

## 研究报告

### A Letter

## 百合花粉萌发液体培养基的筛选

焦雪辉<sup>1</sup>, 吴锦娣<sup>1</sup>, 吴沙沙<sup>1</sup>, 吕英民<sup>1,2</sup>

1.北京林业大学园林学院, 北京, 100083

2.国家花卉工程技术研究中心, 北京, 100083

✉ 通讯作者: [luyingmin@bjfu.edu.cn](mailto:luyingmin@bjfu.edu.cn); 作者

分子植物育种, 2011年, 第9卷, 第69篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0069

收稿日期: 2011年05月03日

接受日期: 2011年05月20日

发表日期: 2011年06月01日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

建议的最佳引用格式:

焦雪辉等, 2011, 百合花粉萌发液体培养基的筛选, 分子植物育种 Vol.9 No.69 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0069)

**摘要** 以亚洲百合品种‘Cheops’和东方百合品种‘Monete Zuuma’的新鲜花粉为材料, 在单因子实验的基础上, 设计正交试验, 比较蔗糖、 $H_3BO_3$ 和  $CaCl_2$ 对百合花粉萌发的影响。结果表明: 蔗糖对‘Cheops’花粉萌发有极显著影响, 适宜的花粉培养液为蔗糖 50 g/L+ $H_3BO_3$  40 mg/L+ $CaCl_2$  30mg/L; 蔗糖和  $H_3BO_3$ 对‘Monete Zuuma’花粉萌发有极显著影响, 适宜的花粉培养液为蔗糖 50 g/L+ $H_3BO_3$  20 mg/L+ $CaCl_2$  40 mg/L。东方百合‘Monete Zuma’花粉的平均萌发率高于亚洲百合‘Cheops’花粉的平均萌发率。

**关键词** 百合; 花粉萌发; 液体培养基

## Screening of Liquid Culture Medium for Lily Pollen Germination Test

Jiao Xuehui<sup>1</sup>, Wu Jindi<sup>1</sup>, Wu Shasha<sup>1</sup>, Lv Yingmin<sup>1,2</sup>

1.College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing, 100083, P.R. China

2.China National Floriculture Engineering Research Center, Beijing, 100083, P.R. China

✉ Corresponding author, [luyingmin@bjfu.edu.cn](mailto:luyingmin@bjfu.edu.cn); Authors

**Abstract** With fresh pollen of Asiatic hybrid lily ‘Cheops’ and Oriental hybrid lily ‘Monete Zuma’ as experimental material, comparisons were made among the effects of sucrose, boric acid and calcium chloride on the germination of lily pollen by an orthogonal design based on uni-factor experiment. Results show that: sucrose has great effect on germination of ‘Cheops’ pollen and the optimum culture medium is sucrose 50 g/L+ $H_3BO_3$  40 mg/L+ $CaCl_2$  30 mg/L. Both sucrose and boron have great effects on germination of ‘Monete Zuma’ pollen and the optimum culture medium is sucrose 50 g/L+ $H_3BO_3$  20 mg/L+ $CaCl_2$  40 mg/L. The pollen average germination rate of Oriental hybrid lily ‘Monete Zuma’ is higher than that of Asiatic hybrid lily ‘Cheops’.

**Keywords** Lily; Germination of pollen; Liquid culture medium

### 研究背景

了解和掌握百合花粉的发育及花粉管的发育是进行百合杂交育种的前提(任韵等, 2008)。为提高育种的成功率, 在杂交育种之前, 通常还要对花粉的生活力进行测定。花粉成熟离开花药以后, 在一定时间内具有生命力。一般刚从花药中散发出来的成熟花粉生活力较高, 随时间延长花粉活力下降(张治安和陈展宇, 2009)。目前测定百合花粉生活力的方法有TTC染色法, 培养法,  $I_2$ -KI溶液染色法等(赵统利等, 2006)。其中培养法又包括固体培养基和液体培养基。TTC染色法中染色程度有时难以确定, 因而会对结果造成一定的影响。而 $I_2$ -KI溶液染色法中, 退化的花粉和失活的花粉也有淀粉积累, 遇碘

