

## 不同授粉方法对克服百合杂交受精前障碍的作用

陈琼<sup>1,2</sup> 穆鼎<sup>2</sup> 义鸣放<sup>1</sup> 明军<sup>2</sup> 刘春<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100094; 2. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘要** 为克服由受精前障碍造成的百合杂交不亲和,以3个杂种系的品种和2个野生种为试材,探讨了切割花柱授粉对百合品种自交、近缘杂交和切割花柱授粉、柱头涂抹1 g/L BA或1 g/L NAA或柱头涂抹花粉培养液4种授粉方法对百合远缘杂交,以及花柱长度对百合近缘杂交结实的影响。结果表明:切割花柱授粉法促进百合‘Sorbonne’的自交结实,获得30个自交胚,与对照比差异极显著( $P < 0.01$ )。11个近缘杂交组合中,切割花柱授粉法使本来亲和的6个近缘杂交组合所形成的杂种胚数从30个以上减少至10个以下,有的组合甚至1个杂种胚都没有得到。应用在远缘杂交组合上的授粉方法,只有柱头涂抹花粉培养液得到了8个果,比作为对照的柱头授粉法多6个果,但最终均未得到杂种胚。正反交的4个组合,以花柱较长的亲本为母本时成胚数较多;母本相同的2个近缘杂交组合,父本花柱较短的组合成胚数较多。可见,切割花柱授粉法能克服‘Sorbonne’的自交不亲和性,但对本试验的近缘杂交组合没有促进作用。对于东方百合品种‘Casa Blanca’与‘Sorbonne’正反交,以及‘Casa Blanca’与‘Siberia’正反交这2个近缘杂交组合,母本花柱比父本花柱长,并不阻碍杂交结实。

**关键词** 百合; 自交; 杂交; 授粉方法; 花柱长度; 成胚数

中图分类号 S 682.2

文章编号 1007-4333(2007)04-0035-06

文献标识码 A

## Effects of different pollination methods on bypassing pre-fertilization barriers in lily breeding

Chen Qiong<sup>1,2</sup>, Mu Ding<sup>2</sup>, Yi Mingfang<sup>1</sup>, Ming Jun<sup>2</sup>, Liu Chun<sup>2</sup>

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract** To overcome incompatibility caused by pre-fertilization barriers in lily breeding, we used two species and three hybrids of lily, to study use of cut-style pollination to overcome incompatibility associated with self-pollination and intraspecific hybridization. The cut-style pollination was achieved by applying 0.1%BA, 0.1%NAA and a liquid medium of pollen culture to the stigma and observing the influence of style length on the production rate of ovules. About 30 ovules were obtained with cut-style pollination during self-pollination of ‘Sorbonne’, significantly more than CK. But, the production rate of ovules decreased from more than 30 to less than 10 in 6 intraspecific crosses which were compatible; some of those crosses formed no capsule even with the same method. Only 8 interspecific capsules were obtained with liquid medium of pollen culture, which were 6 more than CK, but no interspecific ovule was obtained. When longer pollen tube forming varieties were used as female parents in 4 intraspecific reciprocal hybridizations, the rate of production of ovules was higher. In 2 other intraspecific crosses with the same female parent, more ovules were obtained when shorter pollen tube forming varieties were used as male parents. The results demonstrated that application of cut-style pollination can overcome self-incompatibility of ‘Sorbonne’, but have no effects on intraspecific hybridization. When longer pollen tube forming varieties were used as female parents in intraspecific reciprocal hybridizations ‘Casa Blanca’ and ‘Sorbonne’ and ‘Casa Blanca’ and ‘Siberia’, the efficiency of fertilization was not hampered.

