

宽杯杜鹃贮藏花粉特性及其与 马缨杜鹃杂交的应用评价

韩聪¹ 杨秀梅^{2,3,4,5} 彭绿春^{2,3,4,5} 张露^{2,3,4,5} 宋杰^{2,3,4,5} 徐红林⁶ 解玮佳^{2,3,4,5*}

(1. 云南农业大学 园林园艺学院, 云南 昆明 650201; 2. 国家观赏园艺工程技术研究中心, 云南 昆明 650205; 3. 云南省农业科学院 花卉研究所, 云南 昆明 650205; 4. 云南省花卉育种重点实验室, 云南 昆明 650205; 5. 云南省花卉工程中心, 云南 昆明 650205; 6. 云南省昆明市金殿名胜区, 云南 昆明 650224)

摘要: 利用电镜扫描观察了宽杯杜鹃的花粉形态; 利用液体培养法比较研究了贮藏前和-80℃贮藏310 d的宽杯杜鹃花粉形态和花粉活力变化; 以-80℃贮藏310 d的宽杯杜鹃花粉为父本材料, 与马缨杜鹃进行杂交授粉, 对杂交授粉后花粉管生长和受精情况进行了观察。结果表明: 与贮藏前相比, -80℃贮藏310 d后的宽杯杜鹃花粉在形态上出现了花粉膜内陷情况, 花粉活力从83.24%降低至45.52%; 用宽杯杜鹃贮藏花粉与马缨杜鹃杂交授粉后, 宽杯杜鹃的花粉管生长正常, 在杂交授粉后19 d花粉萌发率达最高值(37.57%), 且花粉管、子房和胚珠内的杂交不亲和现象明显。

关键词: 宽杯杜鹃; 贮藏花粉; 马缨杜鹃; 杂交授粉; 花粉管; 授精

中图分类号: S685.21 文献标志码: A 文章编号: 1001-8581(2018)06-0006-06

Characteristics of Stored Pollen of *Rhododendron sinofalconeri* and Evaluation of Its Hybridization with *Rhododendron delavayi*

HAN Cong¹, YANG Xiu-mei^{2,3,4,5}, PENG Lv-chun^{2,3,4,5}, ZHANG Lu^{2,3,4,5},
SONG Jie^{2,3,4,5}, XU Hong-lin⁶, XIE Wei-jia^{2,3,4,5*}

(1. College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. National Engineering Research Center for Ornamental Horticulture, Kunming 650205, China;
3. Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;
4. Key Lab of Yunnan Flower Breeding, Kunming 650205, China;
5. Yunnan Flower Engineering Center, Kunming 650205, China;
6. Jindian Scenic Spot of Kunming City in Yunnan Province, Kunming 650224, China)

Abstract: The morphology of pollens of *Rhododendron sinofalconeri* was observed under scanning electron microscope for the first time. The pollen morphology and viability of *R. sinofalconeri* before storage and after 310-d storage at -80℃ were compared and studied by using the liquid culture method. The hybridization pollination between the pollen (male parent) of *R. sinofalconeri* stored for 310 days at -80℃ and *Rhododendron delavayi* (female parent) was conducted, and the pollen tube growth and fertilization situations after the pollination were observed. The results showed that: in comparison with the pre-storage pollens of *R. sinofalconeri*, the pollens of *R. sinofalconeri* stored for 310 days at -80℃ had an invaginated pollen membrane, and their viability decreased from 83.24% to 45.52%. After the hybridization pollination between the stored pollens of *R. sinofalconeri* and *R. delavayi*, the pollen tube of *R. sinofalconeri* grew normally, the pollen germination rate reached the maximum value (37.57%) on the 19th day after the hybridization pollination, and the incompatibility phenomenon in the pollen tube, ovary and ovule was obvious.

