

6 种云杉属植物花粉活性测定

刘禹廷¹,蓝登明^{1*},余伟莅²,刘平生²,赵 丽²

(1. 内蒙古农业大学生态环境学院,内蒙古呼和浩特市 010019;2. 内蒙古林业科学研究院,内蒙古呼和浩特市 010019)

摘要 以引种栽培 30~40 年云杉树种为研究对象,通过对花粉进行生活力测定,从而分析并探讨引种云杉繁殖能力对环境的适应性特征,为今后开展杂交育种工作提供理论依据。文章采用 4 种花粉活性测定方法对 6 种云杉花粉进行活性测定试验,得出以下结果:4 种方法中,I₂-KI 染色法和醋酸洋红染色法染色效果不佳,TTC 染色法和离体培养法试验效果较好,用 TTC 染色法和离体培养法对花粉进行活性测定,花粉活性均表现为白扦活性最高,粗枝云杉活性最低,且不同云杉花粉最适培养基中蔗糖浓度不同,多数以 15 g/ml 的蔗糖浓度萌发效果最好,而青海云杉以 10 g/ml 的蔗糖浓度萌发效果最佳。6 种云杉花粉最适培养基中硼酸浓度均为 0.05 g/ml。

关键词 云杉花粉;活性;测定方法
中图分类号 S791.18 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)17-241-05

The Assay about the Activity of Six Kinds of *Picea* Pollen
LIU Yu-ting¹, LAN Deng-ming^{1*}, YU Wei-li² et al (1. College of Ecology and Environmental Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019; 2. Inner Mongolia Academy of Forestry, Hohhot, Inner Mongolia 010019)
Abstract With introduced 30-40 years *Picea* as research object, through determination of pollen activity, the adaptability of introduced *Picea* to environment was analyzed and discussed, which will provide theoretical basis for carrying out hybrid breeding work. Four pollen activity determination methods were adopted to conduct experiments on six kinds of *Picea* pollen. The results showed tha among four kinds of methods, I₂-KI staining and acetocarmine staining are poor test results, TTC staining and *in vitro* culture test are better. By TTC staining and in vitro culture method for measuring the activity of pollen, pollen activity showed *P. meyeri* is the highest, the lowest activity is *P. asperata*. And different *Picea* pollen optimum concentration of sucrose are different, most are 15 g/ml of the sucrose concentration test the best, however, *P. crassifolia* is 10 g/ml sucrose concentration test the best results. Six kinds of *Picea* pollen optimum concentration of boric acid in the culture medium was 0.05 g/ml.
Key words *Picea* pollen; Activity; Assay method

云杉(*Picea*)为松科常绿乔木,全世界有 42 种 14 变种,主要分布于北温带^[1]。我国有 18 种 7 变种,另引种栽培 2 种^[2],是云杉属树种最多的国家^[3]。该属树种生态适应性强,耐阴、耐寒、耐干旱,其木材品质好、用途广,是北方地区重要的城市绿化和用材树种^[4]。

20 世纪 70、80 年代,为了丰富内蒙古呼和浩特地区云杉树木种类,增大该地区的生态和经济效益^[5],内蒙古林业科学研究院先后将国内外多种云杉引种到树木园^[6],至今已有 30~40 年的引种时间。为了探究引种云杉对环境的适应性特征,以其繁殖能力作为评定引种树木适应性强弱的主要指标。针对这一指标了解到,在自然授粉情况下,引种云杉结实率很低^[7],因此对云杉花粉萌发、生长、发育等生活力指标进行测定^[8],为人工辅助授粉及杂交授粉提供参考依据,从而提高引种云杉的结实率和育种效率。花粉生活力测定方法一般包括染色法、离体培养法和花粉授粉结实检测法等^[9]。该试验采用 I₂-KI 染色法^[9]、醋酸洋红染色法^[10]、TTC 染色法^[11]和离体培养法^[12-13]这 4 种方法,对 6 种云杉属植物花粉进行活性测定,旨在为云杉杂交育种和进一步花粉研究提供依据^[14]。