**Key words** lily; self-pollination; hybridization; pollination method; style length; production rate of ovule

收稿日期: 2007-01-12

基金项目: 国家 863 计划项目(2002AA241051); 科技部国家社会公益项目资助(2005DID022)

作者简介: 陈琼, 硕士研究生; 义鸣放, 教授, 通讯作者, 主要从事球根花卉栽培生理研究, ymfang@cau.edu.cn

百合是世界重要的商品花卉。在百合常规杂交育种过程中,普遍表现自交不亲和、近缘杂交和远缘杂交不亲和,常无法顺利获得后代,而这些不亲和现象主要是由受精前障碍造成的。

受精前障碍主要是花粉不萌发,或花粉管在花柱里的伸长受到抑制。为了克服受精前障碍,百合育种者研发了多种授粉方法。国内外报道的有花粉温度处理、混合授粉、蒙导与先锋授粉、蕾期授粉、应用生长调节剂、应用花器官提取物、热处理花柱、切割花柱授粉、辐射处理、嫁接柱头等。其中,以切割花柱授粉较为有效而且被广泛应用<sup>[1]</sup>。生长调节剂的应用,可以刺激花粉管的生长,使其能够及时到达子房完成受精作用。例如,柱头涂抹 1 g/L BA 对百合杂交结实有促进作用<sup>[2-4]</sup>。而柱头涂抹花粉培养液则有利于促进种内和种间组合结实。影响近缘杂交的另一个重要因素是花粉管长度,以往的研究表明,父本花柱比母本花柱长时,比较有利于结实<sup>[5-6]</sup>。

百合品种繁多,且不同亲本组合适用的授粉方法不同,所以,对于特定的亲本组合,最佳授粉方法的筛选仍是育种者亟待解决的问题。本研究旨在筛选出有效克服百合杂交受精前障碍的方法,为百合杂交育种提供理论和实践指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 亲本选择

供试亲本为东方百合的‘Casa Blanca’(O1)、『Sorbonne’(O2)、『Siberia’(O3)、『Alma Ata’(O4),亚洲百合的‘Prato’(A1)、『Cordelia’(A2)、『Yellow Jiant’(A3)、『Pollyanna’(A4)、『Brunello’(A5)和麝香百合的‘Snow Queen’(L1)、『Gelria’(L2) 11个品种,以及 *L. regale* Wils(W1)和 *L. citronella* (W2) 2个野生种。试验于 2006 年 6—10 月在中国农业科学院蔬菜花卉研究所进行。

### 1.2 杂交组合设计

品种自交:O1、O2、O3、A1、A2、A3、L1。

近缘杂交组合:O1 × O2、O2 × O1、O1 × O3、O3 × O1、O4 × O1、O4 × O2、A4 × A2、A4 × A1、A1 × A3、A3 × A1、L2 × L1。

远缘杂交组合:L1 × A1、L1 × W1、L1 × O1、L2 × A1、L2 × A5、L2 × A2、L2 × O2、A4 × W2、A4 × L1。

### 1.3 杂交方法

自交和近缘杂交试验:仅采用切割花柱授粉观

察对不同亲本组合结实的影响,以常规柱头授粉为对照。切割花柱授粉法参考 van Tuyl<sup>[7]</sup>建议的切割长度,在距子房顶部 2 mm 处横切,在横切面纵切一刀,将花粉涂在纵切面上。

远缘杂交试验:比较切割花柱授粉、柱头涂抹 1 g/L BA 或 1 g/L NAA 或花粉培养液(100 g/L 蔗糖 + 0.01 g/100 mL 硼酸) 4 种授粉方法对不同亲本组合结实的影响,以常规柱头授粉为对照。

每个处理选 5 个单株,每个单株选开花当天 2~4 朵饱满的花朵进行授粉。授粉后,用铝箔纸将柱头或者是切割后的花柱包裹好,挂标签标明父本名称及授粉日期和授粉方法。7 d 左右摘除铝箔纸,授粉后 50~70 d(因品种而异)蒴果开始枯黄时,统计结果数和每果胚数。

### 1.4 花柱长度测量

开花当天,在亲本群体中随机选择 15 朵花,测量从柱头表面到子房顶部的长度,取其平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 切割花柱授粉对百合品种自交结实的影响

