

路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾花粉形态及 种间杂交亲和性研究

许 荔, 黄苏珍^①, 原海燕

(江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014)

摘要: 使用扫描电子显微镜(SEM)观察了路易斯安那鸢尾(*Louisiana Iris*)品种‘梦娣达’(‘Mentida’)和红籽鸢尾(*Iris foetidissima* Linn.)的花粉形状、外壁纹饰和大小;同时,以路易斯安那鸢尾为母本、红籽鸢尾为父本进行杂交和路易斯安那鸢尾自交,分析了杂交和自交授粉后花粉管生长状况及雌蕊中保护酶(包括SOD和POD)活性和内源激素(包括IAA、GA₃、ZR和ABA)含量的动态变化。结果表明:路易斯安那鸢尾花粉粒近扁球形,外壁纹饰为细网状,极轴和赤道轴长度分别为81.71和58.00 μm;红籽鸢尾花粉粒近长球形,外壁纹饰为显著粗网状,极轴和赤道轴长度分别为91.80和38.23 μm,表明二者的花粉形态差异明显。与自交组相比,杂交组的花粉萌发和花粉管生长相对滞后,授粉后48 h仅有少量花粉管到达花柱基部,且伴有花粉管末端弯曲及在柱头表面回转、盘结等现象。在授粉后2 h内自交组雌蕊的SOD和POD活性和IAA含量均高于杂交组;授粉后8~12 h自交组雌蕊的IAA含量低于杂交组;授粉后12~24 h自交组雌蕊的GA₃和ZR含量均低于杂交组;授粉后多数时段自交组雌蕊的ABA含量低于杂交组。说明雌蕊中的高水平SOD和POD活性以及IAA含量和低水平ABA含量有利于柱头识别花粉及花粉萌发,而雌蕊中的低水平IAA、GA₃和ZR含量则有利于花粉管的生长。综合分析结果表明:路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾种间杂交存在一定程度的受精前障碍,可能是导致其种间杂交不亲和的原因之一。

关键词: 鸢尾属; 种间杂交; 花粉形态; 花粉管生长; 保护酶活性; 内源激素含量

中图分类号: Q944.42; S682.1⁺9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2015)01-0077-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2015.01.11

Studies on pollen morphology and interspecific hybridization compatibility of Louisiana Iris and *Iris foetidissima* XU Li, HUANG Suzhen^①, YUAN Haiyan (Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2015, 24(1): 77-83

Abstract: Shape, extine ornamentation and size of pollens of Louisiana Iris ‘Mentida’ and *Iris foetidissima* Linn. were observed by scanning electron microscope (SEM), meanwhile, interspecific hybridization using Louisiana Iris as female parent and *I. foetidissima* as male parent and self pollination of Louisiana Iris were carried out, and pollen tube growth status and dynamic changes of protective enzyme (including SOD and POD) activity and endogenous hormone (including IAA, GA₃, ZR and ABA) content in pistil after hybrid and self pollinations were analyzed. The results show that pollen grain of Louisiana Iris is suboblate with fine reticulate extine ornamentation, lengths of its polar and equatorial axes are 81.71 and 58.00 μm, respectively; pollen grain of *I. foetidissima* is subprolate with obviously rough reticulate extine ornamentation, lengths of its polar and equatorial axes are 91.80 and 38.23 μm, respectively, indicating that there are obvious differences between their pollen morphology. Compared to self group, pollen germination and pollen tube growth of hybrid group are relatively backward, and only a few pollen tubes reach the base of style after pollination 48 h and accompany with phenomena of terminal bending, rotating and wind round in stigma surface, etc. After pollination in 2 h, SOD and POD

收稿日期: 2014-07-11

基金项目: 江苏省科技支撑计划项目(BE2012349)

作者简介: 许 荔(1990—),女,江苏徐州人,硕士研究生,主要从事鸢尾遗传与育种研究。

^①通信作者 E-mail: hsz1959@163.com

activities and IAA content in pistil of self group all are higher than those of hybrid group; after pollination 8–12 h, IAA content in pistil of self group is lower than that of hybrid group; after pollination 12–24 h, both GA₃ and ZR contents in pistil of self group are lower than those of hybrid group; and at most times after pollination, ABA content in pistil of self group is lower than that of hybrid group. It is meant that high level of SOD and POD activities and IAA content, low level of ABA content in pistil are beneficial to stigma to recognize pollen and pollen germination, while low level of IAA, GA₃ and ZR contents in pistil favors growth of pollen tube. The comprehensive analysis result indicates that there is pre-fertilization barrier at a certain degree in interspecific hybrid of Louisiana Iris and *I. foetidissima*, it might be one of reasons leading to their interspecific hybrid incompatibility.