Key words: *Rhododendron sinofalconeri*; Stored pollen; *Rhododendron delavayi*; Hybridization pollination; Pollen tube; Fertilization

杜鹃属(*Rhododendron* L.) 是世界著名的园林观赏植物, 云南八大名花之一。常绿杜鹃亚属 [*Rhododendron* subgenus *Hymenanthes* (Bl.) Koch] 是杜鹃属中的四大亚属之一。中国西南部及毗邻的东喜马拉雅地区为常绿杜鹃亚属的分布中心和分化中心^[1]。

近年来, 一些从欧洲引进的由常绿杜鹃亚属种质资源育成的杜鹃花即“高山杜鹃”成为了我国年宵花和高档园林绿化的新秀^[2-3]。高山杜鹃育种工作的滞后, 导致我国高山杜鹃种质利用率低下, 产业发展受阻^[4]。挖掘和引入本土种质资源进行育种开发对于

收稿日期: 2018-01-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560225、31760231、31760210、31760229); 云南省科技计划项目(2015BB013); 云南省花卉育种重点实验室开放基金项目(FKL-201603)。

作者简介: 韩聪(1998—), 女, 内蒙古霍林郭勒人, 主要从事园艺植物育种研究。* 通讯作者: 解玮佳。

高山杜鹃产业发展与提升具有重要意义。

笔者通过多年的资源调查评价后发现,常绿杜鹃亚属树形杜鹃亚组[Subsect. Aroborea (Tagg) Sleumer]的马缨杜鹃(*Rhododendron delavayi* Franch.)花色艳红,观赏性高,耐旱性强,是育种的优良亲本材料^[5];而濒危杜鹃物种杯毛杜鹃亚组(Subsect. Falconera Sleumer)的宽杯杜鹃(*Rhododendron sinofalconeri* Balf.f.)花黄色且叶大如榕叶,观赏性好,资源有待开发^[6-7]。以此为背景,笔者开展了以马缨杜鹃为母本,以宽杯杜鹃为父本的杂交育种工作。然而,昆明地区的马缨杜鹃在2月底~3月底开花,而原生地的宽杯杜鹃则在4月底~5月底开花,两者杂交存在花期不遇的问题。笔者的研究表明,宽杯杜鹃的花粉在室温保存1个月后花粉便失去活力。而现有的研究报道表明,超低温(-80℃)冷藏能够实现杜鹃花粉的长期贮藏^[8]。为了实现以上两种野生种质的杂交育种,本试验对宽杯杜鹃的花粉进行超低温贮藏,对其贮藏前后的花粉形态及活性进行研究后,用贮藏花粉进行杂交授粉,并对其杂交授粉后的花粉管萌发情况及受精情况进行观察,以期为今后开展亚组间花期不遇的杜鹃花杂交育种提供参考依据,有效推进我国的杜鹃花育种步伐,最终实现本土资源的商品化开发利用。

1 材料和方法

1.1 试验地点

试验地点设于云南省昆明市晋宁县的云南省农业科学院花卉研究所春禾试验基地。

1.2 试验材料

以5~6年生、开花结果良好的马缨杜鹃植株为母本植株;以宽杯杜鹃为父本材料,其花粉于2015年4月采自云南文山老君山薄竹峰(23°30'N,103°94'E,海拔2900m)。

1.3 试验方法

1.3.1 宽杯杜鹃花粉的收集 于2015年4月,从处于盛花期、花药呈絮状散出的宽杯杜鹃花朵中取新鲜花粉,放置于室内干燥24~48h,见花粉粒分离开来时,用毛笔蘸取花粉,在完成其花粉形态及活力测定后,将其转移至15mL离心管中,然后用封口膜将离心管口密封,将离心管保存于-80℃中待用。

1.3.2 宽杯杜鹃花粉贮藏前后的花粉形态观察 采用扫描电镜法对贮藏前(0d)、-80℃贮藏310d的宽杯杜鹃花粉形态进行观察。参照毛子军等^[9]的方法,用Erdtman醋酸酐分解法处理供试的宽杯杜鹃花粉。用双面胶带纸将处理后的花粉固定于样品台上,经过喷金镀膜后,在日立S-450扫描电镜(SEM)下观察、拍照并记录。随机选取约30粒花粉,测量形态