如表 1 所示,切割花柱授粉对 O1、O2 和 A3 的自交结实具有明显的促进作用,3 个品种都得到了自交胚。其中对克服 O2 的自交不亲和性最有效,用常规柱头授粉未得到自交胚,而切割花柱授粉后得到 30 个,经 *t* 测验切割花柱授粉的成胚数(即每果胚数)与对照呈极显著差异。L1 用常规柱头授粉和切割花柱授粉虽然都得到了果实,但最终未得到自交胚。O3、A1、A2 用这 2 种授粉方法均未得到果实。

### 2.2 切割花柱授粉对百合近缘杂交结实的影响

每个杂交组合的父母本都来自于同一个杂种系属于近缘杂交。其中对东方百合的 O1 和 O2、O1 和 O3,亚洲百合的 A1 和 A3 分别进行了正反交。

从表 2 可以看出,用常规柱头授粉法 O1 × O2、O1 × O3 的正反交以及 O4 × O1、O4 × O2、A4 × A2 杂交组合的结实率都达到 60% 以上,最高的达到 100%,每个组合获得 30 多个胚,最多的达到 76 个。切割花柱授粉后,这些组合的结实率和成胚数反而显著下降,每个组合获得的杂种胚仅有 3~4 个,最多的不超过 10 个。O2 × O1 和 A4 × A1 组合的结实率和成胚数不受授粉方法的影响,但成胚数很低。对于 A1 × A3 的正反交和 L2 × L1 组合,用 2 种授粉方法均未得到杂种胚。

表 1 切割花柱授粉法对百合品种自交成胚数的影响

Table 1 Effect of cut-style pollination on production rate of ovule during self-pollination

自交品种	观测性状	常规柱头授粉						切割花柱授粉						<i>t</i>
		重 复					总计	重 复					总计	
O1	花	3	3	3	3	3		15	3	3	3	3		3
	果	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	2	
	胚	0	2	0	0	0	2	0	0	7	11	0	18	
	胚/果	2						7 11						
O2	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	3.627 **
	果	1	0	1	1	0	3	1	2	0	1	1	5	
	胚	0	0	0	0	0	0	7	10	0	8	5	30	
	胚/果	0	0 0					7	5	8 5				
O3	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	
	果	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚/果													
A1	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	
	果	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚/果													
A3	花	4	4	4	4	4	20	4	4	4	4	4	20	1.852
	果	0	1	1	0	0	2	1	1	1	1	0	4	
	胚	0	2	0	0	0	2	2	1	3	2	0	8	
	胚/果	2 0						2 1		3 2				
A2	花	4	4	4	4	4	20	4	4	4	4	4	20	
	果	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚/果													
L1	花	4	4	4	4	4	20	4	4	4	4	4	20	
	果	1	2	0	2	0	5	1	1	1	0	0	3	
	胚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚/果	0	0						0 0		0			

注：花的单位为朵；果、胚的单位为个；成胚平均数的 *t* 测验值；\*\*为差异极显著 ( $P < 0.01$ )；下同。

*t* 测验结果表明,切割花柱授粉使 O1 × O3、O1 × O2、O3 × O1、A4 × A2、O4 × O1 和 O4 × O2 杂交组合的结实率和成胚数都明显降低。

### 2.3 父母本花柱长度对百合杂交结实的影响

对上述近缘杂交部分组合的父母本花柱长度进行了测量,父母本花柱的长度对结实的影响见表 3。以花柱较长的 O1 为母本,花柱较短的 O2 为父本时,获得的胚数比 O1 为父本 O2 为母本的多,*t* 测

验结果差异极显著。另一个东百组合 O1 和 O3 正反交也得到类似的结果。亚百品种 A2 的花柱比 A1 的短,在母本相同的情况下,以 A2 为父本时,获得的胚数远比以 A1 为父本时多,*t* 测验结果差异极显著。在另外 2 组母本相同的组合 O1 × O2 和 O1 × O3、O4 × O1 和 O4 × O2 中,O2 的花柱比 O3 和 O1 的短,且差异极显著,但是 O1 × O2 和 O4 × O2 获得的胚数并未比 O1 × O3 和 O4 × O1 的多。

表2 切割花柱授粉对百合近缘杂交成胚数的影响

Table 2 Effect of cut-style pollination on production rate of ovules in intraspecific hybridization