Key words: *Iris* Linn.; interspecific hybridization; pollen morphology; pollen tube growth; protective enzyme activity; endogenous hormone content

鸢尾属 (*Iris* Linn.) 植物大多具有较高的观赏价值,既可观花又可观叶,是优良的庭园绿化材料^[1]。中国拥有丰富的鸢尾属植物资源,但仅有少数种类被充分利用,大多数种类尚未得到挖掘、开发和应用,并且目前国内应用的鸢尾属植物的主要栽培品种多数引自国外^[2]。

种间杂交可以打破物种间的界限,藉此获得更加丰富的变异类型,是植物种质创新研究和培育新品种的重要手段之一。然而,鸢尾属植物普遍存在种间远缘杂交不亲和障碍,种间杂交的亲合力极弱,很难获得杂交种子^[3-7]。不亲和障碍主要分为受精前障碍和受精后障碍两大类型,其中,受精前信号能否被有效传导是花粉管能否顺利进入胚囊并完成受精的关键环节^[8]。目前,关于鸢尾属植物远缘杂交不亲和障碍的研究主要集中在授粉后花粉管行为观察、提前授粉及激素涂抹柱头破除其杂交不亲和障碍等方面^[9-11],而关于鸢尾属植物杂交亲本的花粉形态和外壁纹饰对花粉萌发和受精进程的影响、不亲和授粉引起的保护酶系统和内源激素的协同变化等方面的研究尚未见报道。

红籽鸢尾 (*Iris foetidissima* Linn.) 原产于西欧和非洲北部等地,具有较高的观赏价值,是集观花、观叶和观果为一体的常绿地被植物,并且具有耐寒性强、在长江中下游地区四季常绿、适应性强及耐粗放管理等优良特性;但红籽鸢尾的花朵较小且花色单一(只有黄色和淡紫色),在一定程度上影响了该种的推广和应用。路易斯安那鸢尾 (*Louisiana Iris*) 是鸢尾属植物中最具观赏价值的类群之一,不仅花大、色艳、花色丰富,还兼具适应性强、耐寒、耐旱及水生等多种特性,在国外早已被广泛应用。为此,作者所在项目组尝试利用杂交手段将路易斯安那鸢尾优良的花部性状转入红籽鸢尾中,以期获得花大且花色丰富的杂种后

代。前期的实验结果表明:以红籽鸢尾为母本、路易斯安那鸢尾为父本进行杂交,可以获得少量的杂交种子,但反交后却未能获得杂交种子。

为了明确路易斯安那鸢尾与红籽鸢尾间的杂交不亲和障碍机制,作者对路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾的花粉形态及大小进行了观察比较,并以路易斯安那鸢尾为母本、红籽鸢尾为父本进行杂交实验,同时对路易斯安那鸢尾进行自交实验,对杂交和自交授粉后花粉管生长状况以及雌蕊中保护酶活性和内源激素含量的变化进行比较研究,以期探讨二者反交时低亲和性的机制,为克服鸢尾属植物种间杂交的不亲和障碍和成功获得具有优良观赏性状的杂种后代提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的红籽鸢尾和路易斯安那鸢尾品种‘梦娣达’(‘Mentida’)均种植于江苏省·中国科学院植物研究所鸢尾种质资源圃。

1.2 方法

1.2.1 花粉形态观察 随机选取路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾的鲜花各3朵,待花药开裂后收集花粉;花粉于40℃条件下干燥,用解剖针将干燥花粉均匀地弹在黏有双面导电胶的金属载台上,用IB-5型离子溅射仪(日本EIKO公司)镀金后,在Hitachi S-3000N扫描电子显微镜(日本Hitachi公司)下分别观察花粉的形状和外壁纹饰,并测量花粉极轴和赤道轴的长度。每种植物选5粒花粉粒,均重复观测3次。

1.2.2 杂交授粉方法 以路易斯安那鸢尾为母本、红籽鸢尾为父本进行种间杂交,并以路易斯安那鸢尾自交作为对照。在母本开花前2d对母本的花进行人

工去雄套袋处理;在母本开花当天柱头分泌大量黏液(8:00至11:00)时,收集父本的新鲜花粉并混匀;用毛笔将新鲜花粉涂抹在母本的柱头上进行人工授粉,授粉后立即对母本继续套袋隔离,杂交组和自交组均授粉40朵花以上。分别于授粉后2、4、8、12、24和48 h取母本的雌蕊,用FAA固定液(甲醛、冰乙酸和体积分数70%乙醇按体积比1:1:18配制)固定后,置于4℃条件下保存,用于花粉管生长的观察;取未授粉及授粉后2、4、8、12和24 h的母本雌蕊,用液氮速冻后置于-70℃条件下保存,用于保护酶活性和内源激素含量的测定。

