

授粉方式对铁皮石斛种质座果及种子萌发的影响

王聪^{1,2}, 何生根², 段俊^{1*}

(1. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 2. 仲恺农业工程学院, 广州 510225)

摘要: 为进行铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)的良种选育和种苗生产, 对 46 个铁皮石斛种质进行人工授粉试验, 研究了不同授粉方式的授粉成功率、座果率和种子的萌发能力。结果表明, 4 种授粉方式的授粉成功率明显不同, 不同种质间的授粉成功率可达 100%, 且座果率普遍较高。只有 31.3% 的种质可以成功自花授粉, 且座果率相差较大。同株异花授粉和种质内异株授粉的成功率和座果率均介于上述二者之间。授粉后所得种子的萌发率和萌发速度在 4 种授粉方式间也呈现与授粉成功率和座果率一致的趋势。这表明在铁皮石斛种质中存在自交不亲和现象, 因此以不同产地来源的铁皮石斛种质为亲本进行人工授粉, 可大大提高授粉的成功率和座果率, 以及后代种子的萌发能力。

关键词: 铁皮石斛; 种质; 人工授粉; 座果率; 萌发率

doi: 10.11926/jtsb.3794

Effects of Artificial Pollination on Fruit Setting and Seed Germination of *Dendrobium officinale* Germplasms

WANG Cong^{1,2}, HE Sheng-gen², DUAN Jun^{1*}

(1. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: In order to selective breeding and seedling production of *Dendrobium officinale*, the pollination success rate, fruit-set rate and seed germination rate of 46 germplasms were studied by using artificial pollination, including autogamy, geitonogamy, crossing among different plants within the same germplasm and crossing among different germplasms. The results showed that the pollination was successful by crossing between different germplasms, and the fruit setting rate were high. While there were only 31.3% germplasms successful by self-pollination, and the fruit setting rate had markedly difference. The pollination success rate and fruit setting rate of geitonogamy and crossing among different plants within the same germplasm were both intervenient. And the same changes were observed in seed germination rate and speed as well as the fruit setting rate among 4 types of pollinations. These indicated that self-incompatibility existed in *D. officinale* germplasms, so that the pollination success rate, fruit setting rate and seed germination rate could increase markedly by crossing between different germplasms.

Key words: *Dendrobium officinale*; Germplasm; Artificial pollination; Fruit setting rate; Germination rate

铁皮石斛 (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 是兰科 (Orchidaceae) 石斛属多年生附生草本

植物^[1]。作为我国传统的名贵中药材, 铁皮石斛在《中华人民共和国药典》中收录, 具有益胃生津,

收稿日期: 2017-06-30

接受日期: 2017-09-13

基金项目: 广州市科技计划项目(201704020192); 中国科学院 STS 项目(2017-2018)资助

This work was supported by the Plan Project for Science and Technology in Guangzhou (Grant No. 201704020192), and the STS Project of Chinese Academy of Sciences from 2017 to 2018.

作者简介: 王聪(1989~), 女, 硕士, 主要从事园艺植物生物技术与育种技术研究。E-mail: senawang2011@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: duanj@scib.ac.cn

滋阴清热的功效^[2]。现代药理研究证实,铁皮石斛能降血糖、抗氧化、提高机体免疫力,且对多种肿瘤细胞具有抑制作用^[3-6]。铁皮石斛的养生功效已越来越受到消费者的认可,市场需求日益增大,然而由于遭到人为的过度采挖,加上自然繁殖速度极其缓慢,野生铁皮石斛资源已濒临灭绝。为实现铁皮石斛产业的可持续发展,人工规模化种植是大势所趋,而优良品种的选育和种苗生产是人工规模化种植的前提条件之一。我国铁皮石斛种质资源分布广泛^[7],遗传多样性丰富^[8],且近年来,铁皮石斛种质资源的收集和评价研究已取得一定进展^[9-11],这都为优良品种的选育创造了十分有利的条件。同时,人工辅助授粉技术的应用,使铁皮石斛座果率低的问题得到很大改善^[12-13],为种苗生产提供了更为丰富的材料基础。据文献调查,在种质水平上对铁皮石斛人工授粉技术的研究仍鲜有报道,而这是铁皮石斛种质资源收集和评价研究中非常重要的

