

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201607004

引文格式: 杨国鹏, 曹小勇, 吴洁, 等. 白及果实形态与种子结实率相关性研究 [J]. 广西植物, 2017, 37(3):394-399

YANG GP, CAO XY, WU J, et al. Correlation between fruit form and seed setting rate of *Bletilla striata* [J]. Guihaia, 2017, 37(3):394-399

白及果实形态与种子结实率相关性研究

杨国鹏, 曹小勇*, 吴洁, 胡选萍, 秦公伟

(陕西理工大学 生物科学与工程学院, 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723000)

摘要: 该研究以果实大小有明显差异的 26 个白及果序共 87 枚果实为材料, 分析了果实形态(包括果实重量、长度及直径)与种子结实率的相关性。结果表明:果实重量与结实率的相关性最为密切, 相关系数为 0.786, 达到中等正相关;其次是果实直径, 相关系数为 0.634;最后是果实长度, 相关系数为 0.553。对 10 枚果实及种胚大小测量结果显示, 果实形态与种胚大小相关性为弱相关, 不同果实种胚大小相差较大, 种胚直径和种胚长度平均分别为 177.9 μm 和 359.0 μm , 最大分别为 241.9 μm 和 528.6 μm , 最小分别为 64.5 μm 和 114.3 μm ;单粒白及种子平均重 3.90 μg , 87 枚果实中, 单枚果实平均种子数量为 10 436 粒, 最大为 39 488 粒。该研究结果表明果实重量及饱满程度(直径), 可以作为评价白及果实质量(种子结实率)的参考指标。

关键词: 白及, 果实形态, 结实率, 种子, 种胚

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)03-0394-06

Correlation between fruit form and seed setting rate of *Bletilla striata*

YANG Guo-Peng, CAO Xiao-Yong*, WU Jie, HU Xuan-Ping, QIN Gong-Wei

(School of Biological Science and Engineering, Shaanxi Sci-tech University, Shaanxi Key Laboratory of Bio-Resource, Hanzhong 723000, Shaanxi, China)

Abstract: *Bletilla striata* is a perennial herb belonging to the family Orchidaceae, has been used as Chinese folk medicine. Seed quality is key to get large number of *B. striata* seedlings, and the seed setting rate is a very important standard to evaluate the fruit quality. It is a quick method to rough evaluate seed setting rate through the fruit form. In this study, the correlation between fruit form (fruit weight, length and diameter) and seed setting rates among 26 infructescences (87 fruits) of *B. striata* were analysed, the seed embryo sizes of ten different sizes of *B. striata* fruits were measured, and the weights of 400 seeds were calculated and the weights of single seed were obtained. The results showed that correlation between fruit weight and seed setting rate were the most close, the coefficient of correlation was 0.786, reaching to moderate degree; the second close was fruit diameter, the coefficient of correlation was 0.634; and the last was fruit length, the coefficient of correlation was 0.553; the average setting rate of 87 fruits was 50.43%. The correlation between fruit form and seed embryo size was at a low degree, developmental state of seed embryo could not be known through the fruit form; the average diameter of embryo was 177.9 μm , the biggest was 241.9 μm , the smallest was just 64.5 μm ; and the average length of embryo was 359.0 μm , the biggest was 528.6 μm , the smallest was just 114.3 μm , the results showed that the mature seed em-

收稿日期: 2016-10-19 修回日期: 2016-11-17

基金项目: 陕南秦巴生物资源协同创新中心项目(QBXT-Z(P)-15-26) [Supported by Qin-Ba Biological Resources Collaborative Innovation Center Project (QBXT-Z(P)-15-26)].

作者简介: 杨国鹏(1990-), 男, 宁夏海原人, 硕士研究生, 植物细胞工程专业, (E-mail) Yeung2015@163.com.

*通信作者: 曹小勇, 教授, 从事植物资源保护与开发研究, (E-mail) caoxiong@163.com.

bryo size of *B. striata* mainly focus on 150–200 μm in diameter, the ratio was 62.34% in this range, and 300–400 μm in length, the ratio was 68% in this range. The average weight of single seed was 3.90 μg , the seeds in the biggest fruit of the 87 was 39 488, and the average number was 10 436, according to calculation, the average number of have embryo seeds in a single fruit was 5 263, it could gain a large number of *B. striata* seedlings through the sterile culture. In conclusion, fruit weight and full degrees (diameter) can be used to evaluate fruit quality (seed setting rate) of *B. striata*.

