

辣椒小孢子发育时期与花器形态的相关性^{*}

张菊平^{1,2}, 巩振辉¹, 刘珂珂¹, 黄 炜¹, 李大伟¹

(1 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100; 2 河南科技大学 林学院, 河南 洛阳 471003)

[摘 要] 为了直接从花蕾大小或花药的形态特征来判断小孢子的发育时期, 对辣椒小孢子发育时期的细胞学, 以及小孢子不同发育时期与花萼特征、花蕾大小和花药颜色的关系进行了研究。结果表明, 辣椒小孢子发育经四分体时期、单核期和双核期, 各时期特征明显。辣椒小孢子发育时期与花蕾的外部形态特征、花药颜色密切相关。供试辣椒品种的小孢子处于单核靠边期时花蕾纵径在 4 253~ 5 074 mm, 花蕾横径在 4 191~ 5 367 mm, 花瓣与花萼等长或稍长, 花药长度在 2 020~ 2 565 mm, 花药宽度在 0 982~ 1 417 mm。辣椒同一花蕾小孢子发育存在一定程度的渐续性即不同步。依据花器官形态特征可判断小孢子的发育时期, 从而确定花药培养最佳时期所对应的选蕾标准。

[关键词] 辣椒; 小孢子; 发育时期; 花器形态

[中图分类号] S641.301

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)03-0153-06

Inte rre lation of cyto logical deve lopment period of pepper's microspore and the morphology of flow er organ

ZHANG Ju-ping^{1,2}, GONG Zhen-hui¹, LIU Ke-ke¹, HUANG Wei¹, LI Da-wei¹

(1 College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Forestry, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

Abstract: The bud size and morphological characteristics of the buds and anthers were defined and the paper focused on the relation between the microspore development and the calyx characteristics, the size of bud and the color of anthers. The results showed that pepper's microspore developed at three stages: tetrad, uninucleate, and binucleate, and each stage demonstrated distinctive characteristics. Microspore development also has correlativity with the morphological characteristics of buds and the color of anthers. The buds 4 253- 5 074 mm in height and 4 191- 5 367 mm in diameter, and the anthers 2 020- 2 565 mm in length and 0 982- 1 417 mm in width were discovered to contain microspores at the late-uninucleate. Microspore development of the same bud in pepper showed graduality to some extent. We can judge the development stage of pepper's microspore by morphological characteristics of flower organs so as to define the standard of bud selection in correspondence with the optimal stage of anthers culture.

Key words: *Capsium annuum* L.; microspore; development stage; shape of flower organs

单倍体育种是一种缩短有性育种周期、提高育种效率、快速选育作物新品种的新途径。目前, 单倍体育种主要是通过花药培养或游离小孢子培养, 诱

导再生形成单倍体植株, 然后加倍成纯合二倍体, 再经过选择后育成新品种。在花药培养时, 影响花粉胚胎发生的主要因素有基因型、小孢子发育时期、供体

* [收稿日期] 2006-02-20

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目; 西北农林科技大学植物遗传育种专项(05Y2024-1)

[作者简介] 张菊平(1968-), 女, 河南汝阳人, 副教授, 在读博士, 主要从事蔬菜生物技术与遗传育种研究。

[通讯作者] 巩振辉(1957-), 男, 陕西礼泉人, 教授, 博士生导师, 主要从事蔬菜种质资源与生物技术研究。E-mail: gzhh168@yahoo.com.cn

植株所处的生理状态、培养基、培养条件等,其中获得适宜发育时期的小孢子是最重要的影响因素之一^[1],同时小孢子发育时期对胚状体形成和植株再生也非常重要。烟草花药发育阶段与花蕾大小存在密切的关系^[2]。番茄花药长度、花蕾长度与花药发育阶段存在极显著相关性^[3]。芸薹属中也发现花蕾长度、花瓣长/花药长(P/A)等参数与小孢子发育阶段相关,特别是与两个最大花瓣的平均长度有极显著正(负)相关^[4]。瓜尔豆小孢子发育呈现高度一致性,与花器外部形态密切相关,依据花器形态特征即可判断小孢子发育时期^[5]。