一部分。

本研究分别在 2013 年和 2016 年,对种植于中国科学院华南植物园铁皮石斛种质圃中的不同产地来源的铁皮石斛种质,进行自花授粉、同株异花授粉、种质内异株授粉和种质间授粉等 4 种方式的人工授粉,观察比较授粉的成功率、座果率和种子萌发率,以期为铁皮石斛的良种选育和种苗生产提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料取自中国科学院华南植物园铁皮石斛种质圃,该种质圃收集了来自湖南、广西、浙江、安徽、云南、四川、福建等多个省、市、地区的 170 余份铁皮石斛种质资源,包括野生种质、农家品种等。本研究随机选取了 46 个种质进行试验(表 1)。

表 1 试验材料

Table 1 Materials tested

种质 Germplasm	产地 Origin	来源 Source	种质 Germplasm	产地 Origin	来源 Source
TH1	湖南 Hunan	农家品种 Native variety	TD1	广东 Guangdong	农家品种 Native variety
TH2	湖南 Hunan	野生 Wild	TD2	广东 Guangdong	农家品种 Native variety
TH3	湖南 Hunan	农家品种 Native variety	TY1	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TH4	湖南 Hunan	农家品种 Native variety	TY2	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX1	广西 Guangxi	野生 Wild	TY3	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX2	广西 Guangxi	农家品种 Native variety	TY4	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX3	广西 Guangxi	野生 Wild	TY5	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX4	广西 Guangxi	农家品种 Native variety	TY6	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX5	广西 Guangxi	农家品种 Native variety	TY7	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX6	广西 Guangxi	农家品种 Native variety	TY8	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX7	广西 Guangxi	野生 Wild	TY9	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX8	广西 Guangxi	野生 Wild	TY10	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX9	广西 Guangxi	野生 Wild	TY11	云南 Yunnan	野生 Wild
TX10	广西 Guangxi	农家品种 Native variety	TY12	云南 Yunnan	农家品种 Native variety
TX11	广西 Guangxi	野生 Wild	TY13	云南 Yunnan	野生 Wild
TX12	广西 Guangxi	野生 Wild	TS1	四川 Sichuan	农家品种 Native variety
TX13	广西 Guangxi	农家品种 Native variety	TS2	四川 Sichuan	农家品种 Native variety
TZ1	浙江 Zhejiang	农家品种 Native variety	TF1	福建 Fujian	农家品种 Native variety
TZ2	浙江 Zhejiang	农家品种 Native variety	TB1	不详 Unkown	农家品种 Native variety
TZ3	浙江 Zhejiang	农家品种 Native variety	TB5	不详 Unkown	农家品种 Native variety
TZ4	浙江 Zhejiang	农家品种 Native variety	TB7	不详 Unkown	农家品种 Native variety
TA1	安徽 Anhui	农家品种 Native variety	TB12	不详 Unkown	农家品种 Native variety
TA2	安徽 Anhui	农家品种 Native variety	TB14	不详 Unkown	农家品种 Native variety

1.2 方法

人工授粉 铁皮石斛种质采用 4 种方式进行人工授粉,(1) 自花授粉:用本花朵的花粉块进行授粉;(2) 同株异花授粉:同株不同花朵间授粉;(3) 种

质内异株授粉:同一种质不同植株的花朵间授粉;(4) 种质间授粉:不同种质的花朵间授粉。在 5-6 月盛花期,随机选取各种质开花 2~3 d 的健康花朵参照王聪^[14]的方法进行授粉。授粉后及时挂牌,标

