

# 菊属植物远缘杂交亲和性研究

李辛雷<sup>1,2</sup>, 陈发棣<sup>1\*</sup>, 赵宏波<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>南京农业大学园艺学院, 南京 210095; <sup>2</sup>中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江富阳 311400)

**摘 要:** 开展了不同倍性菊属物种间远缘杂交试验, 比较不同杂交组合的杂交亲和指数, 并对授粉后生殖生物学过程 (柱头花粉附着、花粉萌发、花粉管生长、受精及子房发育) 进行荧光显微观察。结果表明, 具相同倍性的种间及四倍体与六倍体物种间杂交较易结籽, 而二倍体与四倍体或六倍体间难以结籽, 表现杂交不亲和。菊属远缘杂交不亲和表现为柱头上花粉粒粘附少, 花粉萌发率低, 花粉管生长异常, 难以进入花柱, 诱导柱头胼胝质生成, 受精胚败育。

**关键词:** 菊属; 远缘杂交; 亲和性; 杂交不亲和

**中图分类号:** S 682.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2008) 02-0257-06

## Compatibility of Interspecific Cross in *Dendranthema* Genus

LIXin-lei<sup>1,2</sup>, CHEN Fa-di<sup>1\*</sup>, and ZHAO Hong-bo<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; <sup>2</sup> Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang, Zhejiang 311400, China)

**Abstract:** The interspecific cross was attempted between different species/cultivars of different ploidy in *Dendranthema* genus. The compatible index was calculated in different interspecific crosses. In addition, pollen adhesion, pollen germination, pollen tube growth, fertilization and ovary development were observed under fluoroscope. The results showed that seed-set was easily obtained from interspecific cross between the species of same ploidy or those between the tetraploid and hexaploid. However, few seed-set was obtained from the interspecific cross between diploid and tetraploid or hexaploid species, incompatibility was observed. The incompatibility of interspecific cross was characterized by low pollen adhesion, low pollen germination rate, abnormal pollen tube hampered extension on the stigma, calloses deposit on the stigma and collapsed ovary.

**Key words:** *Dendranthema*; interspecific cross; compatibility; incompatibility

菊花 (*Dendranthema morifolium*) 近缘种植物具有很多优良抗性性状, 如毛华菊、野菊、甘菊等具抗病虫、抗逆等优异性状 (李鸿渐和邵建文, 1993)。在菊属植物远缘杂交方面, 戴思兰和陈俊愉 (1996) 对菊属 7 个野生种进行了人工种间杂交试验, 李辛雷等 (2005, 2006) 利用远缘杂交结合幼胚拯救获得了远缘杂种, 但关于菊属植物远缘杂交亲和性及其原因的研究尚未见相关报道。本研究比较了不同倍性菊属物种间的杂交亲和性, 并对其进行了生殖生物学的显微观察, 以期为菊属远缘杂交亲本选配、不亲和机理研究及克服其不亲和障碍奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为二倍体菊属野生种甘菊 (*D. lavandulifolium*)、菊花脑 (*D. nankingense*)、异色菊

收稿日期: 2007 - 07 - 17; 修回日期: 2007 - 11 - 27

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划项目 (NCET-06-0489); 国家科技支撑计划项目 (2006BAD01A18)

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

(*D. dichnum*), 不同地理居群的四倍体野菊 (*D. indicum*)、同源四倍体菊花脑, 六倍体毛华菊 (*D. vestitum*)、六倍体小红菊 (*D. chanetii*) 及栽培菊花 (*Dendranthema morifolium*) 品种六倍体及其非整倍体 (表 1)。

所有材料均由南京农业大学“中国菊花种质资源保存中心”提供。

## 1.2 去雄和授粉

母本在花药成熟前进行人工去雄并套袋隔离, 父本在舌状花微开时套袋。在母本柱头达到最佳可授期时进行授粉, 同一花序重复授粉 2~3 次。

采用不同授粉方法对菊花脑 × ‘黄英’ 和 ‘黄英’ × 菊花脑组合进行杂交授粉。( ) 直接授粉: 常规杂交法, 直接在柱头上授父本花粉。( ) 生理盐水处理: 授粉前 1 h 在柱头上涂  $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  生理盐水。( ) 生理盐水 + 硼酸处理: 授粉前 1 h 在柱头上涂  $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  生理盐水 +  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  硼酸。( ) 植物激素处理: 授粉前 1 h 在柱头上涂  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  赤霉素 (GA)。( ) 切割柱头处理: 切去柱头后授粉。( ) 蕾期授粉: 花蕾显色前 2 d 剥开花蕾, 授父本花粉。