同样呈蓝色反应, 因而 $I_2$ -KI溶液染色法不适用于对花粉活力的测定。车代弟等(2003)曾以东方百合花粉为材料对固体培养基进行筛选, 得到最佳的培养基为蔗糖13%+硼酸143 mg/kg+琼脂1%。然而由于百合花粉表面有一层油状物质, 使得花粉粒彼此粘连, 因而用固体培养基培养时, 很难将花粉均匀地铺散于固体培养基表面, 不便于观察且需要较长时间的培养。年玉欣等(2005)以东方百合‘索蚌’为例对液体培养基进行了研究, 得到了适宜的花粉培养液为蔗糖100 g/L+ $H_3BO_3$  20 mg/L+ $CaCl_2$  20~30 mg/L。用液体培养基培养, 方法简单易操作, 且试验结果易观察。

本试验采用液体培养的方法, 在前人试验的基

基础上, 选取对百合花粉萌发影响较大的蔗糖、 $H_3BO_3$ 、 $CaCl_2$ , 进行单因子试验, 并利用正交试验设计, 对亚洲百合品种‘Cheops’(图1)和东方百合品种‘Monete Zuma’(图2)花粉萌发的培养基进行筛选。亚洲百合品种‘Cheops’花黄色, 东方百合品种‘Monete Zuma’花紫红色并具芳香, 两个品种均茎秆粗壮, 且切花寿命长, 是育种的优良材料。尽管年玉欣等已经用同样的方法对东方百合品种‘索蚌’的花粉进行了生命力的测定, 但相同品系不同品种的花粉生活力之间仍然存在一定的差异。本试验旨在获得适宜花粉萌发的培养基, 并对亚洲百合品种‘Cheops’和东方百合品种‘Monete Zuma’花粉的生命力进行比较, 为百合杂交育种提供一定的依据。



图1亚洲百合品种‘Cheops’  
Figure 1 Asiatic hybrid lily ‘Cheops’



图2东方百合品种‘Monete Zuma’  
Figure 2 Oriental hybrid lily ‘Monete Zuma’

## 1 结果与分析

### 1.1 蔗糖、 $H_3BO_3$ 和 $CaCl_2$ 单因子对花粉萌发的影响

以浓度分别为0、50、100、150和200 g/L蔗糖溶液对亚洲百合‘Cheops’和东方百合‘Monete Zuma’花粉进行培养, 萌发结果表明, 亚洲百合‘Cheops’和东方百合‘Monete Zuma’花粉均在浓度为100 g/L的蔗糖溶液中萌发率最高, 分别达到

了5.26%和8.35%。在不含蔗糖的蒸馏水中培养的花粉亦有萌发的现象, 但萌发率极低, 并出现花粉破裂及内含物外流的现象(图3)。

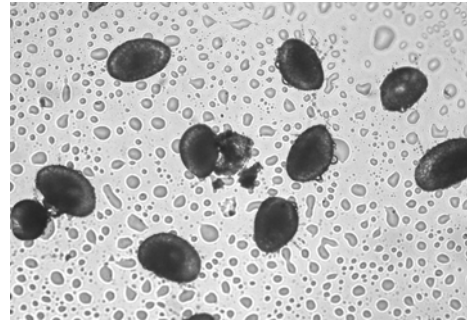


图3花粉粒内含物外流  
Figure 3 The substance inside the pollen flowed out

以浓度分别为10、20、30、40、50和100 mg/L的 $H_3BO_3$ 溶液对亚洲百合‘Cheops’和东方百合‘Monete Zuma’花粉进行培养, 萌发结果表明, 亚洲百合‘Cheops’花粉在浓度为10 mg/L的 $H_3BO_3$ 溶液中萌发率最高, 达到了10.23%, 东方百合‘Monete Zuma’花粉在浓度为20 mg/L的 $H_3BO_3$ 溶液中萌发率最高, 达到了15.62%。

以浓度分别为10、20、30、40、50和100 mg/L的 $CaCl_2$ 溶液对亚洲百合‘Cheops’和东方百合‘Monete Zuma’花粉进行培养, 萌发结果表明, 亚洲百合‘Cheops’花粉在浓度为30 mg/L的 $CaCl_2$ 溶液中萌发率最高, 达到了8.16%, 东方百合‘Monete Zuma’花粉在浓度为40 mg/L的 $CaCl_2$ 溶液中萌发率最高, 达到了12.04%。

在200 g/L的蔗糖、50和100 mg/L硼酸以及50和100 mg/L  $CaCl_2$ 溶液中培养的花粉几乎没有萌发, 且花粉粒出现质壁分离的现象(图4)。