记授粉方法和日期, 授粉后 2 周统计授粉成功率和座果率。

种子萌发率检测 授粉后 120 d 采收果实, 参照钱文林等^[15]的方法将果实进行无菌播种。每个果实播 7 瓶, 每个处理重复 3 次。培养温度(27±2)°C, 荧光灯光源, 光照周期 12 h d⁻¹, 光照强度 30~40 μmol m⁻²s⁻¹。培养基配方: 1/2MS 培养基(大量元素减半)附加 0.5 mg L⁻¹ NAA, 活性炭 0.3 g L⁻¹, 香蕉 50 g L⁻¹, 苹果 10 g L⁻¹, 琼脂 4.6 g L⁻¹, pH 调至 5.4。在播种后第 5 天开始每天观察种子萌发情况, 在播种后第 30 天统计种子萌发率。观察时, 每个处理随机取 3 瓶, 每瓶取 3 个视野, 于体视显微镜下观察统计。铁皮石斛种子萌发成苗的生长时期划分参照叶秀焜等^[16]和 Zeng 等^[17]的方法。

1.3 数据处理

使用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 19.0 软件进行数据处理和分析。

2 结果和分析

2.1 授粉方式对授粉成功率和座果率的影响

授粉未成功的花朵会在授粉后的 2~3 d 枯萎凋落, 授粉成功的花朵则花瓣逐渐萎蔫, 子房逐渐膨大。从表 2 可以看出, 不同授粉方式的授粉成功率不同, 其中不同种质间的授粉成功率最高, 可达 100%, 其次分别为种质内异株授粉和同株异花授

粉, 自花授粉成功率最低, 仅为 31.3%。表明铁皮石斛具有较高的杂交亲和性, 同时存在自交不亲和现象。采用不同种质作为双亲的授粉方式, 可提高铁皮石斛人工授粉的成功率。

从表 3 可看出, 对 TX3 等 32 个种质进行自花授粉, 不同种质的自花授粉座果率相差很大, 其中 TX3 种质的座果率较高, 达 90%, TX1 等 9 个种质的座果率为 7.3%~36.4%, 其余 22 个种质的座果率均为 0。对 TX10 等 8 个种质进行同株异花授粉, 其中 TX10、TS1、TF1 种质的座果率分别达到 35.0%、8.7%和 6.7%, 其余 5 个种质的座果率均为 0。对 TS1 等 8 个种质进行种质内异株授粉, 其中 TS1、TX10、TF1、TH3 种质的座果率分别为 68.4%、61.9%、60.0%、57.1%, 其余 4 个种质的座果率均为 0。对 TY4 等 21 个种质进行种质间授粉, 座果率为 7.7%~100%, 其中有 21 组处理的座果率超过 70%, 有 16 组处理的座果率高达 100%。

同时, 对比同一种质在不同授粉方式下的座果率, TX10 种质在自花授粉、同株异花授粉、种质内异株授粉和种质间授粉的座果率分别为 27.8%、35.0%、61.9%和 64.3%, 而 TS1 种质相应的座果率分别为 0、8.7%、68.4%和 100%, 均呈现依次递增的现象, 其余种质虽未能同时完成 4 种授粉方式, 但也表现出一致的趋势。这表明在铁皮石斛种质中存在明显的自交不亲和现象, 大多数种质的自交不亲和程度较高。

另外, 种质间授粉处理中, 双亲正反交组合的座果率较为一致, 说明细胞质对座果率基本没有影响。

表 2 授粉成功率

Table 2 Pollination success rate

授粉方式 Pollination type	种质数量 Number of germplasms	授粉成功种质数量 Number of germplasms successfully pollinated	%
自花授粉 Autogamy	32	10	31.3
同株异花授粉 Geitonogamy	8	3	37.5
种质内异株授粉 Crossing within germplasm	8	4	50.0
种质间授粉 Crossing between germplasms	21	21	100.0

2.2 不同授粉方式对萌发率的影响

对 TX5 等 4 个种质在不同授粉方式下所得果实进行无菌播种。从表 4 可见, TX5 和 TA1 种质通过种质间授粉后种子的萌发率均显著高于自花授粉 ($P<0.05$, 下同), 且在萌发速度方面, TX5 通过种质间授粉所得的种子, 在播种第 30 天时萌发进入 3 期的种子比例显著高于自花授粉, 而 TA1 通过种质

