

# 梅花花粉离体萌发和花粉管生长研究

赵宏波, 房伟民, 陈发棣\*

(南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

**摘要:** 研究培养基成分、pH 值和培养方式对梅花花粉离体萌发和花粉管生长的影响。结果表明: 不同品种梅花花粉离体萌发的最适培养基为  $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000(pH5.0), 品种‘淡丰后’、‘久观绿萼’、‘喧妍官粉’和‘月光玉蝶’最高萌发率可分别达到 58.6%、60.6%、85.6% 和 50.7%。PEG4000 能显著促进梅花花粉萌发, 在培养基各成分中作用最大, 不可替代。低浓度( $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )蔗糖对梅花品种花粉萌发作用不显著, 而高浓度( $\geq 100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )蔗糖明显抑制花粉萌发和花粉管生长。固体和液体培养对梅花花粉离体萌发的影响差异不显著。

**关键词:** 梅花; 花粉; 离体萌发; 花粉管生长

中图分类号: Q944.42 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2007)03-0393-04

## Pollen germination *in vitro* of Mei flower

ZHAO Hong-Bo, FANG Wei-Min, CHEN Fa-Di\*

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** The pollen germination *in vitro* of four cultivars of *Prunus mume* were detected. The results showed that the optimum culture medium of pollen germination of *P. mume* was  $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000(pH5.0), at which the pollen germination ratio of cultivars ‘Dan Fenghou’, ‘Jiuguan Lü’e’, ‘Xuanyan Gongfen’, ‘Yueguang Yudie’ reached 58.1%, 45.3%, 84.5%, 50.7% respectively. PEG4000 can remarkably accelerate pollen germination of *P. mume*, and the optimal concentration was  $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . The effects of the sucrose on pollen germination was not prominent, only low concentration of the sucrose ( $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) can accelerate pollen germination of some cultivars (e. g. ‘Jiuguan Lü’e’), however, high concentration of sucrose would inhibit strongly pollen germination and the growth of pollen tubes. There was no significant difference between the effects of solid and liquid cultures on pollen germination *in vitro*.

**Key words:** *Prunus mume*; pollen; germination *in vitro*; the growth of pollen tubes

梅花(*Prunus mume*)是我国十大传统名花之一, 花色丰富而动人, 花香沁人肺腑, 具有很高的观赏价值, 自古以来深受人们喜爱。我国梅花品种资源丰富, 但品质良莠不齐, 所以优良品种的选育是梅花研究工作者的一项重要工作。进行梅花花粉活力测定对指导梅花育种具有重要的理论和现实意义。

花粉活力测定有很多方法, 其中花粉离体萌发测定法效果最好, 其结果最接近原始结果。离体萌发法需要特定的培养基。培养基的主要成分有  $\text{Ca}^{2+}$ 、硼、碳源等, 有的植物还需要其他物质如激素(如 6-BA 等)、PEG 等。王四清等(1993)和赵宏波

等(2005)报道 PEG(聚乙二醇)能显著促进菊花花粉萌发; 张碧玉(1983)报道适宜浓度的蔗糖也能促进花粉的萌发。在其培养基(简称 BK)上 39 科 79 个属 86 种植物的花粉均能良好萌发(Brewbaker 等, 1963); Leduc 等(1990)用改良 Monnier 培养基  $ME_3$  为萌发基本培养基, 使芥菜花粉的萌发率显著提高。本实验研究了在不同浓度 PEG4000、基本培养基、蔗糖和 pH 值的培养基上梅花不同品种花粉离体萌发和固体、液体培养对花粉离体萌发的影响, 以期筛选出梅花花粉离体萌发的最适培养体系, 为花粉活力的测定提供一个高效、快速、简便的方法。

收稿日期: 2005-07-19 修回日期: 2006-05-30

基金项目: 江苏省科技攻关项目(BE2003339)[Supported by Key Technologies Research and Development Program of Jiangsu Province(BE2003339)]

作者简介: 赵宏波(1979-), 男, 浙江武义县人, 博士生, 主要从事观赏植物种质资源和遗传育种等研究。

\* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: chenfd@njau.edu.cn)

