

玫瑰杂交花柱半离体培养研究

孙华彩¹, 赵兰勇^{1,*}, 张 玲², 丁一鸣¹

(¹ 山东农业大学林学院, 山东泰安 271018; ² 山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东泰安 271018)

摘 要: 以 1 份野生玫瑰种质为母本, 2 个玫瑰栽培品种和 2 个月季品种为父本进行杂交, 取杂交后的花柱进行半离体培养, 并采用荧光显微技术观察花柱中花粉管的生长状况。结果表明: (1) 玫瑰花柱半离体培养的最适培养基为 15% 蔗糖, 0.005% 硼酸, 0.1% 琼脂, pH 7.0。 (2) 授粉后 4 h 取花柱培养的效果较好。 (3) 花柱截取长度对种间杂交组合的花柱半离体培养结果的影响明显, 只有截取花柱上部 1/3 进行培养时能长出少量的花粉管。 (4) 授粉花粉萌发率大于 40%, 才能保证授粉的良好效果。

关键词: 玫瑰; 月季; 花柱半离体培养; 荧光显微观察

中图分类号: S 685.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2012) 06-1183-08

Studies of Semi Vitro Culture of Hybridized *Rosa rugosa* Style

SUN Hua-cai¹, ZHAO Lan-yong^{1,*}, ZHANG Ling², and DING Yi-ming¹

(¹ College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; ² College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: The study took one wild germplasm of *Rosa rugosa* as female parent, two cultivars of *R. rugosa* and two cultivars of rose as male parents. After the hybridization, we took the hybridized styles to culture and employed fluorescent microscope to observe pollen tube growth in the styles. The results indicated that 15% sucrose, 0.005% H₃BO₃, 0.1% agar, and pH 7.0, were optimal for pollen tube growth. If we excised hybridized styles to culture when it reached 4 hours after pollination, the consequent was better. For the interspecific hybridized combinations, the effect of style cutting length on the results of semi vitro culture of style was significant. There was only a small amount of pollen tubes through the incisions when we cultured one third-length styles. To guarantee good pollination result, the germination rate of pollen which was used for pollination must be above 40%.

Key words: *Rosa rugosa*; rose; semi vitro culture of style; fluorescent microscope observation

玫瑰 (*Rosa rugosa* Thunb.) 是蔷薇科 (Rosaceae) 蔷薇属落叶灌木, 其蕴含了丰富的抗性基因, 但因品种少, 花色单调而未广泛应用 (Dirr, 1978; Von et al., 2000; 冯立国, 2007)。玫瑰与月季为蔷薇属的两个种, 亲缘关系较近 (陈向明 等, 2002), 通过与月季种间杂交, 培养具高抗性和高观赏性的玫瑰新品种具有重要意义, 但两者杂交不亲和导致育种工作进展缓慢 (Spetmann & Feuerhanh, 2003; Jakobson et al., 2006)。本课题组前期研究发现, 玫瑰与月季杂交后, 花粉管顶

收稿日期: 2012-02-09; 修回日期: 2012-04-12

基金项目: 山东省良种工程项目 (鲁科农字[2008]167 号)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: sdzly369@163.com)

端沉积大量胼胝质导致生长受阻,期间花粉管顶端究竟发生了何种变化,是进一步探明杂交不亲和机理的关键,而花柱半离体培养是其研究的关键技术环节。早在 1982 年 Hirasuka 等(1982)已经在梨上采用了花柱半离体培养,目前国内部分学者已对梨、苹果、杏等(陈超,2005)杂交后的花柱半离体培养进行了研究。齐洁(2002)研究了 50 个杏品种自交及杂交后的花柱半离体培养,发现亲和与不亲和组合之间的花柱基部切口处的花粉管数量存在显著差异。田嘉等(2010)对 5 个新疆扁桃品种自交及杂交后的花柱半离体培养进行了研究,发现自交组合‘双果’×‘双果’和杂交组合‘双果’×‘纸皮’的半离体培养效果较好。

本研究旨在探明影响玫瑰杂交后花柱半离体培养的关键因素,提出高效实用的玫瑰花柱半离体培养技术,为研究玫瑰种间杂交不亲和机理提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料及其杂交授粉