在花药培养的早期研究中发现,并不是任何发育时期的花粉都可以培养形成愈伤组织或胚状体,只有发育到一定时期的花粉对离体刺激最敏感^[6]。小孢子发育阶段的细小差别对花药培养产率将产生很大的影响^[7]。因此,小孢子最佳发育时期的鉴定,是花药或小孢子培养的的必要条件和重要影响因子。茄科作物许多种的雄核发育小孢子的理想发育时期是单核期和第一次有丝分裂期^[8]。而进行细胞学鉴定时需检查每一个花药,既费时费力,且对小孢子活力造成一定的损伤。为此,本试验拟对辣椒小孢子发育时期的细胞学特点及其与花器外部形态的相关性进行研究,旨在确定辣椒雄核发育中评定小孢子发育时期的外在衡量指标,以便直接从花蕾大小或花药的形态特征来推断其小孢子的发育时期,以期为辣椒单倍体育种中鉴定接种材料提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为辣椒(P53, P62)和甜椒(P54, P55, P60, P63)的自交系和杂交种共 6 种基因型,种子分别由西北农林科技大学园艺学院辣椒种质资源圃和洛阳市诚研辣椒有限公司提供。2005-02-09 育苗,04-08 定植于西北农林科技大学园艺学院试验站,株距 25 cm,行距 60 cm。每一品种种植面积 20 m²。田间管理采用常规方法。

1.2 方法

1.2.1 花蕾形态观察与测量 从可观察到花蕾开始,每天上午 8:00~10:00 用镊子采摘不同大小的花蕾放入自封口塑料袋内,用冰盒带回实验室,用游标卡尺测量花蕾纵径、花蕾横径、花萼长、花瓣长,并描绘相应的形态特征,然后用镊子剥去萼片、花瓣,取出花药,测量花药长度、花药宽度,统计花药正、反面颜色及其比例。每一时期取花蕾 20 个,重复 3 次。

1.2.2 花蕾细胞学观察 将不同大小的花蕾用卡诺氏固定液(无水乙醇与冰醋酸体积比为 3:1)于室温下固定 24 h 后,转到体积分数 70% 酒精中,置 4℃ 冰箱保存备用。

取固定处理后的花蕾,用镊子小心剥去萼片、花瓣,取出花药,在 1 mol/L HCl 中 60℃ 恒温下解离 3~6 min,然后用蒸馏水清洗干净,将花药放在载玻片上,滴 1 滴 1.5% 醋酸洋红染色液或醋酸铁矾水合三氯乙醛苏木精染色液^[8-11],用双面刀片从花药中部切断,用镊子轻轻挤压花药,使其散出花粉母细胞或花粉粒,去掉花药壁残渣,加盖盖玻片,在酒精灯火焰上微烤 2~3 次,45% 醋酸分色制片。用 Motic 光学显微镜先在 100× 下找到视野,再在 400× 下确定各花药小孢子所处的发育时期并照相。

1.3 数据分析

试验数据采用 DPS 数据处理系统进行分析。

2 结果与分析

2.1 辣椒小孢子各发育阶段的细胞学特征

2.1.1 四分体时期 辣椒花粉母细胞(小孢子母细胞)经过减数分裂产生四分小孢子,被一层厚的胼胝质包围成四分体。在不同发育时期小孢子呈不同形状,规则的为圆形。在光学显微镜下可见辣椒小孢子组成四面体。如果压片时用力可使小孢子呈对称形排列在同一平面上(图版 1, 2)。

2.1.2 单核期 从四分孢子分开至小孢子第一次细胞分裂前,四分孢子从被包围的胼胝质中分离出来,从四分体胼胝质壁释放出来的小孢子具有不规则的外形轮廓,但很快变成圆形或近圆形,形成 4 个单核花粉粒。该时期的显著特点是特化的细胞壁逐渐形成,具体可分为单核早期、单核中期、单核靠边期 3 个时期:

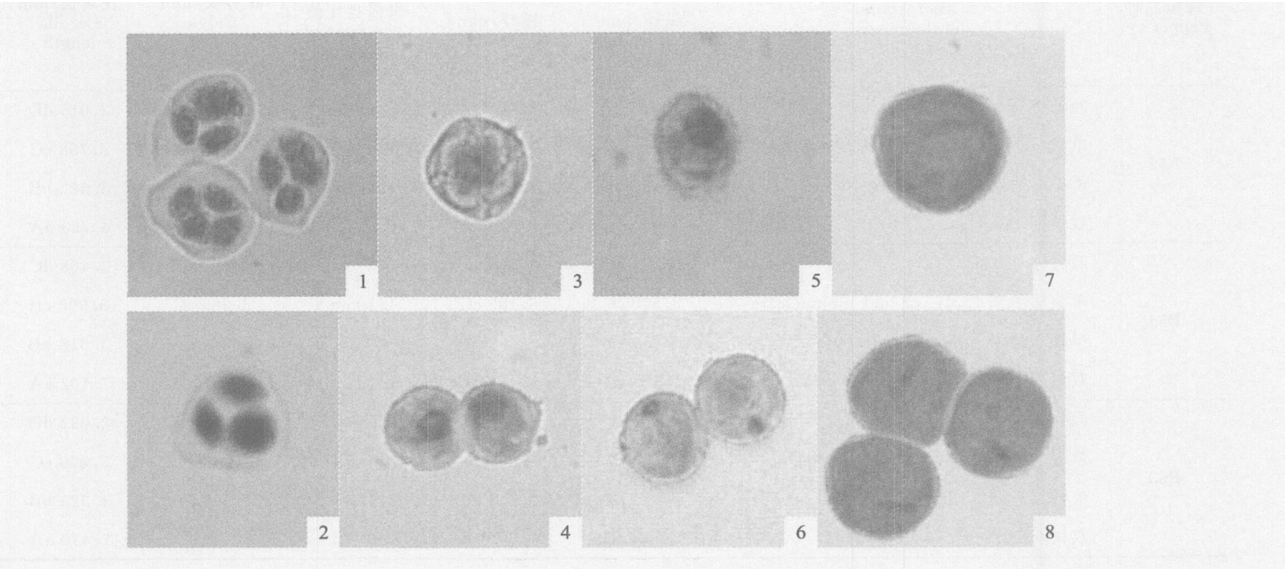
(1) 单核早期。每一个小孢子含有一个位于中心的核,细胞体积小,细胞质中无明显液泡,核大。

(2) 单核中期。小孢子体积膨大,形成带有萌发孔原基的明显的细胞壁,细胞质无可见的液泡,核大,仍居细胞中央(图版 3, 4)。

(3) 单核靠边期。细胞质中出现液泡,将细胞核从中心挤压到靠近细胞壁,小孢子核仍停留在细胞周期的 G₂ 期。细胞核靠边和出现萌发孔是这个时期的主要识别特点(图版 5, 6)。

2.1.3 双核期 花粉细胞进行第一次有丝分裂后,形成 1 个营养细胞和 1 个生殖细胞,这时一般称为二核花粉。由于这次分裂是不均等分裂,形成不同大

小的 2 个细胞, 体积大的为营养细胞, 核大, 染色浅, 包围有丰富的细胞质; 体积小的为生殖细胞, 核较浓缩, 染色较深, 核外仅带有少量的细胞质(图版 7, 8)。



图版 1~ 8 辣椒小孢子各发育阶段的细胞学特征(× 400)
1, 2 四分体时期; 3, 4 单核早中期; 5, 6 单核靠边期; 7, 8 双核期;
1, 3, 5, 7, 8 醋酸洋红染色; 2, 4, 6 醋酸铁矾水合三氯乙醛苏木精染色
Plate 1- 8 Morphological characteristics of flower buds at various stage of microspore development(× 400)
1, 2 Tetrad; 3, 4 Early- or mid-uninucleate; 5, 6 Late-uninucleate; 7, 8 Binucleate;
1, 3, 5, 7, 8 Stained by using acetocam ine; 2, 4, 6 Stained by using Heidenhain Iron Hematoxylin

2 2 辣椒小孢子发育时期与花蕾形态特征的关系

由表 1 可见, 辣椒小孢子发育时期与花蕾的纵径、横径、纵横径比值以及花萼长、花瓣长有密切关系。不同辣椒品种的小孢子从四分体时期向双核期的发育, 花蕾纵径、横径呈增长趋势, 花蕾纵横径比值也基本呈上升趋势, 花萼长、花瓣长增长趋势较