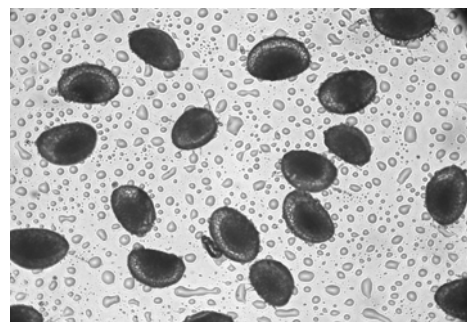


图4花粉粒的质壁分离  
Figure 4 The separation of protoplasm and the cell wall of pollen

## 1.2 蔗糖、H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>和CaCl<sub>2</sub>三因子正交试验对‘Cheops’花粉萌发的影响

SPSS软件行分析结果表明, 差异极显著的因子为蔗糖, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>和CaCl<sub>2</sub>因子在正交试验中的作用不明显。进一步进行平方和比较, 结果显示: ‘Cheops’花粉的萌发率在蔗糖浓度为50 g/L时最高, 在H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>浓度为40 mg/L时最高, 在CaCl<sub>2</sub>浓度为30 mg/L时最高, 因此推断三因子的最佳组合为蔗糖50 g/L+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 40 mg/L+CaCl<sub>2</sub> 30 mg/L, 但这一组合并未在

正交试验中出现, 表1中花粉萌发率最高的组合为15号, 蔗糖50 g/L+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 40 mg/L+CaCl<sub>2</sub> 10 mg/L。在纯水中培养(1号)的花粉亦有萌发, 但萌发率极低, 仅为1.08%。

将蔗糖、H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>和CaCl<sub>2</sub>三因子进行多重比较, 结果表明, 蔗糖含量50 g/L与100 g/L差异不显著, 但这两个浓度与其他浓度差异达到了极显著水平(P<0.01)。H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>与CaCl<sub>2</sub> 5个浓度的差异均未达到极显著水平。

表1 正交试验中‘Cheops’花粉的萌发情况

Table 1 Germination rate of ‘Cheops’ pollen in experiment

试验号	蔗糖浓度	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> 浓度	CaCl <sub>2</sub> 浓度	萌发花粉数(个)	观察数(个)	萌发率(%)
Serial number	Concentration of Sucrose (g/L)	Concentration of H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> (mg/L)	Concentration of CaCl <sub>2</sub> (mg/L)	Germination pollen amounts	Observation amounts	Germination Percentage (%)
1	0	0	0	11	1021	1.08
2	0	10	10	25	1050	2.38
3	0	20	20	29	1043	2.78
4	0	30	30	30	1053	2.85
5	0	40	40	22	1014	2.17
6	50	0	10	165	993	16.62
7	50	10	20	206	1004	20.52
8	50	20	30	170	1017	16.72
9	50	30	40	243	998	24.35
10	50	40	0	137	1007	13.6
11	100	0	20	90	1017	8.85
12	100	10	30	153	1027	14.9
13	100	20	40	186	1025	18.15
14	100	30	0	71	1057	6.72
15	100	40	10	285	1042	27.35
16	150	0	30	165	1024	16.11
17	150	10	40	36	1047	3.44
18	150	20	0	64	1017	6.29
19	150	30	10	41	1043	3.93
20	150	40	20	50	1046	4.78
21	200	0	40	25	1033	2.42
22	200	10	0	52	1008	5.16
23	200	20	10	37	1035	3.57
24	200	30	20	43	1007	4.27
25	200	40	30	89	1040	8.56
MS	240.407	5.815	30.057			
F	7.998*	0.193	0.731			

注:  $\alpha=0.01$

Note:  $\alpha=0.01$

### 1.3蔗糖、H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>和CaCl<sub>2</sub>三因子正交试验对‘Monete Zuma’花粉萌发的影响

SPSS软件分析结果表明, 差异极显著的因子为蔗糖和H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>因子在正交试验中的作用并不明显。进一步进行平方和比较, 结果显示: ‘Monete Zuma’花粉的萌发率在蔗糖浓度为 50 g/L时最高, 在H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>浓度为20 mg/L时最高, 在CaCl<sub>2</sub>浓度为40 mg/L时最高, 因此推断三因子的最佳组合为蔗糖50 g/L+ H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 20 mg/L+ CaCl<sub>2</sub> 40 mg/L, 但这一组合