1 材料与方法

1.1 供试材料 选取内蒙古林业科学研究院树木园内生长

状况良好的引种云杉为试验树种,其中包括青海云杉(*Picea crassifolia* Kom.)、欧洲云杉[*P. abies* (L.) Karst.]、白扦(*P. meyeri* Rehd. ex Wils)、鳞皮云杉(*P. retroflexa* Mast.)、紫果云杉(*P. purpurea* Mast.)和粗枝云杉(*P. asperata* Mast.),引进树种及种源如表 1 所示。在 2014 年 6 月 10 号前后分别摘取雄花数枚,经过充分自然干燥后进行试验。

表 1 树木园引进树种及种源

树种	种源	引种时间	引种材料	一般表现
青海云杉	不详	1979 年	种子	球花数目较多
欧洲云杉	辽宁省熊岳树木园	1979 年	种子	球花数目较少
白扦	山西关帝山	1977 年	野生苗	球花数目较多
鳞皮云杉	四川炉霍林场	1985 年	种子	球花数目较少
紫果云杉	四川理县米亚罗	1979 年	种子	球花数目较多
粗枝云杉	四川理县米亚罗夹壁沟	1979 年	种子	球花数目较少

1.2 研究方法

1.2.1 花粉萌发率测定方法。

1.2.1.1 离体培养法测定云杉属植物花粉萌发率。按表 2 所示计量配置培养基^[15],将配好的培养基和所需玻璃培养皿放在高温灭菌锅中灭菌,2.5 h 后将培养皿取出,与试验器材一同放置在紫外灯下灭菌 15 min。再将未凝固的培养基均匀涂抹在载玻片上,用毛笔在培养基上撒开花粉,放进有湿润滤纸的培养皿中,在 25 ℃ 的恒温箱中培养 15~48 h,期间用显微镜观察花粉萌发情况。以花粉管长度≥花粉粒短径的 1/2 记为萌发,每种云杉花粉进行 3 次重复,拍照统计其萌发率^[16]。

基金项目 内蒙古林业厅科技支撑项目(内林科研[2013]2 号)。
作者简介 刘禹廷(1990-),女,内蒙古乌海人,硕士研究生,研究方向:植物多样性保护与利用。* 通讯作者,教授,从事野生植物资源保护与利用研究。
收稿日期 2015-04-20

表 2 I_2 (3^4) 因素水平

水平	A 蔗糖	B 硼酸	C 琼脂
1	5	0.05	0.5
2	10	0.10	1.0
3	15	0.15	1.5

1.2.1.2 萌发率计算公式。萌发率 = 萌发的花粉数/观察花粉总数 × 100%

1.2.2 染色法测定花粉活性。

1.2.2.1 TTC 染色法测定云杉属植物花粉活性。配置 pH 为 7.0 的磷酸缓冲液,取 10 ml,将 0.01 g 的 TTC 溶于磷酸缓冲液中,充分摇匀。用毛笔将花粉在载玻片上轻轻撒开,滴加 1~2 滴配置好的 TTC 溶液,盖上盖玻片,放入湿润滤纸培养皿中,在 35 ℃ 的恒温箱中放置 30~60 min,用显微镜观察染色情况。花粉被染成红色,代表其具有活性,每种云杉花粉进行 3 个重复,拍照统计。

1.2.2.2 I_2 -KI 染色法测定云杉属植物花粉活性。将配好的 I_2 -KI 溶液置于棕色瓶中。用毛笔将花粉在载玻片上轻轻撒开,滴加 1~2 滴 I_2 -KI 溶液,盖上盖玻片,然后在显微镜下检查 5 个视野。花粉被染成蓝色,代表其具有活性;花粉被染成黄褐色,代表其不具有活性。每种云杉花粉进行 3 个重复,拍照统计。

1.2.2.3 醋酸洋红染色法测定云杉属植物花粉活性。在 100 ml 浓度为 45% 的冰醋酸溶液中加入 1 g 洋红粉末,并置于火源加热,同时搅拌直到沸腾取出,待冷却后加入 1~2 滴浓度 2% 的铁明矾,然后过滤 2~3 次,装入棕色瓶。用毛笔将花粉在载玻片上轻轻撒开,滴加 1~2 滴配置好的醋酸洋红溶液,盖上盖玻片,1~2 min 后,置于显微镜下检查 5 个视野。花粉被染成红色,代表其具有活性。每种云杉花粉进行 3 个重复,拍照统计。