弱。同一辣椒品种小孢子发育 4 个时期的花蕾纵径、横径、纵横径比值, 以及花萼长、花瓣长都存在极显著或显著差异。不同辣椒品种的小孢子处于单核靠边期时, 花蕾纵径在 4 253~ 5 074 mm, 花蕾横径在 4 191~ 5 367 mm, 花瓣与花萼等长或稍长。

表 1 不同辣椒品种小孢子各发育时期花蕾的形态特征

Table 1 Morphological characteristics of flower buds at various stage of microspore development of different varieties of pepper

辣椒品种 Pepper cv.	小孢子发育阶段 Microspore developmental stages	花蕾 Flower buds			花萼长/mm Calyx length	花瓣长/mm Corolla length
		纵径/mm Flower bud height	横径/mm Flower bud diameter	纵横径比值 The ratio of height to diameter		
P53	四分体 Tetrad	2 897 dD	2 926 dD	1 081 cC	2 470 dC	1 672 dD
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	3 883 cC	3 329 cC	1 174 bBC	3 263 dB	2 515 cC
	单核靠边期 Late-uninucleate	5 074 bB	4 191 bB	1 224 bB	3 395 bB	4 097 bB
	双核期 Binucleate	7 043 aA	4 869 aA	1 370 aA	4 033 aA	5 450 aA
P55	四分体 Tetrad	2 623 dD	2 807 cC	0 869 cC	1 910 dD	1 377 dD
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	3 437 cC	3 843 bB	0 912 bcBC	2 877 cC	2 783 cC
	单核靠边期 Late-uninucleate	4 910 bB	5 367 aA	0 956 bB	3 637 aA	3 937 bB
	双核期 Binucleate	7 323 aA	5 510 aA	1 319 aA	3 407 bB	5 570 aA
P60	四分体 Tetrad	3 020 dD	3 203 dD	0 928 bAB	3 033 cC	2 160 dC
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	3 610 cC	3 618 cC	0 862 bB	3 083 cC	2 570 cC
	单核靠边期 Late-uninucleate	4 387 bB	4 417 bB	1 285 aA	3 397 bB	3 503 bB
	双核期 Binucleate	5 193 aA	5 140 aA	0 786 bB	3 750 aA	5 007 aA

续表 1 Continued of Table 1

辣椒品种 Pepper cv.	小孢子发育阶段 M icrospore developm ental stages	花蕾 Flower buds			花萼长/mm Calyx length	花瓣长/mm Corolla length
		纵径/mm Flower bud height	横径/mm Flower bud diam eter	纵横径比值 The ratio of height to diam eter		
P62	四分体 Tetrad	3 090 dD	2 990 dD	0 907 bB	2 607 cC	2 015 dD
	单核早中期 Early- or m id- uninucleate	3 730 cC	3 417 cC	1 045 bB	2 760 cC	2 758 cC
	单核靠边期 Late-uninucleate	4 525 bB	4 213 bB	1 074 bB	3 556 bB	3 623 bB
	双核期 Binucleate	7 970 aA	5 150 aA	1 548 aA	3 976 aA	6 788 aA
P54	四分体 Tetrad	3 135 cC	3 195 cC	0 974 cC	2 731 dD	2 468 dC
	单核早中期 Early- or m id- uninucleate	3 500 cC	3 182 cC	1 105 aA	3 280 cC	3 090 dB
	单核靠边期 Late-uninucleate	4 253 bB	4 208 bB	1 035 bB	3 609 bB	3 618 bB
	双核期 Binucleate	6 523 aA	5 845 aA	1 113 aA	4 291 aA	7 102 aA
P63	四分体 Tetrad	3 653 cC	3 513 cC	1 060 dD	3 303 cC	2 937 dD
	单核早中期 Early- or m id- uninucleate	3 840 cC	3 830 cC	1 119 cC	3 447 cC	3 470 cC
	单核靠边期 Late-uninucleate	4 843 bB	4 843 bB	1 168 bB	3 990 bB	4 323 bB
	双核期 Binucleate	7 833 aA	6 163 aA	1 318 aA	4 590 aA	7 470 aA

