



研究报告 Original Papers

大花无柱兰开花特性与繁育系统研究

张秀娟¹, 何安国², 金水虎^{1,*}

¹浙江农林大学林业与生物技术学院, 杭州311300

²浙江省大盘山国家级自然保护区管理局, 浙江磐安322300

*通信作者(jsh501@163.com)

摘要: 通过野外观测并记录大花无柱兰(*Amitostigma pinguicula*)的开花进程及花部特征, 测定花粉活力与柱头可授性, 估算杂交指数, 初步评判大花无柱兰繁育系统类型, 并通过人工控制授粉试验进行验证, 为大花无柱兰的杂交育种提供理论依据。结果表明: 大花无柱兰3月—4月份开花, 群体花期29 d, 单花花期11~26 d。开花当天柱头即具有可授性, 柱头可授性持续期为15 d左右。花粉活力在花朵开放第3天时最高(92.44%), 至花朵凋谢之前仍有活力(26.49%)。花药高于柱头且两者之间存在隔离, 杂交指数为4; 人工去雄套袋、开花前套袋授粉结实率为0%; 人工自花授粉、异花授粉结实率为91.43%和94.29%。可以判断大花无柱兰的繁育系统为需要传粉者传粉的自交和异交混合的繁育系统, 不存在无融合生殖现象。

关键词: 大花无柱兰; 繁育系统; 花粉活力; 花部特征; 柱头可授性

Flowering characteristics and breeding system of *Amitostigma pinguicula*

ZHANG Xiujuan¹, HE Anguo², JIN Shuihu^{1,*}

¹College of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China

²Administration of Zhejiang Dapanshan National Natural Reserve, Pan'an, Zhejiang 322300, China

*Corresponding author (jsh501@163.com)

Abstract: Through field observations and recording of the flowering process and floral characteristics of *Amitostigma pinguicula*, the vitality of pollen and stigma receptivity were determined, and the hybridization index was estimated. Preliminary assessment of the breeding system type for *A. pinguicula* was carried out, and artificial pollination experiments were conducted for validation, providing theoretical basis for hybrid breeding of *A. pinguicula*. Results show that *A. pinguicula* flowers from March to April, with a flowering period of 29 days for the population and 11–26 days for individual flowers. The stigma is receptive on the day of flowering and remains receptive for about 15 days. Pollen vitality is highest on the third day of flowering (92.44%) and still present before the flower withers (26.49%). Anther is higher than the stigma and there is a barrier between them, with a hybridization index of 4. The fruit set rate for artificial emasculation and bagging before flowering is 0%; fruit set rates for artificial self-pollination and cross-pollination are

收稿 2024-09-09 修定 2024-11-13

资助 浙江省野生兰科植物资源专项调查(2021070703)。

91.43% and 94.29%, respectively. It can be concluded that *A. pinguicula* breeding system is a mixed mating system of self-pollination and cross-pollination that required pollinators to mix.

Key words: *Amitostigma pinguicula*; breeding system; pollen viability; floral characteristics; stigma receptivity

兰科(Orchidaceae)是单子叶植物中进化程度最高的科之一,也是最大和最多样化的有花植物科之一(Zhang等2021)。除盐湖、极地和极端干旱沙漠地区,兰科植物广泛分布于各种陆地生态系统(龚仁琰等2024)。全世界约有750属,约28 000种(Zhang等2023)。全世界所有野生兰科植物均被列入《野生动植物濒危物种国际贸易公约》,是植物保护中的“旗舰”类群。无柱兰属(*Amitostigma*)约30种,分布于东亚及其周围地区。我国有22种,以西南山区为多;浙江有3种。大花无柱兰(*Amitostigma pinguicula*)为无柱兰属一年生或多年生草本植物,特产于除杭嘉湖地区的浙江低山丘陵山坡林下岩石上或沟谷边阴处草丛,具有较高的观赏和药用价值[浙江植物志(新编)编辑委员会2021]。由于生境破坏及人为过度采挖,大花无柱兰野外种群数量急速下降。