1.2.2.4 花粉活性计算公式。花粉活性 = 视野内被染色的花粉数/视野内花粉总数 × 100%

2 结果与分析

2.1 不同染色方法对 6 种云杉花粉活性的影响

2.1.1 I_2 -KI 染色法对云杉花粉活性的影响。用 I_2 -KI 染色法对 6 种云杉花粉的活性进行测定,大多花粉呈现黄褐色(图 1,图中显示为黑色花粉管),有些花粉无色(图中显示为浅灰色花粉管),但没有蓝色反应,染色效果不理想,不能对云杉花粉进行有效的统计,说明 I_2 -KI 染色法不适用于云杉花粉活性试验。

2.1.2 醋酸洋红染色法对云杉花粉活性的影响。在醋酸洋红染色法测定 6 种云杉花粉活性的试验中,花粉几乎没有显色反应,只有 2~3 粒花粉呈现浅粉色(图 2,图中显示为黑色花粉管),其余花粉均没有颜色反应(图中显示为白色花粉管),不能有效证明花粉是否有活性,因此醋酸洋红染色法在对云杉花粉染色试验中不适用。

2.1.3 TTC 染色法对云杉花粉活性的影响。在 TTC 染色法测定 6 种云杉花粉活性的试验中,染色效果明显,有活性的花粉,其花粉呈现红色或粉色(图 3,图中显示为黑色花粉

管),无活性的花粉其花粉无色(图中显示为浅灰色花粉管),颜色差异明显,由统计结果可知 TTC 染色法可对云杉花粉进行染色试验。



图 1 I_2 -KI 染色花粉

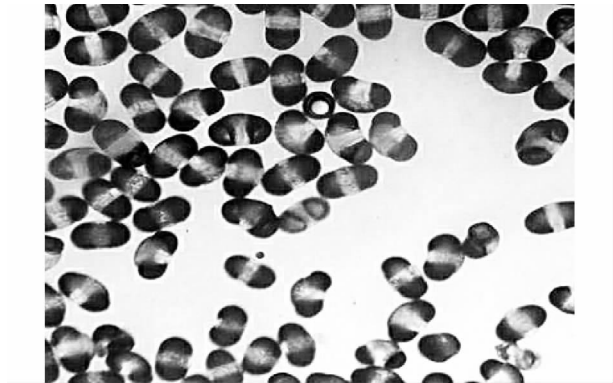


图 2 醋酸洋红染色花粉

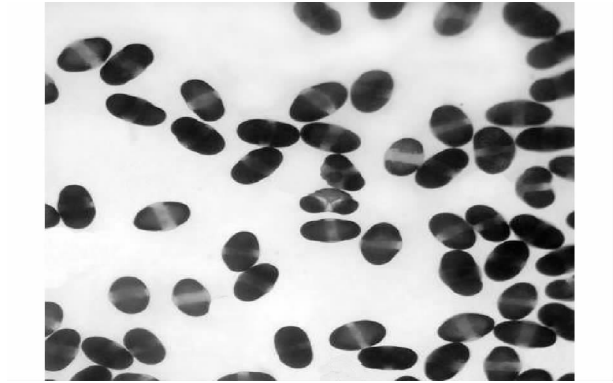


图 3 TTC 染色花粉

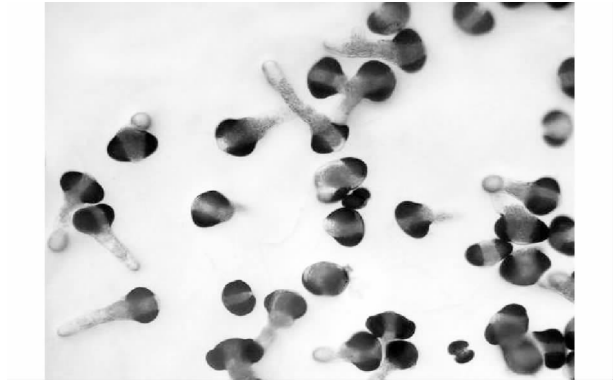


图 4 离体培养萌发花粉

2.2 不同培养基对 6 种云杉花粉萌发率的影响 用离体培养法对云杉花粉进行体外培养,6 种云杉花粉的花粉管萌发状态差异明显,花粉管长度 $\geq$ 花粉粒短径的 1/2 为萌发,代表花粉有活性,相反则代表没有活性(图 4)。

