

# 红麻 UG93 细胞质雄性不育系、保持系及恢复系间的遗传多样性分析

牛英<sup>1,3</sup>, 周瑞阳<sup>1\*</sup>, 韩柱强<sup>2</sup>, 高国庆<sup>2</sup>

(1. 广西大学农学院, 南宁 530004; 2. 广西农业科学研究所, 南宁 530007; 3. 广西柑桔研究所, 广西 桂林 541004)

**摘要:** 利用 8 条核基因组 ISSR 引物和 7 对叶绿体基因组 SSR 引物(cpSSR), 对 9 对红麻 UG93 细胞质雄性不育系/保持系及 5 个恢复系的细胞核、细胞质遗传多样性进行分析。结果表明: 各材料的核基因组遗传相似系数在 0.333~1.000 之间, 其中保持系间、保持系和恢复系间、恢复系间的平均相似系数分别为 0.583、0.689 和 0.812。质基因组的遗传相似系数在 0~0.286 之间, 23 个材料被聚类为 4 种单倍型, 其中 9 个不育系单独聚为一类。9 对不育系/保持系中有 5 对在 ISSR 分析中出现差异带, 表明这 5 对不育系/保持系间未发生完全的核置换。本研究结果对创造新的不育资源、组配优良杂交组合具有重要意义。

**关键词:** ISSR; cpSSR; 细胞质雄性不育(CMS); 遗传多样性

**中图分类号:** Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)02-0239-05

## Genetic diversity in kenaf (*Hibiscus cannabinus*) UG93 cytoplasmic male sterile lines, maintainer lines and restorer lines revealed by ISSR and cpSSR markers

NIU Ying<sup>1,3</sup>, ZHOU Rui-Yang<sup>1\*</sup>, HAN Zhu-Qiang<sup>2</sup>, GAO Guo-Qing<sup>2</sup>

(1. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China; 2. Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 3. Guangxi Citrus Research Institute, Guilin 541004, China)

**Abstract:** 8 ISSR primers and 7 chloroplast SSR(cpSSR) primer pairs were employed to study genetic diversity among 9 pairs of kenaf UG93 cytoplasmic male sterile/maintainer lines and 5 restorer lines. Nucleus genome genetic similarity coefficients (SC) based on ISSR ranged from 0.333 to 1.000, with the average of 0.583, 0.689 and 0.812 among maintainer lines, maintainer and restorer lines, and restorer lines respectively. Chloroplast genome SC based on cpSSR ranged from 0 to 0.286. The 23 tested lines were clustered into 4 haplotypes, with all 9 sterile lines were classified into a single type. 5 of 9 couple of sterile/maintainer lines showed some degree diversity which indicated that replacement of nucleus genome between sterile line and maintainer line was not complete. The results will help generating new kenaf sterile resource and excellent cross combinations.

**Key words:** ISSR; cpSSR; Cytoplasmic male sterility(CMS); genetic diversity

红麻(*Hibiscus canabius*)是锦葵科(Malvaceae)木槿属(*Hibiscus*)一年生纤维作物,以收获茎秆

和韧皮纤维为栽培目的。红麻 F1 代杂种优势率可达 40%,但由于长久以来没有可供利用的不育系,

收稿日期: 2010-06-19 修回日期: 2010-11-04

基金项目: 教育部高等学校博士点基金(20070593003)[Supported by Ph. D. Program Foundation of Ministry of Education of China (20070593003)]

作者简介: 牛英(1977-),女,湖北枣阳人,博士,作物遗传育种专业, (E-mail)niuying.ny@163.com.

\* 通讯作者: 周瑞阳,博士,教授,从事作物遗传育种研究, (E-mail)ruiyangzhou@yahoo.com.cn.