1.2.3 花粉管生长的观察 参照毕晓颖等^[9]和Teng等^[12]的方法观察杂交授粉和自交授粉后花粉管的生长状况。将雌蕊从FAA固定液中取出,用蒸馏水冲洗3次,加入1 mol·L⁻¹ NaOH溶液并置于60℃水浴中软化至透明;用质量体积分数0.1%水溶性苯胺蓝溶液(用0.1 mol·L⁻¹ K₃PO₄溶液配制)染色过夜;甘油封片后,在Zeiss Axioskop 40荧光显微镜(德国Zeiss公司)下观测并拍照。每个处理取3朵花,每朵花选取3个雌蕊分别进行观察。

1.2.4 保护酶活性及内源激素含量的测定 对雌蕊中的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性以及生长素(IAA)、赤霉素(GA₃)、玉米核苷素(ZR)和脱落酸(ABA)含量进行测定。其中,SOD活

性测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法^{[13]167-168};POD活性测定采用愈创木酚法^{[13]164-165};IAA、GA₃、ZR和ABA含量测定采用酶联免疫法(ELISA)^[14],均由中国农业大学农学与生物技术学院完成。每个处理取3朵花,每朵花选取1个雌蕊进行各项指标测定。

1.3 数据处理及分析

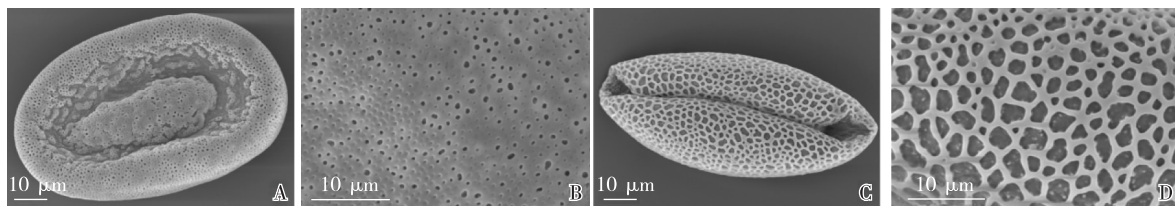
用EXCEL 2010和SPSS 17.0软件对数据进行统计和分析,并绘制相关图表。

2 结果和分析

2.1 花粉粒形态特征比较

在扫描电镜下路易斯安那鸢尾与红籽鸢尾的花粉粒形状和外壁纹饰有明显差异。路易斯安那鸢尾的花粉粒近扁球形(图1-A),外壁纹饰为细网状,且网眼中无颗粒(图1-B);红籽鸢尾的花粉粒近长球形(图1-C),外壁纹饰为显著粗网状,且网眼中具有稀疏颗粒(图1-D)。

由测量结果(表1)可见:路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾的花粉大小也有明显差异。红籽鸢尾花粉的赤道轴长度为38.23 μm,小于路易斯安那鸢尾(58.00 μm);而红籽鸢尾花粉的极轴长度(91.80 μm)和极轴/赤道轴长度比值(2.41)均大于路易斯安那鸢尾(分别为81.71 μm和1.41)。



A: 路易斯安那鸢尾花粉形状 Pollen shape of Louisiana Iris; B: 路易斯安那鸢尾花粉外壁纹饰 Extine ornamentation of pollen of Louisiana Iris; C: 红籽鸢尾花粉形状 Pollen shape of *Iris foetidissima*; D: 红籽鸢尾花粉外壁纹饰 Extine ornamentation of pollen of *Iris foetidissima*.

图1 路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾的花粉形状和外壁纹饰的比较

Fig. 1 Comparison on shape and extine ornamentation of pollens of Louisiana Iris and *Iris foetidissima* Linn.