通过运用直观分析法对表 3 ~6 进行统计分析可知,白扦、紫果云杉、欧洲云杉和鳞皮云杉 9 个培养基中,均为 7 号培养基试验效果最佳,花粉萌发率最高。按因素水平来看,萌发率越大越好,故应选取使指标大的水平,即 A 因素列: $k_3 > k_1 > k_2$; B 因素列: $k_1 > k_3 > k_2$; C 因素列: $k_2 > k_3 > k_1$ 。对于极差 R 值的比较,可以看出试验因素存在的显著性顺序为 $B > A > C$,因此白扦、紫果云杉、欧洲云杉和鳞皮云杉花粉萌发的优方案为 $B_1A_3C_2$,即蔗糖浓度 15 g/ml,硼酸浓度 0. 05 g/ml,琼脂浓度 1.0 g/ml 为最佳配比方案。

表 3 白扦花粉萌发率正交试验结果

序号	<i>A</i> 蔗糖	<i>B</i> 硼酸	<i>C</i> 琼脂	<i>D</i>	萌发率//%
1	1	1	1	1	30. 63
2	1	2	2	2	5. 4
3	1	3	3	3	0
4	2	1	2	3	15. 22
5	2	2	3	1	12. 8
6	2	3	1	2	0
7	3	1	3	2	37. 59
8	3	2	1	3	2. 58
9	3	3	2	1	29. 97
k_1	12. 01	27. 81	11. 07		
k_2	9. 34	6. 93	16. 83		
k_3	23. 38	9. 99	16. 80		
<i>R</i>	14. 04	20. 89	5. 79		

表 4 紫果云杉花粉萌发率正交试验结果

序号	<i>A</i> 蔗糖	<i>B</i> 硼酸	<i>C</i> 琼脂	<i>D</i>	萌发率//%
1	1	1	1	1	14. 91
2	1	2	2	2	10. 93
3	1	3	3	3	0
4	2	1	2	3	14. 36
5	2	2	3	1	3. 24
6	2	3	1	2	0
7	3	1	3	2	22. 74
8	3	2	1	3	10. 12
9	3	3	2	1	8. 58
k_1	8. 61	17. 34	8. 34		
k_2	5. 87	8. 10	11. 29		
k_3	13. 81	2. 86	8. 66		
<i>R</i>	7. 95	14. 48	2. 95		

由表 7 可知,在粗枝云杉 9 个培养基中,7 号培养基试验效果最佳,花粉萌发率最高。按因素水平来看, A 因素列: $k_3 > k_2 > k_1$; B 因素列: $k_1 > k_2 > k_3$; C 因素列: $k_3 > k_1 > k_2$ 。对于极差 R 值的比较,试验因素存在的显著性顺序为 $B > A > C$,因此粗枝云杉花粉萌发的优方案为 $B_1A_3C_3$,即蔗糖浓度 15 g/ml,硼酸浓度 0. 05 g/ml,琼脂浓度 1. 5 g/ml 为最佳配比

方案。

表 5 欧洲云杉花粉萌发率正交试验结果

序号	<i>A</i> 蔗糖	<i>B</i> 硼酸	<i>C</i> 琼脂	<i>D</i>	萌发率//%
1	1	1	1	1	8. 09
2	1	2	2	2	10. 29
3	1	3	3	3	0. 29
4	2	1	2	3	19. 24
5	2	2	3	1	2. 33
6	2	3	1	2	0
7	3	1	3	2	20. 34
8	3	2	1	3	11. 35
9	3	3	2	1	1. 23
k_1	6. 22	15. 89	6. 48		
k_2	7. 19	7. 99	10. 25		
k_3	10. 97	0. 51	7. 65		
<i>R</i>	4. 75	15. 38	3. 77		