植物的繁育系统指所有影响后代遗传组成的有性特征的总和,主要包括花形态特征、花的开放样式、花各部的寿命、传粉者种类和频率、自交亲和程度和交配系统(胡佳等2024)。植物繁育系统研究的核心是植物的交配系统(Wan等2024;谷海燕等2024)。植物的交配系统与其繁育器官和生殖特性有着密不可分的关系,自然界中的植物通常会采用异交的繁殖方式来增加遗传多样性,防止发生“近交衰退”,以增强其后代的环境适应力(王显亚等2021)。已有的研究表明,繁育系统作为连接植物有性繁殖的桥梁,不仅在决定植物遗传多样性及遗传结构上起着重要作用(De Kort等2022),还对物种的表型变异和进化路线至关重要(曹孟会等2022)。因此,繁育系统是植物的适应性和物种形成机制联系的纽带,对植物的遗传多样化和育种多样性具有重要意义(何淼等2023)。

花作为植物的繁殖器官,其外部形态特征及内部器官发育能影响植物的传粉方式和交配模式(雷虢等2019)。掌握植物花的结构和繁育系统是认识植物生活史的前提,可以为其他的相关研究

提供基础。目前,有关无柱兰属主要集中在遗传多样性及其保护方面。研究表明,大花无柱兰的遗传多样性较为丰富,居群间存在一定的遗传分化和基因交流,可采用就地保护和人工栽培等方式加以保护(周梦莹等2019)。卵叶无柱兰(*A. hemipilioides*)居群间存在较高的遗传分化,就地保护是最重要的策略,通过保护栖息地来保护菌根真菌和传粉媒介,有利于野生种群数量的恢复(Yang等2014)。有关大花无柱兰花部特征与繁育系统的研究尚未见报道;开展大花无柱兰的开花物候、花部特征及繁育系统观测研究,可为其综合利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究地概况

野外观测在浙江省大盘山国家级自然保护区(28°57'05"~29°01'58" N, 120°28'05"~120°33'40" E)内进行。该保护区地处浙江省中东部,属典型的亚热带季风气候区,年平均气温15.5°C,最高气温38°C,最低气温-8°C,无霜期约200 d;年平均降水量1 100 mm。观测的野生大花无柱兰[*Amitostigma pinguicula* (Rchb. f. et S. Moore) Schltr.]居群分布于海拔684 m的沟谷盘山公路边岩壁上,坡度约40°,坡向西261°。主要伴生植物有崖花海桐(*Pittosporum illicioides* Makino)、中华绣线菊(*Spiraea chinensis* Maxim.)、粗叶悬钩子(*Rubus alceifolius* Poir.)、多花黄精(*Polygonatum cyrtonema* Hua)、五节芒[*Miscanthus floridulus* (Labill.) Warburg ex K. Schumann]、一年蓬[*Erigeron annuus* (L.) Pers.]、野菊(*Chrysanthemum indicum* L.)、福参(*Angelica morii* Hayata)、伏地卷柏(*Selaginella nipponica* Franch. & Sav.)、野蔷薇(*Rosa multiflora* Thunb.)、乌菰莓[*Causonis japonica* (Thunb.) Raf.]等。

1.2 方法

1.2.1 开花物候观察

2024年3月22日—4月28日对大花无柱兰野生

居群进行花期观测, 观察记录其始花期、盛花期、末花期、自然结果等开花结实情况。随机选取30株大花无柱兰, 观察记录从花蕾显现至枯萎脱落的开花进程。

1.2.2 花部形态观测

盛花期, 随机选取花朵完全开放的植株35株, 用游标卡尺测量中萼片长/宽、侧萼片长/宽、花瓣长/宽、唇口直径、花粉粒长、唇瓣长、花距长/宽、花萼长、鳞茎长/宽、叶片长/宽等。

1.2.3 花粉活力与柱头可授性测定

在晴天上午采集不同开花时期的花朵, 进行花粉活力与柱头可授性测定。取少许新鲜花粉捣碎于1 mL离心管中, 加入适量0.5% TTC染色液染色, 常温、黑暗处理24 h, 用吸管取少许花粉混合液于载玻片上, 盖好盖玻片后在光学显微镜下统计花粉生活力。每个开花时期制片3张, 每张片子随机计数5个视野中染色率, 有活力的花粉被染成红色, 无活力的花粉没被染色。计算花粉活力, 花粉活力(%)=(有活力花粉数/观察到的花粉总数)×100。

采用联苯胺-过氧化氢法测定柱头可授性, 将柱头浸入含有1%联苯胺:3%过氧化氢:水=4:11:22(体积比)溶液的凹面载片凹陷处, 观察柱头周围反应液的变化情况, 以反应液呈蓝色且冒有气泡为柱头具有可授性的判断标准, 同时根据反应的剧烈程度来判断柱头的可授性强弱。