一般采用化学杀雄和人工授粉的方法生产杂交种,种子成本较高,生产上只能利用 F2 代(汤永海等,1993;陈安国等,2000;祁建民等,2005)。周瑞阳(2001)首次在红麻野生种 UG93 中发现雄性不育突变体,并以此为材料选育出了 9 对同质异核的 UG93 型细胞质雄性不育系/保持系(周瑞阳等,2008)。根据红麻以收获茎秆为主的特性,周瑞阳提出了红麻细胞质雄性不育系、保持系与异型保持系(与保持系具有不同核基因背景,用于杂交制种的保持系)的三系配套模式;通过不育系、保持系和异型保持系的新三系配套模式组配出的雄性不育 F1 代杂交种,在大面积栽培条件下将花而不实,有利于实现高产与优质的统一(李刚,2005)。

表 1 供试的 9 对细胞质雄性不育系/保持系和 5 个恢复系  
Table 1 9 Pairs of CMS/maintainer lines and 5 restorer lines for test

|                        |      |       |       |       |      |      |        |      |      |
|------------------------|------|-------|-------|-------|------|------|--------|------|------|
| 不育系 Male-sterile lines | K03A | L23A  | P3A   | Fu3A  | B19A | 763A | PA258A | 722A | 917A |
| 保持系 Maintainer lines   | K03B | L23B  | P3B   | Fu3B  | B19B | 763B | PA258B | 722B | 917B |
| 恢复系 Restorer lines     | 992  | PA297 | PA299 | PA302 | F302 |      |        |      |      |

## 1.2 研究方法

用改良的 CTAB 法从供试材料叶片中提取总基因组 DNA。用 ISSR 分子标记技术和叶绿体 SSR 分子标记技术研究不育系、保持系及恢复系的遗传多样性。

ISSR 引物为加拿大 UBC 大学设计的可用于不同生物基因组分析的 100 条 ISSR 引物(张青林等,2004)。DNA 扩增总体系为 20  $\mu$ L,其中包括 0.2 mmol/L dNTPs,1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,1 U Taq DNA polymerase(TaKaRa, Dalian, China),2  $\mu$ L 10 $\times$  Reaction Buffer,0.2  $\mu$ mol/L of each primer and 30~50 ng of sample DNA,用无菌去离子水补足到 20  $\mu$ L。PCR 反应在 PTC-200 thermocycler (MJ Research, Waltham, MA)上进行。反应程序为:94  $^{\circ}$ C 变性 4 min;40 个循环(94  $^{\circ}$ C 变性 1 min,相应的退火温度 1 min,72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min);72  $^{\circ}$ C 保持 10 min;4  $^{\circ}$ C 保存。扩增产物用 2%的琼脂糖电泳分离检测。

叶绿体 SSR 引物选用已报道的来源于烟草叶绿体基因组 DNA 的 48 条 cpSSR 引物:CCMP1-7、CCMP10(Weising 等,1999),NTCP2-16、NTCP18-30、NTCP32-34、NTCP36-40 (Bryan 等,1999),ccSSR2、ccSSR5、ccSSR12、ccSSR20 (Chung 等,2003)。DNA 扩增总体系为 10  $\mu$ L,其中包括 0.2 mmol/L dNTPs,1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,0.5 U Taq

本研究利用 ISSR 和叶绿体 SSR 分子标记技术对上述 9 对不育系/保持系和 5 个恢复系的遗传关系进行分析,以期组配出能产生优良后代的不育系、保持系和异型保持系,并探索培育优良异型保持系的方法,为“新三系配套模式”在红麻育种上的运用奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料

9 对 UG93 细胞质雄性不育系/保持系和 5 个恢复系(表 1);不育系 K03A 与恢复系 992 杂交建立的 F2 代群体。

DNA polymerase(TaKaRa, Dalian, China),1  $\mu$ L 10 $\times$  Reaction Buffer,0.2  $\mu$ mol/L of each primer and 30~50 ng of sample DNA,用无菌去离子水补足到 10  $\mu$ L。PCR 反应在 PTC-200 thermocycler (MJ Research, Waltham, MA)上进行,反应程序为:94  $^{\circ}$ C 预变性 3 min,30~35 个循环(94  $^{\circ}$ C 变性 40 s,相应的退火温度 40 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 40 s),72  $^{\circ}$ C 保持 10 min,4  $^{\circ}$ C 保存。产物用 6%的聚丙烯酰胺胶电泳分离,快速银染法染色。