Key words: *Bletilla striata*, fruit form, seed setting rate, seed, seed embryo

白及 (*Bletilla striata*) 系兰科白及属多年生陆生型草本, 本属约 6 种, 中国有 4 种, 陕南地区分布 3 种(中国植物志, 1999), 白及不仅观赏价值较高, 亦是常用中药之一, 其作用为收敛止血, 消肿生肌, 用于咯血吐血, 外伤出血等(中华人民共和国药典, 2015)。白及也是我国现代医药工业(任华忠等, 2009)和化妆品工业(刘光斌等, 2005)的重要原材料。近年来, 白及的临床应用扩大, 需求急剧增加, 但自然繁殖较难和野生生境破坏及过度采挖, 导致野生白及资源急剧减少(张亦诚, 2007)。目前, 白及的大规模生产主要通过分割假鳞茎进行无性繁殖, 这种方式繁殖系数较低且容易积累病害, 不能满足当前的生产需求, 而基于白及种子的实生苗繁殖体系可以提供大量健康白及种苗(牛俊峰和王喆之, 2016)。白及种子是大量获得白及种苗的前提, 因此对于白及种子质量状态需要给予一定关注(张智慧等, 2016)。

植物通过有性生殖形成种子过程中受到多种因素影响, 主要包括花粉限制、胚珠限制及母株营养源的限制(Harder & Barrett, 2007)。其中, 兰科植物的传粉方式及土壤施肥情况与结实率的研究较多, Gale(2007)、Lehnebach & Riveros(2003)、Peter & Johnson(2009)、Neiland & Wilcock(1999)分别对日本芋兰(*Nervilia nipponica*)、智利兰花(*Chloraea lamellate*)、兰科植物 *Acrolophia cochlearis*、非兰科异种植物的传粉方式与结实率间的关系进行了研究; Ilves et al(2015)对 *Orchis militaris* 新建和原有种群间的结实率差异进行了探究; Gijbels et al(2015)研究了土壤施肥对兰科植物 *Gymnadenia conopsea* 座果率及种子的影响。目前, 张燕等(2009)、Kiyohara et al(2012)、Jitsopakul et al(2008)对白及种子形态及结实情况有一些观察研究, 但尚未见到对白及果实形态与结实率相关性的研究报道。

兰科植物种子非常小, 同种兰科植物种子种胚大小存在差异。Ren et al(2014)、Jersáková et al(2006)分别研究了稀有兰科植物 *Calanthe yaos-*

hanensis 及 *Disa pulchra* 的种胚发育影响因素。张燕等(2009)、Kiyohara et al(2012)、Arditti & Ghani(2000)分别对白及种子种胚大小进行了报道, 但结果差异较大。本研究以不同果序白及果实为研究材料, 分析了果实形态与种子结实率(即具胚种子与种子总数的比率)之间的相关性; 另外, 对不同大小果实与种胚大小关系及单粒种子重量进行了测量分析。通过对不同果实形态与种子结实率的关系研究, 旨在解决白及实生种苗生产中关键之一——果实结实率及种子质量评判的参考指标问题。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本研究所用白及果实采自陕西省汉中市留坝县地理坐标为 33°37.516' N, 106°54.958' E, 海拔为 (972.2 ± 6.2) m。以果序为单位进行采摘, 置于阴凉通风处自然干燥, 待用。

1.2 方 法

1.2.1 白及果实形态测量与结实率计算 选取果实大小有明显差异的果序 26 个, 果实共 87 枚, 对果序上果实从顶部到基部依次编号; 测量每个果实的长度与直径, 分别称量果实、果皮及种子总重量。单个果实纵切后抖出种子, 混合均匀, 在显微镜视野中随机选取 30 粒种子观察统计具胚种子数量, 重复 3 次。计算结实率: 具胚种子数/30 × 100%。

1.2.2 白及种胚大小测量 挑选外形差异较大的白及果实 10 枚, 测量每个果实长度与直径。果实纵切后剥出种子, 混匀后取适量置 0.1% 的 TTC 溶液中, 30 °C 下染色 24 h 后, 每个果实随机选取至少 30 粒种子, 在显微镜下测量种胚大小(图 1)。