## 1.3 授粉后荧光显微观察生殖生物学过程

荧光显微观察按南汝斌和孙自然 (1991) 的方法。直接授粉后 0.5、1、2、4、6、8、12、16、24、48 h 取小花放入卡诺氏固定液 (95% 酒精 冰醋酸 = 3:1) 中固定 12 h, 随后在  $8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液中处理 4 h, 自来水冲洗后以含  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_3\text{PO}_4$  的 0.1% 水溶性苯胺蓝溶液浸泡 4 h。雌蕊用甘油压片, 用 Olympus 荧光显微镜在紫外光源下观察花粉和柱头并拍照。授粉后每个时期的雌蕊各观察 15~32 个, 重复 2 次。

统计花粉附着与萌发情况, 每柱头平均附着花粉数 = 附着花粉数 / 观察雌蕊数; 每柱头平均萌发花粉数 = 萌发花粉数 / 观察雌蕊数。

在杂交授粉后 0.5、1、2、4、6、8、12、16、24、48 h 及 4、6、8、10、12、14、16、18、20 d 剥取子房, 在 Olympus 显微镜下观察受精情况。每次观察子房 30 个, 重复 2 次。

## 1.4 亲和指数计算

种子成熟后采收, 计算远缘杂交亲和指数 (结籽数 / 花序数)。杂交所得杂种的鉴定按李辛雷等 (2005, 2006) 的方法。

# 2 结果与分析

## 2.1 远缘杂交亲和指数分析

菊属各种倍性物种间杂交亲和指数 (结籽数 / 花序数) 见表 1。

二倍体物种甘菊、异色菊及菊花脑间杂交均能结籽, 亲和指数最高达 5.4, 最低 1.2。四倍体野菊与六倍体毛华菊间, 四倍体南京野菊、六倍体毛华菊和小红菊与六倍体栽培菊花 ‘黄英’ 间杂交亦能获得种子, 亲和指数最低 0.5, 最高达 4.3。二倍体菊属种与四倍体野菊, 六倍体毛华菊及六倍体栽培菊花 ‘黄英’、‘彩霞’、‘紫玉芙蓉’、‘紫勋章’ 等杂交均不能结籽, 杂交不亲和, 亲和指数为 0。

可见, 菊属倍性相同的种间或倍性相近的高倍性种间 (如四倍体与六倍体) 杂交均能结籽, 而倍性差异较大 (如二倍体与四倍体或六倍体) 的种间不能结籽, 表现为杂交不亲和。

对杂交不亲和组合菊花脑 × ‘黄英’ 和 ‘黄英’ × 菊花脑采用不同授粉方法进行杂交试验, 授粉花序数为 34~39 个, 重复 2 次。结果发现, 各种授粉方法处理后杂交均未能结籽, 亲和指数均为 0, 各种授粉方法未能克服菊花脑与 ‘黄英’ 种间杂交不亲和性。