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

4个梅花品种(‘淡丰后’、‘久观绿萼’、‘喧妍官粉’、‘月光玉蝶’)均取自南京农业大学梅花种质资源保存中心。

### 1.2 方法

1.2.1 花粉的采集 于晴天采摘含苞待放的花朵,在实验室拨开花瓣,取出花药,薄摊于硫酸纸上,置于普通型60 W白炽可调台灯下13 cm左右加热,脱水2~4 h,花药囊开始破裂,散出花粉,继续烘干脱水2~3 h后,经尼龙网筛得花粉装于离心管中,避光备用(江雨生等,1989)。

1.2.2 离体萌发 为获得最适的离体萌发培养基,先后进行了6个实验,设置如下:①培养基成分处理:150 g·L<sup>-1</sup> PEG4000、100 g·L<sup>-1</sup>蔗糖、ME<sub>3</sub>(成分(单位:mg·L<sup>-1</sup>): MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 370、KNO<sub>3</sub> 950、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 85、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 880、NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 412.5、KCl 175、H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 50、Na<sub>2</sub>EDTA 7.45、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.025、KI 0.83、Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.25、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.025、CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.025、V<sub>B1</sub> 1.0、V<sub>B6</sub> 1.0)(Leduc等,1990)、BK(成分(mg·L<sup>-1</sup>): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 100、Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 300、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 200、KNO<sub>3</sub> 100)(Brewbaker等,1963),以去离子水为对照;②PEG4000处理:100、150、200、250 g·L<sup>-1</sup> PEG4000,以去离子水为对照;③基本培养基处理:在200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000(参考实验②的结果)基础上,比较基本培养基BK、ME<sub>3</sub>对花粉萌发的影响;④蔗糖处理:在ME<sub>3</sub>+200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000(参考③的结果)基础上,添加50、100、150、200 g·L<sup>-1</sup>蔗糖;⑤pH值处理:以ME<sub>3</sub>+200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000为培养基,试验不同pH值(4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0)对花粉萌发的影响;⑥培养方法处理:以ME<sub>3</sub>+200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000为培养基,pH值5.0(参考④的结果),试验固体、液体培养对花粉萌发的影响。

以上培养基均只添加所列成分,用去离子水配制,处理①~④培养基pH值为5.8,除处理⑥中有固体培养(添加6 g·L<sup>-1</sup>的琼脂)外,其余均为液体培养。萌发试验授粉在花粉采集的当天进行,将花粉混匀,用毛笔蘸取适量花粉均匀撒在培养基上培养,培养条件为20℃、黑暗。1 h后进行花粉萌发观测,重复3次。

1.2.3 花粉管生长情况 以ME<sub>3</sub>+200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000为培养基,pH值5.0为培养基,于培养后5 min、15 min、30 min、45 min、1 h、2 h、4 h、8 h、12 h定时检查花粉管的生长情况。

1.2.4 萌发率检测 花粉离体萌发以花粉管长于花粉直径为标准,萌发率等于萌发的花粉数除以总的花粉数。计数时在Olympus相差显微镜下进行,每次每个处理分别取3个固定大小视野统计,统计的花粉总数不少于60个,重复3次。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养基各成分对花粉离体萌发的影响

由表1看出,在添加BK、ME<sub>3</sub>、100 g·L<sup>-1</sup>蔗糖、150 g·L<sup>-1</sup> PEG4000的培养基上,花粉都有一定的萌发,但150 g·L<sup>-1</sup> PEG4000的效果最好,对梅花各品种的作用也相对稳定,‘淡丰后’、‘久观绿萼’、‘喧妍官粉’、‘月光玉蝶’的萌发率在40.3%~52.4%之间;而添加ME<sub>3</sub>、BK和100 g·L<sup>-1</sup>蔗糖的培养基对不同品种的梅花花粉离体培养均有一定的促进作用,萌发率从18.8%~43.2%不等,但作用均不及150 g·L<sup>-1</sup> PEG4000,由此可见,在培养基各成分中PEG4000的作用最大,是花粉离体萌发培养基中的重要成分。

表1 不同培养基成分对梅花花粉萌发的影响  
Table 1 Effects of different components of culture medium on pollen germination of Mei flower

处理 Treatment	花粉萌发率 Pollen germination ratio (%)			
	①	②	③	④
Control	2.5 d	3.1 c	2.4 d	3.2 c
BK	28.5 b	19.9 b	26.4 c	22.2 b
ME <sub>3</sub>	18.8 c	24.9 b	43.2 b	26.1 b
10% Sucrose	34.5 b	23.4 b	40.8 b	31.2 b
15% PEG4000	52.4 a	40.3 a	50.6 a	50.3 a