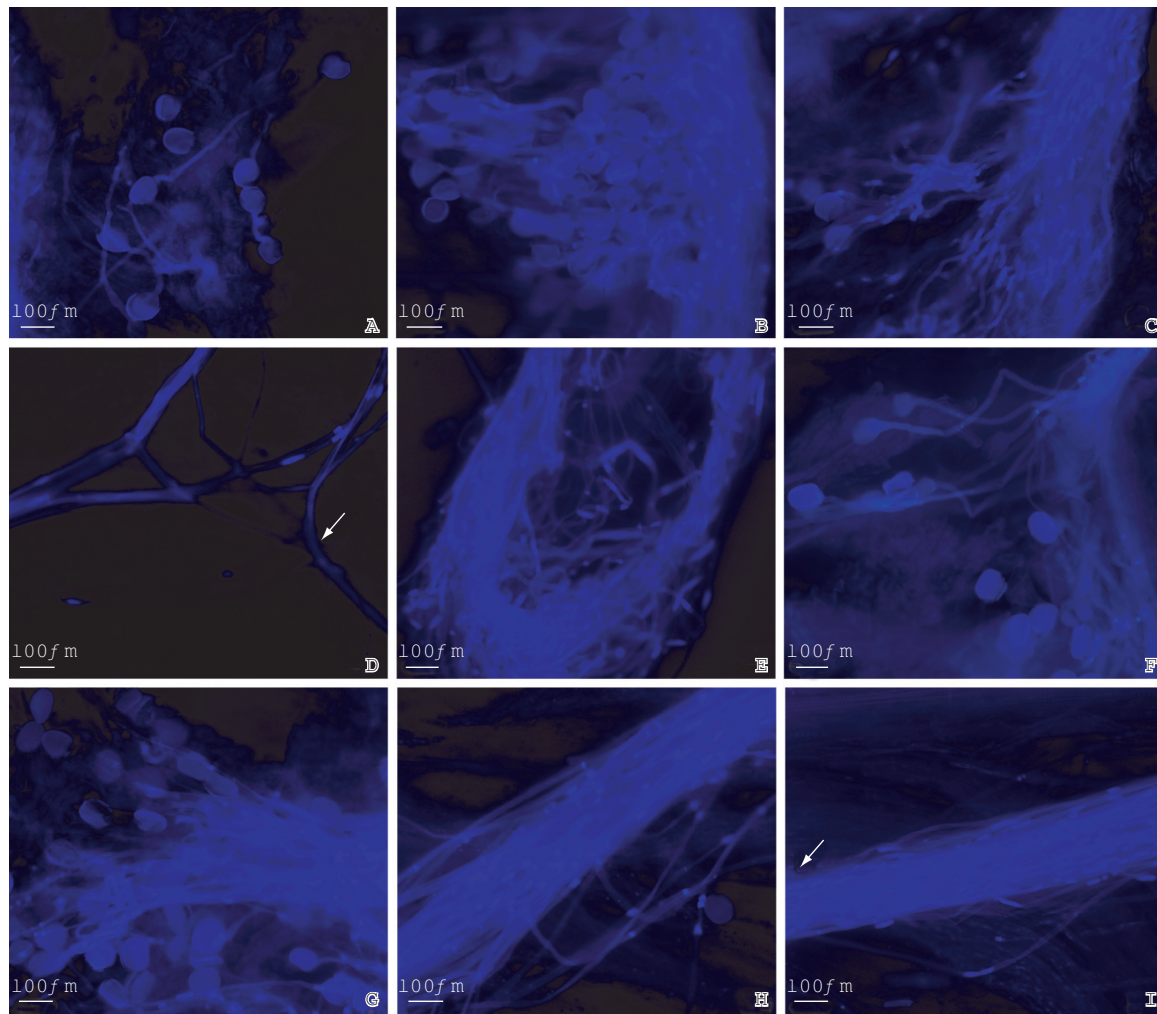
表1 路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾花粉极轴(P)和赤道轴(E)长度比较($\bar{X} \pm SE$)

Table 1 Comparison on lengths of polar axis (P) and equatorial axis (E) of pollens of Louisiana Iris and *Iris foetidissima* Linn. ($\bar{X} \pm SE$)

类群 Taxon	长度/μm Length		P/E
	P	E	
Louisiana Iris	81.71±1.90	58.00±0.96	1.41±0.02
<i>Iris foetidissima</i>	91.80±3.12	38.23±1.42	2.41±0.14

2.2 杂交及自交授粉后花粉管的生长状况

路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾杂交及路易斯安那鸢尾自交授粉后花粉管的生长状况见图2。观察结果表明:路易斯安那鸢尾与红籽鸢尾杂交授粉后2 h,少量花粉开始萌发(图2-A);授粉后4~8 h,大量花粉已经萌发,形成成簇的花粉管,并有少部分花粉管穿过柱头(图2-B,C);授粉后24 h,大量花粉管已经穿



A: 杂交授粉后 2 h After hybrid pollination 2 h; B: 杂交授粉后 4 h After hybrid pollination 4 h; C: 杂交授粉后 8 h After hybrid pollination 8 h; D: 杂交授粉后 24 h, 箭头示花粉管弯曲 After hybrid pollination 24 h, the arrow shows pollen tube bending; E: 杂交授粉后 48 h After hybrid pollination 48 h; F: 自交授粉后 2 h After self pollination 2 h; G: 自交授粉后 4 h After self pollination 4 h; H: 自交授粉后 24 h After self pollination 24 h; I: 自交授粉后 48 h, 箭头示花粉管到达花柱基部 After self pollination 48 h, the arrow shows pollen tube reaching the base of style.