室外试验于 2010—2011 年在山东农业大学玫瑰种质资源圃进行,室内试验在山东农业大学花卉研究所进行。以野生玫瑰种质‘珥春’为母本,以 2 个玫瑰栽培品种‘紫枝’和‘重瓣’及 2 个月季品种‘红帽子’和‘粉和平’为父本。选择生长健壮的‘珥春’植株,于开花前一天下午 5:00 去雄,并套硫酸纸袋隔离,摘取父本花朵带回实验室,取花药放于室内阴干至散粉。次日上午 9:00 进行授粉(于晓燕等,2009)。每个杂交组合授粉 6 朵花。

1.2 试验方法

1.2.1 花柱半离体培养基、pH 值和培养温度的优化

以‘珥春’为母本与‘紫枝’玫瑰进行杂交,授粉后 4 h 时,从花柱上部 1/3 处截取花柱进行半离体培养,以硼酸和琼脂不同浓度、蔗糖不同用量、及培养温度和 pH 不同值为参选因素,采用正交试验设计 $L_{16}(5^4)$,以花粉管长度和有花粉管长出的花柱比率作为测定指标,筛选出最佳培养基、培养温度和 pH 值。每个培养基培养 20 根花柱,重复 3 次。

1.2.2 取材时间、截取花柱长度和花粉萌发试验

取材时间:分别于授粉后 2 h 和 4 h,用解剖刀从花柱上部 1/3 处截取花柱进行半离体培养。

截取花柱长度:杂交授粉后 4 h 时,用解剖刀从花柱上部 1/3 处、1/2 处及花柱基部截取花柱,进行花柱半离体培养。

花粉萌发率:杂交授粉后 4 h 时,用解剖刀从花柱上部 1/3 处截取花柱进行半离体培养。同时将授粉用的花粉采用最适培养基培养 4 h,用 0.1% 水溶性苯胺蓝染色,在显微镜下随机选择 6 个视野统计萌发率,花粉管长度超过花粉粒直径的视为已萌发花粉(张绍铃等,2005)。

1.2.3 花柱半离体培养和荧光显微观察方法

半离体培养参照张绍铃等(2003a)方法稍加改进。将培养基滴在单凹载玻片(2.6 cm × 7.6 cm)上,在载玻片上放置一张 70% 乙醇浸泡过的滤纸(0.5 cm × 2.0 cm),将截取的花柱放在滤纸上,花柱切口处接触培养基,然后将载玻片放在培养皿中。培养皿内放入浸湿的滤纸,保持其湿度。每个杂交组合培养 10 根花柱,试验重复 3 次。

黑暗条件下培养 48 h 后,在花柱切口处滴加 0.1% 的水溶性苯胺蓝染液,用奥林巴斯 BX51 荧光显微镜观察切口处的花粉管生长状况并拍照,统计有花粉管长出的花柱数量、比率(有花粉管长

出的花柱数 / 供试花柱总数 $\times 100\%$) (张绍铃 等, 2003a)、花柱切口处的花粉管数量、花粉管长度。数据统计分析采用 DPS 数据处理系统进行 Duncan's 新复极差法多重比较检验。

2 结果与分析

2.1 培养基配比、pH 值和培养温度对花柱半离体培养的影响

如表 1 所示, 5 个因素对花粉管长度的影响从大到小依次为 pH 值、蔗糖、温度、琼脂、硼酸。根据 T 值的大小, 确定花粉管伸长的最佳条件为 15%蔗糖、0.01%硼酸、0.1%琼脂、pH 7.0, 培养温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。

由长出花粉管的花柱比率的极差分析结果可看出, 蔗糖对长出花粉管的花柱比率的影响最大, pH 值的影响次之, 硼酸的影响最小。根据 T 值的大小, 确定提高有花粉管长出的花柱比率的最佳条件为 15%蔗糖、0.005%硼酸、1%琼脂、pH 7.0, 培养温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。

表 1 花柱半离体培养正交试验设计方案与试验结果直观分析表
Table 1 Test design and visual analysis of semi vitro culture of style by orthogonal experiment