表 1 菊属远缘杂交亲和指数

Table 1 The compatible index of interspecific cross in *Dendranthema*

杂交组合 Cross combination	杂交花序数 Number of pollinated inflorescences	结籽数 Number of seed-set	亲和指数 Compatible index
甘菊 <i>D. lavandulifolium</i> (2n = 2x = 18) × 异色菊 <i>D. dichnum</i> (2n = 2x = 18)	20	108	5.4
甘菊 <i>D. lavandulifolium</i> × 菊花脑 <i>D. nankingense</i> (2n = 2x = 18)	24	69	2.9
甘菊 <i>D. lavandulifolium</i> × 南京野菊 <i>D. indicum</i> (2n = 4x = 36)	30	0	0.0
甘菊 <i>D. lavandulifolium</i> × 毛华菊 <i>D. vestitum</i> (2n = 6x = 54)	28	0	0.0
甘菊 <i>D. lavandulifolium</i> × ‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’ (2n = 6x = 54)	72	0	0.0
‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’ × 甘菊 <i>D. lavandulifolium</i>	26	0	0.0
甘菊 <i>D. lavandulifolium</i> × ‘彩霞’ <i>D. morifolium</i> ‘Caixia’ (2n = 6x = 54)	47	0	0.0
异色菊 <i>D. dichnum</i> × 甘菊 <i>D. lavandulifolium</i>	23	76	3.3
异色菊 <i>D. dichnum</i> × 河南野菊 <i>D. indicum</i> (2n = 4x = 36)	34	0	0.0
异色菊 <i>D. dichnum</i> × 毛华菊 <i>D. vestitum</i>	28	0	0.0
异色菊 <i>D. dichnum</i> × ‘紫玉芙蓉’ <i>D. morifolium</i> ‘Ziyu Furong’ (2n = 6x = 54)	31	0	0.0
‘紫玉芙蓉’ <i>D. morifolium</i> ‘Ziyu Furong’ × 异色菊 <i>D. dichnum</i>	31	0	0.0
‘紫勋章’ <i>D. morifolium</i> ‘Zixunzhang’ (2n = 6x = 54) × 异色菊 <i>D. dichnum</i>	46	0	0.0
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × 甘菊 <i>D. lavandulifolium</i>	33	39	1.2
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × 异色菊 <i>D. dichnum</i>	36	48	1.3
菊花脑 <i>D. nankingense</i> (4x) (2n = 4x = 36) × 异色菊 <i>D. dichnum</i>	32	0	0.0
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × 河南野菊 <i>D. indicum</i>	26	0	0.0
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × 南京野菊 <i>D. indicum</i>	29	0	0.0
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × 毛华菊 <i>D. vestitum</i>	31	0	0.0
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × ‘杭白菊’ <i>D. morifolium</i> ‘Hangbaiju’ (2n = 6x = 54)	28	0	0.0
‘杭白菊’ <i>D. morifolium</i> ‘Hangbaiju’ × 菊花脑 <i>D. nankingense</i>	44	0	0.0
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × ‘滁菊’ <i>D. morifolium</i> ‘Chuju’ (2n = 6x = 54)	23	0	0.0
‘滁菊’ <i>D. morifolium</i> ‘Chuju’ × 菊花脑 <i>D. nankingense</i>	37	0	0.0
菊花脑 <i>D. nankingense</i> (4x) × ‘滁菊’ <i>D. morifolium</i> ‘Chuju’	30	24	0.8
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × ‘彩霞’ <i>D. morifolium</i> ‘Caixia’	38	0	0.0
‘彩霞’ <i>D. morifolium</i> ‘Caixia’ × 菊花脑 <i>D. nankingense</i>	34	0	0.0
菊花脑 <i>D. nankingense</i> × ‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’	41	0	0.0
南京野菊 <i>D. indicum</i> × 甘菊 <i>D. lavandulifolium</i>	36	0	0.0
南京野菊 <i>D. indicum</i> × 菊花脑 <i>D. nankingense</i>	35	0	0.0
南京野菊 <i>D. indicum</i> × ‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’	20	82	4.1
南京野菊 <i>D. indicum</i> × 毛华菊 <i>D. vestitum</i>	20	86	4.3
河南野菊 <i>D. indicum</i> × 毛华菊 <i>D. vestitum</i>	36	18	0.5
毛华菊 <i>D. vestitum</i> × 菊花脑 <i>D. nankingense</i>	24	0	0.0
毛华菊 <i>D. vestitum</i> × 异色菊 <i>D. dichnum</i>	34	0	0.0
毛华菊 <i>D. vestitum</i> × 南京野菊 <i>D. indicum</i>	20	14	0.7
毛华菊 <i>D. vestitum</i> × ‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’	27	49	1.8
‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’ × 南京野菊 <i>D. indicum</i>	34	62	1.8
‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’ × 小红菊 <i>D. chanetii</i> (2n = 6x = 54)	22	55	2.5
‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’ × 毛华菊 <i>D. vestitum</i>	21	41	2.0
‘黄英’ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’ × 菊花脑 <i>D. nankingense</i>	37	0	0.0