间授粉所得的种子萌发进入 2 期的比例显著高于自花授粉, 表明这两个种质通过种质间授粉后, 种子的萌发速度均快于自花授粉。同样的, TF1 通过种质内异株授粉后种子的萌发率显著高于同株异花授粉, 且前者种子的萌发速度也显著快于后者。TS1 通过种质间授粉后种子的萌发率显著高于种质内异株授粉和同株异花授粉, 且种质内异株授粉高于

表 3 不同授粉方式下的座果率

Table 3 Fruit setting under different pollination type

授粉方式 Pollination type	种质 Germplasm	授粉花朵数 Number of flowers pollinated	座果花朵数 Number of flowers setting	%
自花授粉 Autogamy	TX3	40	36	90.0
	TX1	31	11	35.5
	TX5	21	6	28.6
	TX10	36	10	27.8
	TH1	33	12	36.4
	TH3	25	4	16.0
	TA1	25	5	20.0
	TZ1	27	6	22.2
	TD2	34	4	11.8
	TY1	41	3	7.3
	TX2	34	0	0
	TX4	28	0	0
	TX6	27	0	0
	TX7	26	0	0
	TX8	30	0	0
	TX9	21	0	0
	TH2	30	0	0
	TZ2	22	0	0
	TZ3	50	0	0
	TZ4	26	0	0
	TY2	39	0	0
	TY3	30	0	0
	TY4	53	0	0
	TY5	29	0	0
	TY6	31	0	0
	TY7	21	0	0
	TY8	29	0	0
TY9	51	0	0	
TY10	45	0	0	
TY11	24	0	0	
TS1	30	0	0	
TF1	32	0	0	
同株异花授粉 Geitonogamy	TX10	20	7	35.0
	TS1	23	2	8.7
	TF1	30	2	6.7
	TY4	22	0	0
	TH2	22	0	0
	TX7	21	0	0
	TX9	20	0	0
种质内异株授粉 Crossing within germplasm	TZ4	22	0	0
	TS1	19	13	68.4
	TX10	21	13	61.9
	TF1	35	21	60.0
	TH3	21	12	57.1
	TY4	21	0	0
	TH2	26	0	0
	TX9	30	0	0
种质间授粉 Crossing between germplasms	TZ4	22	0	0
	TY4×TY9	31	31	100.0
	TY9×TY4	30	30	100.0
	TX6×TY5	26	26	100.0
	TY5×TX6	26	26	100.0
	TX6×TY6	30	30	100.0
	TY6×TX6	30	30	100.0
TY12×TX3	23	19	82.6	

续表(Continued)

授粉方式 Pollination type	种质 Germplasm	授粉花朵数 Number of flowers pollinated	座果花朵数 Number of flowers setting	%
种质间授粉 Crossing between germplasms	TX3×TY12	24	22	91.7
	TY9×TY11	35	11	31.4
	TY11×TY9	34	5	14.7
	TB1×TY4	31	31	100.0
	TY4×TB1	31	31	100.0
	TB7×TX3	23	23	100.0
	TX3×TB7	23	23	100.0
	TH2×TS1	30	30	100.0
	TS1×TH2	30	30	100.0
	TB7×TY11	28	28	100.0
	TY11×TB7	29	29	100.0
	TX7×TS1	33	33	100.0
	TS1×TX7	33	33	100.0
	TH3×TS2	30	21	70.0
	TS2×TH3	29	23	79.3
	TX5×TX3	30	24	80.0
TX9×TB14	31	9	29.0	
TX10×TB14	28	18	64.3	
TZ4×TB12	26	2	7.7	