1.2.4 杂交指数估算

参考Dafni (1992)的标准, 分别对花朵直径、雌雄器官空间位置与成熟情况进行杂交指数(out-crossing index, OCI)估算。花朵直径(d)<1 mm记为0; 1 mm≤ d <2 mm记为1; 2 mm≤ d <6 mm记为2; d ≥6 mm则记为3。花药与柱头的空间位置在同一高度记为0, 空间分离记为1。花药开裂时间和柱头可授粉期同步或雌蕊先熟记为0, 雄蕊先熟记为1。并以三者的估算结果之和作为大花无柱兰OCI值。若OCI=0, 表示闭花受精; OCI=1, 表示专性自交; OCI=2, 表示兼性自交; OCI=3, 表示自交亲和, 有时需要传粉者; OCI=4, 表示以异交为主, 部分自交亲和, 且需要传粉者。

1.2.5 访花昆虫及其行为观察

盛花期每日在8:00—18:00间连续观察, 调查

记录各种访花昆虫及其访花行为, 包括访花前行为、访花停落方式与各种传粉昆虫访花过程中在花朵上停留的时间、是否有带出花粉块以及携带花粉块后有无重复访花等现象, 并进行连续拍照和摄像。整个观察持续到花期结束。

1.2.6 人工控制授粉

盛花期选择当天开放的花朵共设置6个处理, 每个处理为35株: (1)自然授粉; (2)人工自花授粉; (3)人工异株异花授粉; (4)人工去雄不套袋, 未授粉; (5)人工去雄套袋, 未授粉; (6)人工开花前套袋, 未授粉。在花期结束后统计授粉结实率, 结实率(%)=(结实数/花朵总数)×100。

1.3 统计与分析

采用Excel和SPSS 22.0软件进行数据整理与分析, Origin做图。

2 实验结果

2.1 花器官特征和开花进程

2.1.1 花器官特征

大花无柱兰茎直立, 平均株高9.19 cm。下部具1叶, 叶下具1或2筒状鞘, 叶片膜质, 常舌状长圆形或卵形, 先端钝或稍急尖, 最大叶长6.10 cm、宽2.40 cm。花序直立, 纤细, 常顶生1花, 或少有2花; 花由1枚中萼片、2枚侧萼片、2枚花瓣、1枚唇瓣、1个花距、2个合蕊柱、2个柱头、1个子房组成; 苞片卵状披针形; 花呈粉红色或紫红色, 侧萼片和萼片顶端具有紫红色横斑或条纹, 唇瓣表面具紫红色不规则斑点。中萼片卵状披针形, 先端钝, 长6.00 mm、宽4.18 mm, 侧萼片卵形, 比中萼片稍宽, 长6.96 mm、宽4.31 mm; 花距1, 圆锥形, 长19.46 mm; 花瓣斜卵形, 较中萼片短, 先端钝, 长4.93 mm、宽4.14 mm; 唇瓣扇形, 长18.54 mm, 3裂, 中裂片倒卵型, 先端微凹或全缘, 侧裂片卵状楔形, 伸展; 唇口倒三角形, 直径2.20 mm; 雄蕊药腔2个, 呈紫红色, 各有1枚浅绿色花粉块, 长0.96 mm, 具长柄, 长柄底端有粘盘, 顶部具颗粒状粉质; 柱头2, 位于药腔下方, 隆起, 狭长圆形, 透明胶状有粘性; 子房圆柱形, 细长, 稍扭转, 无毛, 长15.65 mm(图1和表1)。