## 2.2 远缘杂交授粉后生殖生物学过程荧光显微观察结果

### 2.2.1 柱头上花粉的附着情况

以杂交亲和的‘黄英’×野菊组合为对照,对杂交不亲和的‘黄英’与菊花脑正反交组合授粉后生殖生物学过程进行荧光显微观察。授粉后不同时间柱头上的花粉附着情况见表2。杂交亲和组合‘黄英’×野菊授粉后0.5 h,有44.0%的柱头上附着花粉,每柱头平均附着6.9粒;授粉后1 h,每柱头粘附的花粉粒增加为14.1粒;授粉后8 h,几乎所有柱头都附着花粉,每柱头粘附的花粉粒达到最高(33.6粒)。杂交不亲和组合‘黄英’×菊花脑授粉后0.5 h,平均每柱头附着花粉3.3粒,反

交组合 1.6粒;授粉后 1 h, 正交每柱头附着花粉 5.2粒, 反交为 2.0粒;授粉后 16 h, 每柱头粘附的花粉粒达到最高, 正反交每柱头分别为 6.7粒和 4.3粒。每柱头附着的平均花粉粒数, 杂交不亲和组合‘黄英’与菊花脑正反交比杂交亲和组合‘黄英’ $\times$ 野菊少。

表 2 授粉后平均每柱头附着及萌发的花粉数

授粉后时间 /h HDAP	Table 2 Average number of adhesion and germination pollens on per stigma after pollination							
	‘黄英’ $\times$ 野菊 <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’ $\times$ <i>D. indicum</i>		‘黄英’ $\times$ 菊花脑 <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’ $\times$ <i>D. nankingense</i>		菊花脑 $\times$ ‘黄英’ <i>D. nankingense</i> $\times$ <i>D. morifolium</i> ‘Huangying’			
	附着 Adhered	萌发 Germinated	附着 Adhered	萌发 Germinated	附着 Adhered	萌发 Germinated	附着 Adhered	萌发 Germinated
0.5	6.9	3.0	3.3	0.7	1.6	0.3		
1	14.1	8.9	5.2	3.5	2.0	1.1		
2	14.4	2.3	5.8	1.7	1.6	0.1		
4	19.1	3.7	4.8	0.9	3.1	0.7		
6	14.2	3.9	5.2	0.7	2.3	0.1		
8	33.6	14.0	3.6	2.3	2.0	1.0		
12	8.3	4.5	2.7	1.5	3.0	0.4		
16	18.1	6.1	6.7	3.7	4.3	1.2		
24	9.1	2.9	4.4	1.6	3.0	0.3		
48	7.7	3.6	4.3	1.9	2.1	0.8		

### 2.2.2 花粉萌发

授粉后不同时间花粉的萌发情况见表 2。远缘杂交亲和组合‘黄英’ $\times$ 野菊授粉后 0.5 h, 32%的柱头上有花粉萌发, 每柱头萌发花粉数平均 3.0粒;授粉 1 h后, 每柱头萌发花粉数最高达 43粒, 平均为 8.9粒;授粉后 8 h, 所有柱头均有花粉萌发, 每柱头萌发的花粉数达到最高, 平均为 14.0粒。对于远缘杂交不亲和组合‘黄英’与菊花脑, 授粉后 0.5 h, 平均每柱头花粉萌发数正交为 0.7粒, 反交为 0.3粒;授粉后 1 h, 分别达到 3.5粒和 1.1粒;授粉后 16 h, 正交组合 81.3%的柱头有花粉萌发, 正反交每柱头花粉萌发数均达到最高, 分别为 3.7粒和 1.2粒。杂交不亲和组合‘黄英’与菊花脑每柱头花粉萌发率比杂交亲和组合‘黄英’ $\times$ 野菊低。