正常花粉的极轴长(P)、赤道轴长(E),求得平均值,并计算其比值(P/E)。

1.3.3 宽杯杜鹃花粉贮藏前后的花粉活力测定 采用液体培养法测定宽杯杜鹃贮藏前(0d)、-80℃贮藏310d的花粉活力。试验采用的花粉液体萌发培养液配方为0.01% H_3BO_3 + 0.01% $CaCl_2$ + 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0.01% KH_2PO_4 + 10%蔗糖。用毛笔蘸取离心管中的花粉,将它们均匀地洒落在盛有液体花粉萌发培养液的6mL培养皿中,置25℃恒温培养室中培养6h后取出,在Leica DM6000B荧光显微镜下观察花粉的萌发情况并拍照,统计其萌发率;用Image-Pro Plus 6.0软件处理测定其花粉管萌发长度。以花粉管长度超过花粉直径为花粉萌发标准。花粉萌发率(%) = 萌发花粉数/观察花粉数 × 100%。每处理重复3次,每重复选取5个视野,每个视野花粉数不少于100粒。

1.3.4 宽杯杜鹃贮藏花粉与马缨杜鹃杂交授粉 于2016年2~3月,以马缨杜鹃为母本,-80℃贮藏310d后的宽杯杜鹃花粉为父本材料,进行人工杂交授粉,在杂交套袋后1周去除杂交袋。

1.3.5 杂交授粉后的花粉管生长及授精观察 于2016年2~3月杂交授粉后,参照Williams等^[10]的方法进行花柱压片。分别取马缨杜鹃×宽杯杜鹃授粉后4、7、10、14、17、21d的马缨杜鹃雌蕊放入FAA固定液(甲醛:冰醋酸:70%乙醇=1:1:18)中固定24h,随后转入70%的酒精中,于4℃冰箱中保存备用。在压片前,将固定后的雌蕊用蒸馏水冲洗至无色,放入8mol/L NaOH溶液中于60℃软化6h,再用蒸馏水冲洗至无色,然后用0.1%水溶性苯胺蓝染色24h。在解剖镜下剥除子房壁后,将材料放置于载玻片中央,吸水并滴加1~2滴甘油,盖上盖玻片,在Leica DM6000B荧光显微镜下观察杂交授粉后的宽杯杜鹃花粉管在马缨杜鹃雌蕊中的生长情况及马缨杜鹃胚珠的授精情况。每处理重复5次。

1.3.6 数据处理 试验数据经SPSS 16.0统计软件处理,分析差异显著性。

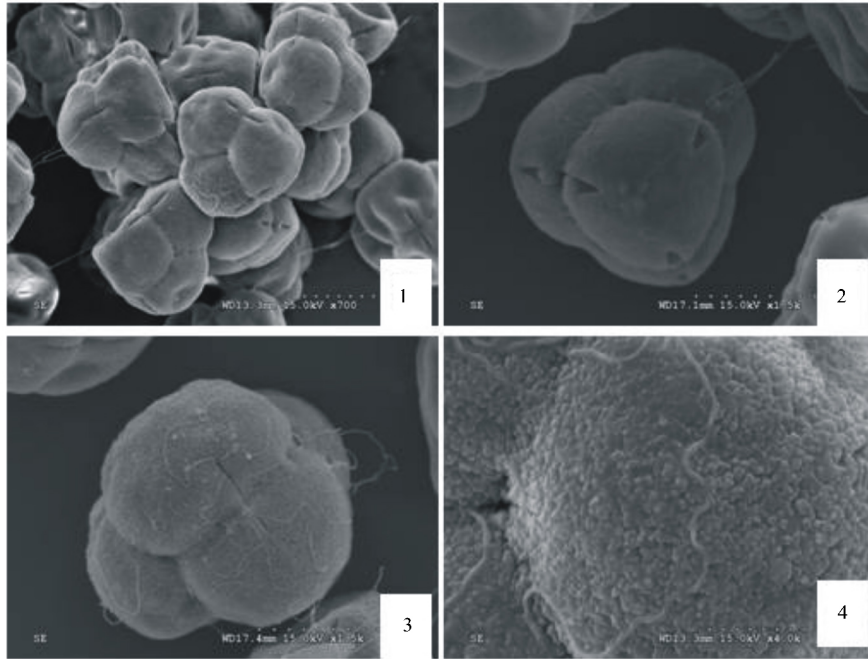
2 结果与分析

2.1 宽杯杜鹃花粉贮藏前后的花粉形态及其活力变化

2.1.1 宽杯杜鹃贮藏前后的花粉形态变化 电镜扫描结果显示,贮藏前宽杯杜鹃花粉为复合型四合体花粉(图1-1),呈正四面体排列,单粒花粉为近球形,花粉表面有粘丝。极面观是1粒在上、3粒在下或为3粒在上、1粒在下,呈圆角正三角形,具3孔沟,呈120°等距离排列,清晰可见沟内萌发孔(图1-2);赤