1.2.3 白及种子重量测量 将种子浸泡 2 d 后, 在显微镜下进行白及种子计数, 有无种胚均计入总数, 每 400 粒种子为一组, 置于铝箔纸上, 阴干后用 FA2004N 型电子天平称重, 重复 10 次。

单粒白及种子重量 = (W 铝箔 + 种子 - W 铝

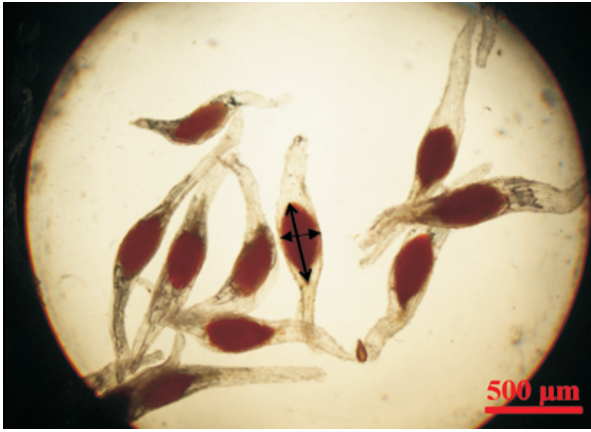


图1 白及种胚大小测量

Fig. 1 Embryo size measurement of *B. striata*

箱)/400。

1.2.4 数据处理 使用 Spss 21.0 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 白及果实形态与结实率关系

对 26 个果序的 87 枚果实形态及种子结实率测量、计算结果如表 1, 对白及果实形态与结实率相关性分析结果见表 2。

表 1 说明不同果序单个果实的果实重量、种子重量、果实形态及结实率之间存在较大差异。表 2 显示, 果实重量与结实率的相关系数最高, 达到 0.786, 二者的相关性最为密切, 达到中等正相关, 说明果实越重, 结实率越高; 其次是果实直径与结实率的相关性, 相关系数为 0.634, 即果实越粗壮, 果实相对饱满, 结实率越高; 最后是果实长度与结实率的相关性, 相关系数为 0.553。单粒果实种子总重量与果实重量之间相关系数为 0.970, 达到强相关性, 对单个果实来说, 果实越重, 其种子也越重, 种子数量也越多; 单粒果实种子总重量与结实率的相关系数也最高, 达到 0.786, 即单粒果实种子越重, 果实所含有胚种子越多, 结实率越高。

另外, 白及果实中果皮重占果实重量的 68.91%; 而在一个果序中, 大小果实出现的顺序没有规律。

2.2 白及果实形态与种胚大小关系

10 枚果实形态与种胚大小测量结果如表 3 所示。

分析表 3 可知, 白及果实形态与种胚大小间的相关性为弱相关, 不能根据果实外在形态准确判断具胚种子种胚发育情况, 但根据表 1, 可以对具胚种子比例做出预判; 不同果实中具胚种子种胚大小不一, 种胚之间发育差异较大, 300 粒种子种胚直径平均为 $177.9 \mu\text{m}$, 最大达 $241.9 \mu\text{m}$, 最小仅为 $64.5 \mu\text{m}$, 差值达 3.75 倍; 种胚长度平均为 $359.0 \mu\text{m}$, 最大 $528.6 \mu\text{m}$, 最小仅为 $114.3 \mu\text{m}$, 差值高达 4.62 倍。不同果实的种子种胚大小变化幅度差异较大, 种胚直径 RSD 极差为 11.19%, 种胚长度 RSD 极差高达 14.5%, 种胚直径相对长度而言, 数据波动较小。对单粒白及种子, 其外形如梭状, 呈中间大, 两端小, 种胚长度和直径显示为强相关, 相关系数为 0.888, 即种胚越长, 其直径也越大。

对 300 粒种子种胚大小分布情况进行统计, 种胚直径以 $25 \mu\text{m}$ 为间隔, 从 $50 \mu\text{m}$ 到 $250 \mu\text{m}$ 划分 8 组区间, 依次编组号为①~⑧; 种胚长度以 $50 \mu\text{m}$ 为间隔, 从 $100 \mu\text{m}$ 到 $550 \mu\text{m}$ 划分为 9 组区间, 依次编组号为①~⑨。结果见表 4 和表 5。