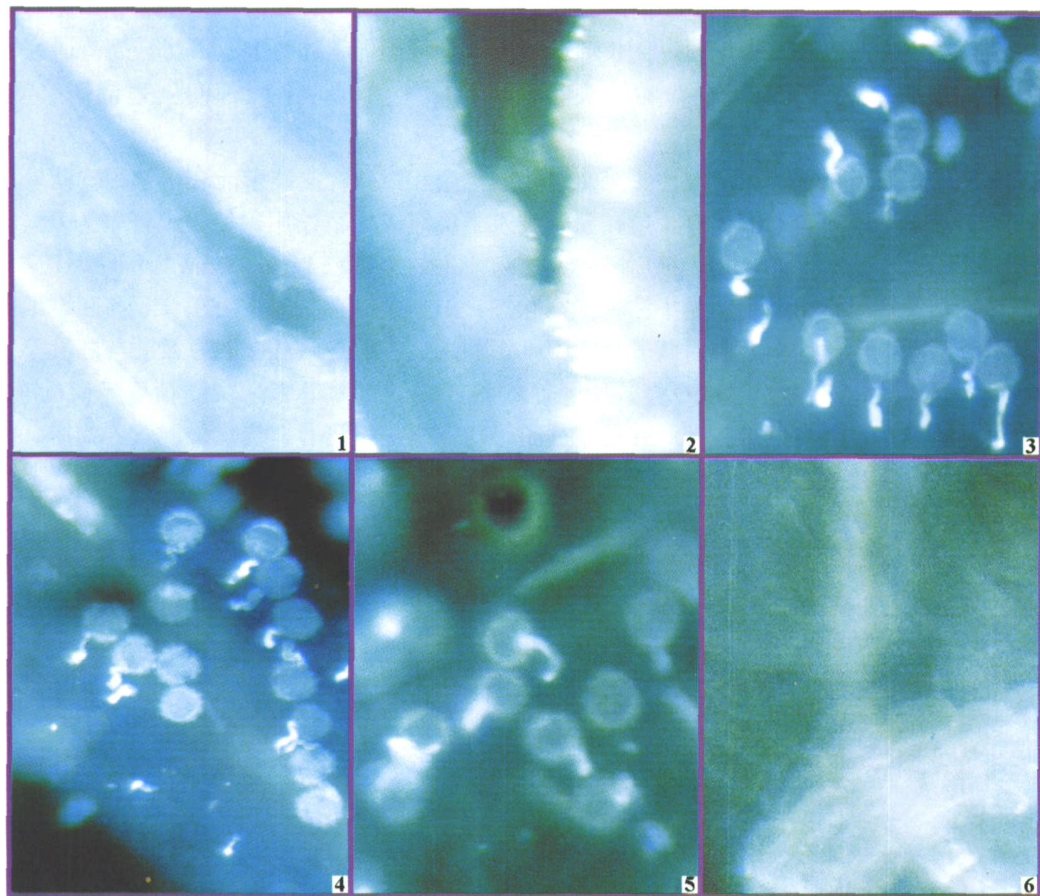
### 2.2.3 胼胝质沉积与花粉管行为

‘黄英’、菊花脑未授粉柱头均没有胼胝质沉积 (图版, 1)。杂交不亲和组合‘黄英’ $\times$ 菊花脑及菊花脑 $\times$ ‘黄英’授粉后 0.5 h即有胼胝质出现 (图版, 2), 1 h后大量增加, 胼胝质主要沉积在花粉管的顶端及花粉管所接触的柱头上;杂交亲和组合‘黄英’ $\times$ 野菊在花粉萌发过程中也有胼胝质出现, 但明显少于‘黄英’与菊花脑正反交不亲和组合。

‘黄英’ $\times$ 菊花脑及菊花脑 $\times$ ‘黄英’授粉后, 大部分花粉管出现如顶端膨大、弯曲、倒长等生长异常, 停留在柱头表面, 无法进入子房 (图版, 3~5)。(‘黄英’ $\times$ 菊花脑仅在授粉 2 h后观察到 1个柱头上有 1条花粉管进入子房, 菊花脑 $\times$ ‘黄英’在授粉后共观察到 4条花粉管进入子房。而杂交亲和组合‘黄英’ $\times$ 野菊授粉后 1 h就观察到有花粉管穿过花柱进入子房 (图版, 6), 平均每柱头到达花柱基部的花粉管数为 2.2条, 花柱组织中未出现胼胝质。但是, 部分花粉管难以进入柱头, 表现出与杂交不亲和组合相同的异常现象。