道面观为2粒在上、2粒在下(图1-3);花粉外壁纹饰为不规则块状裂纹,表面由大小不一的瘤状颗粒排列,具细网纹(图1-4)。四合花粉的直径为47.78~59.34 μm ,平均56.56 μm ;极轴长(P)为30.67~

35.48 μm ,平均33.24 μm ;赤道轴长(E)为23.67~30.71 μm ,平均27.39 μm ;极轴/赤道轴(P/E)为1.16~1.29,平均1.21。



1: 花粉群体($\times 700$); 2: 花粉极面观($\times 1500$);
3: 花粉赤道面观($\times 1500$); 4: 花粉外壁纹饰($\times 4000$)。

图1 贮藏前宽杯杜鹃的花粉形态

从图2可以看出,经过 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温贮藏310 d后的宽杯杜鹃花粉形态发生了很大变化,其四合体花粉膜出现不同程度的向内凹陷、皱缩(图2-1),单个花粉粒从原来的圆角正三角形变成了尖角正三角形(图2-2、图2-3);将其花粉外壁放大来看(图2-4),发现其花粉膜质表面出现了明显的龟裂现象。

2.1.2 宽杯杜鹃贮藏前后的花粉活力 从宽杯杜鹃的花粉离体萌发结果(表1)来看,其贮藏前的花粉活力为 $83.24\% \pm 5.72\%$,在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温贮藏310 d后,其花粉活力下降至 $45.52\% \pm 4.12\%$ 。从花粉管萌发长度来看,贮藏后的花粉管萌发长度($0.13\text{ mm} \pm 0.06\text{ mm}$)显著低于贮藏前的花粉管萌发长度($0.73\text{ mm} \pm 0.13\text{ mm}$)。

表1 宽杯杜鹃花粉贮藏前后的花粉活力及其所萌发的花粉管长度

时间	花粉活力/%	花粉所萌发的花粉管长度/mm
贮藏前	83.24 ± 5.72	0.73 ± 0.13
$-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏310 d后	45.52 ± 4.12	0.13 ± 0.06

2.2 宽杯杜鹃贮藏花粉(δ)与马缨杜鹃(η)杂交授粉后的花粉管生长及授精效果

从表2可以看出,宽杯杜鹃贮藏花粉在马缨杜鹃柱头表面的萌发率呈缓慢上升的趋势,即从授粉后4 d的 $12.71\% \pm 13.93\%$ 逐渐上升至授粉后19 d的 $37.57\% \pm 17.68\%$,且授粉后4 d的花粉萌发率显著地低于其余5个时间的,而在其余5个时间间花粉萌发率无显著差异。从授粉后不同时间的花粉管生长及授精效果来看,宽杯杜鹃贮藏花粉的花粉管在授粉后7 d即可到达子房,进入胚珠而完成授精作用。