2.1.1 不同浓度PEG4000对梅花花粉离体萌发的影响 由表2看出:PEG4000浓度以200 g·L<sup>-1</sup>最为适合,在其培养基上,梅花品种‘淡丰后’、‘久观绿萼’、‘喧妍官粉’、‘月光玉蝶’的花粉萌发率分别高达56.3%、43.6%、80.8%、50.5%,与其它浓度下的花粉萌发率差异显著。

2.1.2 200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000和基本培养基互作对梅花花粉萌发的影响 由表3看出,以ME<sub>3</sub>+200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000能有效促进梅花花粉的萌发,梅花品种‘淡丰后’、‘久观绿萼’、‘喧妍官粉’、‘月光玉

蝶’的花粉萌发率可分别达 58.1%、45.3%、84.5%、50.7%，与 BK+200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000、对照 200 g·L<sup>-1</sup> PEG4000 相比，差异显著。

表 2 不同浓度 PEG4000 对梅花花粉萌发的影响  
Table 2 Effects of different concentrations of PEG4000 on pollen germination of Mei flower

处理 Treatment	花粉萌发率 Pollen germination ratio (%)			
	①	②	③	④
Control	2.0 d	3.5 d	5.6 c	1.2 d
10% PEG4000	46.2 b	28.5 c	53.2 b	32.4 c
15% PEG4000	53.4 a	35.9 b	56.7 b	42.5 b
20% PEG4000	56.3 a	43.6 a	80.8 a	50.5 a
25% PEG4000	37.0 c	31.2 bc	76.4 a	28.8 c

注：对照为去离子水。①‘淡丰后’，②‘久观绿萼’，③‘喧妍宫粉’④‘月光玉蝶’。

表 3 基本培养基和 PEG4000 互作条件下花粉萌发率  
Table 3 Pollen germination ratio in culture medium including PEG4000 and basic culture medium (%)

品种 Cultivars	(1)	(2)	(3)
①	42.4b	47.1b	58.1a
②	35.5b	34.9b	45.3a
③	67.6b	78.6a	84.5a
④	43.2c	47.2b	50.7a

Note: (1)200g·L<sup>-1</sup>PEG4000, (2)BK+200g·L<sup>-1</sup>PEG4000, (3)ME<sub>3</sub>+200g·L<sup>-1</sup>PEG4000.

表 4 固体、液体培养基中梅花花粉的萌发率  
Table 4 Pollen germination ratio of Mei flower in solid and liquid culture medium (%)

品种 Cultivars	固体培养 Solid culture	液体培养 Liquid culture
①	55.7a	52.9a
②	38.8a	40.3a
③	81.4a	80.6a
④	47.2a	50.3a

2.1.3 ME<sub>3</sub>+200 g·L<sup>-1</sup>PEG4000 与不同浓度蔗糖互作对梅花花粉萌发的影响 由图 1 看出，低浓度(50 g·L<sup>-1</sup>)蔗糖略促进梅花品种‘久观绿萼’花粉萌发，而‘淡丰后’的花粉萌发率略有下降，其它品种均未有明显变化；高浓度(高于 100 g·L<sup>-1</sup>)蔗糖明显抑制梅花花粉的萌发，每个品种花粉萌发率均显著降低，当蔗糖浓度达 200 g·L<sup>-1</sup>时，几乎不萌发。可见，200 g·L<sup>-1</sup>PEG4000 和低浓度蔗糖互作对梅花品种花粉萌发作用不显著，高浓度蔗糖明显抑制花粉萌发。

### 2.2 不同 pH 对梅花花粉萌发的影响

由图 2 看出，在 pH4.5~7.0 范围内，pH5.0 时，花粉萌发率最高，‘淡丰后’、‘久观绿萼’、‘喧妍宫粉’的萌发率均达到 58.6%、60.6%、85.6%，pH 升