表 4 不同授粉方式下的种子萌发率

Table 4 Seed germination rate under different pollination type

种质 Germplasm	授粉方式 Pollination type	萌发时期 Germination stage						萌发率 /% Germination rate
		0	1	2	3	4	5	
TX5	自花授粉 Autogamy	29.3±4.4a	2.3±0.9a	67.7±5.2a	0b	0a	0a	70.7±4.4b
	TX5×TX3	0.7±0.7b	0.7±0.7a	67.7±8.1a	31.3±8.7a	0a	0a	99.3±0.7a
TA1	自花授粉 Autogamy	77.7±5.6a	3.3±3.3a	19.0±7.1b	0a	0a	0a	22.3±5.6b
	TA1×TZ3	33.7±3.7b	2.7±0.9a	62.3±3.3a	1.0±0.6a	0a	0a	66.3±3.7a
TF1	同株异花 Geitonogamy	39.7±3.7a	20.7±1.7a	39.3±3.3b	0.3±0.3b	0a	0a	60.3±3.7b
	种质内异株 Crossing within germplasm	13.0±1.5b	5.0±1.5b	53.3±3.4a	28.3±3.3a	0a	0a	87.0±1.5a
TS1	同株异花 Geitonogamy	44.0±12.5a	6.3±0.9a	39.7±13.2a	10.0±3.6a	0a	0a	56.0±12.5b
	种质内异株 Crossing within germplasm	24.3±1.8ab	13.7±3.8a	57.0±6.0a	5.0±3.6a	0a	0a	75.7±1.8ab
	TS1×TH2	11.0±1.5b	7.3±2.8a	65.7±6.0a	16.0±7.0a	0a	0a	89.0±1.5a
	TS1×TX7	8.7±4.2b	6.0±1.0a	64.3±3.5a	21.0±4.6a	0a	0a	91.3±4.2a

相同种质同列数据后不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Data followed different letters within column of the same germplasm indicate significant difference at 0.05 level.

其他 3 种授粉方式得到的铁皮石斛种子具有更强的萌发能力。

3 讨论

狭义上的自交是指同一花朵内的花粉传粉,而广义上,同一花朵内花粉传粉、同一植株上的花朵传粉、同一品种内或同一基因型不同个体间传粉等均称为自交^[18]。植物的自交不亲和性是植株的雌蕊对自身花粉和异体花粉进行识别,并能抑制自身花

粉或同一品系内的异株花粉在自身的柱头上萌发或生长的现象,是植物在长期进化过程中形成的有利于异花授粉的一种生殖隔离^[19]。自交不亲和现象普遍存在于自然界中,兰科石斛属的大多数植物是自交不亲和的,而不同种的石斛自交不亲和程度各异^[20-23]。在本研究中,自花授粉、同株异花授粉和种质内异株授粉均为广义上的自交,3种授粉方式因花粉是否来源于母本花朵或母本植株而异。研究结果表明,大多数铁皮石斛种质自花授粉不成功或座果率低,种质间授粉均能成功且座果率高,而同

株异花授粉和种质内异株授粉的成功率和座果率均介于二者之间, 这从种质水平证实, 铁皮石斛中存在自交不亲和现象, 且不同种质自交不亲和程度不同, 但种质间似乎不存在交配不亲和现象, 通过种质间授粉可大大提高铁皮石斛授粉成功率和座果率。

繁育系统对物种进化和遗传多样性起着至关重要的作用, 而交配系统被认为是繁育系统的核心^[24]。高等植物的繁育系统非常复杂, 有以自花授粉为主的, 自交异交混合的, 也有完全异交的^[25]。异交更有利于物种的生存和进化, 而自交也有许多优势, 如占据新生境、克服传粉媒介的短缺、维持种群的局部适应以及直接获得亲本的优良性状等^[26]。一般来说, 恶劣的传粉条件会导致自交率的上升^[27], 铁皮石斛种质生境的多样性应该是造成不同种质自花授粉座果率差异的原因。朱波等^[12]报道铁皮石斛自交结实率为 7.3%, 且推测前人报道的药用石斛自交结实率为 25.0%~75.0%是种内杂交所致。本研究中, 铁皮石斛 TX3 种质的自花授粉座果率可高达 90.0%, 且 TD2、TH1 等 8 个种质的座果率也达 11.8%~36.4%, 表明较高的自花授粉座果率是可以达到的, 前提是选择座果率较高的种质。