图2 路易斯安那鸢尾与红籽鸢尾杂交及路易斯安那鸢尾自交授粉后花粉管的生长状况

Fig. 2 Growth status of pollen tube after hybrid pollination of Louisiana Iris with *Iris foetidissima* Linn. and self pollination of Louisiana Iris

过柱头进入花柱,但仅有极少量(1或2条)花粉管仍然继续生长,并有部分花粉管的先端出现弯曲现象(图2-D);授粉后48h,仅有少量花粉管能到达花柱基部,尚未进入花柱的花粉管在柱头表面回转、盘结(图2-E)。

路易斯安那鸢尾自交授粉后2h,大量花粉已经在柱头萌发(图2-F);授粉后4h,萌发的花粉形成成簇的花粉管,并开始进入花柱(图2-G);授粉后24h,花粉管伸长至花柱约1/3处(图2-H);授粉后48h,大量花粉管到达花柱基部(图2-I)。

2.3 杂交及自交授粉后雌蕊中保护酶活性及内源激素含量的变化

路易斯安那鸢尾自交及其与红籽鸢尾杂交授粉后24h内雌蕊中SOD和POD活性的变化见图3;授粉后24h内雌蕊中内源激素IAA、GA₃、ZR和ABA含量的变化见图4。

2.3.1 SOD和POD活性的变化 由图3可见:授粉后4h内,自交组和杂交组雌蕊的SOD活性均呈先上升后下降的变化趋势,并在授粉后2h达到峰值,且自交组雌蕊的SOD活性一直高于杂交组;授粉8h后,

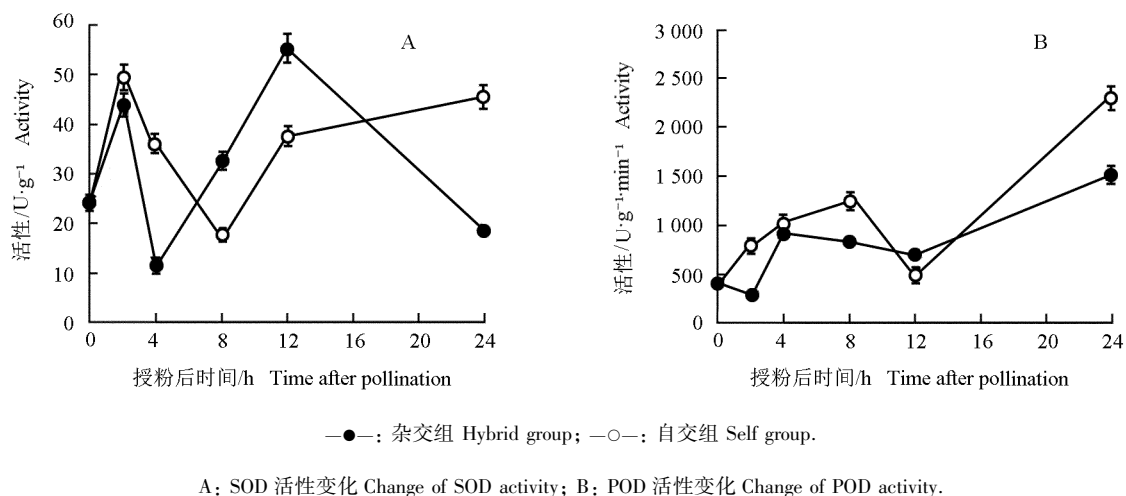


图 3 路易斯安那鸢尾与红籽鸢尾杂交及路易斯安那鸢尾自交授粉后雌蕊中 SOD 和 POD 活性的变化
 Fig. 3 Change of SOD and POD activities in pistil after hybrid pollination of Louisiana Iris with *Iris foetidissima* Linn. and self pollination of Louisiana Iris