杂交组合	观测性状	常规柱头授粉					总计	切割花柱授粉					t	
		重 复						重 复						
O1 ×O2	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	2	14	3.75**
	果	3	2	3	3	3	14	1	1	0	1	0	3	
	胚	11	5	6	7	7	36	1	1	0	2	0	4	
	胚/果	3.67	2.50	2.00	2.33	2.33		1	1		2			
O2 ×O1	花	3	3	3	3	4	16	3	3	3	3	4	16	0
	果	1	0	0	0	2	3	2	2	1	1	2	8	
	胚	1	0	0	0	2	3	0	1	0	1	1	3	
	胚/果	1				1		0	0.5	0	1.0	0.5		
O1 ×O3	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	3.05*
	果	2	2	3	2	3	12	0	1	0	0	0	1	
	胚	5	6	8	4	7	30	0	3	0	0	0	3	
	胚/果	2.50	3.00	2.67	2.00	2.33			3					
O3 ×O1	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	3.65**
	果	1	2	0	3	3	9	0	0	0	0	0	0	
	胚	10	15	0	23	28	76	0	0	0	0	0	0	
	胚/果	10.00	7.50		7.67	9.33								
O4 ×O1	花	2	2	2	2	2	10	3	3	3	3	3	15	3.72**
	果	1	2	1	4	0	8	0	0	0	0	0	0	
	胚	5	9	3	18	0	35	0	0	0	0	0	0	
	胚/果	5.0	4.5	3.0	4.5									
O4 ×O2	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	3.78**
	果	1	6	0	2	3	12	0	0	0	0	0	0	
	胚	4	17	0	7	13	41	0	0	0	0	0	0	
	胚/果	4.00	2.83		3.50	4.33								
A4 ×A2	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	4.93**
	果	2	4	3	2	1	12	1	2	2	2	4	11	
	胚	7	10	10	6	5	38	2	2	1	2	3	10	
	胚/果	3.50	2.50	3.33	3.00	5.00		2.00	1.00	0.50	1.00	0.75		
A4 ×A1	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	0.73
	果	1	2	4	2	4	13	1	1	1	2	1	6	
	胚	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	
	胚/果	0	0	0.25	0	0		0	1	0	0	0		
A1 ×A3	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	
	果	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚/果													
A3 ×A1	花	3	3	3	3	3	15	3	3	3	3	3	15	
	果	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚/果													
L2 ×L1	花	4	4	4	4	4	20	4	4	4	4	4	20	
	果	1	3	2	1	2	9	1	1	0	0	0	2	
	胚	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	胚/果	0	0	0	0	0		0	0					

注: \*为差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

表3 常规柱头授粉时花柱长度对百合近缘杂交成胚的影响

Table 3 Effects of style length on production rate of ovules in intraspecific hybridization with stigmatic pollination

杂交组合	重 复						<i>t</i>	比对对象	花柱长度比	<i>t</i>
	1	2	3	4	5	6				
正反交组合	O1 × O2	3.67	2.50	2.00	2.33	2.33	5.75	/	0.86	5.40
	O2 × O1	1.00				1.00	**	/	1.16	**
	O1 × O3	2.50	3.00	2.67	2.00	2.33	2.45	/	1.06	2.62
	O3 × O1	10.00	7.50		7.67	9.33	*	/	0.95	*
母本相同组合	O1 × O2	3.67	2.50	2.00	2.33	2.33				9.44
	O1 × O3	2.50	3.00	2.67	2.00	2.33	0.21	/	0.82	**
	O4 × O2	4.00	2.83		3.50	4.33	0.39	/	0.86	5.40
	O4 × O1	5.00	4.50	3.00	4.50					**
	A4 × A2	3.50	2.50	3.33	3.00	5.00	8.09			2.12
	A4 × A1	0	0	0.25	0	0	**	/	0.96	*