### 1.3 数据分析

利用 NTSYS-pc Version 2.10 分析软件进行品种多样性聚类及不同品种间的遗传关系分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不育系、保持系及恢复系核基因组 DNA 的遗传多样性分析

以 K03A、992、L23B 为模板,在 100 条 ISSR 引物中,筛选得到 9 条扩增稳定并表现多态性的引物。

利用 9 条多态性 ISSR 引物对 9 对不育系/保持系和 5 个恢复系的基因组 DNA 进行扩增,共扩增得到 70 条带,其中多态性条带 17 条,平均每条引物产生 7.8 条带和 1.9 条多态性带(表 2)。其中,引物 808 扩增的多态性条带在不育系 K03A 及随机

抽取的 50 个 F2 代(K03A×992)单株中存在,而在恢复系 992 中表现缺失,表明此多态性条带为母性遗传,属于质基因多态性。

表 2 9 条多态性引物的名称、序列、退火温度及扩增条带数

Table 2 Name, sequence, annealing temperature and amplified bands number of nine polymorphic primers

| 引物名称<br>Primer name | 序列<br>Sequence | 解链温度<br>Tm(°C) | 退火温度<br>Ta(°C) | 总条带数<br>Total bands | 多态性条带数<br>polymorphic bands |
|---------------------|----------------|----------------|----------------|---------------------|-----------------------------|
| 808                 | (AG)8C         | 57             | 52             | 7                   | 1                           |
| 812                 | (GA)8 A        | 55             | 50             | 6                   | 3                           |
| 836                 | (AG)8YA        | 58             | 52             | 8                   | 1                           |
| 851                 | (GT)8 YG       | 60             | 52             | 9                   | 1                           |
| 853                 | (TC)8 RT       | 58             | 50             | 5                   | 3                           |
| 873                 | (GACA)4        | 54             | 48             | 6                   | 1                           |
| 880                 | (GGAGA)3       | 56             | 52             | 6                   | 2                           |
| 885                 | BHB(GA)7       | 52             | 50             | 13                  | 2                           |
| 889                 | DBD(AC)7       | 55             | 50             | 10                  | 3                           |
| 合计 Total            |                |                |                | 70                  | 17                          |

利用数据分析软件 NTSYS 对除引物 808 外的

8 条 ISSR 引物扩增结果进行亲缘关系分析(表 3)表明:9 个保持系间的 36 个组合有 8 个组合相似系数大于 0.7,保持系间平均相似系数为 0.583;9 个保持系与 5 个恢复系间的 45 个组合有 22 个组合相似系数大于 0.7,保持系与恢复系间的平均相似系数为 0.689;5 个恢复系间 10 个组合的相似系数均大于 0.7,恢复系间的平均相似系数为 0.812。结果表明遗传多样性总体表现为:保持系间 > 保持系和恢复系间 > 恢复系间,5 个恢复系间的遗传差异较小。

从单个品种看,保持系 L23B 除了与保持系 917B 的相似系数达到 0.8 外,与其他 5 个恢复系及 7 个保持系间的相似性都较低,平均相似系数为 0.473。L23B 与保持系 P3B 间的遗传差异最大,相似系数仅为 0.333。

## 2.2 不育系、保持系及恢复系间的 cpSSR 多态性

从 48 对叶绿体微卫星引物中筛选得到 7 对扩增稳定并表现多态性的引物(表 4)。根据 7 个微卫星位点的变异情况,通过 Jaccard 相似系数聚类分析,9 对不育/保持系和 5 个恢复系被分成 4 种单倍