注: 不同小写字母表示在 0.05 水平下差异显著, 不同大写字母表示在 0.01 水平下差异极显著。下表同。
Note: The different letters expressed significant difference at the 0.05 level of probability. The different capital letters expressed great significant difference at the 0.01 level of probability. The same is true for others

由表 2 可以看出, 不同辣椒品种小孢子各发育时期花蕾的大小不同, 但花蕾的外部形态基本相似, 说明辣椒的小孢子发育时期与花蕾的外部形态有密切关系。

表 2 辣椒小孢子各个发育时期与花蕾外部形状特征的关系

小孢子发育阶段 M icrospore developm ental stages		花蕾形态特征 M orphological characteristics of flow er buds
四分体 Tetrad		花蕾小, 萼片包被着花冠, 花萼深绿色 The buds are small, sepals wrap corolla, sepals was dark green
单核早中期 Early- or m id- uninucleate		花蕾稍大, 萼片尖端稍微张开, 花萼绿色, 花萼长于花瓣, 花冠淡绿色 The buds are a bit bigger, sepals open slightly on the top end, the color of the calyx is green, The length of the calyx of buds was slightly greater than that of the corolla, the color of the corolla is light green
单核靠边期 Late-uninucleate		花蕾已明显膨大, 花瓣微露出花萼, 萼片张开, 花萼浅绿色, 花萼与花瓣等长或花瓣稍长于花萼 The buds swell obviously, corolla comes out calyx slightly, sepals splay, sepals are light green. The length of the corolla of buds was about the same as or slightly greater than that of the calyx
双核期 Binucleate		花蕾充分膨大, 花萼已经达到应有大小, 花瓣明显露出花萼, 花萼尖端展开, 花瓣发白, 呈黄白绿色, 花瓣长于花萼 The buds swell sufficiently, the length of the calyx attains greatness, petal come out distinctly calyx, sepals spread on the top end, the color of the petal is white-yellow-green, the length of the petal of buds is greater than that of the calyx

2.3 辣椒小孢子发育时期与花药发育特征的关系
辣椒小孢子发育时期与花药的发育具有密切关系。四分体时期花药呈淡黄绿色, 晶莹透明, 易剥离; 从单核早期发育到双核期, 花药由黄绿色逐渐发育到紫色, 且逐步增大到应有大小。同一辣椒品种小孢子发育的不同时期花药长度、花药宽度、花药长宽比均差异显著或极显著(表 3)。

从表 3 还可以看出, 不同辣椒品种小孢子单核

靠边期花药长度在 2.020~ 2.565 mm, 花药宽度在 0.982~ 1.417 mm, 花药长宽比变化较大, 变化幅度在 1.698~ 2.184。
辣椒花药发育的进程在颜色方面的变化: 由花药白绿色→花药正面 1/4 浅紫, 背面浅绿→花药正面 1/3 浅紫, 背面浅绿→花药正面 1/2 浅紫, 背面 1/4 浅紫→花药正面 2/3 浅紫, 背面 1/3 浅紫(表 4)。

表 3 不同辣椒品种小孢子各发育时期花药的发育特征

Table 3 Characteristics of anthers at different stage of microspore of different varieties in pepper