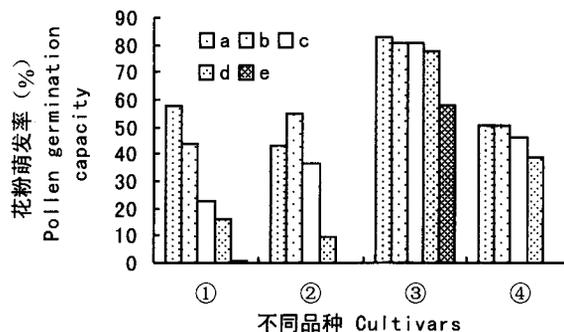


图 1 PEG4000 与蔗糖互作对梅花花粉萌发的影响  
Fig. 1 Effects of the sucrose and PEG4000 on pollen germination

a:ME<sub>3</sub>+200g·L<sup>-1</sup>PEG4000; b:50g·L<sup>-1</sup>蔗糖+ME<sub>3</sub>+200g·L<sup>-1</sup>PEG4000; c:100g·L<sup>-1</sup>蔗糖+ME<sub>3</sub>+200g·L<sup>-1</sup>PEG4000; d:150g·L<sup>-1</sup>蔗糖+ME<sub>3</sub>+200g·L<sup>-1</sup>PEG4000; e:200g·L<sup>-1</sup>蔗糖+ME<sub>3</sub>+200g·L<sup>-1</sup>PEG4000.

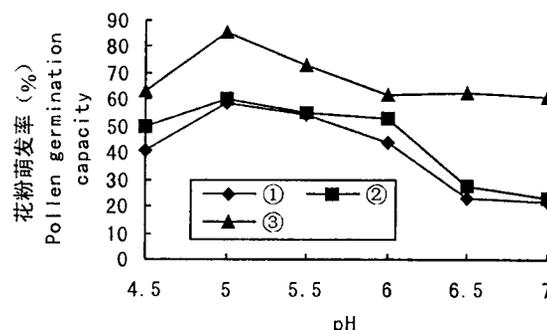


图 2 不同 pH 值对梅花花粉萌发的影响  
Fig. 2 Effects of different pH value on pollen germination

高时，萌发率显著下降。由此可知，梅花花粉离体萌发需要酸性条件。

### 2.3 培养方式对花粉萌发的影响

以上述实验筛选出的梅花花粉离体萌发最适培养基 ME<sub>3</sub>+200 g·L<sup>-1</sup>PEG4000, pH 值 5.0, 进行花粉培养，比较固体和液体培养对花粉萌发的影响。结果表明固体和液体培养对梅花品种‘淡丰后’、‘久观绿萼’、‘喧妍宫粉’、‘月光玉蝶’的花粉萌发的影响差异不显著(表 4)。但由于液体培养操作简便，花粉易散开、分布均匀，故在进行梅花花粉离体萌发时，应选择液体培养。

### 2.4 花粉管的生长情况

在 ME<sub>3</sub>+200 g·L<sup>-1</sup>PEG4000(pH5.0)培养基上，20℃、黑暗条件下，梅花花粉在培养后约 5 min 开始萌发；15 min 后几乎所有有活力花粉均开始萌发，这时花粉管长度大约为花粉直径的 2 倍；30 min

时,花粉管长度为花粉直径的4~5倍;1 h后,花粉管长度为花粉直径的7~8倍(图3-1);2h后,花粉管长度已经达到花粉直径的10倍以上;培养12 h后,花粉管生长很长,经常交错生长,不利观察(图

3-2)。因此在利用离体萌发检测花粉活力时,不宜培养过长时间,否则影响最终结果。另外,在添加了PEG4000的培养基上,花粉管较长且直,韧性较好,不易断;而在未添加PEG4000的培养基上花粉管较

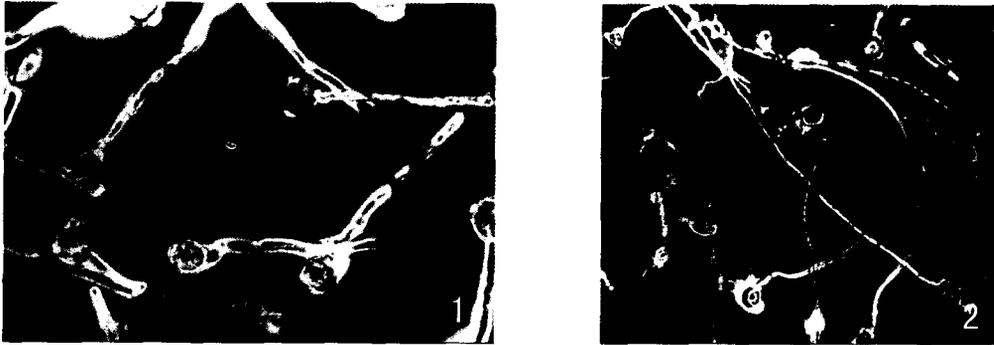


图3 梅花品种‘喧妍宫粉’花粉管生长情况

Fig. 3 The growth of pollen tubes of ‘Xuanyan Gongfen’

- ① 在液体培养基( $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000(pH5.0))上的生长情况(培养1 h); ② 在液体培养基( $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000(pH5.0))上的生长情况(培养12 h)。  
① Growth of pollen tubes at liquid medium  $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000(pH5.0) after 2 h; ② Growth of pollen tubes at liquid medium  $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000 (pH5.0) after 12 h).