2.1.2 开花进程

3月中旬, 叶片开始萌动, 呈螺旋卷曲状。蕾期

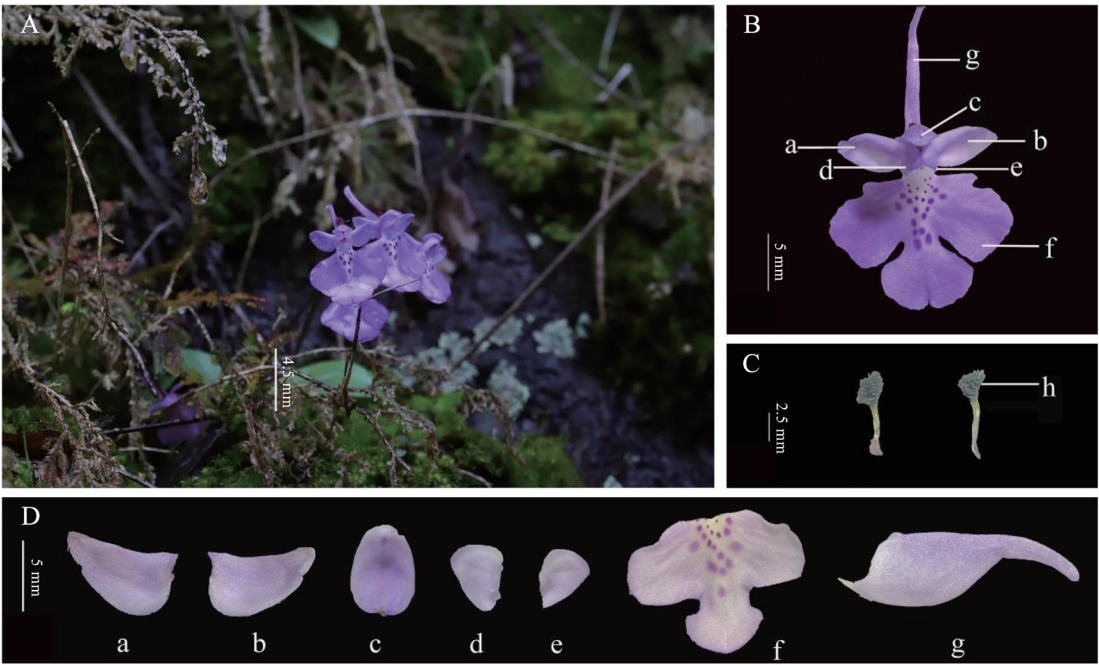


图1 大花无柱兰的花部特征
Fig. 1 The floral characteristics of *A. pingucula*

A: 野生整株; B: 花朵结构, a: 左萼片, b: 右萼片, c: 中萼片, d: 左花瓣, e: 右花瓣, f: 唇瓣, g: 花距; C: 合蕊柱, h: 花粉块; D: 萼片及花瓣。

的大花无柱兰花苞被浅绿色的叶片所包裹, 先端呈闭合状态, 可见花距。随着个体生长, 浅绿色花萼伸长, 花苞先端逐渐变成粉红色, 后全为紫红色, 呈三角球状, 合萼片、唇瓣合抱。随着花苞逐渐增大, 唇瓣开始舒展, 支撑中萼片和侧萼片向外伸展呈不规则球状, 中萼片和侧萼片先端出现紫红色斑点, 花距尾端翘起、与花苞呈一定角度。随侧萼片完全舒展, 唇瓣仍与中萼片呈合抱状; 部分花朵唇瓣先向外展开, 侧萼片和中萼片呈合抱状。随个体生长, 唇瓣、侧萼片、中萼片完全舒展。唇瓣展露且表面呈现深紫色的斑点。开花约11 d后, 唇瓣开始向内弯折并最先枯萎, 接着中萼片、侧萼片和花距也开始枯萎。花朵的色泽逐渐变黯, 直至完全枯萎, 从而失去吸引传粉者的能力(图2)。在大花无柱兰的盛花期, 部分叶片和花朵有被毒蛾科Lymantriidae幼虫咬食的现象。

2.2 花粉活力与柱头可授性

不同花期的大花无柱兰花粉活力具有较大差异(图3)。开花7天前的绿色花苞期的花粉活力为

28.37%, 开花3天前的粉色花苞期的花粉活力为41.50%, 开花1天前的花苞活力可达83.25%, 开花当天花粉生活力高达85.37%, 第2天为85.87%, 第3天为92.44%, 散粉4天后花粉活力有所下降, 但仍有76.11%。此后花粉活力逐渐下降, 直至凋谢期花粉活力最低, 大花无柱兰在整个开花时期其花粉活力均较强。大花无柱兰花柱头从花蕾期就具有可授性; 盛花期一直到凋谢期, 柱头均有活力(表2)。

2.3 杂交指数估算

大花无柱兰属两性花, 花朵直径(17.61±3.04) mm, OCI值记为3; 开花时柱头与花药在空间位置上是分离的, 柱头位置比花药低, OCI值记为1; 雌、雄器官在成熟时间上是同步的, 其OCI值记为0。所以大花无柱兰的杂交指数OCI=4。根据Dafni (1992)的标准, 其繁育系统以异交为主, 部分自交亲和, 需要传粉者。