表 3 9 个保持系、5 个恢复系间的相似系数表

Table 3 Similarity coefficient among 9 maintainer and 5 restorer lines

| Name   | Fu3B  | B19B  | 763B  | K03B  | PA258B | 722B  | 917B  | L23B  | P3B   | 992   | PA297 | PA299 | PA302 |
|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| B19B   | 0.667 |       |       |       |        |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 763B   | 0.727 | 0.400 |       |       |        |       |       |       |       |       |       |       |       |
| K03B   | 0.615 | 0.667 | 0.429 |       |        |       |       |       |       |       |       |       |       |
| PA258B | 0.667 | 0.545 | 0.615 | 0.667 |        |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 722B   | 0.769 | 0.667 | 0.714 | 0.750 | 0.933  |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 917B   | 0.615 | 0.667 | 0.571 | 0.500 | 0.533  | 0.625 |       |       |       |       |       |       |       |
| L23B   | 0.500 | 0.545 | 0.462 | 0.533 | 0.429  | 0.533 | 0.800 |       |       |       |       |       |       |
| P3B    | 0.600 | 0.444 | 0.545 | 0.615 | 0.833  | 0.769 | 0.462 | 0.333 |       |       |       |       |       |
| 992    | 0.909 | 0.600 | 0.667 | 0.714 | 0.769  | 0.857 | 0.571 | 0.462 | 0.727 |       |       |       |       |
| PA297  | 0.667 | 0.545 | 0.615 | 0.667 | 1.000  | 0.933 | 0.533 | 0.429 | 0.833 | 0.769 |       |       |       |
| PA299  | 0.600 | 0.444 | 0.545 | 0.615 | 0.833  | 0.769 | 0.462 | 0.333 | 1.000 | 0.727 | 0.833 |       |       |
| PA302  | 0.909 | 0.800 | 0.667 | 0.714 | 0.769  | 0.857 | 0.714 | 0.615 | 0.727 | 0.833 | 0.769 | 0.727 |       |
| F302   | 0.800 | 0.667 | 0.545 | 0.615 | 0.833  | 0.769 | 0.615 | 0.500 | 0.800 | 0.727 | 0.833 | 0.800 | 0.909 |

表 4 7 对多态性 cpSSR 引物名称、重复、基因位点及序列

Table 4 Name, repeat, location and sequences of seven polymorphic cpSSR primer pairs

| 引物名称<br>Primer name | 重复<br>Repeat | 基因位点<br>Gene location | 正向引物<br>Forward primers | 反向引物<br>Reverse primers |
|---------------------|--------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|
| CCMP3               | T11          | trnG intron           | CAGACAAAAGCTGACATAG     | GTTTCATTCGGCTCCTTTAT    |
| CCMP4               | T13          | atpF intron           | AATGCTGAATCGAYGACCTA    | CCAAAATATTBGGAGGACTCT   |
| CCMP10              | T14          | rpl2/rps19            | TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA  | TTCGTCGDCGTAGTAAATAG    |
| NTCP3               | T10          | trnK intron           | AAGTCAAAAAGAGCGATTAG    | TGATACATAGTGCGATACAG    |
| NTCP20              | A23          | yef3 intron           | TCCTCGTAAGACTGAGAGAAAT  | TTACGAGTAATTCGACAACCTT  |
| NTCP28              | T14          | rpl20/rps12           | TCCAATGGCTTTGGCTA       | AGAAACGAAGGAACCCAC      |
| NTCP40              | A14          | rp12/trnH             | TAATTTGATTCTTCGTCGC     | GATGTAGCCAAGTGATCA      |