表 6 鳞皮云杉花粉萌发率正交试验结果

序号	<i>A</i> 蔗糖	<i>B</i> 硼酸	<i>C</i> 琼脂	<i>D</i>	萌发率//%
1	1	1	1	1	16. 66
2	1	2	2	2	0. 83
3	1	3	3	3	0
4	2	1	2	3	15. 81
5	2	2	3	1	1. 10
6	2	3	1	2	0. 10
7	3	1	3	2	17. 96
8	3	2	1	3	3. 54
9	3	3	2	1	4. 44
k_1	5. 83	16. 81	6. 77		
k_2	5. 67	1. 82	7. 03		
k_3	8. 65	1. 51	6. 35		
<i>R</i>	2. 98	15. 30	0. 67		

表 7 粗枝云杉花粉萌发率正交试验结果

序号	<i>A</i> 蔗糖	<i>B</i> 硼酸	<i>C</i> 琼脂	<i>D</i>	萌发率//%
1	1	1	1	1	0. 12
2	1	2	2	2	0. 13
3	1	3	3	3	0
4	2	1	2	3	0. 28
5	2	2	3	1	0. 56
6	2	3	1	2	0
7	3	1	3	2	2. 02
8	3	2	1	3	0. 50
9	3	3	2	1	0
k_1	0. 08	0. 81	0. 21		
k_2	0. 28	0. 40	0. 14		
k_3	0. 84	0	0. 86		
<i>R</i>	0. 76	0. 81	0. 72		

由表 8 可知,青海云杉以 4 号培养基花粉萌发率最高。按因素水平来看, A 因素列: $k_2 > k_1 > k_3$; B 因素列: $k_1 > k_2 > k_3$; C 因素列: $k_1 > k_2 > k_3$ 。对于极差 R 值的比较,试验因素存在的显著性顺序为 $B > A > C$,因此青海云杉花粉萌发的优方案为 $B_1A_2C_1$,即蔗糖浓度 10 g/ml,硼酸浓度 0. 05 g/ml,琼脂浓度 0. 5 g/ml 为最佳配比方案。

表 8 青海云杉花粉萌发率正交试验结果

序号	A 蔗糖	B 硼酸	C 琼脂	D	萌发率//%
1	1	1	1	1	19.94
2	1	2	2	2	1.14
3	1	3	3	3	0.34
4	2	1	2	3	21.67
5	2	2	3	1	6.63
6	2	3	1	2	4.41
7	3	1	3	2	12.04
8	3	2	1	3	1.41
9	3	3	2	1	2.29
k_1	7.14	17.88	8.59		
k_2	10.90	3.06	8.37		
k_3	5.25	2.35	6.34		
R	5.66	15.54	2.25		

2.3 同种测定方法下 6 种云杉属植物花粉活性比较 对 TTC 染色试验中 6 种花粉活性统计可得图 5。由图 5 可知,白扞花粉活性最高,活性最低的为粗枝云杉。活性最低的花粉与活性最高的花粉其花粉活性相差 27.5 个百分点。不同云杉花粉活性依次为:白扞花粉活性 > 青海云杉花粉活性 > 紫果云杉花粉活性 > 欧洲云杉花粉活性 > 鳞皮云杉花粉活性 > 粗枝云杉花粉活性。

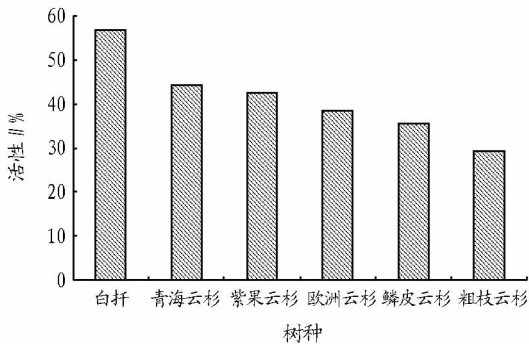


图 5 6 种云杉属植物 TTC 染色法测定的花粉活性

图 6 为离体培养法测定的 6 种云杉花粉萌发率统计图。选取每种花粉 9 个培养基中萌发率最大值,作为该云杉树种最佳萌发状态下的萌发率。将 6 种云杉萌发率进行比较分析可得,白扞花粉萌发率最高,粗枝云杉花粉萌发率最低,二者花粉萌发率相差 35.57 个百分点,差异极显著。不同云杉花粉萌发率依次为:白扞花粉萌发率 > 紫果云杉花粉萌发率 > 青海云杉花粉萌发率 > 欧洲云杉花粉萌发率 > 鳞皮云杉花粉萌发率 > 粗枝云杉花粉萌发率。