处理 Treatment		蔗糖/% Sucrose	硼酸/% H_3BO_3	琼脂/% Agar	温度/ $^{\circ}\text{C}$ Temperature	pH	花粉管长度/ μm Length of pollen tubes	长出花粉管的花柱比率/% Percentage
1		7.5 (1)	0.005 (1)	0.01 (1)	20 (1)	6.0 (1)	87.28 ± 10.3 ab	35 ± 3.7 bc
2		7.5 (1)	0.010 (2)	0.10 (2)	25 (2)	6.5 (2)	99.95 ± 15.3 ab	25 ± 5.0 cd
3		7.5 (1)	0.030 (3)	0.50 (3)	30 (3)	7.0 (3)	103.7 ± 18.5 ab	40 ± 4.2 b
4		7.5 (1)	0.050 (4)	1.00 (4)	35 (4)	7.5 (4)	98.14 ± 11.4 ab	35 ± 5.0 bc
5		10.0 (2)	0.005 (1)	0.10 (2)	30 (3)	7.5 (4)	99.75 ± 19.3 ab	20 ± 4.0 d
6		10.0 (2)	0.010 (2)	0.01 (1)	35 (4)	7.0 (3)	90.16 ± 20.4 ab	15 ± 5.0 de
7		10.0 (2)	0.030 (3)	1.00 (4)	20 (1)	6.5 (2)	0 c	0 f
8		10.0 (2)	0.050 (4)	0.50 (3)	25 (2)	6.0 (1)	87.00 ± 15.1 b	15 ± 4.1 de
9		12.5 (3)	0.005 (1)	0.50 (3)	35 (4)	6.5 (2)	0 c	0 f
10		12.5 (3)	0.010 (2)	1.00 (4)	30 (3)	6.0 (1)	95.42 ± 9.9 ab	20 ± 3.4 d
11		12.5 (3)	0.030 (3)	0.01 (1)	25 (2)	7.5 (4)	96.37 ± 12.4 ab	25 ± 4.9 cd
12		12.5 (3)	0.050 (4)	0.10 (2)	20 (1)	7.0 (3)	97.05 ± 15.2 ab	5 ± 5.0 ef
13		15.0 (4)	0.005 (1)	1.00 (4)	25 (2)	7.0 (3)	117.46 ± 11.8 a	60 ± 0.0 a
14		15.0 (4)	0.010 (2)	0.50 (3)	20 (1)	7.5 (4)	97.18 ± 12.7 ab	35 ± 3.7 bc
15		15.0 (4)	0.030 (3)	0.10 (2)	35 (4)	6.0 (1)	89.40 ± 15.7 b	20 ± 3.7 d
16		15.0 (4)	0.050 (4)	0.01 (1)	30 (3)	6.5 (2)	99.64 ± 19.8 ab	25 ± 5.0 cd
平均花粉管长度/ μm Average length of pollen tubes	T ₁	97.26	76.12	93.36	70.38	89.77		
	T ₂	69.23	95.68	96.54	100.19	49.90		
	T ₃	72.21	72.37	71.97	99.63	102.09		
	T ₄	100.92	95.46	77.75	69.43	97.86		
	R	31.69	23.31	24.57	30.77	52.19		
平均长出花粉管的花 柱比率/% Percentage	T ₁	33.75	28.75	25.00	18.76	22.59		
	T ₂	12.59	23.73	17.50	31.25	12.55		
	T ₃	12.51	21.25	22.50	26.25	30.00		
	T ₄	35.00	20.00	28.75	17.50	28.75		
	R	22.50	8.75	11.25	13.75	17.50		

注：杂交组合为‘珥春’ \times ‘紫枝’；取材时间为授粉后 4 h；花柱长度为 1/3 花柱。a、b、c、d……表示 $\alpha = 0.05$ 水平下的差异显著性；下同。T₁、T₂、T₃、T₄ 表示各因素水平 1、水平 2、水平 3、水平 4 的均值；R 为极差。

Note: Combination: Huichun \times *R. rugosa* ‘Zizhi’; Time: 4 h; Length: One third-length style. a, b, c and d indicate the significance at the level of $\alpha = 0.05$; The same below. T₁, T₂, T₃, T₄ indicate the average of level 1, level 2, level 3 and level 4; R indicates range.

综上，确定蔗糖浓度为 15%，培养温度 25 ℃，pH 7.0。硼酸对有花粉管长出的花柱比率的影响比其对花粉管长度的影响显著，因此，硼酸浓度为 0.005%。此外，琼脂对花粉管长度的影响比其对有花粉管长出的花柱比率的影响显著，确定琼脂浓度为 0.1%。据此，最适培养基应为 15%蔗糖，0.005%硼酸，0.1%琼脂，pH 7.0，培养温度 25 ℃。