表2 宽杯杜鹃贮藏花粉与马缨杜鹃杂交授粉后的花粉管生长及受精情况

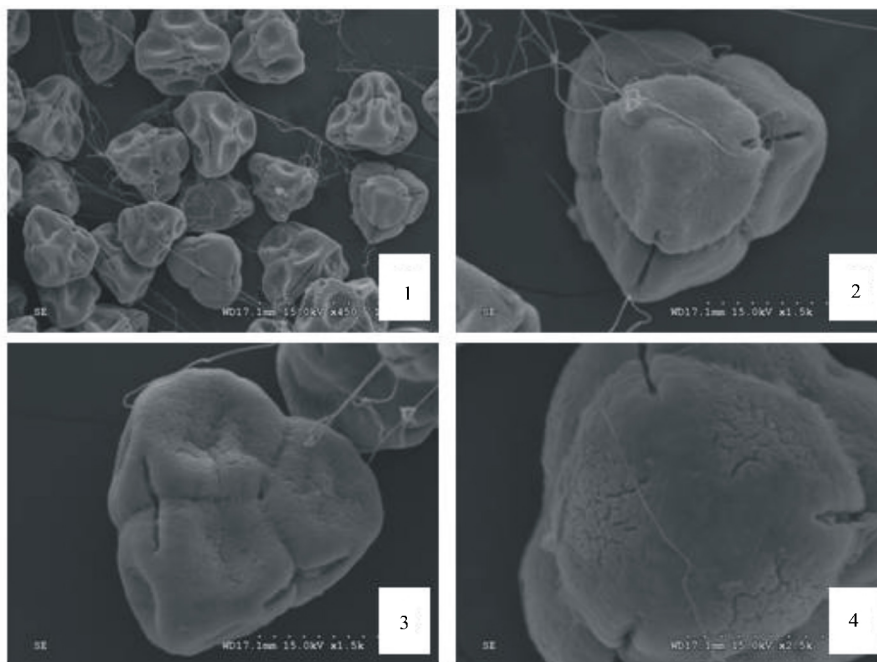
授粉后天数/d	柱头表面的花粉萌发率/%	花粉管到达雌蕊的部位	授精与否
4	$12.71 \pm 13.93\text{ a}$	花柱中部4/5处	否
7	$26.83 \pm 7.67\text{ b}$	子房	是
10	$31.00 \pm 11.12\text{ b}$	子房	是
14	$34.02 \pm 6.53\text{ b}$	子房	是
17	$36.11 \pm 15.16\text{ b}$	子房	是
19	$37.57 \pm 17.68\text{ b}$	子房	是

注:同列数据后附不同小写字母表示差异达到显著水平。

从宽杯杜鹃贮藏花粉与马缨杜鹃杂交授粉后花粉管生长的荧光显微观察结果(图3)来看:在授粉后4 d,花粉在柱头表面萌发(图3-1),部分花粉管出现胼胝质异常沉积现象(图3-1),花粉管在花柱中的

生长情况良好(图 3-4),但尚未到达子房(图 3-7);在授粉后 10 d,柱头表面的花粉管异常情况增多,花粉管出现增粗变大、胼胝质塞等异常现象(图 3-2),在花柱内的花粉管亦出现了增粗、胼胝质塞等异常现象(图 3-5),在此时期花粉管已进入子房,胚珠内亦

出现胼胝质异常沉积现象(图 3-8);在授粉后 21 d,花粉管在柱头表面(图 3-3)、花柱(图 3-6)、子房和胚珠(图 3-9)都有胼胝质异常沉积现象。从观察结果来看,宽杯杜鹃贮藏花粉与马缨杜鹃杂交授粉后,其花粉管能正常生长,并完成授精作用。



1: 花粉群体($\times 450$); 2: 花粉极面观($\times 1500$);
3: 花粉赤道面观($\times 1500$); 4: 花粉外壁纹饰($\times 2500$)。