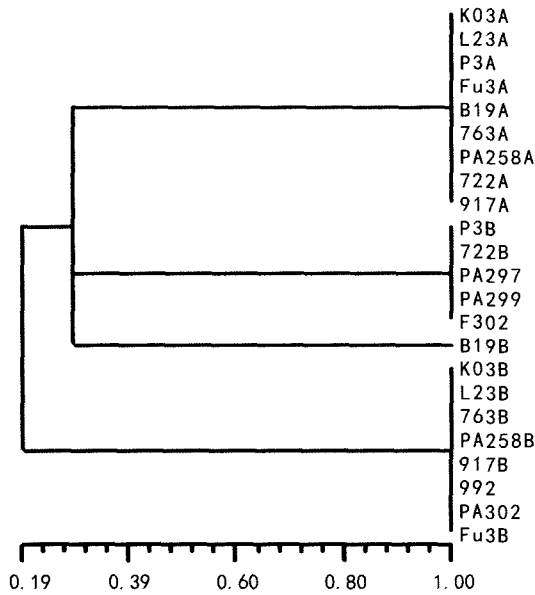


图 1 9对不育系/保持系和5个恢复系基于7个cpSSR变异位点的聚类图

Fig. 1 Dendrogram of relationships and similarity matrix among 9 sterile/maintainer lines and 5 restorer lines based on the Jaccard coefficient of similarity from 7 cpSSR primer pairs data

型(细胞质类型)(图1)。

其中,9个不育系的胞质类型完全一致,为I型;保持系P3B、722B和恢复系PA297、PA299、F302为II型;保持系B19单独成III型;保持系K03B、

L23B、763B、PA258B、917B和恢复系992、PA302、Fu3B为IV型。4种胞质类型在7个叶绿体微卫星位点上差异比较大,类型II和类型IV间的相似系数为0,即在7个位点上都存在差异,其他类型间的相似系数也很低,均为0.286。

2.3 不育系与保持系间的核基因组DNA多态性分析

不育系与保持系的核基因组DNA理论上应该完全一致。在8条多态性ISSR引物对9对不育系/保持系的扩增结果中,有5对不育/保持系间出现差异带,说明不育系与保持系间的核基因组DNA还存在差异。其中722A/B间的基因差异最大,在812、889、853、880四条引物的四个位点上存在差异(图2:A);其次是917A/B,在885和853两条引物扩增的两个位点上存在差异(图2:B),L23A/B也在885和853两个位点上存在差异(图2:C);另外,F3A/B在引物880扩增的一个位点上存在多态性(图2:D),B19A/B在引物853扩增的一个位点存在多态性(图2:E)。其余4对不育/保持系K03A/B、763A/B、PA258A/B和P3A/B在所测位点上未出现差异。

不育系、保持系核基因的一致性对雄性不育胞质效应的研究很重要,只有两者发生完全的核置换,才能在研究胞质效应时有效地避免核基因的影响。由于红麻的异交率达到20%,所以还不能确定上述核置换不太理想的不育/保持系是由于回交世代不

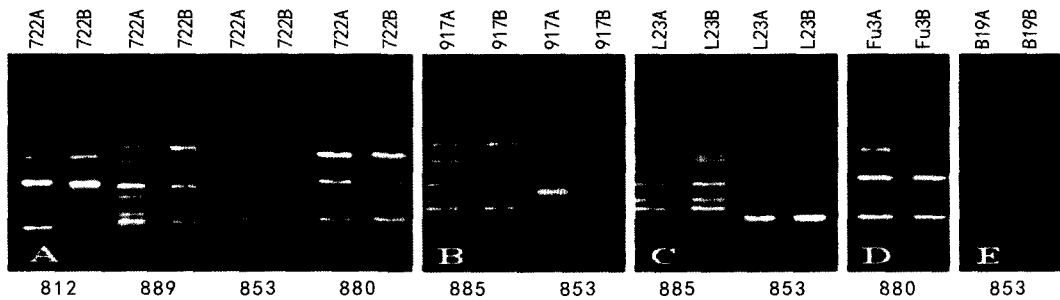


图 2 5对不育/保持系间存在的差异条带

Fig. 2 Spectrum of polymorphic bands between CMS/maintainer lines

足引起还是自然异交导致。

3 讨论

3.1 本研究结果对红麻异型三系杂交育种的意义

陶爱芬等(2005)利用ISSR技术对来自中国的30份红麻材料分析表明,多数供试材料之间的基因

型遗传差异较小;程舟等(2004)利用AFLP技术对来自14个国家的23份红麻材料分析也表明栽培类型红麻在分子水平上的变异相对较小。本研究结果表明,利用ISSR和cpSSR分子标记技术可以对不育系/保持系和恢复系间的遗传关系进行有效的分析;保持系间的低相似度可以为新三系配套模式提供遗传差异大的优良异型保持系,为“新三系配套模