2.2 取材时间对花柱半离体培养的影响

由表 2 可以看出，授粉后 4 h 取花柱培养的结果明显优于授粉后 2 h 的，种内杂交组合‘琿春’×‘紫枝’和‘琿春’×‘重瓣’的半离体培养效果明显优于种间杂交组合‘琿春’×‘红帽子’和‘琿春’×‘粉和平’。对于种内杂交组合而言，授粉后 2 h 截取花柱进行半离体培养后，有花粉管长出的花柱比率及花粉管长度分别为 53.4%~56.7%和 75.7~83.4 μm；而授粉后 4 h 取材培养后，分别为 76.7%~83.3%和 106.2~110.6 μm。种间杂交组合的花柱半离体培养结果表明，授粉后 4 h 取材进行培养时，花粉管长度及有花粉管长出的花柱比率分别为 91.1~95.3 μm 和 26.7%~33.3%；而授粉后 2 h 取材培养时，分别为 60.5~63.3 μm 和 13.3%~20.0%。

表 2 取材时间对半离体培养结果的影响
Table 2 Effect of time on the results of the semi vitro culture

杂交组合 Cross combination	长出花粉管的花柱比率/% Percentage		每根花柱的花粉管数 Number of pollen tubes per style		花粉管的长度/μm Length of pollen tubes	
	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h
‘琿春’×‘紫枝’ Huichun × <i>R. rugosa</i> ‘Zizhi’	56.7 ± 3.4 b	83.3 ± 3.3 a	2.1 ± 0.12 b	3.4 ± 0.23 a	83.4 ± 15.3 b	110.6 ± 10.2 a
‘琿春’×‘重瓣’ Huichun × <i>R. rugosa</i> ‘Chongban’	53.4 ± 3.7 b	76.7 ± 3.3 a	1.9 ± 0.03 b	3.1 ± 0.08 a	75.7 ± 13.3 b	106.2 ± 9.3 a
‘琿春’×‘红帽子’ Huichun × <i>R. chinensis</i> ‘Red Hat’	13.3 ± 3.6 b	26.7 ± 6.6 a	0.2 ± 0.03 a	0.4 ± 0.06 a	60.5 ± 16.6 b	91.1 ± 10.8 a
‘琿春’×‘粉和平’ Huichun × <i>R. ‘Pink Peace’</i>	20.0 ± 5.8 b	33.3 ± 8.8 a	0.2 ± 0.09 b	0.6 ± 0.20 a	63.3 ± 11.8 b	95.3 ± 13.7 a

注：截取花柱长度为 1/3 花柱。
Note: Length: One third-length style.

2.3 花柱截取长度对花柱半离体培养的影响

花柱截取长度对种间杂交组合的半离体培养结果影响明显（表 3，图 1）。截取花柱上部 1/3

表 3 花柱截取长度对花柱内花粉管生长的影响
Table 3 Effect of style cutting length on pollen tube growth state in styles

杂交组合 Cross combination	长出花粉管的花柱比率/% Percentage			花粉管的长度/μm Length of pollen tubes		
	1/3 花柱 One third-length style	1/2 花柱 Half-length style	整个花柱 Full-length style	1/3 花柱 One third-length style	1/2 花柱 Half-length style	整个花柱 Full-length style
‘琿春’×‘紫枝’ Huichun × <i>R. rugosa</i> ‘Zizhi’	90.0 ± 3.1 a	86.7 ± 5.8 a	83.3 ± 1.9 a	111.2 ± 8.9 a	101.2 ± 11.2 b	92.7 ± 11.7 c
‘琿春’×‘重瓣’ Huichun × <i>R. rugosa</i> ‘Chongban’	66.7 ± 4.4 a	63.3 ± 6.1 a	63.3 ± 3.9 a	101.2 ± 7.6 a	99.7 ± 14.5 a	88.5 ± 14.2 b
‘琿春’×‘红帽子’ Huichun × <i>R. chinensis</i> ‘Red Hat’	30.0 ± 2.7 a	0 b	0 b	89.1 ± 10.4 a	0 b	0 b
‘琿春’×‘粉和平’ Huichun × <i>R. ‘Pink Peace’</i>	33.3 ± 3.3 a	0 b	0 b	99.3 ± 12.5 a	0 b	0 b

注：取材时间为授粉后 4 h。
Note: Time: 4 h.