自交使种群内纯合体的比例增加, 不可避免地会导致种群内有害基因的积累, 进而导致近交衰退^[27]。近交衰退主要表现为个体间遗传多样性和后代适合度的损失, 而后代适合度主要体现在结实率、种子数量和质量, 以及种子萌发和后代生长等方面^[24]。近交衰退在兰科植物中较常见, Tremblay 等^[28]报道兰科植物通过自花授粉会降低有活力胚的种子量, 王晓静等^[29]对流苏石斛(*Dendrobium fimbriatum*)的研究也证实了这一点。本研究中, 不同铁皮石斛种质自花授粉、同株异花授粉、种质内异株授粉和种质间授粉下种子的萌发率和萌发速度均呈现依次递增的趋势, 表明近交衰退也存在于铁皮石斛中, 因此种质间授粉可作为铁皮石斛良种选育的主要技术手段。

本研究结果初步表明, 有 28.6% 的野生种质可成功自花授粉, 32.0% 的农家品种成功自花授粉, 野生种质和农家品种在自花授粉座果率上不存在明显差别。57.1% 的以农家品种为母本、野生种质为父本的种质间授粉组合座果率达 100%, 同时也有 57.1% 的以野生种质为母本、农家品种为父本的种质间授粉组合座果率达 100%, 且此二者恰是对应

的正反交关系, 这表明亲本的正反交方式, 即细胞质对种质间授粉的座果率影响不大。目前, 匮乏的铁皮石斛野生种质资源已很难支撑优良品种的选育, 而农家品种因已经过一定的人工选择, 具有许多优良性状, 是今后铁皮石斛良种选育的主要亲本资源。因此, 在铁皮石斛种质资源收集和评价研究工作中, 对铁皮石斛野生种质和农家品种的人工授粉特性进行系统研究显得很有必要。

参考文献

- [1] JI Z H. Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus 19 [M]. Beijing: Science Press, 1999: 117.
吉占和. 中国植物志, 第 19 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 117.
- [2] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of China [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010: 265–266.
国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 265–266.
- [3] HE T G, YANG L T, LI Y R, et al. Physicochemical properties and antitumor activity of polysaccharide DCPPIa-1 from suspension-cultured protocorms of *Dendrobium candidum* [J]. Nat Prod Res Dev, 2007, 19(4): 578–583. doi: 10.3969/j.issn.1001-6880.2007.04.008.
何铁光, 杨丽涛, 李杨瑞, 等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCPPIa-1 的理化性质及抗肿瘤活性 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(4): 578–583. doi: 10.3969/j.issn.1001-6880.2007.04.008.
- [4] LIU X F, ZHU J, GE S Y, et al. Orally administered *Dendrobium officinale* and its polysaccharides enhance immune functions in BALB/c mice [J]. Nat Prod Commun, 2011, 6(6): 867–870.
- [5] PAN L H, LI X F, WANG M N, et al. Comparison of hypoglycemic and antioxidative effects of polysaccharides from four different *Dendrobium* species [J]. Int J Biol Macromol, 2014, 64: 420–427. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.12.024.
- [6] NIE S P, CAI H L. Research progress in bioactive components and functions of *Dendrobium officinale* [J]. Food Sci, 2012, 33(23): 356–361.
聂少平, 蔡海兰. 铁皮石斛活性成分及其功能研究进展 [J]. 食品科学, 2012, 33(23): 356–361.
- [7] DUAN J, DUAN Y P. High-effective Cultivation Technique of *Dendrobium officinale* [M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Press, 2013: 7.
段俊, 段毅平. 铁皮石斛高效栽培技术 [M]. 福州: 福建科学技术