图 2 宽杯杜鹃在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏 310 d 后的花粉形态

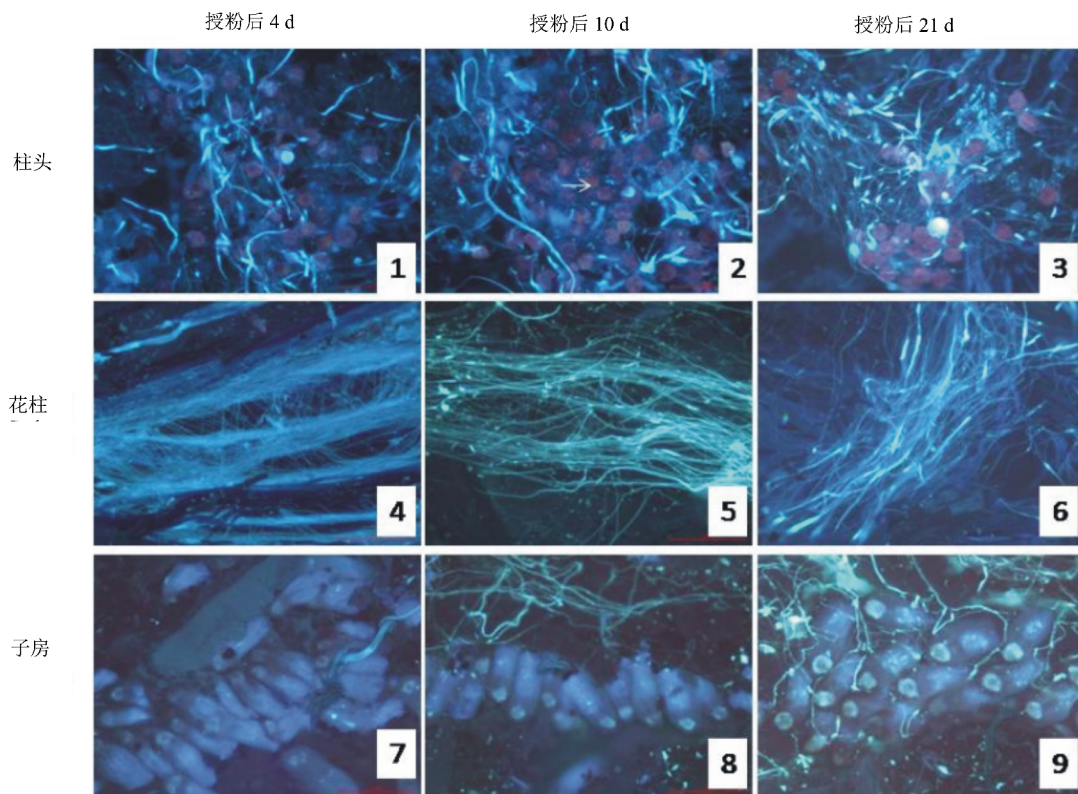
3 讨论与结论

花粉形态具有很强的遗传保守性,其固有的轮廓、纹饰、萌发孔数目、位置等特征常用于植物分类鉴定。周兰英等^[11]研究认为,杜鹃属花粉外壁纹饰和萌发孔长度不宜作为亚属划分依据,但四合体直径可作为划分亚属的参考指标。本研究中的宽杯杜鹃花粉四合体的直径明显大于周兰英等^[11]观测的 26 种杜鹃花粉四合体的直径,而且宽杯杜鹃的单粒花粉形状及四合体直径都与其研究的同亚组的大王杜鹃(*R. rex*)也有明显差异。王玉国等^[12]也有类似发现,即同隶属于云锦杜鹃亚组的广福杜鹃(*R. kwangfuense*)与云锦杜鹃(*R. fortunei*)在花粉大小和萌发孔大小上有较大差异。因此,应用花粉形态进行杜鹃花植物分类鉴定时,应当慎重。

为解决杜鹃花杂交育种中的花期不遇问题而开展的花粉贮藏研究已有报道^[8,13]。陆琳等对不同高山杜鹃花粉活力及花粉贮藏方法的研究结果显示,低温冷冻是高山杜鹃花粉的最佳贮藏条件,但具体的花粉贮藏条件因品种不同而有所差异,研究中的黄杯杜鹃花粉在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏 120 d 后的花粉萌发率仍达到

45%。在本试验研究中,宽杯杜鹃花粉在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏 310 d 后其花粉活力虽较贮藏前有所下降,但仍具有较高的萌发率,可作为育种材料来应用。本试验结果与陆琳等^[8]的研究结果相似。而杨华等^[13]对马银花(*R. ovatum*)花粉萌发和贮藏特性的研究结果认为,在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏花粉的萌发率随贮藏时间的延长而下降,而在贮藏 120 d 时, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏的花粉活力较室温($22\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$)、 $3.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏的差,仅有 14.64%。在低温贮藏过程中,花粉细胞内参与呼吸作用等生理过程的一些生物大分子物质比如脂、糖、蛋白质等以及酶活性均会发生一系列变化。耿兴敏等^[14]研究发现, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存处理后的唐菖蒲花粉的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性增强,从而减轻了低温对花粉膜质过氧化和膜系统的伤害程度。杨秀莲等^[15]对海州常山花粉低温贮藏及其生理生化特性的研究也有类似的发现,即海州常山花粉通过提高其自身的 SOD、POD 活性,以及增加其可溶性糖和可溶性蛋白含量来增强其抗寒性,维持自身活力,从而实现其在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温下的长期贮藏。在本试验中, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏 310 d 的宽杯杜鹃花粉外壁出