注: 比对对象 / 表示杂交组合父母本花柱长度比, / 表示母本相同的2个杂交组合短花柱父本与长花柱父本的花柱长度比。比对对象花柱长度的 *t* 测验值。

#### 2.4 不同授粉方法对百合远缘杂交结实的影响

不同杂种系品种间杂交属于远缘杂交。如表4所示,柱头授粉得到了2个果,分别来自A4 × W2和A4 × L1组合。柱头涂抹花粉培养液得到了8个

果,其中5个来自L2 × A2,另外3个分别来自L2 × O2、A4 × W2和A4 × L1组合,但是这些果实均未形成杂种胚。经切割花柱授粉、柱头涂抹生长素或涂抹细胞分裂素授粉处理的无一结实。

表4 授粉方法对百合远缘杂交结实的影响

Table 4 Effects of different pollination methods on capsule production in interspecific hybridization

杂交组合	柱头授粉			切割花柱			1 g/L NAA			1 g/L BA			花粉培养液		
	花	果	胚	花	果	胚	花	果	胚	花	果	胚	花	果	胚
L1 × A1	15	0	0	17	0	0									
L1 × W1	15	0	0	15	0	0	15	0	0	15	0	0	15	0	0
L1 × O1	15	0	0	15	0	0	14	0	0	14	0	0	15	0	0
L2 × A1	20	0	0	26	0	0	32	0	0	20	0	0	27	0	0
L2 × A5	28	0	0	20	0	0	19	0	0	19	0	0	20	0	0
L2 × A2	15	0	0	16	0	0	16	0	0	15	0	0	15	5	0
L2 × O2	16	0	0	15	0	0	16	0	0	15	0	0	15	1	0
A4 × W2	23	1	0	23	0	0	21	0	0	24	0	0	24	1	0
A4 × L1	19	1	0	18	0	0	9	0	0	15	0	0	14	1	0

注:将1 g/L NAA、1 g/L BA、花粉培养液涂抹在柱头上后进行授粉。

### 3 讨 论

1) 自交试验结果表明,所用的百合品种都存在自交障碍,而切割花柱授粉并不能克服所有品种的自交障碍,只能在一定程度上促进具有一定亲和性的品种的自交结实。自交不亲和的原因是花粉不萌发或者花粉管在花柱里的伸长受到抑制。不亲和的品种花粉萌发后,花粉管在花柱中只伸长一段距离,而亲和的花粉这时精细胞已经从花粉管里释放到胚珠里完成受精<sup>[8]</sup>。综合以往的研究,花粉管没有进

入珠孔的原因可能是花粉管和子房组织之间不亲和。而这种不亲和可能是由于胎座液体和珠孔分泌物等化学物质在起作用<sup>[3,9]</sup>。本试验通过切割花柱得到自交胚的品种,可能其自交障碍仅存在于其柱头上,一旦将柱头切除,这种阻碍作用就解除了。而那些没有得到自交胚的品种,不仅柱头上含有阻碍花粉萌发的物质,花柱内或者子房组织可能也分泌了一些不亲和的化学物质,使得花粉不能在柱头上萌发,即使将柱头切除,花粉管仍然不能正常伸长。

2) 切割花柱授粉不仅未能克服百合近缘杂交的

不亲和性,反而降低了其结实率。对此现象根据前人的研究分析,其原因有3种可能:一是与品种和授粉方法有关<sup>[7]</sup>;二是花粉管或者胚珠没有完全进入受精状态,或者是两者都没有完全进入受精状态,因为花粉管长度为2~4 mm时花粉母细胞开始分裂,这个过程发生在切割花柱授粉法的花粉管到达珠孔之前。这些发现同时表明精子的形成是独立的。既然花粉管的长度很短,精子已经形成,花粉管的发育是正常的,只可能是胚珠还没有接收到花柱已经授粉的信号,处于未被激活的状态<sup>[8]</sup>;三是花粉管穿透珠孔率低,花粉管在萌发过程中需要吸收花柱分泌物中的物质,Janson发现切割花柱后,子房上存留的花柱较长时,结实率有所提高<sup>[10]</sup>。结合本试验的结果,切割花柱不仅影响了花粉管的营养吸收,还使得花粉管的发育成熟与精子的形成不同步,而花粉管过早到达珠孔,就造成了花粉管和胚珠都没有在精子形成后同时进入受精状态的结果。