2.4 访花昆虫及其行为

本研究地区的大花无柱兰花期正值浙江的多

表 1 大花无柱兰花部形态参数
Table 1 The flower morph parameters of *A. pinguicula*

参数	平均值/mm	标准差/mm	最大值/mm	最小值/mm	方差
中萼片长	6.00	0.62	7.00	5.00	0.38
中萼片宽	4.18	0.48	5.00	3.00	0.23
左萼片长	6.96	0.70	8.00	6.00	0.49
左萼片宽	4.31	0.49	5.00	3.00	0.24
右萼片长	6.76	0.81	8.00	5.00	0.65
右萼片宽	4.15	0.41	5.00	3.00	0.17
左花瓣长	4.93	0.56	6.00	4.00	0.31
左花瓣宽	4.14	0.49	5.00	3.00	0.24
右花瓣长	4.82	0.52	6.00	4.00	0.27
右花瓣宽	3.92	0.51	5.00	3.00	0.26
唇口直径	2.20	0.46	3.00	1.00	0.21
合蕊柱长	2.53	0.25	2.95	2.18	0.06
花粉粒长	0.96	0.17	1.18	0.67	0.03
唇瓣长	18.54	3.56	25.00	9.00	12.64
花距长	19.46	1.88	23.00	16.00	3.52
花距宽	4.95	0.75	7.00	4.00	0.57
花葶长	91.92	27.25	155.00	53.00	742.75
鳞茎长	16.16	5.66	28.00	7.00	32.05
鳞茎宽	6.97	1.40	11.00	4.00	1.95
叶片长	35.53	10.14	61.00	19.00	102.91
叶片宽	14.81	4.40	24.00	8.00	19.39



图2 不同发育阶段的大花无柱兰
Fig. 2 Development stages of flower of *A. pinguicula*

雨季节, 持续的阴雨限制了传粉昆虫的活动, 从而间接影响了其传粉成功。开花期间连续观察发现, 共有5种昆虫访问过大花无柱兰, 包括食蚜蝇科(Syrphidae), 常在晴天上午在大花无柱兰植株间活动, 访花时先在花朵周围盘绕, 然后在唇瓣上有短暂停留, 均未带出花粉块, 也未发现有携带花粉访花。另有斑腿蝗科(Catantopidae)、大蚊科(Tipulidae)和花萤科(Cantharidae)等仅在花朵外部漫爬, 停留在叶片上或者偶尔停留在唇瓣上, 未进入花内部,

均未进行有效传粉, 夜间也无传粉者为其传粉, 这表明大花无柱兰在花期缺乏有效传粉者为其传粉。

2.5 人工控制授粉结实率

大花无柱兰授粉3 d后, 柱头明显变粉色且膨大, 以环抱式包裹花粉块, 可作为完成授粉成功的判断指标。大花无柱兰成功授粉7 d后, 唇瓣、花距, 萼片枯萎, 子房膨大。各种人工控制授粉处理下大花无柱兰的结实率见表3, 去雄套袋、开花前套袋的结实率均为0, 人工自花授粉、人工异花授粉结