处进行培养后,有花粉管长出的花柱比率为 30.0%~33.3%;而截取花柱 1/2 及花柱基部时均未长出花粉管。对于种内杂交组合而言,花柱截取长度对花粉管长出的花柱比率的影响不显著,对花粉管长度的影响显著。当截取花柱上部 1/3 进行培养时,花柱切口处的花粉管长度为 101.2~110.2 μm ;而截取整个花柱进行培养时,花粉管长度为 88.5~92.7 μm 。

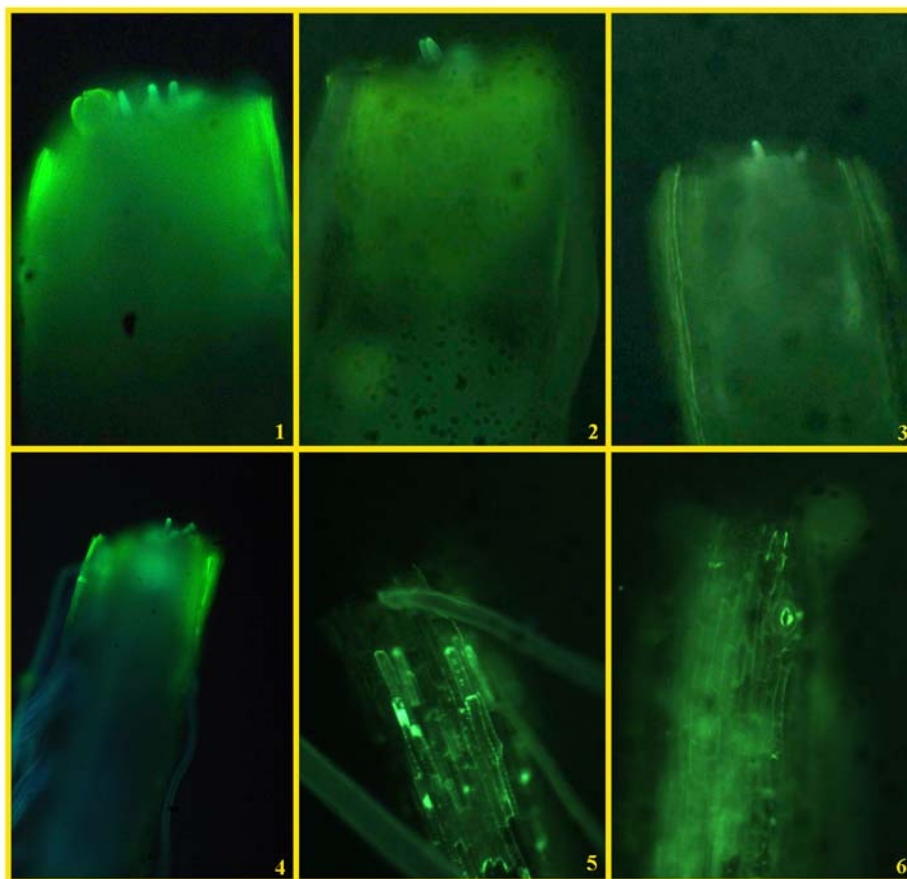


图 1 花柱截取长度对花粉管生长的影响

1~3: ‘珥春’×‘紫枝’ (1、2、3 花柱长度分别为 1/3 花柱、1/2 花柱、整个花柱);
4~6: ‘珥春’×‘红帽子’ (4、5、6 花柱长度分别为
1/3 花柱、1/2 花柱、整个花柱)。

Fig. 1 Effect of style length on growth of pollen tubes

1 - 3: Huichun × *R. rugosa* ‘Zizhi’ (Length: One third-length style; Half-length style; Full-length style);
4 - 6: Huichun × *R. chinensis* ‘Red Hat’ (Length: One third-length style;
Half-length style; Full-length style) .

2.4 花粉萌发率与花柱内花粉管生长的关系

表 4 的结果表明,种内杂交时,用萌发率低于 20.0%和高于 30.0%的花粉分别授粉后进行半离体培养,结果差异显著;花粉萌发率在 30.0%以上时,花柱半离体培养结果没有显著差异。对于种间杂交组合而言(表 4),花粉萌发率在 44.7%~57.5%时,花柱半离体培养效果较好,相互之间差异不显著,低于 40.0%时,半离体效果不好。因此,在进行玫瑰杂交后花柱半离体培养时,必须用萌发率在 40.0%以上的花粉进行授粉。

表 4 花粉萌发率与半离体培养结果的关系
Table 4 The relationship between pollen germination rate and the results of the semi vitro culture