短、弯曲,花粉粒和花粉管易断开。

在添加了蔗糖的培养基上,随着蔗糖浓度的升高,花粉管的生长明显受到抑制。在培养1 h后,在不含蔗糖的 $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000培养基上,花粉管生长达7~8倍花粉粒直径,在 $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000+ $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖的培养基上,花粉管长度也为花粉直径的8倍左右;但在 $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000+ $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖的培养基上,花粉管长度就仅为花粉直径的4~5倍,而 $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000+ $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖的培养基上花粉管长度就只有花粉直径的2倍,在 $ME_3 + 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000+ $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖的培养基上,花粉几乎不萌发,即使有很少能萌发,其花粉管极短。

### 3 讨论

PEG是一种高分子渗透剂,能使花粉内膜结构发生变化,改变膜表面的电荷,使膜的柔软程度和通透性提高,从而促进花粉萌发和花粉管生长。赵宏波(2005)、王四清(1993)报道PEG对菊花花粉萌发有明显促进作用。我们研究发现 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000对梅花花粉离体萌发的效果最好,过高或过低均不利于花粉的萌发。张绍铃等(2003)在研究果梅花粉离体萌发中发现,最适的液体培养基为

$100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖+ $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼酸+ $150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  PEG4000+ $0.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , pH值以6.0~6.5为宜。我们发现,低浓度( $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )的蔗糖对梅花花粉离体萌发作用不显著,而高浓度(高于 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )的蔗糖明显抑制梅花花粉的萌发;而培养基的pH值以5.0最为适宜。这与果梅存在一定的差别。

在菊花花粉离体萌发中,在单用PEG的培养基上,花粉管生长质量较差,添加了含有硼酸和钙离子的 $ME_3$ 基本培养基之后花粉管质量显著提高;在梅花中,在含有PEG4000的培养基中无论有没有添加基本培养基,其花粉管生长质量均较好,但添加 $ME_3$ 基本培养基的配方能显著促进花粉的萌发。

固体和液体培养对梅花花粉萌发的作用差异不显著,但液体培养操作简便,花粉分布均匀,且方便观察。

### 参考文献:

- Brewbaker JL, Kwack BH. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth[J]. *AM J Bot*, 50:859-865  
Jiang YS(江雨生), Gao ZJ(高铸九). 1989. Ultra low temperature(-196 °C) storage of peach and pear pollens(桃、梨花粉的超低温(-196 °C)贮藏)[J]. *Acta Agric Shanghai*(上海农业学报), 5(1):1-8

(下转第425页 Continue on page 425)

世界各地联系广泛, 区系过度性明显等几个特点。台州市植物区系的暖温带特征显著, 热带、亚热带成分也有相当大的比重。这充分说明由于本区地处浙江中部, 植物区系具有由热带向温带的过渡地带的性质。这些地理成分中, 东亚的成分, 特别是同中国—日本区系有着更密切的联系。东亚—北美间断分布型的在本区也较多, 说明本区与东亚、北美在地史上的联系以及近代地理环境的某些相似。

由于台州海域的大面积分布, 常年受大气、海洋环流的影响, 使一些海岛具冬暖夏凉, 气温适中, 光热资源丰富等特点。从属的分布区类型可看出, 海岛植物区系中以热带成分占优势(郭亮等, 1999), 且明显高于同纬度的大陆地区, 充分表明海岛植物区系较之同纬度大陆地区有更明显的热带亲缘特征。但海岛生境单一, 以及人类活动的影响, 植物区系多为广布性成分, 缺乏起源古老的孑遗植物。而西北山区有较多的中山, 地形复杂, 自中生代晚期以来, 未受到第四纪冰川的严重影响, 长期处于相对稳定的亚热带气候条件下, 且保留了较多的孑遗植物, 说明本区系历史起源具有一定的古老性。西北山区海拔较高, 气温较低, 如天台山种子植物区系中, 属的分布区类型温带成分占明显的优势(金则新, 1994)。台州西北环山, 东南濒海, 特殊的地理位置, 使得水热条件较为优越, 一些南亚热带植物得以从沿海向北延伸分布, 从属的分布区类型看, 台州热带成分的比例比相邻的内陆地区磐安(郝朝运等, 2004)、新昌(金明龙, 2004)、白云山(梅笑漫, 2004)高。