式”在红麻育种上的运用奠定基础。

### 3.2 核基因组与质基因组遗传多态性的不一致

本研究中,基于核基因组和基于质基因组的遗传多态性分析结果不一致。基于核基因组 DNA 的 ISSR 分析表明,9 个保持系和 5 个恢复系之间的相似程度比较高,相似系数在 0.333~1 之间;基于叶绿体基因组 DNA 的 SSR 分析表明,9 个保持系和 5 个恢复系被分为 3 个类型,类型之间的相似程度比较低,相似系数在 0~0.286 之间。特别是恢复系 PA297 和保持系 PA258,核基因组 ISSR 分析时两者的相似度达到 100%,而叶绿体基因组 SSR 分析时两者的相似度为 0。这种质、核多态性的不一致性在其他植物上也被发现(Kellogg 等,1996; Redingbaugh 等,2000; Budak 等,2005)。细胞质叶绿体基因组的单倍性及母性遗传特性可能是造成这种不一致性的原因。对于异交率高的植物,这种不一致性可能更大。

### 3.3 总基因组中质基因对遗传分析的影响

本研究发现,在筛选出的 9 个 ISSR 多态性引物中,引物 808 扩增的多态性条带经 F2 代单株检测属于质基因组多态性。由于此标记的存在,在其它 8 个所测位点上未出现差异的四对不育/保持系(K03A/B、763A/B、PA258A/B 和 P3A/B)中,有三对(K03A/B、763A/B、PA258A/B)之间出现了差异。如果误以此标记检测三对不育系/保持系的核代换程度,则不管经过多少代回交,此引物标记的不育系多态性都不会被保持系的带型代换。在总基因组中扩增出质基因多态性在其它研究中也存在(侯磊等,2000; 范昌发等,2002; 孙春韵等,2003; Sang 等,2006)。在进行核基因遗传多样性研究时,很容易混杂质基因的遗传多样性。而质基因表现的遗传多样性可能会给基于核基因遗传多样性的研究带来某些干扰和影响。所以基于核基因的遗传研究应该通过一定的检测手段去掉质基因的影响,同样基于质基因的遗传研究也应该避免参入核基因的影响。

**致谢** 本试验在广西农业科学院作物遗传改良重点实验室完成,特此感谢。

### 参考文献:

李刚. 2005. 红麻雄性不育杂交种的纤维发育规律与产量品质的形成[D]. 华中农业大学硕士学位论文:3-4  
 陈安国,李德芳. 2000. 红麻杂种优势利用的现状与展望[J]. 中国麻作,22(1):44-45  
 Bryan GJ, McNicol J, Ramsay G, et al. 1999. Polymorphic simple