3)正反交时,选择花柱长的品种作为母本,结实率较高,而且获得的杂种胚也较多,母本相同的组合也是父本花柱短的更有利于结实,这个结果与Prosevičius的结论相反<sup>[5-6]</sup>;由此提出质疑,花柱长的品种,它自身的花粉萌发后花粉管未必也很长。van Tuyl发现,用一个长花柱父本的花粉进行切割花柱授粉,受精效率很低<sup>[11]</sup>。结实率的高低受花柱长短的影响是否与不同组合有关,以及结实率的高低是与花柱长短相关还是与花粉管长短、花粉管穿透珠孔率高低相关,需要进一步研究。

在远缘杂交试验中,只有柱头涂抹花粉培养液对结实有一定促进作用,但最终仍未得到杂种胚。花粉培养液能为花粉萌发提供营养和最佳萌发条件。但是远缘杂交时花粉管可能因自身的营养消耗待尽而使其生长受到抑制<sup>[12]</sup>。所以,如何改进花粉培养液的成份,使其辅助花粉管在花柱中伸长,最后顺利穿透珠孔,还有待进一步研究。用NAA处理种间杂交后,没有得到果实和杂种胚,这与孙晓梅的结果相同,说明NAA对种间杂交没有促进作用<sup>[13]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] 李守丽,石雷,张金政,等.百合育种研究进展[J].园艺学报,2006,33(1):203-210
- [2] M van Creij M G, J Kerckhoffs D M F, M van Tuyl J. Application of four pollination techniques and hormone treatment for bypassing interspecific crossing barriers in *Lilium* [J]. Acta Horticulturae 1999, 508: 267-274
- [3] Roggen P M van, Keuzer C J, Wilms H J, et al. An sem study of pollen tube growth in Intra- and interspecific crosses between *Lilium* species [J]. Bot Gaz, 1988, 149 (4): 365-369
- [4] 罗凤霞,年玉欣,孙晓梅.4种授粉方法对切花百合不同杂交组合结籽量的影响[J].园艺学报,2005,32(4):729-731
- [5] Prosevičius Juozas. Incongruous crosses in breeding of hardy and resistant lilies [J]. Horticulture and Vegetable Growth, 2003, 22(3): 560-567
- [6] Prosevičius Juozas, Strikulyte Lidija. Interspecific hybridization and embryo rescue in breeding of lilies [J]. Acta Universitatis Latviensis, Biology, 2004, 676: 213-217
- [7] Tuyl J M Van, Claramarucci M, Visser T. Pollen and pollination experiments: . The effect of pollen treatment and application method on incompatibility and incongruity in *Lilium* [J]. Euphytica, 1982, 31: 613-619
- [8] Ascher Peter D, Peloquin S J. Effect of floral aging on the growth of compatible and incompatible pollen tubes in *Lilium longiflorum* [J]. American Journal of Botany, 1966, 53(1): 99-102
- [9] Willemse M T M, Plyushch T A, Reinders M C. In vitro micropylar penetration of the pollen tube in the ovule of *Gasteria verrucosa* (Mill.) H. Duval and *Lilium longiflorum* Thunb. : conditions, attraction and application [J]. Plant Science, 1995, 108: 201-208
- [10] J Janson, Reinders M C, Tuyl J M van, et al. Pollen tube growth in *Lilium longiflorum* following different pollination techniques and flower manipulations [J]. Acta Botanica Neerlandica 1993, 42(4): 461-472
- [11] M van Tuyl J, P van Dien M, M van Creij M G. Application of in vitro pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific *Lilium* crosses [J]. Plant Science, 1991, 74: 115-126
- [12] B Mulcahy G, Mulcahy D L. Ovarian influence on pollen tube growth, as indicated by the semivivo technique [J]. American Journal of Botany, 1985, 72: 1078-1080
- [13] 孙晓梅,崔文山,马洪玉,等.不同授粉方法对两种亚洲百合杂交结实影响的研究[J].辽宁农业科学,2001(6):9-13