杂交组合 Cross combination	父本花粉萌发率/% Pollen germination of male parents	长出花粉管的花柱 Styles with pollen tubes through their bottoms		花粉管平均长度/ μm Length of pollen tubes
		数量 Number	比率/% Rate	
‘珲春’ \times ‘紫枝’ Huichun \times <i>R. rugosa</i> ‘Zizhi’	13.8	15	50.0 \pm 20.0 b	90.2 \pm 11.2 b
	31.3	24	80.0 \pm 17.3 ab	99.4 \pm 15.7 a
	62.4	28	93.3 \pm 5.7 a	104.1 \pm 13.4 a
‘珲春’ \times ‘重瓣’ Huichun \times <i>R. rugosa</i> ‘Chongban’	16.2	18	60.0 \pm 5.7 b	92.3 \pm 10.9 b
	37.1	25	83.3 \pm 3.3 a	95.6 \pm 14.2 b
	50.6	26	86.7 \pm 6.6 a	101.4 \pm 15.1 a
‘珲春’ \times ‘红帽子’ Huichun \times <i>R. chinensis</i> ‘Red Hat’	11.4	2	6.7 \pm 3.3 b	69.8 \pm 15.6 b
	35.8	6	20.0 \pm 0 ab	88.4 \pm 14.1 a
	46.0	8	26.7 \pm 8.8 a	91.5 \pm 13.2 a
‘珲春’ \times ‘粉和平’ Huichun \times <i>R.</i> ‘Pink Peace’	18.2	5	16.7 \pm 8.8 b	63.6 \pm 12.7 b
	44.7	9	30.0 \pm 5.7 a	89.7 \pm 16.4 a
	57.5	9	30.0 \pm 0 a	93.1 \pm 13.9 a

注：取材时间为授粉后 4 h；截取花柱长度为 1/3 花柱。
Note: Time: 4 h; Length: One third-length style.

3 讨论

3.1 玫瑰花柱半离体培养对克服远缘杂交不亲和的重要意义

长期以来，玫瑰与月季杂交不亲和导致两者之间的杂交育种工作进展缓慢（韩进 等，2004；孙宪芝，2004）。前人研究发现，与杜鹃属、茄属、猕猴桃属、禾本科（Williams et al., 1982; Natalie et al., 1989; 梁铁兵和母锡金，1995; 丘杰 等，2005）等植物远缘杂交不亲和相似，花粉管在花柱上部 1/3 处停止生长，顶端沉积大量胼胝质（许凤 等，2009），种内杂交时并未出现这一现象。

本研究中通过优化培养条件，探明了影响花柱半离体培养的关键因素，培养后的花粉管长度 90 μm 以上，满足研究花粉管生长变化的要求。

此外，玫瑰与月季杂交后的半离体培养结果表明，截取花柱上部 1/3 进行半离体培养时，花柱切口处长出少量花粉管；截取花柱 1/2 处及花柱基部时均未长出花粉管，这与大田实际种间杂交后花粉管在花柱内的生长状况相吻合，即种间杂交后，月季花粉管在玫瑰花柱上部 1/3 处停止生长。

3.2 影响花柱半离体培养的几个关键因素

齐洁等（2003）研究发现，花柱截取长度对杏种内杂交亲和性组合的半离体培养结果影响不显著，而对种内杂交不亲和组合的培养结果影响显著。本研究中花柱截取长度对玫瑰种内杂交后的花柱半离体培养结果影响不显著，对种间杂交后的培养结果影响显著。

张绍铃等（2003a）研究发现，梨花粉萌发率在 20%以上时，采用不同萌发率的花粉进行授粉后，半离体培养结果没有显著变化，本研究中也发现了这一规律，采用萌发率大于 40%的花粉进行授粉时，花柱半离体培养结果差异不显著。

前人研究发现，玫瑰种内及种间杂交授粉后 2 h，花粉粒开始在柱头萌发；授粉后 4 h，花粉管开始进入花柱（王琼，2010）。本研究中发现授粉后 4 h 取材培养显著优于授粉后 2 h 的，这表明花柱在未离体的情况下，更有助于花粉粒在柱头萌发并进入花柱。

3.3 利用花柱半离体培养鉴定品种间亲和性

目前, 品种间杂交亲和性是由实际坐果率来衡量的, 该方法直观, 但工作量大、周期长(张绍铃等, 2003b)。齐洁(2002)、张绍铃等(2003a)研究证实, 截取花柱基部进行半离体培养时, 花柱半离体培养结果与田间坐果率有很高的一致性, 花柱切口处长出花粉管的花柱比率与田间人工坐果率相吻合, 可作为鉴定品种间亲和性的指标。田间坐果率为花柱半离体培养的可靠性提供了有力佐证, 该方法可用于室内进行品种间亲和性的鉴定, 操作简单方便, 避免了早春晚霜等外界因素的影响。