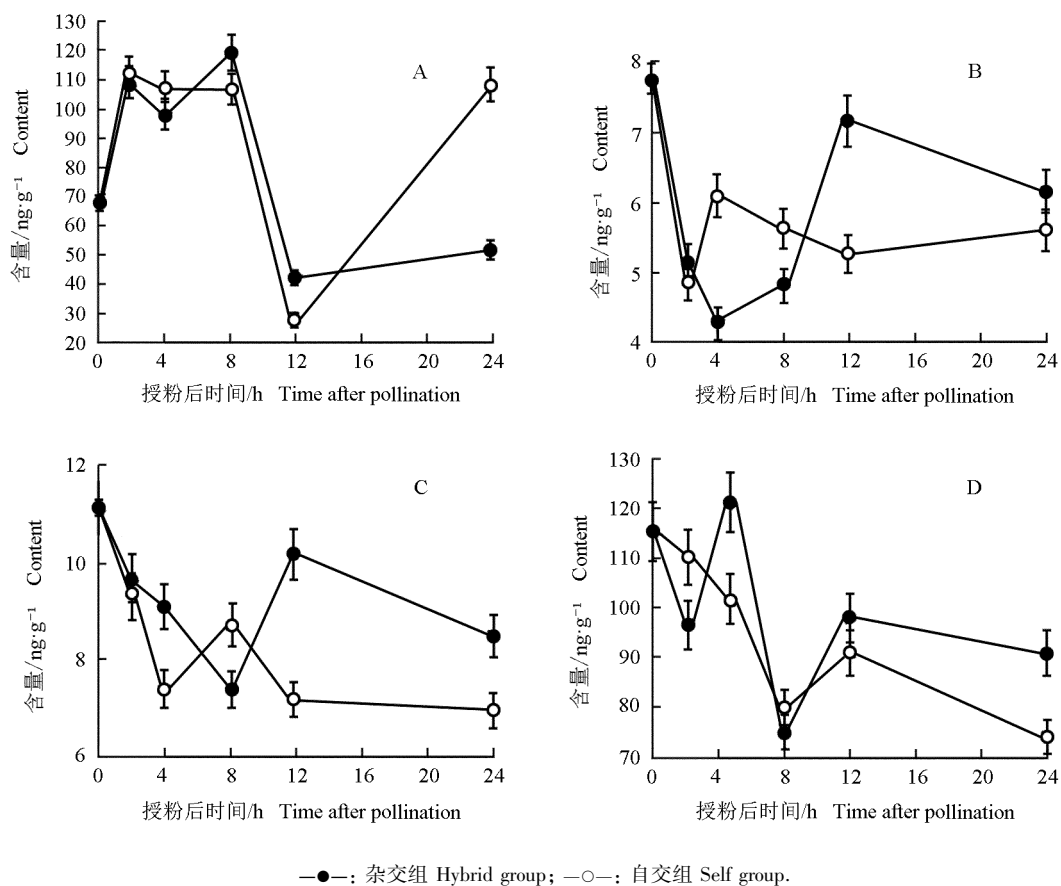


图 4 路易斯安那鸢尾与红籽鸢尾杂交及路易斯安那鸢尾自交授粉后雌蕊中内源激素含量的变化
 Fig. 4 Change of endogenous hormone content in pistil after hybrid pollination of Louisiana Iris with *Iris foetidissima* Linn. and self pollination of Louisiana Iris

自交组雌蕊的 SOD 活性持续上升,而杂交组雌蕊的 SOD 活性则呈现先升高后下降的变化趋势,且自交组雌蕊的 SOD 活性在授粉后 8~12 h 低于杂交组,而在授粉后 24 h 则高于杂交组。

由图 3 还可见:授粉后 2 h 内,自交组雌蕊的 POD 活性上升而杂交组雌蕊的 POD 活性却下降;授粉 8 h 后,自交组和杂交组雌蕊的 POD 活性均呈先下降后升高的变化趋势,并且授粉后 12 h 自交组雌蕊的 POD 活性低于杂交组,而授粉后 8 和 24 h 自交组雌蕊的 POD 活性则均高于杂交组。

2.3.2 内源激素含量的变化 由杂交及自交授粉后雌蕊中 IAA 含量的变化(图 4-A)可见:授粉后 4 h 内,自交组雌蕊的 IAA 含量一直高于杂交组;而授粉后 8~12 h,自交组雌蕊的 IAA 含量则低于杂交组,且授粉后 12 h,自交组和杂交组雌蕊的 IAA 含量均降至最低;此后,自交组和杂交组雌蕊的 IAA 含量上升,至授粉后 24 h 自交组雌蕊的 IAA 含量水平不但已高于授粉前期或与授粉前期持平,而且也明显高于杂交组。

由杂交及自交授粉后雌蕊的 GA_3 和 ZR 含量变化(图 4-B,C)可见:自交组雌蕊的 GA_3 含量随着授粉后时间的延长呈现“下降—升高—下降—升高”的变化趋势,而杂交组雌蕊的 GA_3 含量以及自交组和杂交组雌蕊的 ZR 含量均呈现“下降—升高—下降”的变化趋势。授粉后 2 h,自交组雌蕊的 GA_3 和 ZR 含量均低于杂交组;授粉后 4~8 h,自交组雌蕊的 GA_3 含量均高于杂交组,ZR 含量则在授粉后 4 h 低于杂交组、在授粉后 8 h 高于杂交组;授粉 8 h 后,自交组雌蕊的 GA_3 和 ZR 含量均低于杂交组。