现了内陷、皱缩等问题,这可能与其花粉膜质过氧化造成的膜系统受害有关。



1: 授粉后 4 d, 宽杯杜鹃花粉在马缨杜鹃柱头上萌发, 花粉管出现胼胝质沉积现象($\times 20$); 2: 授粉后 10 d, 宽杯杜鹃花粉管在马缨杜鹃柱头上出现胼胝质沉积($\times 20$); 3: 授粉后 21 d, 宽杯杜鹃花粉管在马缨杜鹃柱头上出现大量胼胝质沉积($\times 20$); 4: 授粉后 4 d, 宽杯杜鹃花粉管在马缨杜鹃花柱中正常生长, 少有胼胝质沉积($\times 20$); 5: 授粉后 10 d, 宽杯杜鹃花粉管在马缨杜鹃花柱中出现胼胝质沉积($\times 20$); 6: 授粉后 21 d, 宽杯杜鹃花粉管在马缨杜鹃花柱中出现大量的胼胝质沉积; 7: 授粉后 4 d, 宽杯杜鹃花粉管未到达马缨杜鹃子房, 马缨杜鹃子房和胚珠内少有胼胝质沉积($\times 20$); 8: 授粉后 10 d, 宽杯杜鹃花粉管到达马缨杜鹃子房并进入胚珠, 马缨杜鹃胚珠内出现胼胝质沉积($\times 20$); 9: 授粉后 21 d, 宽杯杜鹃大量花粉管达到子房并进入胚珠, 马缨杜鹃胚珠内胼胝质沉积明显增多($\times 20$); P: 花粉粒; PT: 花粉管; O: 胚珠。

图3 宽杯杜鹃贮藏花粉与马缨杜鹃杂交授粉后花粉萌发、花粉管生长及授精过程

杜克兵等^[16]对不同贮藏条件下杨树花粉活力的变化及隔年杂交授粉的应用进行可行性研究后认为, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存 1~2 年后的杨树花粉用于常规杂交育种是可行的, 且方法简单、经济。本试验发现, 宽杯杜鹃贮藏花粉在马缨杜鹃雌蕊上能够正常萌发, 其花粉管在马缨杜鹃花柱中亦能正常生长, 表明利用贮藏花粉来解决宽杯杜鹃与马缨杜鹃花期不遇问题, 从而开展两种杜鹃的常规杂交育种是切实可行的。

杂交育种是杜鹃花新品种培育的主要手段^[17]。杜鹃花属中不同亚属、亚组间杂交通常很难或不可能实现^[18-19], 但也有成功的研究报道^[20-22]。在本试验中, 马缨杜鹃与宽杯杜鹃杂交的花粉管在生长过程中出现膨大、变粗及胼胝质沉积等异常现象, 这与 Williams 等^[10] 研究报道的杜鹃花种间杂交不亲和障碍表现一致, 证明两种杜鹃杂交存在不亲和现象。在整

个杂交授粉试验中, 宽杯杜鹃花粉与马缨杜鹃雌蕊如何互作, 马缨杜鹃雌蕊发生了怎样的生理变化, 其基因如何表达等问题, 还有待于今后的进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 闵天禄, 方瑞征. 杜鹃属的地理分布及其起源问题的探讨[J]. 云南植物研究, 1979, 1(2): 17-28.
- [2] 解玮佳, 王继华, 卢红春, 等. 21 个高山杜鹃引进品种的亲本分析[J]. 河南农业大学学报, 2015, 49(5): 622-627.
- [3] 解玮佳, 唐毓玮, 宋杰, 等. 基于灰色关联度分析法的高山杜鹃品种综合评价[J]. 河南农业大学学报, 2017, 51(4): 513-520.
- [4] Wu H, Yang X M, Shao H M, et al. Germplasm resource base for rhododendron horticulture: status, problems and countermeasures [J]. Biodiversity Science, 2014, 21(5): 628