本研究中探明了培养基配方、花粉萌发率、花柱截取长度及取材时间对玫瑰花柱半离体培养的影响, 结果表明, 在进行杂交后玫瑰花柱半离体培养时, 授粉花粉的萌发率必须在 40% 以上, 授粉后 4 h 截取花柱上部 1/3, 采用最适培养基(15%蔗糖、0.005%硼酸、0.1%琼脂、pH 值为 7.0), 25℃ 的黑暗条件下培养 48 h 后, 切口处的花粉管长度才能满足研究花粉管生长变化的要求。

References

- Chen Chao. 2005. Study on self-incompatibility genotype of Dounan apple cultivar [M. D. Dissertation]. Baoding: Agricultural University of Hebei. (in Chinese)
- 陈超. 2005. 斗南苹果自交不亲和基因型的研究[硕士论文]. 保定: 河北农业大学.
- Chen Xiang-ming, Zheng Guo-sheng, Meng Li. 2002. The RAPD analysis of the *Rosa* genus plant of *R. rugosa*, *R. chinensis* and *R. davurica*. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (1): 78 - 80. (in Chinese)
- 陈向明, 郑国生, 孟丽. 2002. 玫瑰、月季、蔷薇等属植物的 RAPD 分析. *园艺学报*, 29 (1): 78 - 80.
- Dirr M A. 1978. Tolerance of seven woody ornamentals to soil-applied sodium chloride. *Journal of Arboriculture*, 4 (7): 162 - 165.
- Feng Li-guo. 2007. Study on evaluation of wild germplasm resources and their genetic relationship with cultivars of *Rosa rugosa* [Ph. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 冯立国. 2007. 玫瑰野生种质资源评价及其与栽培品种亲缘关系的研究[博士论文]. 泰安: 山东农业大学.
- Hiratsuka S, Take hash E, Hirata N. 1982. Pollen tube growth in detached styles of Japanese pear. *J Palynology*, 18: 113 - 119.
- Han Jin, Feng Zhen, Zhao Lan-yong, Cao Yong-fu, Yang Chuan-qiang, Kong Yu-guang, Kong Qing. 2004. The preliminary study on cross breeding of rose. *Journal of Shandong Agricultural University*, 35 (4): 517 - 520. (in Chinese)
- 韩进, 丰震, 赵兰勇, 曹永富, 杨传强, 孔雨光, 孔青. 2004. 月季杂交亲和性的初步研究. *山东农业大学学报*, 35 (4): 517 - 520.
- Jakobson G, Rieksta D, Rihtere A. 2006. Breeding of *Rosa rugosa* Thunb. using different tissue culture methods. *Acta Horticulturae*, 2: 211 - 215.
- Liang Tie-bing, Mu Xi-jin. 1995. Observation of pollen tube behaviour and early embryo following interspecies pollination between *Actinidia deliciosa* and *A. arguta*. *Acta Botanica Sinica*, 37 (8): 607 - 612. (in Chinese)
- 梁铁兵, 母锡金. 1995. 美味猕猴桃和软枣猕猴桃种间杂交花粉管行为和早期胚胎发育生长的观察. *植物学报*, 37 (8): 607 - 612.
- Natalie K, Fritz R E, Hanneman J R. 1989. Interspecific incompatibility due to stilar barriers in tuber-bearing and closely related non-tuber-bearing *Solanums*. *Sexual Plant Reproduction*, 2 (3): 184 - 192.
- Qi Jie. 2002. Cloning and expression of genes associated with self-incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.) [Ph. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 齐洁. 2002. 杏自交不亲和及相关基因的克隆及表达分析[博士论文]. 泰安: 山东农业大学.
- Qi Jie, Gu Man-ru, Shu Huai-rui. 2003. Cloning and expression of self-incompatibility related S-RNase gene in apricot. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 11 (1): 148 - 153. (in Chinese)
- 齐洁, 顾曼如, 束怀瑞. 2003. 杏自交不亲和及相关 S-RNase 基因的克隆及表达. *农业生物技术学报*, 11 (1): 148 - 153.
- Qiu Jie, Yang Bi-jian, Jiang Liang-rong, Huang Yu-min. 2005. Pollen tube behaviour of interspecies hybridization between rice and *Sorghum* observation. *Molecular Plant Breeding*, 3 (6): 835 - 840. (in Chinese)
- 丘杰, 杨必建, 江良荣, 黄育民. 2005. 水稻与高粱属间远缘杂交花粉管行为观察. *分子植物育种*, 3 (6): 835 - 840.