由杂交及自交授粉后雌蕊的 ABA 含量变化(图 4-D)可见:授粉后 2 h,自交组和杂交组雌蕊的 ABA 含量均下降,且杂交组 ABA 含量的下降幅度高于自交组;授粉后 4~8 h,自交组和杂交组雌蕊的 ABA 含量均下降至最低,但授粉后 8 h 自交组雌蕊的 ABA 含量高于杂交组;授粉 8 h 后,自交组和杂交组雌蕊的 ABA 含量均呈先上升后下降的变化趋势,且自交组雌蕊的 ABA 含量均低于杂交组。

3 讨论和结论

花粉形状、大小和外壁纹饰对柱头识别花粉、花粉萌发以及受精进程等均具有明显影响,并且植物的

种间杂交受精前障碍通常表现为花粉在柱头表面不能萌发、花粉管行为异常以及柱头乳突细胞和花粉通道的胼胝质反应等现象。本研究中,路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾的花粉形状和外壁纹饰差异明显,花粉大小也存在一定差异。与路易斯安那鸢尾自交组花粉管的生长状况相比,路易斯安那鸢尾与红籽鸢尾杂交组的大部分花粉能够正常萌发,但是花粉萌发及花粉管伸长速率较自交组相对滞后,杂交授粉后 24 h 仅有 1 或 2 条花粉管能够继续在花柱中生长,并且在花粉管伸长过程中还伴随花粉管末端弯曲、回转、盘结等异常行为。说明路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾的杂交存在一定程度的受精前障碍,并且上述形态结构上的差异可能是导致路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾杂交不亲和以及存在受精前障碍的主要原因之一。

杜文文等^[15]认为亚洲百合品种‘Brunello’(Asian lily ‘Brunello’)和铁炮百合品种‘新铁炮 2 号’(Longiflorum lily ‘Formolongi II’)种间杂交不亲和的部位主要是柱头和花柱 2 个部位,表现为授粉后柱头乳突细胞和花粉管中产生胼胝质沉淀且花粉管异常生长。本研究中仅发现杂交组的花粉管在花柱中存在异常行为,据此推断路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾的种间杂交不亲和障碍可能主要存在于花柱中。毕晓颖等^[9]采用在柱头上涂抹 NAA 或 6-BA 的方法成功促进了马蔺(*Iris lactea* var. *chinensis* Koidz.)和溪荪(*I. sanguinea* Hornem.)杂交后花粉管的生长,显著提高了杂交后的结实率;Wang 等^[16]认为切割柱头是克服百合科(Liliaceae)植物 *Lilium longiflorum* 和 *L. lophophorum* var. *linearifolium* 杂交受精前障碍、提高结实率的有效方法。然而,上述方法能否有效克服路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾杂交的受精前障碍并获得种间杂种,尚待进一步研究。

SOD 和 POD 是植物细胞膜保护系统的重要组成部分。王保成等^[17]的研究结果表明:SOD 和 POD 活性变化与亲和基因的调控有关。授粉可以使雌蕊中的 SOD 和 POD 活性上升,且亲和授粉的酶活性高于不亲和授粉^[8,18]。路易斯安那鸢尾自交授粉后,在花粉与柱头的识别和萌发阶段(授粉后 2 h 内),雌蕊中的 SOD 和 POD 活性均明显升高且高于杂交组,据此可以推测在该阶段亲和机制及亲和基因对雌蕊中 SOD 和 POD 活性变化的调控较为明显。虽然亲和授粉及不亲和授粉都会引起雌蕊中 SOD 和 POD 活性的上升,但二者的上升幅度并不一致,说明 SOD 和 POD

活性变化与授粉亲和性有一定的关系^[17]。本研究中,授粉后24 h杂交组雌蕊的SOD和POD活性均显著低于自交组,推断这可能是由于不亲和授粉抑制了SOD和POD活性,还可能与杂交授粉后24 h只有极少量花粉管在花柱中生长,且部分花粉管先端出现弯曲导致生长受阻有关。