sequence repeat markers in chloroplast genomes of Solanaceous plants[J]. *Theor Appl Genet*, 99:859-867  
 Budak H, Shearman RC, Gulsen O, et al. 2005. Understanding ploidy complex and geographic origin of the Buchloe dactyloides genome using cytoplasmic and nuclear marker systems[J]. *Theor Appl Genet*, 111:1545-1552  
 Cheng Zh, Lu BR, Sameshima K, et al. 2004. Identification and genetic relationships of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) germplasm revealed by AFLP analysis[J]. *Genet Res Crop Evolution*, 51:393-401  
 Chung SM, Staub JE. 2003. The development and evaluation of consensus chloroplast primer pairs that possess highly variable sequence regions in a diverse array of plant taxa[J]. *Theor Appl Genet*, 107:757-767  
 Fan CF(范昌发), Sun CY(孙春韵), Guo XC(郭晓才), et al. 2002. Sequence variation of the chloroplast gene ndhD region in cytoplasmic male sterile sorghum(细胞质雄性不育高粱叶绿体 ndhD 基因的序列变异)[J]. *Acta Genet Sin(遗传学报)*, 29(10):907-914  
 Hou L(侯磊), Yang GW(杨光伟), He GH(何光华), et al. 2000. AFLP markers and sequence analysis in rice cytoplasmic male sterility line, Zhenshan 97A, and its maintainer line(水稻胞质雄性不育系珍油 97A 及其保持系的 AFLP 标记及序列分析)[J]. *Acta Agron Sin(作物学报)*, 42(6):591-594  
 Kellogg EA, Appels R, Mason-Gramer RJ. 1996. When gene trees tell different stories: the diploid genera of Triticeae (Gramineae) [J]. *Syst Bot*, 21:321-347  
 Qi JM(祁建民), Chen YY(陈幼玉), Zhou RY(周瑞阳), et al. 2005. Genetic effects and heterosis analysis for yield and quality traits in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) (红麻产量和纤维品质性状的遗传效应与杂种优势分析)[J]. *Acta Agron Sin(作物学报)*, 31(4):469-475  
 Redingbaugh MG, Jones TA, Zhang Y. 2000. Ubiquity of the St chloroplast genome in St-containing Triticeae polyploids[J]. *Genome*, 43:846-852  
 Sang XC, Yang ZL, Zhong BQ, et al. 2006. Assessment of purity of rice CMS lines using cpDNA marker[J]. *Euphytica*, 152:177-183  
 Sun ChY(孙春韵), Fan ChF(范昌发), Zhang FY(张福耀), et al. 2003. Cloning and sequence analysis of psIA1 and psIA2 genes amplified specifically from the chloroplast DNA of maintainer of CMS sorghum (CMS 高粱保持系叶绿体基因 psIA1 和 psIA2 片段的克隆与序列比对)[J]. *Chin Appl Environ Biol(应用与环境生物学报)*, 9(5):506-512  
 Tang YH(汤永海), Li DF(李德芳). 1993. Studies on multi-generation utilization of high yield combination H116 in kenaf (*Hibiscus cannabinus*) (红麻高产杂优组合 H116 多代利用的研究)[J]. *Sci Agric Sin(中国农业科学)*, 26(2):30-38  
 Tao AF(陶爱芬), Qi JM(祁建民), Li AQ(李爱青), et al. 2005. The analysis of genetic diversity and relationship of elite kenaf germplasm based on inter-simple sequence repeats(红麻优异种质资源遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 分析)[J]. *Acta Agron Sin(作物学报)*, 31(12):1668-1671  
 Weising K, Gardner RC. 1999. A set of conserved PCR primers (下转第 197 页 Continue on page 197)

不一致。兰科植物中内生真菌侵染机制和消化过程是非常复杂的(丁晖等, 2002; 周斌等, 2003; 李明, 2001; 陈佳昕等, 2008), 目前研究的结果仍未能对此作出完善的解释, 盘龙参根中的内生真菌的消化过程有待进一步研究。皮层细胞的细胞核常膨大, 真菌菌丝结往往向细胞核靠近, 有时会将细胞核包裹起来。范黎等(2000)曾报道了密花石斛等 6 种兰科植物菌根的特征, 发现染菌的皮层细胞细胞核常膨大, 且菌丝常向细胞核靠近。在本研究中我们观察到了同样的现象, 这是否与调控皮层细胞对菌丝的消化吸收有关现在还不清楚。对内生真菌引起宿主染菌细胞核大小和形态变化及其与未染菌皮层细胞的细胞核大小和形状的差别还需做进一步的研究。