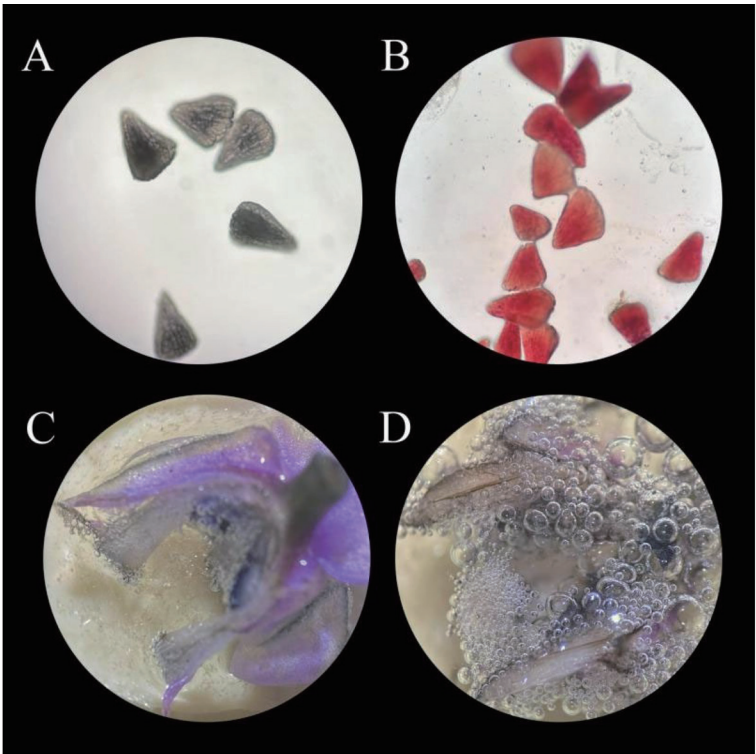


图3 花粉活力TTC染色和联苯胺-过氧化氢柱头可授性检测
Fig. 3 TTC staining of pollen viability and benzidine-hydrogen peroxide method of stigma acceptability test
A: 未被染色(无活力)花粉粒; B: 被染色(有活力)花粉粒; C: 柱头可授性弱; D: 柱头可授性强。

表2 大花无柱兰的花粉活力及柱头可授性
Table 2 Pollen viability and stigma receptivity of *A. pinguicula*

开花时间	花粉活力/%	柱头可授性
开花7 d前	28.37	+ / ++
开花3 d前	41.50	++
开花1 d前	83.25	+++
第1天	85.37	+++ / ++
第2天	85.87	+++ / ++
第3天	92.44	+++
第4天	76.11	+++ / ++
第5天	63.87	+++ / ++
第6天	56.73	+ / ++
第8天	47.40	+ / ++
第10天	43.48	+ / ++
第12天	41.39	+ / ++
第15天	26.49	—

+ : 柱头具可授性; ++ / +++ : 柱头具较强可授性; — : 花粉失活或柱头不具可授性。

表3 不同授粉方式下大花无柱兰结实率
Table 3 Percentage of fertile fruit of *A. pinguicula* under different pollina treatments

授粉方式	花朵数	结果数	结实率/%
去雄套袋	35	0	0.00
去雄不套袋	35	1	2.86
自花授粉	35	32	91.43
异株异花授粉	35	33	94.29
开花前套袋	35	0	0.00
自然结实对照	35	4	11.43

实率分别为91.43%和94.29%, 均远高于前2种处理, 表明大花无柱兰自交亲和性很高, 繁育系统是需要传粉者传粉、且自交和异交混合的繁育系统, 不存在无融合生殖现象。自然条件下, 大花无柱兰的结实率仅为11.43%。人工授粉的结实率明显高于自然状态下的结实率, 说明大花无柱兰存在一定 的花粉限制。人工授粉克服了自然状态的影响, 是

提高其传粉效率的有效措施。

3 讨论

通过大花无柱兰野生居群开花物候和花部形态特征观测、花粉活力与柱头可授性检测、访花昆虫及其行为观察、杂交指数估计及繁育系统试验,综合判定大花无柱兰的繁育系统为需要传粉者传粉的自交和异交混合的繁育系统,不存在无融合生殖现象。

植物重要的生活史特征之一就是植物的开花物候,可用一系列参数来量化,如开花数、开花振幅、开花时间、开花持续时间、种群开花动态等(Yu等2024)。开花物候是植物繁殖生活史上重要的性状,通过授粉、种子传播、种子定居和萌发等途径影响个体繁殖成功率和适应性(Norfolk等2016; Rosbakh等2021)。对大花无柱兰开花物候的观察表明,其单花花期一般为11~26 d,花期为3月下旬—4月下旬。其他兰科植物中,如白及(*Bletilla striata*; 王彩霞等2012)、喇叭唇石斛(*Dendrobium litiiflorum*; 刘江枫2021)单花寿命分别是21~24 d、11~27 d,属于花期中等的类型,二者的花粉成熟快,在初开时活力就达到最大。而台湾独蒜兰(*Pleione formosana*; 陈进燎等2019)、大花蕙兰(*Cymbidium hybrid*; 褚怡等2013)等花期较长的种,花粉的活力通常在开花中期才能达到最大,因此推测兰科植物花粉发育规律与开花期的长短有关。

植物能否成功授粉取决于花粉活力与柱头可授性的高低。通过TTC法检测花粉活力发现:大花无柱兰花粉与柱头同时成熟,并且活力均先上升后下降。在盛花期达到最高,这与束花石斛(*Dendrobium chrysanthum*; 杨建伟等2023)、多花指甲兰(*Aerides rosea*; 郑棚訥等2024)等兰科植物相似。大花无柱兰开花后10 d内花粉活力均保持在40%以上,柱头仍具较强可授性,有利于传粉者在较长时间内完成授粉与结实。