内源激素在植物花粉萌发及花粉管生长过程中起重要作用。本研究中,路易斯安那鸢尾自交后雌蕊中IAA含量在授粉后4 h内一直高于杂交组而在授粉后8~12 h低于杂交组,GA₃、ZR和ABA含量则在授粉后12~24 h低于杂交组,说明在花粉附着和萌发阶段高浓度IAA有利于亲和授粉,而在花柱生长阶段低浓度IAA、GA₃和ZR可能有利于花粉管的生长。杨晓苓等^[18]和张鹏^[19]认为高浓度ABA与植物不亲和授粉有关,本研究中授粉后大部分时间杂交组雌蕊的ABA含量高于自交组,表明低浓度ABA有利于亲和花粉在柱头上萌发,但柱头是否在抑制不亲和花粉生长时启动了其他反应系统并造成内源激素含量上升,则有待进一步研究。

综上所述,路易斯安那鸢尾和红籽鸢尾的花粉形态和大小差异明显,其种间杂交存在一定程度的受精前障碍,且种间杂交及自交授粉均能够引起雌蕊体内保护酶活性和内源激素含量发生明显变化,但杂交组和自交组的变化幅度并不相同,这可能是导致其杂交不亲和的主要原因。

参考文献:

- [1] 黄苏珍,韩玉林,张耀钢,等. 德国鸢尾(*Iris germanica* L.)矮生优良单株的杂交选育[J]. 南京农业大学学报, 2003, 26(4): 21-25.
- [2] GRAEME G. *Iris*: Flower of the Rainbow[M]. Australia: Kangaroo Press, 1997: 9-202.
- [3] YABUYA T. Chromosome associations and crossability with *Iris ensata* Thunb. in induced amphidiploids of *I. laevigata* Fisch. × *I. ensata* [J]. *Euphytica*, 1991, 55: 85-90.
- [4] YABUYA T, NODA T. The characterization of autoallotetraploid hybrids between *Iris ensata* Thunb. and *I. laevigata* Fisch. [J]. *Euphytica*, 1998, 103: 325-328.
- [5] YABUYA T, YAMAGATA H. Embryological and cytological studies on seed development after reciprocal crosses between *Iris sanguinea* Hornem. and *I. laevigata* Fisch. [J]. *Japanese Journal of Breeding*, 1978, 28: 211-224.
- [6] YABUYA T, YAMAGATA H. Elucidation of seed failure and breeding of F₁ hybrid in reciprocal crosses between *Iris ensata* Thunb. and *I. laevigata* Fisch. [J]. *Japanese Journal of Breeding*, 1980, 30: 139-150.
- [7] 黄苏珍,顾 姻. 鸢尾属(*Iris* L.)植物的杂交育种[J]. 植物资源与环境, 1998, 7(1): 35-39.
- [8] 吴能表,徐光德,唐于婷,等. 自交不亲和甘蓝的花粉萌发与花柱内保护酶活性变化[J]. 西南师范大学学报:自然科学版, 2004, 29(5): 848-851.
- [9] 毕晓颖,娄 琦,郑 洋. 马菌与溪荪种间杂交亲和性研究[J]. 园艺学报, 2011, 38(5): 977-984.
- [10] 毕晓颖,李 卉,娄 琦,等. 野鸢尾和射干属间杂交亲和性及杂种鉴定[J]. 园艺学报, 2012, 39(5): 931-938.
- [11] 杨占辉,高亦珂,史言妍. 无髯鸢尾远缘杂交障碍[J]. 中国农业大学学报, 2013, 18(4): 71-76.
- [12] TENG N J, CHEN T, JIN B, et al. Abnormalities in pistil development result in low seed set in *Leymus chinensis* (Poaceae) [J]. *Flora*, 2006, 201: 658-667.
- [13] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [14] ZHAO J, LI G, YI G X, et al. Comparison between conventional indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (icELISA) and simplified icELISA for small molecules [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 571: 79-85.
- [15] 杜文文,王祥宁,吴丽芳,等. 亚洲百合和铁炮百合正反杂交亲和程度的差异性分析[J]. 中国农业科学, 2012, 45(23): 4854-4861.
- [16] WANG J, HUANG L, BAO M Z, et al. Production of interspecific hybrids between *Lilium longiflorum* and *L. lophophorum* var. *linearifolium* via ovule culture at early stage [J]. *Euphytica*, 2009, 167: 45-55.
- [17] 王保成,孙万仓,范惠玲,等. 芸芥自交亲和系与自交不亲和系SOD、POD和CAT酶活性[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(2): 162-165.
- [18] 杨晓苓,杨利平,尚爱芹,等. 百合授粉亲和性与雌蕊中保护酶和激素的关系[J]. 园艺学报, 2009, 36(6): 855-860.
- [19] 张 鹏. 杨树杂交不亲和性的细胞学及生理生化基础[D]. 北京: 北京林业大学生物科学与技术学院, 2013: 33-34.

(责任编辑: 佟金凤)