数据显示: 已成熟的不同形态白及果实中种子大小分布基本服从正态分布, 即较大和较小的种子数量均较少, 而中间大小的种子较多。种胚直径主要分布在平均值附近的 $150 \sim 200 \mu\text{m}$ 区间内, 占比达 62.34%; 而种胚长度主要集中在平均值附近的 $300 \sim 400 \mu\text{m}$ 区间, 此区间集中了 68% 的种子。即成熟的白及种子种胚主要集中在长 $300 \sim 400 \mu\text{m}$, 直径 $150 \sim 200 \mu\text{m}$ 大小范围内。

2.3 白及种子重量

测量得到 400 粒白及种子重 (1.56 ± 0.12) mg, 通过计算得到单粒白及种子平均重 $3.90 \mu\text{g}$ 。根据表 1 数据, 以单枚果实种子总重平均 0.0407 g , 最大 0.1540 g 计算, 87 枚果实平均种子数量为 10 436 粒, 最大果实种子数量为 39 488 粒, 说明在单粒白及果实中蕴含白及种子数量极大, 以结实率 50.43% 计, 具胚种子平均达 5 263 粒, 可做为无菌培养过程中对原球茎或无菌苗得率的参考指标。

3 讨论与结论

对兰科植物种子结实情况, Ilves et al (2015) Gibbels et al (2015)、Neiland & Wilcock (1999)、Proctor & Harder (1994)、Proctor (1998)、Vallius (2001) 等研究中都给予了关注, 包括传粉方式、新老种群、施

表 1 白及果实形态与结实率

Table 1 Fruit form and seed setting rate of *B. Striata*

指标 Index	果实重 Weight of fruit (g)	种子重 Weight of seed (g)	果实长度 Length of fruit (mm)	果实直径 Diameter of fruit (mm)	结实率 Seed setting rate (%)
平均值 Average *	0.1309 ± 0.0694	0.0407 ± 0.0318	28.2 ± 5.2	6.7 ± 1.6	50.43 ± 24.76
最大值 Max *	0.3349	0.1540	43	12	94.44
最小值 Min *	0.0244	0.0043	17	4	11.11

注: * 为 87 枚果实的统计值。

Note: * The statistics of 87 fruits.

表 2 白及果实形态和结实率的相关系数

Table 2 Correlation of fruit form and seed setting rate of *B. Striata*

相关性 Correlation	果实重 Weight of fruit (g)	种子重 Weight of seed (g)	果实长度 Length of fruit (mm)	果实直径 Diameter of fruit (mm)	结实率 Seed setting rate (%)
果实重 Weight of fruit (g)	1				
种子重 Weight of seeds (g)	0.970 **	1			
果实长度 Length of fruit (mm)	0.757 **	0.676 **	1		
果实直径 Diameter of fruit (mm)	0.701 **	0.664 **	0.648 **	1	
结实率 Seed setting rate (%)	0.786 **	0.786 **	0.553 **	0.634 **	1

注: ** . 0.01 水平(双侧)显著相关; * . 0.05 水平(双侧)显著相关。

Note: **. Significant correlation on 0.01 level (both sides); *. Significant correlation on 0.05 level (both sides).

表 3 白及果实形态和种胚大小

Table 3 Fruit traits and embryo size of *B. striata*

指标 Index	果实长度 Length of fruit (mm)	果实直径 Diameter of fruit (mm)	果实重 Weight of fruit (g)	种子总重 Weight of seed (g)	种胚直径 Diameter of embryo (μm)	种胚长度 Length of embryo (μm)	RSD (D) (%)	RSD (L) (%)
平均值 Average	28.1 ± 7.0	9.0 ± 1.8	0.2260 ± 0.0851	0.0886 ± 0.0476	177.9 ± 27.5	359.0 ± 41.8	12.21 ± 3.33	11.67 ± 4.26
最大值 Max *	41	12	0.3854	0.1823	218.6	427.2	20.18	21.36
最小值 Min *	17	6	0.0918	0.0243	129.0	254.3	8.55	6.86
与种胚长度相关性 Correlation with length of embryo	0.064	0.614	0.196	0.066	0.888 **			
与种胚直径相关性 Correlation with diameter of embryo	0.125	0.494	0.147	0.070		0.888 **		

注: ** 0.01 水平(双侧)显著相关; * 0.05 水平(双侧)显著相关。

Note: **. Significant correlation on 0.01 level (both sides); * Significant correlation on 0.05 level (both sides).