兰科植物雌雄蕊发育同步性影响其交配系统,对物种的雌雄蕊发育状况进行观测,有利于其繁育系统的科学判断,对人工杂交授粉期确定也尤为重要。本文结果显示:大花无柱兰的繁育系统为异交为主,部分自交亲和,需要传粉者。套袋结

果显示,对大花无柱兰人工异花授粉的结实率可达94.29%,人工自花授粉的结实率也可达到91.43%。且人工去雄后套袋处理及开花前套袋处理下大花无柱兰的结实率均为0,即大花无柱兰既不存在无融合生殖,也不存在自动自花授粉。以上试验结果表明了大花无柱兰具有高度被动自交和异交的能力,其繁育系统是被动自花传粉和异花传粉的自交和异交混合交配系统,具有多样的生殖成功策略,既产生一些遗传多样性的远交后代、又产生一些不变的近交后代。有效的传粉以大量的花粉、有效的传粉媒介和处于可授期的柱头为前提。大花无柱兰的花粉活力和柱头可授性均不存在问题。但是野外考察发现大花无柱兰自然结实率很低,且虫噬现象严重,成果率更低。花粉成熟时由粘性物质聚结成团无法散粉,以及缺乏有效的传粉媒介可能是大花无柱兰自然结实率低的主要原因。

参考文献(References)

- Cao MH, Zhao QY, Wei CM, et al (2022). Study on the flowering traits and breeding systems of three *Impatiens* species. *Plant Sci J*, 40: 291–301 (in Chinese with English abstract) [曹孟会, 赵秋燕, 魏春梅等(2022). 凤仙花属3种植物的开花性状和繁育系统研究. *植物科学学报*, 40: 291–301]
- Chen JL, Zhou YZ, Wu SS, et al (2019). Pollination mechanism and breeding system of *Pleione formosana*. *J For Environ*, 39: 460–466 (in Chinese with English abstract) [陈进燎, 周育真, 吴沙沙等(2019). 台湾独蒜兰传粉机制和繁育系统研究. *森林与环境学报*, 39: 460–466]
- Chu Y, Fan YR, Zhang SY, et al (2013). Pollen vitality and stigma receptivity of *Cymbidium hybridum* and Chinese orchid. *J Zhejiang A&F Univ*, 30: 950–954 (in Chinese with English abstract) [褚怡, 范义荣, 张韶伊等(2013). 大花蕙兰与国兰花粉活力及柱头可授性分析. *浙江农林大学学报*, 30: 950–954]
- Dafni A (1992). *Pollination Ecology*. New York: Oxford University Press, 1–57
- De Kort H, Toivainen T, Van Nieuwerburgh F et al (2022). Signatures of polygenic adaptation align with genome-wide methylation patterns in wild strawberry plants. *New Phytol*, 235: 1501–1514
- Editorial Board of Flora of Zhejiang (New Edition) (2021). *Flora of Zhejiang (New Edition)*. Vol 10. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Publishing House (in