并未在正交试验中出现, 表2中花粉萌发率最高的组合为9号, 蔗糖50 g/L+ H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 30 mg/L+ CaCl<sub>2</sub> 40 mg/L。在蒸馏水中培养(1号)的花粉无萌发。

将蔗糖、H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>和CaCl<sub>2</sub>三因子进行多重比较, 结果表明, 蔗糖含量50 g/L与100 g/L差异不显著, 但这两个浓度与其他浓度差异达到了极显著水平(P<0.01)。H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>含量20 mg/L与0 mg/L差异达到极显著水平(P<0.01), 其他浓度差异均不显著。CaCl<sub>2</sub> 5个浓度的差异均未达到极显著水平。

表2 正交试验中‘Monete Zuma’花粉的萌发情况

Table 2 Germination rate of ‘Monete Zuma’pollen in experiment

试验号 Serial number	蔗糖浓度 Concentration of Sucrose (g/L)	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> 浓度 Concentration of H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> (mg/L)	CaCl <sub>2</sub> 浓度 Concentration of CaCl <sub>2</sub> (mg/L)	萌发花粉数(个) Germination pollen amounts	观察数(个) Observation amounts	萌发率(%) Germination Percentage (%)
1	0	0	0	0	1025	0
2	0	10	10	72	1040	6.99
3	0	20	20	82	1034	7.93
4	0	30	30	8	1053	0.76
5	0	40	40	19	1000	1.90
6	50	0	10	21	1050	2.00
7	50	10	20	292	1003	29.11
8	50	20	30	350	1048	33.40
9	50	30	40	372	1028	36.19
10	50	40	0	278	1022	27.20
11	100	0	20	70	1016	6.89
12	100	10	30	335	1045	32.06
13	100	20	40	299	1044	28.64
14	100	30	0	265	1013	26.16
15	100	40	10	133	1019	13.05
16	150	0	30	19	1021	1.86
17	150	10	40	142	1041	13.64
18	150	20	0	239	1007	23.73
19	150	30	10	108	996	10.84
20	150	40	20	152	1014	14.99
21	200	0	40	24	1043	2.30
22	200	10	0	37	1025	3.61
23	200	20	10	27	1038	2.60
24	200	30	20	36	1029	3.50
25	200	40	30	38	997	3.81
MS	517.883	212.657	73.548			
F	16.654*	6.839*	2.365			

注:  $\alpha=0.01$

Note:  $\alpha=0.01$

从试验可以看出, 东方百合 ‘Monete Zuma’ 花粉的平均萌发率(13.33%)要高于亚洲百合 ‘Cheops’ 花粉的平均萌发率(9.05%)。

本试验中还可观察到花粉萌发的“群体效应”。以亚洲百合 ‘Cheops’ 为例, 当一个视野中观察花粉数为36时, 萌发率为22.22%(图5); 当一个视野中观察花粉数为46时, 萌发率为52.17%(图6)。

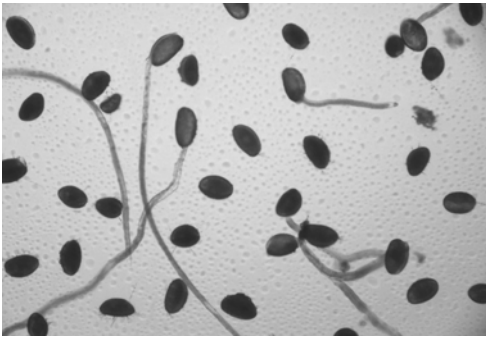


图5花粉数较少时 ‘Cheops’ 花粉的萌发  
Figure 5 ‘Cheops’ pollen germination when less amounts were observed

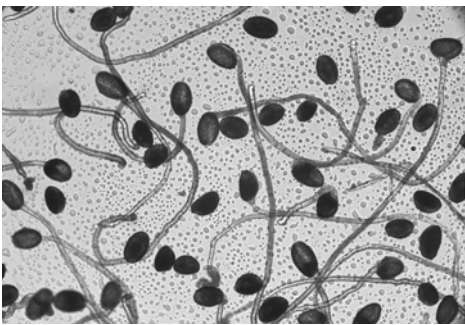


图6花粉数较多时 ‘Cheops’ 花粉的萌发  
Figure 6 ‘Cheops’ pollen germination when more amounts were observed