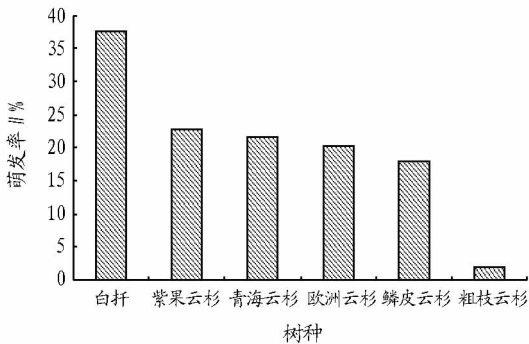


图 6 6 种云杉属植物离体培养法测定的花粉萌发率

由于青海云杉和紫果云杉花粉在这 2 种活性测定方法中所表现出的活性大小顺序不同,因此利用 SPSS 对这 2 种云杉花粉活性进行单因素方差分析,结果显示二者无显著性差异,说明青海云杉和紫果云杉花粉活性在同一水平。

对离体培养法和 TTC 染色法进行相关性分析,结果见表 9。由表 9 可知,这 2 种花粉活性测定方法呈正相关性,且相关性极强。相关系数为 0.958,决定系数为 91.78%,表明离体培养法方差的 91.78% 可以用 TTC 染色法来解释。说明离体培养法测定云杉花粉活性较高时,TTC 染色法测定云杉花粉活性也较高,因此在云杉花粉活性测定的试验中,可以选择试验步骤较简单的 TTC 染色法代替离体培养法对其进行活性测定。

表 9 离体培养法与 TTC 染色法相关性分析

	离体培养法	TTC 染色法
离体培养法	1	
TTC 染色法	0.957 870 643 *	1

注: * 表示在 0.01 水平上显著相关。

3 结论

(1)在 4 种花粉活性测定方法中,I₂-KI 染色法和醋酸洋红染色法对 6 种云杉花粉均没有明显的色差反应。TTC 染色法与离体培养法活性测定情况较好。

(2)6 种云杉最适培养基中硼酸浓度为 0.05 g/ml 萌发效果最好。白扞、紫果云杉、欧洲云杉、鳞皮云杉和粗枝云杉培养基中蔗糖最适浓度为 15 g/ml,而青海云杉为 10 g/ml。青海云杉培养基中琼脂最适浓度为 0.5 g/ml,白扞、紫果云杉、欧洲云杉、鳞皮云杉为 1.0 g/ml,粗枝云杉为 1.5 g/ml。

(3)通过对 6 种云杉花粉进行活性检测,反映出花粉活性大小依次为:白扞花粉活性、青海云杉花粉活性、紫果云杉花粉活性、欧洲云杉花粉活性、鳞皮云杉花粉活性、粗枝云杉花粉活性。

(4)TTC 染色法可以代替离体培养法对云杉花粉进行活性测定。

4 讨论

(1)从原理角度来看,TTC 染色法适合于花粉呼吸作用较强的植物,通过花粉呼吸作用所产生的 NADH₂ 或 NADPH₂ 与 TTC 反应,变成红色产物 TTF。运用这种色差反应可判断花粉活性。铁军等^[11]运用 TTC 染色法对芦荟属植物进行花粉活性测定试验,试验效果较好。I₂-KI 染色法是根据其遇淀粉变蓝的反应原理来论证花粉的活性,此方法不适用于云杉花粉,说明云杉花粉中含淀粉较少,不能与 I₂-KI 溶液进行反应。醋酸洋红法是对花粉体内积累的物质进行吸附作用从而染色,而云杉花粉极难染色,说明吸附作用太弱导致染色效果不佳。董晓莉等^[9]在研究连翘花粉活力时发现醋酸洋红法适合连翘花粉活力测定试验。该试验还发现在云杉花粉活性测定试验中 TTC 染色法与离体培养法相关性极强,因此 TTC 染色法可以代替离体培养法对云杉花粉进行活性测定。