肥、异种花粉及花粉寿命的影响等。

白及的种子结实率也有少量报道。胡开治等(2010)在研究不同贮藏方法和时间对白及种子萌发影响时注意到,10 个白及果实中成熟种子的有胚率最高为 92%、最低为 76%,平均(84.9±4.7)%;张燕等(2009)报道实验所用白及种子的有胚率为

59.21%。本研究使用的白及果序是随机挑选的,果实大小不一,对 87 枚果实进行测量,平均值为 50.43%,最大值及最小值分别为 94.44%和 11.11%,均值与报道的数据相比有所偏低。

关于兰科植物种子结实率,Proctor(1998)、Valilius(2001)和 Wallace(2003)的研究表明,在一些兰

表 4 不同种胚直径区间种子数量
Table 4 Number of seeds in different embryo diameter areas

组号 Group	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
区间 Region (μm)	50~75	75~100	100~125	125~150	150~175	175~200	200~225	225~250
个数 Number	2	1	2	43	71	116	46	19
比例 Ratio (%)	0.67	0.30	0.67	14.33	23.67	38.67	15.33	6.33

表 5 不同种胚长度区间种子数量
Table 5 Number of seeds in different embryo length areas

组号 Group	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
区间 Region (μm)	100~150	150~200	200~250	250~300	300~350	350~400	400~450	450~500	500~550
个数 Number	2	0	5	17	103	101	63	7	2
比例 Ratio (%)	0.67	0.00	1.67	5.67	34.33	33.67	21.00	2.33	0.67

科植物中果实重量、种子重量与其结实率存在相关性。本研究中白及果实重量和种子总重与结实率的相关系数均为 0.786, 达中等正相关; 果实直径与结实率之间的相关性稍弱, 相关系数为 0.634。说明白及果实重量及果实的饱满程度(直径)可以作为评价结实率的指标, 果实越重、越饱满, 结实率越高。

兰科植物种子非常小, 干种子很容易受到气流和静电干扰, 悬在液体中的种子由于种皮中存在气泡难以观察种胚状态(Proctor & Harder, 1994), 因此在种子形态研究中, 大多是对种子及种胚的长度、宽度测量, 对单粒种子重量测定相对较少。Verma et al(2014)观察了 32 种兰科植物的种子形态, 测量了种子长、宽, 种皮细胞数量及长度, 胚的长、宽等, 何明高(2010)对 15 种海南兰科植物(包括 4 种地生兰, 11 种附生兰)种子形态进行了分析, 包括种子长、宽, 种胚长、宽, 但都没有测定种子重量。张燕等(2009)对白及的种子的测量结果发现, 长 1.20 mm, 宽 0.23 mm, 种胚长 0.38 mm, 宽 0.22 mm; Kiyohara(2012)的测量结果发现, 种子长 1.80 mm, 宽 0.23 mm, 种胚长 0.49 mm, 宽 0.21 mm。Arditti & Ghani(2000)汇集了许多兰科植物种子资料, 包括种子的长和宽、种胚的长和宽以及种子重量, 但仅报道了白及种子的长度[(0.19±0.07) mm], 而没有种子重

量。该数据比本研究及张燕等(2009)和 Kiyohara(2012)种胚的测量值还小, 存在一定差异。本研究中白及种胚大小的测量结果: 种胚长 359.0 μm , 直径 177.9 μm , 与张燕等(2009)的结果接近, 且种胚大小主要集中在长 300~400 μm , 宽 150~200 μm 的区间。