### 2.2.4 受精作用与子房发育

杂交亲和组合‘黄英’ $\times$ 野菊授粉后 24 h, 即有大量子房膨大, 膨大子房呈球型, 水渍状, 而未进行授粉的子房呈扁长方型, 干瘪凹陷。表明‘黄英’ $\times$ 野菊授粉后 24 h即能完成受精作用。杂交不亲和组合‘黄英’ $\times$ 菊花脑及菊花脑 $\times$ ‘黄英’授粉后子房仅有几个膨大, 大多数未能受精, 表现出与未授粉子房相同的特征。



图版说明：1. 未授粉柱头无胼胝质沉积；2. 授粉后柱头上诱导的胼胝质；3~5. ‘黄英’与菊花脑杂交授粉后花粉管顶端膨大，扭曲，倒长；6. 花粉管进入子房。

**Explanation of plates:** 1. No calloses deposition on the unpollinated stigma; 2. Induced calloses deposition on the pollinated stigma; 3 - 5. Expanded tip, distortion, reverse growth of pollen tubes after pollination of interspecific cross between *D. morifolium* ‘Huangying’ and *D. nankin-gense*; 6. The pollen tube entered the ovary

### 3 讨论

染色体倍性和物种间亲缘关系远近直接影响杂交亲和性 (Watanabe, 1977; Buitendijk et al, 1995)。本研究表明菊属相同倍性或倍性较高的相近倍性 (如四倍体与六倍体) 的种间杂交可结籽, 低倍性与高倍性 (如二倍体与四倍体、六倍体) 间倍性差异较大, 种间杂交未能结籽, 这与已往的研究结果 (戴思兰和陈俊愉, 1996) 一致。李辛雷和陈发棣 (2004) 基于 RAPD 标记的遗传距离和杂交亲和性的研究发现, 亲本遗传距离小, 亲缘关系近, 杂交亲和性较好; 反之杂交亲和性差或杂交不亲和。遗传距离和杂交亲和指数间成反比的规律在大多数菊属种间杂交中得到验证。但在我们的研究中亦发现, 菊属远缘杂交亲和性不单纯与物种间的倍性及遗传距离相关, 如毛华菊与南京野菊间遗传距离较远 (李辛雷和陈发棣, 2004), 但亲和指数较大, 推测亦可能有其它因素决定着其杂交亲和性。已有研究认为, 远缘杂交时父本的花粉管生长情况亦有可能影响杂交亲和性, 如花粉管太短或生长缓慢难以到达母本胚囊等 (Tanaka & Watanabe, 1972)。菊属种间远缘杂交不亲和机理相当复杂, 有待于进一步深入研究。

菊属种间杂交不亲和组合授粉后观察到花粉粒在雌蕊柱头上粘附少, 萌发率低及花柱中胼胝质沉积, 花粉管在柱头上出现各种生长异常现象, 难以进入花柱。推测在花粉与雌蕊相互识别作用过程

中,雌蕊柱头存在抑制因子,阻碍花粉的附着与萌发,诱导胼胝质过多沉积,从而导致花粉管生长异常,如顶端膨大、分叉、花粉管扭曲、倒长等,使花粉管不能穿越柱头进入子房。已有研究表明远缘杂交亲本的遗传基础差异,障碍花粉和柱头相互识别,从而维持不同种间生殖隔离 (Watanabe, 1977; Tuyl et al, 1991)。