## 2讨论

在人工培养条件下, 向培养基中加入蔗糖能促进花粉萌发和花粉管伸长。蔗糖的作用在于, 不仅可维持花粉的渗透平衡, 防止花粉管破裂, 而且可作为花粉萌发的营养物质(张立军和梁宗锁, 2007)。前人的试验结果得出的最佳浓度多为100 g/L, 本试验中得出的亚洲百合和东方百合花粉萌发最适的蔗糖浓度均为50 g/L, 但与蔗糖浓度为100 g/L的萌发率并无显著差异。这可能与试验材料有关。适合花粉萌发的蔗糖浓度, 不同类型的花粉粒很不相同, 但通常介于5%~25%。

硼元素对花粉萌发和花粉管伸长生长有重要

作用。一般花粉本身含有较高的硼, 但向培养基中加硼( $100 \times 10^{-6}$ ~ $150 \times 10^{-6}$ )能显著地促进花粉萌发和花粉管伸长。一方面可能是由于硼与糖形成复合物, 促进糖的吸收与代谢, 另一方面硼参与果胶物质的合成, 利于花粉管壁的形成(加藤幸雄和志佐诚编著, 周永春, 刘瑞征译, 1987, 植物生殖生理学, pp.176-180)。本试验表明, 当硼与糖和钙共同存在时, 亚洲百合 ‘Cheops’ 花粉萌发最适的 $H_3BO_3$ 浓度为40 mg/L, 高于Dickinson (1978)报道的10 mg/L以及年玉欣等(2005)报道的20 mg/L。而对于东方百合 ‘Monete Zuma’, 最适浓度则为20 mg/L。且 $H_3BO_3$ 浓度对亚洲百合 ‘Cheops’ 花粉萌发并无显著影响, 但对东方百合 ‘Monete Zuma’ 则有极显著影响。这可能是由于百合不同品种花粉本身硼的含量存在差异以及花粉萌发对硼的需求不同所致, 其确切原因有待进一步探讨。

前人研究了 $Ca^{2+}$ 对46种园艺植物花粉生长的影响, 发现钙具有促进每种植物的花粉萌发和花粉管伸长的作用。这可能是由于钙可与花粉管壁的果胶物质结合, 使细胞的透性降低和管壁硬度增大, 从而保护了花粉管不受生长抑制物质的抑制进行而正常伸长(张立军和梁宗锁, 2007)。本试验中, 当钙与糖和硼共同存在时, 亚洲百合 ‘Cheops’ 花粉萌发最适的 $CaCl_2$ 浓度为30 mg/L, 与年玉欣等报道的在 ‘索蚌’ 花粉中研究所得的试验结果相一致。东方百合 ‘Monete Zuma’ 花粉萌发最适的 $CaCl_2$ 浓度为40 mg/L, 高于年玉欣等报道的试验结果。 $CaCl_2$ 浓度对亚洲百合 ‘Cheops’ 和东方百合 ‘Monete Zuma’ 花粉萌发均无显著影响, 关于离子间如何相互作用从而促进花粉萌发这一现象中钙离子的附属作用, 有待于深入研究。

花粉萌发有“群体效应”, 即在一定面积内, 花粉数量越多, 密度越大, 萌发和生长也就越好(张治安和陈展宇, 2009)。本试验中也观察到了这一现象。群体效应可能是密集时花粉相互刺激, 产生促进生长的物质。因而生产上大量授粉比限量授粉有利于受精。

本试验还观察到, 东方百合 ‘Monete Zuma’ 花粉的平均萌发率要高于亚洲百合 ‘Cheops’ 花粉的平均萌发率, 而郝瑞娟等(2008)的试验结果则表明用相同方法测定花粉生活力时东方百合的花粉生活力要极显著低于亚洲百合的花粉生活力。这可能与萌发的培养液、所用的试验材料以及培养的环境

境条件有关。

### 3 试验材料与方法

所用材料为北京林业大学温室所种植的亚洲百合品种‘Cheops’和东方百合品种‘Monete Zuma’刚从花药中散发出来的成熟花粉。在单因子试验的基础上, 采用三因素五水平的正交试验设计(表1, 表2)(续九如和黄智慧, 1995), 培养液的pH为5.8。