兰科植物种子被称为“粉尘”种子(dust seeds), 是兰科植物的一个重要特征; 种子长 0.05~6.0 mm, 直径 0.01~0.9 mm, 单粒种子重约 0.31~24 μg , 种胚也非常小, 如坛花兰(*Acanthephippium sylhetense*) 0.058 × 0.042 mm (Arditti & Ghani (2000))。兰科陆生植物的种子大小长 0.11~1.97 mm, 直径 0.07~0.4 mm; 热带的种类种子重量通常小于 1 μg , 全北区的(holarctic)相对重些, *Goodyera repens* 和 *Cephalanthera damasonium* 的重约 2 μg , *Limodorum abortivum* 的 5.7 μg , *Gymnadenia conopsea* 的为 8 μg (Rasmussen, 1995); 白及种胚被认为是在兰科植物中发育最好的, 种胚具有 734 枚细胞, 而 *Epipogium aphyllum* 的种胚仅 8 枚, *Calypso bulbosa* 的为 29 枚, *Dactylorhiza majalis* 的约 200 枚, 由此推测白及种子重量应相对较大; 而本研究的测量结果为平均 3.90 μg , 与文献比较, 居中间位置; 张智慧等(2016)对白及种子重量测量结果为 6.4~13.5 μg , 较本研究的结

果偏大。导致原因可能是文献报道的有些是对刚刚收获的新鲜种子的测量,有些种子则是处于不同脱水程度的储藏状态(Rasmussen, 1995)。

参考文献:

- ARDITTI J, GHANI AKA, 2000. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications [J]. *New Phytol*, 145:367-421.
- CHINESE PHARMACOPOEIA COMMISSION, 2010. Pharmacopeia of the people's Republic of China; 1st Part [S]. Beijing: China Medical Science Press; 95. [国家药典委员会, 2015. 中华人民共和国药典:一部 [S]. 北京:中国医药科技出版社: 95.]
- FLORA OF CHINA EDITORIAL BOARD OF CHINESE ACADEMY OF SCIENCES, 1999. *Flora of China* (Vol. 18) [M]. Beijing: Science Press; 46-51. [中国科学院中国植物志编辑委员会, 1999. 中国植物志(第十八卷) [M]. 北京: 科学出版社: 46-51.]
- GALE S, 2007. Autogamous seed set in a critically endangered orchid in Japan: pollination studies for the conservation of *Nervilia nipponica* [J]. *Plant Syst Evol*, 268(1):59-73.
- GIJBELS P, CEULEMANS T, ENDE WVD, et al, 2015. Experimental fertilization increases amino acid content in floral nectar, fruit set and degree of selfing in the orchid *Gymnadenia conopsea* [J]. *Oecologia*, 179(3): 785-795.
- HARDER LD, BARRETT SCH, 2007. *Ecology and evolution of flowers* [M]. Oxford: Oxford University Press.
- HE MG, 2010. Preliminary study on seed biology of orchid in Hainan [D]. Haikou: Hainan University; 16-23. [何明高, 2010. 海南兰科植物种子生物学初步研究 [D]. 海口:海南大学: 16-23.]
- HU KZ, LIU J, XIAO B, et al, 2010. Effect of different storage methods and time on seed germination of *Bletilla striata* [J]. *J Chin Med Mat*, 33(1): 7-10. [胡开治, 刘杰, 肖波, 等, 2010. 不同贮藏方法及贮藏时间对白芨种子萌发的影响 [J]. *中药材*, 33(1): 7-10.]
- ILVES A, METSARE M, TALI K, et al, 2015. The impact of recent colonization on the genetic diversity and fine-scale genetic structure in *Orchis militaris* (L.) [J]. *Plant Syst Evol*, 301(7): 1875-1886.
- JERSÁKOVÁ J, JOHNSON SD, 2006. Lack of floral nectar reduces self-pollination in a fly-pollinated orchid [J]. *Oecologia*, 147(1): 60-68.
- JITSOPAKUL N, THAMMASIRI K, ISHIKAWA K, 2008. Cryopreservation of *Bletilla striata* mature seeds, 3-day germinating seeds and protocorms by droplet-vitrification [J]. *Cryoletters*, 29(6): 517-526.
- KIYOHARA S, FUKUNAGA H, SAWA S, 2012. Characteristics of the falling speed of Japanese orchid seeds [J]. *Int J Biol Biotechnol*, 4(3): 10-12.
- LEHNEBACH C, RIVEROS M, 2003. Pollination biology of the Chilean endemic orchid *Chloraea lamellate* [J]. *Biodivers Conserv*, 12(8): 1741-1751.
- LIU GB, HUANG Z, HUANG CG, et al, 2005. Functions and application in cosmetics of *Bletilla striata* (thunb) reichb. f [J]. *Det & Cosm*, 28(8):22-24. [刘光斌, 黄忠, 黄长干, 等, 2005. 天然植物白芨胶的功能及在化妆品中的应用 [J]. *日用化学品科学*, 28(8): 22-24.]
- NEILAND MRM, WILCOCK CC, 1999. The presence of heterospecific pollen on stigmas of nectariferous and nectarless orchids and its consequences for their reproductive success [J]. *Protoplasma*, 208(1): 65-75.
- NIU JF, WANG ZZ, 2016. The new direct seeding and breeding method of *Bletilla striata* [J]. *J Shaanxi Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 44(4): 83-86. [牛俊峰, 王喆之, 2016. 白芨种子直播繁育新方法 [J]. *陕西师范大学学报(自然科学版)*, 44(4): 83-86.]
- PETER CI, JOHNSON S, 2009. Reproductive biology of *Acrolophia cochlearis* (Orchidaceae): estimating rates of cross-pollination in epidendroid orchids [J]. *Ann Bot*, 104(3): 573-581.
- PROCTOR HC, HARDER LD, 1994. Pollen load, capsule weight, and seed production in three orchid species [J]. *Can J Bot*, 72: 249-255.
- PROCTOR HC, 1998. Effect of pollen age on fruit set, fruit weight, and seed set in three orchid species [J]. *Can J Bot*, 76: 420-427.
- RASMUSSEN HN, 1995. *Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant* [M]. Cambridge: Cambridge University Press.
- REN HZ, HE YM, YANG L, 2009. Chemical composition and pharmacological activity research progress of *Bletilla striata* [J]. *Asia-Pacific Trad Med*, 5(2): 134-140. [任华忠, 何毓敏, 杨丽. 白芨化学成分其药理活性研究进展 [J]. *亚太传统医药*, 2009, 5(2): 134-140.]
- REN ZX, WANG H, BERNHARDT P, et al, 2014. Which food-mimic floral traits and environmental factors influence fecundity in a rare orchid, *Calanthe yaoshanensis*? [J]. *Bot J Linn Soc*, 176(3): 421-433.
- VALLIUS E, 2001. Factors affecting fruit and seed production in *Dactylorhiza maculata* (Orchidaceae) [J]. *Bot J Linn Soc*, 135(2): 89-95.
- VERMA J, SHARMA K, THAKUR K, et al, 2014. Study on seed morphometry of some threatened Western Himalayan orchids [J]. *Turk J Bot*, 38(2): 234-251.
- WALLACE LE, 2003. The cost of inbreeding in *Platanthera leucophaea* (Orchidaceae) [J]. *Amer J Bot*, 90(2): 235-242.
- ZHANG Y, LI B, LI SF, 2009. Seed germination and seeding morphogenesis of *Bletilla striata* under the different culture medium [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 29(8): 1584-1589. [张燕, 黎斌, 李思锋, 2009. 不同培养基上白芨的种子萌发与幼苗形态发生 [J]. *西北植物学报*, 29(8): 1584-1589.]
- ZHANG YC, 2007. Biological characteristics and cultivation techniques of *Bletilla striata* [J]. *Agric Sci-Technol & Inf* (10): 45. [张亦诚, 2007. 白芨的生物特性及栽培技术 [J]. *农业科技与信息* (10): 45.]
- ZHANG ZH, LIU DH, ZHU XY, et al, 2016. Testing methods for seed quality of *Bletilla striata* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 41(11): 2044-2048. [张智慧, 刘大会, 朱新焰, 等, 2016. 白芨种子质量检验方法研究 [J]. *中国中药杂志*, 41(11): 2044-2048.]
- ZHOU T, JIANG WK, LI L, et al, 2010. Resources and evaluation of market use to wild hyacinth *Bletilla* in Guizhou Province [J]. *J Guiyang Coll Trad Chin Med*, 32(6): 28-30. [周涛, 江维克, 李玲等, 2010. 贵州野生白芨及资源调查和市场利用评价 [J]. *贵阳中医学院学报*, 32(6): 28-30.]