本研究采用不同授粉方法如切割柱头等克服柱头不亲和障碍的措施未能获得杂种。此外,在本研究涉及的种间杂交不亲和组合中仍有少量花粉管进入子房完成受精作用,但是结籽率为 0。说明菊属种间杂交除了授粉、受精,亦存在受精后障碍,这与前人的报道 (Tanaka & Watanabe, 1972) 相符。通常,胚与胚乳对营养物质的利用处于一种平衡状态,但在远缘杂交时,由于合子与胚乳细胞在分裂过程中的不协调性,导致胚与胚乳对营养物质不平衡利用,进而导致胚乳败育及胚与胚乳不亲和,最终杂种胚败育 (Buitendijk et al, 1995)。幼胚拯救的方法是克服远缘杂交受精后障碍的有效途径,但因菊属杂种胚极小,分离困难,因此在受精后将子房取出进行培养,提供外源营养物质,能获得种间杂种。该方法已成功应用于菊属种间杂种的获得 (Watanabe, 1977; Anderson, 1990; 李辛雷和陈发棣, 2006)。

## References

- Anderson N O, Ascher P D, Widmer R E. 1990. Rapid generation cycling of *Chrysanthemum* using laboratory seed development and embryo rescue techniques. *Journal American Society Horticulture Science*, 115 (2): 329 - 336.
- Buitendijk J H, Pinsonneaux N, van Donk A C. 1995. Embryo rescue by half-ovule culture for production of interspecific hybrids in *A. lstroemia*. *Scientia Horticulturae*, 64: 65 - 75.
- Dai Si-lan, Chen Jun-yu. 1996. Artificial interspecific cross among seven species of *Dendranthema* in China. *Journal of Beijing Forestry University*, 18 (4): 16 - 22. (in Chinese)
- 戴思兰, 陈俊愉. 1996. 菊属 7 个种的人工种间杂交试验. *北京林业大学学报*, 18 (4): 16 - 22.
- Li Hong-jian, Shao Jian-wen. 1993. Chinese chrysanthemum. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press. (in Chinese)
- 李鸿渐, 邵建文. 1993. 中国菊花. 南京: 江苏科学技术出版社.
- Li Xin-lei, Chen Fa-di, Cui Na-xin. 2005. Identification of interspecific hybrids in *Dendranthema*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 28 (1): 24 - 28. (in Chinese)
- 李辛雷, 陈发棣, 崔娜欣. 2005. 菊属种间杂种的鉴定. *南京农业大学学报*, 28 (1): 24 - 28.
- Li Xin-lei, Chen Fa-di. 2004. RAPD analysis of wild species, cultivars and interspecific hybrids in *Dendranthema*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 27 (3): 29 - 33. (in Chinese)
- 李辛雷, 陈发棣. 2004. 栽培小菊、野生菊及菊属种间杂种的 RAPD 分析. *南京农业大学学报*, 27 (3): 29 - 33.
- Li Xin-lei, Chen Fa-di. 2006. Embryo rescue of interspecific hybrids between wild diploid *Dendranthema* species and *Dendranthema morifolium*. *Scientia Silvae Sinicae*, 42 (11): 42 - 46. (in Chinese)
- 李辛雷, 陈发棣. 2006. 二倍体野生种与栽培菊花种间杂种的幼胚拯救初步研究. *林业科学*, 42 (11): 42 - 46.
- Nan Ru-bin, Sun Zi-ran. 1991. Studies on the cross infertility between different species of *Dendranthema* Des Moul. *Acta Horticulturae Sinica*, 18 (4): 357 - 361. (in Chinese)
- 南汝斌, 孙自然. 1991. 菊花杂交不结实原因的研究. *园艺学报*, 18 (4): 357 - 361.
- Tanaka R, Watanabe K. 1972. Embryological studies in *Chrysanthemum makinoi* and its hybrid crossed with hexaploid *Ch. japonense*. *Journal of Science of the Hiroshima University, Series B, Division 2 (Botany)* Dec, 14 (2): 75 - 84.
- Tuyl J M, van Dien M P, van Creijl M G M. 1991. Application of *in vitro* pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific *Lilium* crosses. *Plant Science*, 74: 115 - 126.
- Watanabe K. 1977. Successful ovary culture and production of F<sub>1</sub> hybrids and androgenic haploids in Japanese *Chrysanthemum* species. *The Journal of Heredity*, 68: 317 - 320.