(2)利用 SPSS 对离体培养法中花粉萌发率进行方差分

析,结果显示硼酸和蔗糖的浓度对云杉花粉萌发具有显著的影响。这一结论与马健伟等^[17]的研究结果大致相似。不同云杉花粉对培养基中最适蔗糖浓度不同,蔗糖作为碳源是花粉萌发及花粉管臂合成所必不可少的主要营养物质来源,多数云杉树种以 15 g/ml 的蔗糖浓度试验效果最好,这与葛莉莉等^[18]的研究结果基本相同。但青海云杉以 10 g/ml 的蔗糖浓度试验效果最佳,说明青海云杉花粉对于糖的吸收与其他 5 种云杉树种相比可能较低。

参考文献

[1] 王豁然,江泽平,傅紫菱,等. 林木引种驯化与森林可持续经营[M]. 北京:中国环境科学出版社,1998:1-292.
[2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 第七卷[M]. 北京:科学出版社,1978:1-542.
[3] 李青粉,王军辉,张建华,等. 云杉引种及种和种源早期评价[J]. 林业科学研究,2012,25(5):644-650.
[4] 葛莉莉,樊文颖. 青杆花粉保存方法试验研究[J]. 内蒙古林业科技,2008,34(4):25-28.
[5] 董成仁,刘平生. 呼和浩特树木园云杉属(*Picea*)引种及评估[J]. 内蒙古林业科技,2009,35(2):37-43.
[6] 何家庆. 中国外来植物[M]. 上海:上海科学技术出版社,2012:229-230.

(上接第 231 页)

盖竹林光合能力,随着与覆盖竹林距离的增加逐渐减弱。研究结果表明:W1、W3、W6 样方 P_n 依次为 4.476、4.543、4.428 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,无法证实竹林种群生理整合作用的存在。推测原因可能有两方面,一是竹林造林时采用的是单一或独立的克隆片段和分株,随着竹林不断郁闭,覆盖与未覆盖地段不一定会形成完整的、相互联系的地下竹鞭茎结构;二是竹林经营过程中的施肥及翻土整地可能会使得竹鞭断脱,导致竹林地下鞭茎克隆片段化。两方面原因都可能会影响竹林种群的生理整合作用。

在该试验样地中,覆盖竹林 P_n 与未覆盖竹林 P_n 差异不显著,但相对较高。有研究认为^[17],覆盖雷竹林叶片叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素均随着竹林退化程度的加剧而下降,生长正常、重度退化竹林差异显著;林地覆盖经营对雷竹林 1 年生立竹叶片功能性状影响相对较小,而对 2、3 年生立竹叶片功能性状影响较为明显,并且影响程度随林地覆盖经营年限的增加而提高^[18]。竹叶质量和功能的变化,必然会影响竹林光合性状,所以,在对同种覆盖年限竹林进行覆盖和不覆盖试验的横向比较时,覆盖竹林 P_n 往往会大于同期测定的未覆盖竹林,与不同覆盖年限竹林光合性状纵向比较结果可能会有所区别,这尚需进一步试验研究证实。同时,为了更好地揭示竹林种群生理整合作用及其机制,需要进行种群控制性试验,以进一步得出更加科学的结论,为现代竹林人工培育提供理论参考。