- 出版社, 2013: 7.
- [8] LI Y Q, YE W, JIANG J L, et al. Analysis of genetic diversity of germplasm resources of *Dendrobium officinale* by ISSR [J]. *SW China J Agric Sci*, 2015, 28(4): 1530–1534. doi: 10.16213/j.cnki.scjas.2015.04.023.
- 李永清, 叶炜, 江金兰, 等. 铁皮石斛种质亲缘关系的 ISSR 分析 [J]. *西南农业学报*, 2015, 28(4): 1530–1534. doi: 10.16213/j.cnki.scjas.2015.04.023.
- [9] SI J P, HE B W, YU Q X. Progress and countermeasures of *Dendrobium officinale* breeding [J]. *China J Chin Mat Med*, 2013, 38(4): 475–480. doi: 10.4268/cjcmm20130402.
- 斯金平, 何伯伟, 俞巧仙. 铁皮石斛良种选育进展与对策 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(4): 475–480. doi: 10.4268/cjcmm20130402.
- [10] HU F, MEI Y, QIU D S, et al. Research advances in breeding of *Dendrobium officinale* [J]. *Guangdong Agric Sci*, 2015, 42(15): 12–17. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2015.15.003.
- 胡峰, 梅瑜, 邱道寿, 等. 铁皮石斛育种研究进展 [J]. *广东农业科学*, 2015, 42(15): 12–17. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2015.15.003.
- [11] SI J P, WANG Q, LIU Z J, et al. Breakthrough in key science and technologies in *Dendrobium catenatum* industry [J]. *China J Chin Mat Med*, 2017, 42(12): 2223–2227. doi: 10.19540/j.cnki.cjcmm.2017.0102.
- 斯金平, 王琦, 刘仲健, 等. 铁皮石斛产业化关键科学与技术的突破 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(12): 2223–2227. doi: 10.19540/j.cnki.cjcmm.2017.0102.
- [12] ZHU B, YUAN H, YU Q X, et al. Pollen vigor and development of germplasm of *Dendrobium officinale* [J]. *China J Chin Mat Med*, 2011, 36(6): 755–757. doi: 10.4268/cjcmm20110623.
- 朱波, 苑鹤, 俞巧仙, 等. 铁皮石斛花粉活力与种质创制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(6): 755–757. doi: 10.4268/cjcmm20110623.
- [13] HE Y Y, QI L C, LI H L, et al. Studies on pollination fruiting characteristics of *Dendrobium officinale* [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2015, 43(33): 188–190. doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2015.33.062.
- 何玉友, 威利潮, 李海龙, 等. 铁皮石斛授粉结实特性试验 [J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(33): 188–190. doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2015.33.062.
- [14] WANG C. Study on rapid propagation of *Dendrobium officinale* [D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2014.
- 王聪. 铁皮石斛快速繁殖技术研究 [D]. 广州: 仲恺农业工程学院, 2014.
- [15] QIAN W L, ZHANG J X, WU K L, et al. Study on propagation and cultivation technique of *Dendrobium huoshanense* seedlings [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2013, 21(3): 240–246. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.03.009.
- 钱文林, 张建霞, 吴坤林, 等. 霍山石斛种苗繁殖与栽培研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2013, 21(3): 240–246. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.03.009.
- [16] YE X L, CHENG S J, WANG F X, et al. Morphology of immature seeds and development *in vitro* of *Dendrobium candidum* [J]. *Acta Bot Yunnan*, 1998, 10(3): 285–290.
- 叶秀森, 程式君, 王伏雄, 等. 黑节草未成熟种子的形态发育及其在离体培养时的表现 [J]. *云南植物研究*, 1998, 10(3): 285–290.
- [17] ZENG S J, WU K L, da SILVA J A T, et al. Asymbiotic seed germination, seedling development and reintroduction of *Paphiopedilum wardii* Sumerh., an endangered terrestrial orchid [J]. *Sci Hort*, 2012, 138: 198–209. doi: 10.1016/j.scienta.2012.02.026.
- [18] OU X Q, ZHAO J J, WANG C H. Analysis of the concept and connotation on crop pollination methods [J]. *Seed*, 2009, 28(5): 86–89. doi: 10.3969/j.issn.1001-4705.2009.05.025.
- 欧行奇, 赵俊杰, 王春虎. 对作物授粉方式概念与内涵的分析 [J]. *种子*, 2009, 28(5): 86–89. doi: 10.3969/j.issn.1001-4705.2009.05.025.
- [19] WU H Q, ZHANG S L, WANG H T, et al. Self-pollen recognition and rejection in flowering plants [J]. *Acta Bot Boreali-Occid Sin*, 2005, 25(3): 593–606. doi: 10.3321/j.issn:1000-4025.2005.03.032.
- [20] LIU S L, ZHAO G J, WU X, et al. Research progress on plant self-incompatibility mechanism [J]. *J Agric Sci Technol*, 2016, 18(4): 31–37. doi: 10.13304/j.nykjdb.2015.656.
- 刘素玲, 赵国建, 吴欣, 等. 植物自交不亲和机制研究进展 [J]. *中国农业科技导报*, 2016, 18(4): 31–37. doi: 10.13304/j.nykjdb.2015.656.
- [21] JOHANSEN B O. Incompatibility in *Dendrobium* (Orchidaceae) [J]. *Bot J Linn Soc*, 1990, 103(2): 165–196. doi: 10.1111/j.1095-8339.1990.tb00183.x.
- [22] CHENG S J. Artificial pollination of *Dendrobiums* [C]// *Acta Botanica Austro Sinica*, No. 3. Beijing: Science Press, 1986: 46–49.
- 程式君. 石斛的人工授粉 [C]// *中国科学院华南植物研究所集刊*, 第 3 集. 北京: 科学出版社, 1986: 46–49.
- [23] LUO H M, ZHENG X L, CAI S K, et al. Experiments of artificial pollination on six species of *Dendrobium* [J]. *Guangdong Agric Sci*, 2011, 38(S1): 121–123. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2011.z1.036.