### 参考文献:

- Chen JX(陈佳昕), Dai CC(戴传超), Li X(李霞), et al. 2008. Endophytic fungi screening from *Atractylancea* and inoculating into the host plantlet(茅苍术内生真菌的分离鉴定及在组培中的回接)[J]. *Guihaia*(广西植物), **28**(2):256-260
- Cheng YP(程玉鹏), Wang ZY(王振月), Li HL(李慧玲). 2008. Distribution characteristics of endophytic fungi in *Spiranthes sinensis*(盘龙参内生真菌分布特征的研究)[J]. *Fore By-Product Spec China*(中国林副特产), **93**(2):22-23
- Ding H(丁晖), Han SF(韩素芬), Wang GP(王光萍), et al. 2002. Symbiosis between *Cattleya* sp. and *Rhizoctnia* sp. and mycorrhizal microstructure of *Cattleya* sp.(卡特兰与丝核菌共培养体系的建立及卡特兰菌根显微结构的研究)[J]. *Mycosystema*(菌物系统), **21**(3):425-429
- Dong ML(董美伶), Xie YY(谢媛媛), Chen J(陈剑), et al. 2005. Quantitative determination of flavonoid in *Spiranthes sinensis* by HPLC(HPLC法测定盘龙参中的盘龙参黄酮I)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), **36**(6):921-922
- Fan L(范黎), Guo SX(郭顺星), Xiao PG(肖培根). 2000. A study on the mycorrhizal microstructure of six orchids(密花石斛等六种兰科植物菌根的显微结构研究)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报), **17**(1):73-79
- Li M(李明). 2001. The characteristics of orchidaceous mycorrhiza and application of mycorrhizal fungi in orchid culture(兰科菌根的特点及其菌根真菌在兰花培育中的应用)[J]. *J Yunnan Normal Univ:Nat Sci Edi*(云南师范大学学报·自然科学版), **21**(4):68-71
- Liang TQ(梁天千), Zheng SK(郑伸坤). 1984. Morphology and anatomy of vegetative organs of three kinds of Wuyi orchidssn(三种武夷兰花营养器官的形态解剖)[J]. *J Fujian Agric Fore Univ:Nat Sci Edi*(福建农林大学学报·自然科学版), **13**(2):147-154
- Lin DQ(林道清), Liang H(梁鸿), Tan QZ(檀庆忠). 2003. Rare and endangered plant resources and its protection in Qingyunshan Scenic Spot, Fujian Province(福建青云山风景区珍稀濒危植物资源及其保护)[J]. *Subtrop Plant Sci*(亚热带植物科学), **32**(1):39-42
- Peng JY, Han X, Xu LN, et al. 2008. Two new prenylated coumarins from *Spiranthes sinensis*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, **10**(3):256-259
- Wu JR(伍建榕). 2005. Studies on endangerous wild orchids and its relationship with mycorrhizal fungi in Yunnan Province(云南濒危野生兰花与菌根真菌的共生关系)[D]. Nanjiang: Nanjing Fore Univ:95
- Zhou B(周斌), Wei Q(魏勤), Li SL(李绍兰), et al. 2003. Study on mycorrhizal fungi in some species of tropical orchids in Xishuangbanna(云南西双版纳几种热带兰菌根真菌的研究)[J]. *J Yunnan Univ:Nat Sci Edi*(云南大学学报·自然科学版), **25**(2):161-166

( 上接第 243 页 Continue from page 243 )

for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms[J]. *Genome*, **42**:9-19

Zhang QL(张青林), Luo ZR(罗正荣). 2004. ISSR technology and its applications in fruit trees (ISSR 及其在果树上的应用)[J]. *J Fruit Sci*(果树学报), **21**(1):54-58

Zhou R-Y(周瑞阳), Zhang X(张新), Zhang J-Q(张加强), et al.

2008. A breakthrough in Kenaf cytoplasmic male sterile lines breeding and heterosis utilization(红麻细胞质雄性不育系的选育及杂种优势利用取得突破)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), **41**(1):314

Zhou RY. 2001. Mutational effects of space flight on kenaf seeds. In: American Kenaf Society Proceedings[C]. Atlanta, Georgia: Fourth Annual Conference, **15-17**:129-137