辣椒品种 Pepper cv.	小孢子发育阶段 Microspore developmental stages	花药长度/mm Anther length	花药宽度/mm Anther width	花药长宽比 The ratio of anther length to anther width
P53	四分体 Tetrad	1.030 dD	0.643 dD	1.501 cC
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	1.462 cC	0.837 cC	1.993 bB
	单核靠后期 Late-uninucleate	2.565 aB	1.191 bB	2.088 bB
	双核期 Binucleate	3.023 aA	1.397 aA	2.355 aA
P55	四分体 Tetrad	0.997 dD	0.517 dD	1.739 bCB
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	1.390 cC	0.737 cC	2.007 aA
	单核靠后期 Late-uninucleate	2.020 bB	1.193 bB	1.698 bC
	双核期 Binucleate	2.933 aA	1.620 aA	1.831 bB
P60	四分体 Tetrad	1.363 dC	0.450 dD	1.557 cC
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	1.789 cB	0.743 cC	2.170 bB
	单核靠后期 Late-uninucleate	2.263 bA	1.054 bB	2.158 bB
	双核期 Binucleate	2.591 aA	1.311 aA	2.373 aA
P62	四分体 Tetrad	0.910 dD	0.530 dC	1.513 dC
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	1.298 cC	0.723 cC	1.745 cB
	单核靠后期 Late-uninucleate	2.160 bB	0.982 bB	2.184 aA
	双核期 Binucleate	2.972 aA	1.405 aA	2.022 aA
P54	四分体 Tetrad	1.322 dD	0.535 dD	2.404 aA
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	1.540 cC	0.850 cC	1.523 dC
	单核靠后期 Late-uninucleate	2.024 bB	1.148 bB	2.019 bB
	双核期 Binucleate	2.864 aA	2.027 aA	1.772 cBC
P63	四分体 Tetrad	1.253 dC	0.960 dC	1.450 dD
	单核早中期 Early- or mid- uninucleate	1.513 cC	1.073 cC	1.706 cC
	单核靠后期 Late-uninucleate	2.237 bB	1.417 bB	1.912 bB
	双核期 Binucleate	3.120 aA	1.603 aA	2.172 aA

表 4 不同辣椒品种花药颜色与花药发育时期的关系

Table 4 Relations between anther color and different stage of anther development in pepper

辣椒品种 Pepper cv.	浅紫色所占比例 The rate of light purple		花药发育时期所占比例 The rate of anther developmental stages			
	花药正面 In front of anther	花药背面 At back of anther	四分体 Tetrad	单核中期 Mid-uninucleate	单核靠后期 Late-uninucleate	双核期 Binucleate
P62	1/4	0	85	15	0	0
	1/3	0	10	85	5	5
	1/2	1/4	5	7.5	80	7.5
	2/3	1/3	0	7.5	10	82.5
P54	1/4	0	80	20	0	0
	1/3	0	12.5	87.5	0	0
	1/2	1/4	5	7.5	77.5	10
	2/3	1/3	0	5	5	90
P53	1/4	0	92.5	7.5	0	0
	1/3	0	12.5	87.5	0	0
	1/2	1/4	2.5	10	85	2.5
	2/3	1/3	0	5	15	80
P63	1/4	0	90	10	0	0
	1/3	0	12.5	85	2.5	0
	1/2	1/4	2.5	12.5	75	10
	2/3	1/3	0	2.5	10	87.5

2.4 辣椒同一花蕾小孢子发育时期的不同步性

辣椒每一个花蕾由 5~ 6 个花药组成雄蕊, 同一

花药内含有许多小孢子。不同花药内的小孢子发育

时期表现不同步性, 同一花药内的小孢子发育时期

也表现不同步性,处于单核靠边期的花蕾,80%以上的小孢子处于单核靠边期,20%的小孢子处于单核中期。这一结果说明辣椒同一花蕾小孢子发育存在一定程度的渐续性。

3 结论与讨论

本试验结果表明,不同辣椒品种的小孢子处于单核靠边期时,花蕾纵径 4 253~ 5 074 mm,花蕾横径 4 191~ 5 367 mm,花瓣与花萼等长或稍长,花药长度在 2 020~ 2 565 mm,花药宽度在 0 982~ 1 417 mm。其中辣椒小孢子处于单核靠边期时的花蕾纵径和花蕾横径数值与Dudu 等^[8]的结论有所不同,这可能与试验材料的基因型有关。

本研究中辣椒小孢子各发育时期与花蕾外部形态特征关系密切。因此,可以根据花器外部形态特征在田间取材接种,实现对最佳发育时期的花药或游离小孢子进行培养。本实验室依据该试验结果进行花药培养或游离辣椒小孢子培养的结果表明,可以直接根据花蕾的形态、大小、花药色泽、大小来判断辣椒小孢子发育时期,无须制片镜检,具有方便、快捷、准确的特点。

在正常情况下,四分体时期的辣椒小孢子组成四面体。因为减数第一次分裂后不立即形成细胞壁,在形成四分体的同时产生细胞壁分隔 4 个细胞,四分体的 4 个细胞排列成四面体^[12]。显微制片时,如果用力可使小孢子呈对称形排列在同一平面上。在试验中还发现,采用不同的染色剂观察辣椒小孢子发育时期,其效果是不一样的。同一时期采用不同的染色剂鉴定,效果也不同。醋酸洋红对于四分体时期的观察效果很好,而其他时期的观察效果较醋酸铁矾水合三氯乙醛苏木精效果差。这主要是由于醋酸洋红使核染成红色,细胞质染成浅红色,区别不太明