- 罗焕明, 郑希龙, 蔡时可, 等. 6 种石斛属植物的人工授粉试验 [J]. 广东农业科学, 2011, 38(S1): 121–123. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2011.z1.036.
- [24] HE Y P, LIU J Q. A review on recent advances in the studies of plant breeding system [J]. Acta Phytoecol Sin, 2003, 27(2): 151–163.
- 何亚平, 刘建全. 植物繁育系统研究的最新进展和评述 [J]. 植物生态学报, 2003, 27(2): 151–163.
- [25] WANG H X, HU Z A. Plant breeding system, genetic structure and conservation of genetic diversity [J]. Chin Biodiv, 1996, 4(2): 92–96.
- 王洪新, 胡志昂. 植物的繁育系统、遗传结构和遗传多样性保护 [J]. 生物多样性, 1996, 4(2): 32–36.
- [26] RUAN C J, QIN P, YIN Z F. Advancements in reproductive assurance and delayed selfing [J]. Acta Ecol Sin, 2006, 26(1): 195–204. doi: 10.3321/j.issn:1000-0933.2006.01.026.
- 阮成江, 钦佩, 尹增芳. 繁殖保障和延迟自交的研究进展 [J]. 生态学报, 2006, 26(1): 195–204. doi: 10.3321/j.issn:1000-0933.2006.01.026.
- [27] ZHANG D Y, JIANG X H. Mating system evolution, resource allocation, and genetic diversity in plants [J]. Acta Phytoecol Sin, 2001, 25(2): 130–143.
- 张大勇, 姜新华. 植物交配系统的进化、资源分配对策与遗传多样性 [J]. 植物生态学报, 2001, 25(2): 130–143.
- [28] TREMBLAY R L, ACKERMAN J D, ZIMMERMAN J K, et al. Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: A spasmodic journey to diversification [J]. Biol J Linn Soc, 2005, 84(1): 1–54. doi: 10.1111/j.1095-8312.2004.00400.x.
- [29] WANG X J, YU L, YIN S H. Pollination models effects on fruit set and seed viability of *Dendrobium fimbriatum* (Orchidaceae) [J]. J Yunnan Univ (Nat Sci), 2009, 31(S1): 374–377.
- 王晓静, 余乐, 殷寿华. 授粉方式对流苏石斛结实率及种子活力的影响 [J]. 云南大学学报(自然科学版), 2009, 31(S1): 374–377.