- Spetmann W, Feuerhanh B. 2003. Species crosses encyclopedia of rose science. Elsevier Academic Press, 34 (7): 299 - 312.
- Sun Xian-zhi. 2004. Preliminary study on cross breeding technological system of rose in Beijing Forestry University[M. D. Dissertation]. Beijing: Beijing Forestry University. (in Chinese)
- 孙宪芝. 2004. 北林月季杂交育种技术体系初探[硕士论文]. 北京: 北京林业大学.
- Tian Jia, Li Jiang, Gao Qi-ming, Abu • shukuer, Yiminjumai. 2010. Experimental study of pollen germination and style *in vitro* culture of Xinjiang almond cultivars. Journal of Xinjiang Agricultural University, 33 (1): 11 - 14. (in Chinese)
- 田 嘉, 李 疆, 高启明, 阿卜杜 • 舒库尔, 依敏居麦. 2010. 新疆扁桃花粉萌发及花柱半离体培养试验研究. 新疆农业大学学报, 33 (1): 11 - 14.
- Von M B, Weber W E, Debener T. 2000. Identification of molecular markers linked to *Rdr1*, a gene conferring resistance to blackspot in roses. Theor Appl Genet, 101: 977 - 983.
- Wang Qiong. 2010. Preliminary study on cross of *Rosa* cvs and *Rosa rugosa* and resistance to black spot of rose[M. D. Dissertation]. Beijing: Beijing Forestry University. (in Chinese)
- 王 琼. 2010. 月季与玫瑰杂交以及月季抗黑斑病的初步研究[硕士论文]. 北京: 北京林业大学.
- Williams E, Knox R B, Rouse J L. 1982. Pollination sub-systems distinguished by pollen tube arrest after interspecific crosses in *Rhododendron* (Ericaceae). Journal of Cell Science, 53: 255 - 277.
- Xu Feng, Zhang Hao, Li Ling. 2009. Advances in research of cross compatibility of rose. Anhui Agri Sci Bull, 15 (8): 143 - 145. (in Chinese)
- 许 凤, 张 颢, 李 凌. 2009. 月季杂交亲和性研究进展. 安徽农学通报, 15 (8): 143 - 145.
- Yu Xiao-yan, Zhao Lan-yong, Feng Zhen, Qi Hai-ying, Xu Zong-da, Zhu Xiu-qin. 2009. Self-compatibility of 22 *Rosa rugosa* Thunb. resources in China. Scientia Agricultura Sinica, 42 (9): 3236 - 3242. (in Chinese)
- 于晓燕, 赵兰勇, 丰 震, 齐海鹰, 徐宗大, 朱秀芹. 2009. 22 份国产玫瑰资源的自交亲和性. 中国农业科学, 42 (9): 3236 - 3242.
- Zhang Shao-ling, Zhou Jian-tao, Xu Yi-liu, Chen Di-xin, Xu Guo-hua, Wu Gui-fa. 2003a. Study of style *in vitro* culture and self-incompatibility genotype of *Pyrus* cultivar. Acta Horticulturae Sinica, 30 (6): 703 - 706. (in Chinese)
- 张绍铃, 周建涛, 徐义流, 陈迪新, 徐国华, 吴桂法. 2003a. 梨花柱半离体培养法及品种自交不亲和基因型鉴定. 园艺学报, 30 (6): 703 - 706.
- Zhang Shao-ling, Cao Sheng-min, Wu Qing-hua. 2003b. Self-incompatibility genotypes of fruit trees and identification methods. Journal of Fruit Science, 20 (5): 58 - 63. (in Chinese)
- 张绍铃, 曹生民, 吴清华. 2003b. 果树自交不亲和性基因型及鉴定方法. 果树学报, 20 (5): 58 - 63.
- Zhang Shao-ling, Chen Di-xin, Kang Liang, Wang Ling. 2005. Effect of medium components and pH on pollen germination and tube growth in pear (*Pyrus pyrifolia*). Acta Bot Boreal-Occident Sin, 25 (2): 225 - 230. (in Chinese)
- 张绍铃, 陈迪新, 康 琅, 汪 玲. 2005. 培养基组分及 pH 值对梨花粉萌发和花粉管生长的影响. 西北植物学报, 25 (2): 225 - 230.