显,而醋酸铁矾水合三氯乙醛苏木精使核染成深蓝色或黑色,细胞质染成灰色,区分度明显易辨。

【参考文献】

- [1] Chuong P V, Deslauriers C, Kott L S, et al Effects of donor genotype and bud sampling on microspore culture of *B. rassaica napus*[J]. Can J Bot, 1988, 66: 1653-1657.
- [2] Kasperbauer M J, Wilson H M. Haploid plant production and use[C]//Durbin R D. Nicotiana procedures for experimental use Washington, DC: USDA Technol Bul, 1979: 33-39
- [3] Summers W L, Jaramillo J, Bailey T. Microspore developmental stage and anther length influence the induction of tomato anther callus[J]. Hort Sci, 1992, 27: 838-840
- [4] Tomasi P, Dierig D A, Backhaus R A, et al Floral bud and mean petal length as morphological predictors of microspore cytological stage in *L. esquerella* [J]. Hort Sci, 1999, 34: 1269-1270
- [5] 孙爱新, 赵 颀, 吕国华, 等. 瓜尔豆小孢子发育时期与花器形态相关性研究[J]. 石河子大学学报: 自然科学版, 2004, 22 (4): 103-106
- [6] 谢从华, 柳 俊. 植物细胞工程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004
- [7] Wilcox M C, Reed S M, Burns J A, et al Effect of microspore stage and media on anther culture of peanut (*A. rachis hypogaea* L.) [J]. Plant Cell Tissue Organ Culture, 1991, 24: 25-28
- [8] Dudu Ö Ç, Rukiye T. The effect of cold treatment and charcoal on the in vitro androgenesis of pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Turk J Bot, 2002, 26: 131-139
- [9] Gupta H S, Borthakur D N. Improved rate of callus induction from rice anther culture following microscopic staging of microspores in iron alum-haematoxylin[J]. Theor Appl Genet, 1987, 74: 95-99
- [10] Pechan P M, Keller W A. Identification of potentially embryogenic microspores in *B. rassaica napus*[J]. Physiol Plant, 1988, 74: 377-384
- [11] 李懋学, 张敦方. 植物染色体研究技术[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1991.
- [12] 曹惠娟. 植物学[M]. 2 版. 北京: 中国林业出版社, 1992

(上接第 152 页)

- [2] 龙雅宜, 张金政, 张兰年. 百合——球根花卉之王[M]. 北京: 金盾出版社, 1999
- [3] 郭志刚, 张 伟. 花卉生产技术原理及其应用丛书: 球根类[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001.
- [4] 金新华. 药食兼用百合[J]. 营养与保健, 2004(4): 37.
- [5] Jayaraj A F, Wilson R, Muraleedharan G N. Constituents in easter lily flowers with medicinal activity[J]. Life Sciences, 2004, 76: 671-683
- [6] 邵晓慧, 卢连华. 两种百合耐缺氧作用的比较研究[J]. 山东中医药大学学报, 2000, 24(5): 387-388
- [7] 高锦明. 植物化学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 248-252
- [8] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版

社, 1987: 595-650

- [9] 汪正范, 杨树民, 吴侔天, 等. 色谱联用技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 63-120
- [10] 但 春, 付铁军. 丁香挥发油化学成分 GC-MS 分析[J]. 分析测试学报, 2004, 23: 87-88
- [11] 吕金顺, 刘 岚. 臭椿籽挥发油的化学成分分析[J]. 分析测试学报, 2003, 22(3): 39-41
- [12] 傅长根, 周 鹏. 植物油领域的新军——茶油[M]. 食品科技, 2004, 3(3): 42-44
- [13] 赖建辉. 茶油益寿[M]. 中国食品, 2000(5): 23-26
- [14] 李卫民, 孟宪纾, 高 英. 中药百合的本草考证[J]. 中国中药杂志, 1990(10): 31-35