试验方法为: 收集新鲜花粉, 将其充分混匀。用移液枪将培养液滴在双孔凹玻片上, 每孔100~150  $\mu\text{L}$ 。用解剖针将花粉均匀散落在培养液上。然后将双孔凹玻片放入培养皿中, 培养皿中事先铺有湿滤纸以保证培养环境的湿度。最后将培养皿放入23℃光照培养箱中培养4 h。每种培养液观察3个玻片6个凹孔, 每个凹孔观察3~4个视野, 每个视野大约50~60粒花粉, 每种培养液共观察20个视野大约1 000粒花粉。每种培养液做两次重复试验。以花粉管的长度超过花粉粒直径作为萌发的标准, 进行统计, 并用SPSS软件进行计算分析。发芽率=萌发的花粉数/观察花粉数 $\times 100\%$ 。

### 作者贡献

焦雪辉是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 焦雪辉和吴锦娣完成数据分析, 论文初稿的写作; 吴沙沙参与实验设计, 试验结果分析; 吕英民是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

### 致谢

本研究由国家林业局948引进项目(2006-4-85)、国家林业局行业标准(2009-LY-004)和国家十一五科技支撑计划课题(2006BAD01A1803)共同资助。

### 参考文献

Che D.D., Fan J.P. and Wang J.G., 2003, Study on Optimization of the culture medium for oriental hybrids pollen germination, *Bulletin of Botanical Research*, 23(2): 178-181 (车代弟, 樊金萍, 王金刚, 2003, 东方百合萌发培养基组分的优化, *植物研究*, 23(2): 178-181)

Dickinson D.B., 1978, Influence of borate and pentaerythritol concentration on germination and tube growth of *Lilium longiflorum* pollen, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 103(3): 413-416

Hao R.J., Wang Z.F., Mu D., 2008, Comparisons of different culture solutions for Lily pollen vitality test, *Northern Horticulture*, 11: 95-97 (郝瑞娟, 王周锋, 穆鼎, 2008, 不同百合花粉活力的测定方法比较, *北方园艺*, 11: 95-97)

Nian Y.X., Luo F.X., Zhang Y., Sun X.M., and Zhang L., 2005, Studies on the culture solution for lily pollen vitality test, *Yuanyi Xuebao (Acta Horticulturae Sinica)*, 32(5): 922-925 (年玉欣, 罗凤霞, 张颖, 孙晓梅, 张丽, 2005, 测定百合花粉生命力的液体培养基研究, *园艺学报*, 32(5): 922-925)

Ren Y., Zhou K.M., Yu N.Y., Zhang Z.Y., Hua S.J., and Jiang L.X., 2008, Molecular biology mechanism of the male reproductive organs development in lily, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 6(6): 1160-1166 (任韵, 周可明, 鱼南洋, 张志友, 华水金, 蒋立希, 2008, 百合雄性生殖器官发育的分子生物学基础, *分子植物育种*, 6(6): 1160-1166)

Xu J.R., and Huang Z.H., 1995, *Forestry experiment design*, Chinese Forestry Publishing House, Beijing, China, pp.71-85 (续九如, 黄智慧, 1995, *林业实验设计*, 中国林业出版社, 中国, 北京, pp.71-85)

Zhang L.J., and Liang Z.S., 2007, *Plant physiology*, Science Press, Beijing, China, pp.323-333 (张立军, 梁宗锁, 编著, 2007, *植物生理学*, 科学出版社, 中国, 北京, pp.323-333)

Zhang Z.A., and Chen Z.Y., 2009, *Plant physiology*, Jilin University Press, Jilin, China, pp.302-309 (张治安, 陈展宇, 编著, 2009, *植物生理学*, 吉林大学出版社, 中国, 吉林, pp.302-309)

Zhao L.T., Zhou X., Zhu P.B., Shao X.B., and Li Y.J., 2006, Studies on culture methods for lily pollen vitality test, *Jiangsu Nongye Kexue (Jiangsu Agricultural Science)*, 5: 88-89 (赵统利, 周翔, 朱朋波, 邵小斌, 李玉娟, 2006, 百合花粉生活力测定方法的比较研究, *江苏农业科学*, 5: 88-89)



**5<sup>th</sup>Publisher**是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5<sup>th</sup>Publisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>