#### 参考文献:

于永福. 1999. 中国野生植物保护工作的里程碑——国家重点

- 保护野生植物名录(第 1 批)出台[J]. 植物杂志, (5): 3—11
- 王景祥, 郑朝宗. 1993. 浙江植物区系[M]//章绍尧, 丁炳扬. 浙江植物志(总论卷). 杭州: 浙江科技出版社: 8—23
- 浙江植物志编委会. 1993. 浙江植物志[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社
- Gou L(郭亮), Sun HP(孙海平), Chen XZ(陈献志), et al. 1999. Study on the flora of offshore islands in Taizhou City of Zhejiang Province(浙江省台州市海岛植物区系的研究)[J]. *J Zhejiang Univ(Agric Life Sci)*(浙江大学学报(农业与生命科学版)), 25(4): 368—372
- Hao CY(郝朝运), Liu P(刘鹏), Lu ST(吕思田), et al. 2004. Analysis on characteristics of Pan'an seed plants flora in Zhejiang Province(浙江省磐安种子植物区系的特征分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), 24(6): 497—502
- Jin ML(金明龙). 2004. Analysis of the floras of seed-plants in Xinchang, Zhejiang Province(新昌县种子植物区系的研究)[J]. *J Zhejiang Univ(Sci Edi)* 浙江大学学报(理学版), 31(1): 98—102
- Jin ZX(金则新). 1994. An analysis of the flora in Mt. Tiantai of Zhejiang(浙江天台山种子植物区系分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), 14(3): 211—215
- Li XW(李锡文). 1996. Floristic statistics and analyses of seed plants from China(中国种子植物区系统计分析)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), 18(4): 363—384
- Lou LH(楼炉煊), Jin SH(金水虎). 2000. Spermatophyta flora of Gutianshan Nature Reserve in Zhejiang(浙江古田山自然保护区种子植物区系分析)[J]. *J Beijing Fore Univ*(北京林业大学学报), 22(5): 33—39
- Mei XM(梅笑漫). 2004. A study on the flora of seed plants in Baiyun Mountain of Lishui(丽水白云山种子植物区系的研究)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究), 18(4): 363—384
- Shi DF(施德法), Guo L(郭亮), Lu HF(吕洪飞). 1996. Flora of the Taizhou Islands(台州列岛植物区系的研究)[J]. *J Zhejiang Fore Coll*(浙江林学院学报), 13(1): 48—52
- Wu ZY(吴征镒). 1991. The areal-types of Chinese genera of seed plants(中国种子植物分布区类型)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), Suppl IV(增刊 IV): 1—139

(上接第 396 页 Continue from page 396)

- Leduc N, Monnier M, Douglas GC. 1990. Germination of trinucleated pollen; formulation of a new medium for *Capsella bursa-pastoris*[J]. *Sex Plant Report*, 3: 228—235
- Wang SQ(王四清), Chen JY(陈俊愉). 1993. Pollen germination of *Dendranthema grandiflora* and some other plants of Compositae *in vitro*(菊花和几种其他菊科植物花粉的试管萌发)[J]. *J Beijing Fore Univ*(北京林业大学学报), 15(4): 56—60
- Zhang SL(张绍铃), Mei ZM(梅正敏), Chen DX(陈迪新). 2003. A study on factors affecting *in vitro* pollen germination and tube growth of *Prunus mume*(果梅花粉离体萌发及花粉管生长影响因子的研究)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中

- 国农学通报), 19(2): 21—25
- Zhang BY(张碧玉). 1983. Studies on the pollen viability of *Momordica grosvenori* Swingle and its germinating ability in storage(罗汉果花粉生活力及其贮藏能力的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 3(2): 121—126
- Zhao HB(赵宏波), Chen FD(陈发棣), Fang WM(房伟民). 2005. Pollen germination *in vitro* of chrysanthemum cultivars with small inflorescences and several species of *Dendranthema*(栽培小菊和几种菊属植物花粉离体萌发研究)[J]. *J Nanjing Agric Univ*(南京农业大学学报), 28(2): 22—27