均比25/10℃的干重大是相一致。模拟降水的花瓣上、下表皮细胞较大,且花瓣掉落,少许花瓣腐烂,花药未开裂散粉,说明紫玉兰花药的开裂散粉需要一定的干燥环境。紫玉兰作为观赏植物,花朵越大,越有观赏价值,然而连续的阴雨天气,花瓣掉落、少许花瓣腐烂,导致花期缩短,影响花瓣的美观。本研究通过观察花瓣表皮细胞的大小,检测降水是否过量,为通过数学建模得到不同的降水量对花瓣细胞大小的影响提供理论基础,从而为进一步提高紫玉兰的观赏价值提供依据。

参考文献:

- [1] 朱雄伟, 杨晋凯, 胡道伟. 辛夷成分及其药理应用研究综述[J]. 海峡药学, 2002, 14(05): 5-7.
- [2] 陈志东, 王锋, 汪年松. 辛夷挥发油对肾缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(10): 1484-1486; 1490.
- [3] 唐婷, 胥晓, 吴庆贵, 等. 紫玉兰(*Magnolia liliflora*)的繁育系统研究[J]. 四川林业技, 2013, 34(1): 5-10.
- [4] 刘会超, 贾文庆, 郭艳艳. 紫玉兰花粉的生活力测定及贮藏方法[J]. 贵州农业科学, 2011, 34(7): 188-191.
- [5] 周兴文, 朱宇林. 紫玉兰的观赏特性及其在园林中的应用[J]. 北方园艺, 2011(8): 93-95.
- [6] 罗在柒, 刘兰, 周大刚. 紫玉兰愈伤组织的诱导及胚状体获得试验研究[J]. 现代农业科技, 2010, 20: 221-223.
- [7] 陆秀君, 董阳, 金亚荣, 等. 紫玉兰的组织培养[J]. 北方园艺, 2009, 11: 189-191.
- [8] 周建, 刘弘, 齐安国, 等. 紫玉兰幼树的光合特性[J]. 福建林学院学报, 2008, 28(1): 56-60.
- [9] 沈作奎, 杨小琴. 紫玉兰光合特性的日变化[J]. 湖北民族学院学报: 自然科学版, 2007, 25(3): 350-352.
- [10] 张卢水, 吴庆贵, 胡进耀, 等. 紫玉兰(*Magnolia liliflora*)叶绿素荧光特性研究[J]. 绵阳师范学院学报, 2010, 29(11): 60-65.
- [11] Kim O R, Kwon S, Kim K S, et al. Reliable methods for evaluating pollen viability and temperature effect on pollen storability in *Viola lactiflora*[J]. J Soc Hortic Sci, 2003, 44(1): 10-12.
- [12] 左丹丹, 明军, 刘春, 等. 植物花粉生活力检测技术进展[J]. 安徽农业科学, 2007, 5(16): 4742-4745.
- [13] 钱鑫, 刘芬, 牛晓玲, 等. 花粉离体萌发及储藏条件的研究[J]. 西北植物学报, 2014, 34(2): 341-348.
- [14] He Q L, Ya H, Ling Y Z, et al. Nondestructive evaluation of the changes of total flavonoid, total phenols, ABTS and DPPH radical scavenging activities, and sugars during mulberry(*Morus alba* L.)fruits development by chlorophyll fluorescence and RGB intensity values[J]. LWT-Food Sci Technol, 2012, 47(1): 19-24.
- [15] 赵兰枝, 毛达, 林紫玉, 等. 不同营养液对彩叶草色素含量及光合作用的影响[J]. 广东农业科学, 2007(6): 30-32.
- [16] 黄家兴, 吴杰, 安建东, 等. 杏花粉的离体培养及影响因子分析[J]. 西北植物学报, 2008, 28(1): 52-58.
- [17] Fei S, Nelson E. Estimation of pollen viability, shedding pattern, and longevity of creeping bentgrass on artificial media [J]. Crop Sci, 2003, 43(6): 2177-2181.
- [18] 陈和明, 尹光天, 胡哲森, 等. 黄藤花粉萌发与低温贮藏研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(7): 1395-1400.
- [19] 杜纪红, 叶正文, 苏明申, 等. 桃花粉离体萌发和花粉管生长特性研究[J]. 西北植物学报, 2011, 31(1): 64-71.
- [20] Matoh T, Ishigaki K, Ohno K, et al. Isolation and characterization of a boron-polysaccharides complex from radish roots [J]. Plant Cell Physiol, 1993, 34(4): 639-642.
- [21] 田翠婷, 吕洪飞, 王锋, 等. 培养基组分对青离体花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(1): 47-52.
- [22] 刘芬, 李全健, 王彩霞, 等. 濒危植物扇脉杓兰的花部特征与繁育系统[J]. 林业科学, 2013, 49(1): 53-60.
- [23] 龚明, 曹宗巽. 钙和钙调素对花粉萌发和花粉管伸长的调控[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(5): 321-328.
- [24] Lazzaro M D. Microtubule organization in germinated pollen of the conifer *Picea abies* [J]. Am J Bot, 1999, 86(6): 759-766.
- [25] Camacho L, Malho R. Endo/exocytosis in the pollen tube apex is differentially regulated by Ca²⁺ and GTPases [J]. J Exp Bot, 2003, 54 (380): 83-92.
- [26] 姚成义, 赵洁. 钙和硼对蓝猪耳花粉萌发及花粉管生长的影响[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(1): 1-7.
- [27] Reid M S, Wu M J. Ethylene and flower senescence[J]. Plant Growth Regul, 1992, 11(1): 37-43.
- [28] 周昕蕾. 内源抗氧化酶在牡丹开放和衰老进程中作用的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2010.
- [29] 张福春. 气候变化对中国木本植物物候的可能影响[J]. 地理学报, 1995, 50(5): 402-410.
- [30] 郑宝强, 王雁. 不同温度处理对杂种卡特兰开花的影响[J]. 北京林业大学学报, 2011, 33(1): 156-158.
- [31] 舒素芳, 毛俊萱, 蔡敏. 白玉兰始花期与气象因子的关系分析[J]. 浙江农业学报, 2013, 25(2): 248-251.