参考文献

[1] 董鸣,于飞海. 克隆植物生态学术语和概念[J]. 植物生态学报, 2007,

[7] 祁生秀,蔡晋翔,徐守成,等. 国外云杉引种试验[J]. 青海农林科技, 2008(1):28.
[8] 贾子瑞,张守攻,王军辉. 7 种云杉属树种花粉形态特征及其系统学的意义[J]. 电子显微学报,2011,30(3):257-264.
[9] 董晓莉,关青,郝建平,等. 不同花型连翘花粉活性比较[J]. 安徽农业科学,2013,41(22):9225-9227,9234.
[10] 刘绶霞. 醋酸洋红染色法测定油菜花粉的生活力[J]. 陕西农业科学, 1998(1):23-24.
[11] 铁军,金山,吴志萍,等. 两种芦荟属(*Aloe* L.)植物花粉活性和柱头可授性的测定[J]. 晋东南师范专科学校学报,2004,21(2):7-9.
[12] 王连奎,孙延林. 青杆云杉花粉生命力的测定与分析[J]. 吉林林业科技,2013,42(6):1-3.
[13] 刘林德,张萍,张丽,等. 锦带花的花粉活力、柱头可授性及传粉者的观察[J]. 西北植物学报,2004,24(8):1431-1434.
[14] 王永胜,于殿华,王进洲. 不同方法贮存的花粉活性测定试验报告[J]. 养蜂科技,1999(2):2-3.
[15] 曹孜义,刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科技出版社,2003.
[16] 吴月亮,王明辉,刘明园,等. 山杏花粉生活力及其贮藏力的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2013,44(4):479-482.
[17] 马建伟,王军辉,张守攻,等. 云杉花粉的贮藏及萌发研究[J]. 林业科学研究,2012,25(3):302-307.
[18] 葛莉莉,赵文义,阿腾戈,等. 云杉花粉生活力及贮藏方法试验研究[J]. 内蒙古林业科技,2007,33(4):33-34.

31(4):689-694.
[2] 董鸣. 克隆植物生态学[M]. 北京:科学出版社,2011:35-51.
[3] 刘丽,陈双林,李艳红. 基于林分结构和竹笋产量的有机材料覆盖雷竹林退化程度评价[J]. 浙江林学院学报,2010,27(1):15-21.
[4] 陈双林. 毛竹林地覆盖竹笋出土技术应用的问题思考[J]. 浙江农林大学学报,2011,28(5):799-804.
[5] 罗栋,钱永强,韩蕾,等. 生理整合对营养分布格局下野牛草相连分株 PSII 叶绿素荧光参数的影响[J]. 核农学报,2014,28(7):1320-1326.
[6] 毛舒燕,刘东焕,姜闻道,等. 水分胁迫条件下草莓克隆分株间水分调控及其对光合功能的影响[J]. 生态学报,2009,29(12):6446-6457.
[7] 钱永强,孙振元,韩蕾,等. 异质水分环境下野牛草相连分株间光同化物的生理整合及其调控[J]. 生态学报,2010,30(15):3966-3973.
[8] 吴志庄,杜旭华,熊德礼,等. 不同类型竹种光合特性的比较研究[J]. 生态环境学报,2013,22(9):1523-1527.
[9] 杜旭华,丁兴萃,陈岩,等. 不同纬度引种地马来甜龙竹(*Dendrocalamus asper*)光合特性的比较[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2012,36(6):53-57.
[10] 吴志庄,李伟成,熊德礼,等. 不同竹龄青皮竹光合作用与荧光特性的比较[J]. 西北林学院学报,2013,28(6):33-36.
[11] 周资行,焦健,李毅,等. 民勤沙拐枣克隆种群构件结构及与环境因子的灰色关联分析[J]. 林业科学,2012,48(5):141-149.
[12] RIIS T, LAMBERTINI C, OLESEN B, et al. Invasion strategies in clonal aquatic plants: Are phenotypic differences caused by phenotypic plasticity or local adaptation? [J]. Annals of Botany, 2010,106(5):813-822.
[13] YU F H, WANG N, HE W M, et al. Adaptation of rhizome connections in drylands: Increasing tolerance of clones to wind erosion [J]. Annals of Botany, 2008,102(4):571-577.
[14] 张丽丽,董鸣,李仁强,等. 土壤养分斑块对比度改变活血丹克隆整合强度和方向[J]. 植物生态学报,2007,31(4):619-624.
[15] 何维明,董鸣. 分蘖型克隆植物黍分株和基株对异质养分环境的等级反应[J]. 生态学报,2002,22(2):169-175.
[16] LIU H D, YU F H, HE W M, et al. Are clonal plants more tolerant to grazing than co-occurring non-clonal plants in inland dunes? [J]. Ecological Research, 2007,22(3):502-506.
[17] 李艳红. 林地覆盖退化雷竹林林分结构及光合生理特征研究[D]. 呼和浩特:内蒙古大学,2009:39-53.
[18] 陈珊. 雷竹主要器官对林地覆盖经营的生态适应及其衰老机理[D]. 北京:中国林业科学研究院,2014:26-30.