- 634.
- [5] Cai Y F, Li S F, Xie W J, et al. How do leaf anatomies and photosynthesis of three *Rhododendron* species relate to their natural environments? [J]. *Botanical Studies*, 2014(55): 36-44.
- [6] Gibbs D, Chamberlain D, Argent G. The red list of *Rhododendrons* [M]. BGC Descanso House, 2011: 87.
- [7] Cox K. New rhododendrons [J]. RHS - Publications: The - Garden, 2013 (1): 46-47.
- [8] 陆琳, 彭绿春, 宋杰, 等. 不同高山杜鹃品种花粉活力测定及贮藏方法研究 [J]. *山西农业科学*, 2016, 44(2): 175-178.
- [9] 毛子军, 杨永富, 侯丽君. 东北杜鹃花科 4 属植物花粉形态的研究 [J]. *植物研究*, 2000, 20(2): 168-174.
- [10] Williams E G, Knox R B, Rouse J L. Pollination subsystems distinguished by pollen tube arrest after incompatible interspecific crosses in *Rhododendron* [J]. *Journal of Cell Science*, 1982, 53: 255-277.
- [11] 周兰英, 王永清, 张丽. 26 种杜鹃属植物花粉形态及分类学研究 [J]. *林业科学*, 2008, 44(2): 55-63.
- [12] 王玉国, 李光照, 漆小雪, 等. 杜鹃花属植物花粉形态及其分类学意义 [J]. *广西植物*, 2006, 26(2): 113-119.
- [13] 杨华, 宋绪忠. 马银花花粉萌发和贮藏特性 [J]. *浙江林业科技*, 2015, 35(1): 49-53.
- [14] 耿兴敏, 黄蓓丽, 罗凤霞, 等. 唐菖蒲花粉低温保存过程中的生理生化特征 [J]. *西北植物学报*, 2011, 31(7): 1417-1421.
- [15] 杨秀莲, 林燕青, 王良桂. 海州常山花粉低温贮藏及其生理生化特征研究 [J]. *西北植物学报*, 2015, 35(9): 1808-1814.
- [16] 杜克兵, 许林, 涂炳坤, 等. 不同贮藏条件下杨树花粉活力变化及隔年杂交授粉应用的可行性研究 [J]. *华中农业大学学报*, 2007, 26(3): 385-389.
- [17] 张长芹. 杜鹃花 [M]. 北京: 中国建筑出版社, 2003: 188.
- [18] Sax K. Chromosome stability in the genus *Rhododendron* [J]. *American Journal of Botany*, 1930, 17: 247-251.
- [19] 解玮佳, 李世峰, 李树发, 等. 高山杜鹃与大喇叭杜鹃种间杂交过程的观察研究 [J]. *西北植物学报*, 2012, 32(12): 2432-2437.
- [20] Cowan J M. The significance of *Rhododendron* 'Grierdal' [M]. *The Rhododendron Yearbook*, 1946: 48-54.
- [21] Akihide O, Kenichi S. Cross incompatibility between *Rhododendron* sect. *Tsutsusi* species and *Rhododendron japonicum* (A. Gray) J. V. Suringar f. *flavum* Nakai. J. Japan [J]. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 2004, 73(5): 453-459.
- [22] 解玮佳, 王继华, 彭绿春, 等. 大白杜鹃与露珠杜鹃杂交亲和性及其杂交果实发育动态研究 [J]. *江西农业大学学报*, 2016, 38(1): 90-96.
- [23] 张超仪, 耿兴敏. 六种杜鹃花植物花粉活力测定方法的比较研究 [J]. *植物科学学报*, 2012, 30(1): 92-99.
- [24] Zhang Y J, Jin X F, Ding B Y, et al. Pollen morphology of *Rhododendron* subgen. *Tsutsusi* and its systematic implications [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 47(2): 123-138.
- [25] Joonmoh P, Unsook S. Pollen morphology of the genus *Rhododendron* (Ericaceae) in Korea [J]. *Journal Korean For Soc*, 2010, 99(5): 663-672.

(责任编辑: 黄荣华)