- Chinese) [浙江植物志(新编)编辑委员会(2021). 浙江植物志(新编). 第10卷. 杭州: 浙江科学技术出版社]
- Gong RH, Cheng YF, Wang YQ, et al (2024). Diversity and protection of Orchidaceae plants in Wufeng Houhe National Nature Reserve of Hubei province. *Forest Inv Plan*, 49: 157–164 (in Chinese with English abstract) [龚仁琥, 程玉芬, 王业清等(2024). 湖北五峰后河国家级自然保护区兰科植物多样性与保护研究. *林业调查规划*, 49: 157–164]
- Gu HY, Yang N, Xie KP, et al (2024). Flowering dynamics and breeding system of *Holcoglossum omeiense*, a wild plant with extremely small populations. *Plant Physiol J*, 60: 1201–1210 (in Chinese with English abstract) [谷海燕, 杨楠, 谢孔平等(2024). 极小种群峨眉槽舌兰的开花动态及繁育系统. *植物生理学报*, 60: 1201–1210]
- He M, Zhang ZF, Zang ST, et al (2023). Flowering characteristics and breeding system of *Adonis ramose*. *J Northeast For Univ*, 51: 54–59 (in Chinese with English abstract) [何淼, 张紫馥, 臧帅彤等(2023). 辽吉侧金盏花的开花特性和繁育系统. *东北林业大学学报*, 51: 54–59]
- Hu J, Jiang JL, Cheng WN, et al (2024). Pollination biology and breeding system of endangered plant *Petrocosmea qinlingensis*. *Acta Ecol Sin*, 44: 8595–8604 (in Chinese with English abstract) [胡佳, 蒋景龙, 程文娜等(2024). 濒危植物秦岭石蝴蝶传粉生物学与繁育系统研究. *生态学报*, 44: 8595–8604]
- Lei X, Qu WL, Sha YC, et al (2019). Primary study on floral syndrome and breeding system of *Tamarindus indica* L. *Chin Trop Agric*, (4): 64–68 (in Chinese with English abstract) [雷虢, 瞿文林, 沙毓沧等(2019). 罗望子花部综合特征和繁育系统初步研究. *中国热带农业*, (4): 64–68]
- Liu JF (2021). Floral features and breeding system of *Dendrobium lituiflorum*. *Sub Agric Res*, 17: 264–268 (in Chinese with English abstract) [刘江枫(2021). 喇叭唇石斛的花部特征与繁育系统. *亚热带农业研究*, 17: 264–268]
- Norfolk O, Eichhorn MP, Gilbert F (2016). Flowering ground vegetation benefits wild pollinators and fruit set of almond within arid smallholder orchards. *Insect Conserv Divers*, 9: 236–243
- Rosbakh S, Hartig F, Sandanov DV, et al (2021). Siberian plants shift their phenology in response to climate change. *Glob Chang Biol*, 27: 4435–4448
- Wan XQ, Sun DC, Gao C (2024). Flower opening dynamics, pollen-ovule ratio, stigma receptivity and stigmatic pollen germination (*in-vivo*) in *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai. *Sci Rep*, 14: 7127
- Wang CX, Tian M, Li QJ, et al (2012). Floral syndrome and breeding system of *Bletilla striata*. *Acta Horti Sin*, 39: 1159–1166 (in Chinese with English abstract) [王彩霞, 田敏, 李全健等(2012). 白及的花部特征与繁育系统. *园艺学报*, 39: 1159–1166]
- Wang XY, Yu KJ, Wang TY, et al (2021). Molecular mechanism of plant pollen-pistil interaction regulated by RALFs. *Plant Physiol J*, 57: 1633–1637 (in Chinese with English abstract) [王显亚, 余坤江, 王天娅等(2021). RALFs调控植物花粉与雌蕊间互作的分子机制. *植物生理学报*, 57: 1633–1637]
- Yang JW, Li ZY, Feng Y, et al (2023). Reproductive biological characteristics of *Dendrobium chrysanthum*. *Bull Bot Res*, 43: 150–160 (in Chinese with English abstract) [杨建伟, 李宗艳, 冯尧等(2023). 束花石斛的繁育生物学特性. *植物研究*, 43: 150–160]
- Yang Q, Fu Y, Wang YQ, et al (2014). Genetic diversity and differentiation in the critically endangered orchid (*Amitostigma hemipilioides*): implications for conservation. *Plant Syst Evol*, 300: 871–879
- Yu S, Cui LJ, van Tussenbroek BI, et al (2024). Frequent flowering but low reproductive success of the dioecious seagrass *Enhalus acoroides* (L. f.) Royle in Li'an lagoon, China. *Estuar Coasts*, 47: 1694–1701
- Zhang GJ, Hu Y, Huang MZ, et al (2023). Comprehensive phylogenetic analyses of Orchidaceae using nuclear genes and evolutionary insights into epiphytism. *J Integr Plant Biol*, 65: 1204–1225
- Zhang WX, Zhang GQ, Zeng P, et al (2021). Genome sequence of *Apostasia ramifera* provides insights into the adaptive evolution in orchids. *BMC Genomics*, 22: 536
- Zheng PR, Dong CY, Chen ZG, et al (2024). Flowering characteristics and breeding system of *Aerides rosea*. *J Zhejiang A&F Univ*, 41: 124–131 (in Chinese with English abstract) [郑棚汭, 董春燕, 陈之光等(2024). 多花指甲兰开花特性与繁育系统研究. *浙江农林大学学报*, 41: 124–131]
- Zhou MY, Tang LJ, Huang MM, et al (2019). Assessment of genetic diversity in *Amitostigma pinguiculum* revealed with SRAP Markers. *J Zhejiang Univ (Sci Ed)*, 46: 724–730 (in Chinese with English abstract) [周梦莹, 唐露静, 黄檬檬等(2019). 大花无柱兰遗传多样性的SRAP标记分析. *浙江大学学报(理学版)*, 46: 724–730]