

广西含笑的小孢子发生及雄配子体形成的研究

付琳¹, 徐凤霞¹, 曾庆文^{1*}, 朱开甫²

(1. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 2. 徐闻县神州木兰园培植中心, 广东 湛江 524100)

摘要: 对广西含笑的小孢子发生和雄配子体形成过程进行了解剖学研究。广西含笑的花药具4个花粉囊, 花药壁由表皮、药室内壁、中层(3~5层)和绒毡层(1~2层)组成。绒毡层为腺质绒毡层, 细胞具2至多核, 到花粉成熟时自溶消失。小孢子母细胞减数分裂的胞质分裂为修饰性同时型, 四分体排列方式为交叉型、对称型、“T”型(极少), 成熟花粉粒具单沟, 散粉时为二细胞型。在200个样品中, 约有30%花药的小孢子母细胞在减数分裂前败育, 还有40%的花药具有大量萎缩变形的花粉粒, 花粉萌发率最高值只有25%。

关键词: 广西含笑; 木兰科; 小孢子发生; 雄配子体形成

中图分类号: Q944.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)03-0312-06

Studies of microsporogenesis and male gametophyte formation of *Michelia Guangxiensis*

FU Lin¹, XU Feng-Xia¹, ZENG Qing-Wen^{1*}, ZHU Kai-Fu²

(1. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;
2. Shenzhen Magnolia Garden and Breeding Center of Xuwen, Zhanjiang 524100, China)

Abstract: Microsporogenesis and male gametophyte formation of *Michelia Guangxiensis* were first observed in this paper. Anthers are tetrasporangiate and anther wall is composed of epidermis, fibrous endothecium, middle layer (3-5 layers) and tapetum (1-2 layers). The tapetum is of glandular type with 2 or more nucleus, which degenerate and finally disappear when the pollens are mature. Cytokinesis in meiosis is modified simultaneous type, resulting in decussate, isobilateral or T-shaped (rarely) tetrads. Pollen is monocolpate and sheds at the 2-cell stage. Among the 200 samples, the microspore mother cells in 30% anthers degenerate before meiosis and the microspores in 40% anthers degenerate seriously. The highest pollen germination rate is 25% only.

Key words: Magnoliaceae; *Michelia Guangxiensis*; microsporogenesis; male gametophyte formation

广西含笑 (*Michelia Guangxiensis*) 是木兰科 (Magnoliaceae) 含笑属 (*Michelia*) 的一种植物。本种在1999年被发表, 原产广西龙胜县猫儿山海拔约2100 m 的林中(刘玉壶等, 1999), 华南植物园有引种。广西含笑具两性花, 花被片6枚, 乳白色, 肉质, 近相似, 气味芬芳, 是优良的园林观赏植物, 具有极大的开发利用价值(刘玉壶等, 2004)。

木兰科的许多种类在生殖过程存在问题和障碍, 其中大小孢子和雌雄配子体发育异常、传粉效率及结籽率低等因素是十分关键和重要的问题之一。研究发现鹅掌楸 (*Liriodendron chinense*)、红花木莲 (*Manglietia insignis*)、凹叶厚朴 (*Magnolia biloba*)、香港木兰 (*M. championii*)、西畴含笑 (*Michelia coriacea*) 的大小孢子和雌雄配子体在发育过程

收稿日期: 2010-08-12 修回日期: 2010-12-23

基金项目: 国家自然科学基金(30871960, 30770140); 广东省教育部产学研结合项目(2009B080800037); 广东省科技计划项目(2007A020200004-8) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(30871960, 30770140); Cooperation Project in Industry, Education and Research of Guangdong Province and Ministry of Education of China(2009B080800037); the Science and Technology Project of Guangdong Province(2007A020200004-8)]

作者简介: 付琳(1981-), 女, 山东枣庄人, 博士, 从事木兰科植物的生殖生物学研究, (E-mail) fulin@scbg.ac.cn.

* 通讯作者: 曾庆文, 男, 研究员, 研究方向为稀有濒危植物保护生物学、园林植物遗传育种学, (E-mail) zengqw@scib.ac.cn.

中都有较严重的败育现象(樊汝文等,1990;尹增芳等,1997;王利琳等,2005;赵兴峰等,2008)。长叶木兰(*M. paenetalauuma*)、毛桃木莲(*Manglietia moto*)、含笑(*Michelia figo*)有少数不正常的花粉(熬成齐,2007;陈东钦,2008)。在含笑属被研究的3个种中,仅有紫花含笑(*M. crassipes*)的花粉发育正常(陈东钦,2008)。Liao等(2000)发现广西含笑的结实率很低,种子萌发率也不到10%;他们对广西含笑的大孢子发生和雌配子体形成进行了研究,发现在二分体、四分体、功能大孢子、二核胚囊、成熟胚囊、胚珠阶段都存在败育现象,在球形原胚阶段,胚乳细胞无内含物。

除胚胎学资料外,其它有关广西含笑的研究资料比较少。王亚玲等(2005)对广西含笑的染色体进行了研究,发现其染色体为二倍体, $2n=38$;张新华等(2008)报道了广西含笑的花粉形态,但是没有提及花粉是否具有萎缩或败育现象。笔者在对广西含笑的花粉形态进行扫描电镜观察后发现其花粉存在严重萎缩的现象。目前对广西含笑的小孢子发生和雄配子体形成的研究还是空白,所以从这一方面进一步研究广西含笑的胚胎学发育机理,阐明其生殖发育特点,探讨迁地保护过程中植株的发育状况,为广西含笑的胚胎学研究提供资料。

1 材料和方法

实验材料于2008年2~4月采自中国科学院华南植物园木兰园的广西含笑栽培居群,取样4株,平均胸径约22 cm,每株采集50朵不同发育阶段的花蕾,凭证标本存中国科学院华南植物园标本馆(IB-SC)。每隔3~5 d,采集不同发育时期的广西含笑花芽,直到开花。FAA(70%酒精:冰醋酸:甲醛=90:5:5)固定,爱氏苏木精(2%)整体染色,氨水(2%)冲洗蓝化,酒精逐级脱水(30%,50%,75%,85%,95%,100%,100%),二甲苯透明,常规石蜡切片,制成永久装片,切片厚度为3~8 μm 。Olympus AX70型显微镜观察及拍照。

花粉形态的观察方法为取新鲜花粉,直接涂到粘有导电胶的金属台上,然后进行喷金处理,JSM-6360LV型扫描电镜直接观察、拍照。

花粉萌发实验方法为采集新开放且未散粉的广西含笑花枝水培,待花粉自然散出后,以20%蔗糖+ 2×10^{-4} mol/L 硼酸溶液作培养基,室温(26 $^{\circ}\text{C}$)

培养,分别在4 h,6 h,8 h,10 h后镜检,次日复检。在10 \times 20视野下,统计其中的花粉粒总数与萌发的花粉粒数,花粉萌发率=萌发花粉数/花粉粒总数,重复5个视野,取平均值。

2 观察结果

2.1 成熟花部形态结构

广西含笑的花为两性花,成熟雄蕊群淡黄色,40~70枚,长1~1.5 cm,花药宽而狭长,占整个雄蕊的大部分,侧向开裂。

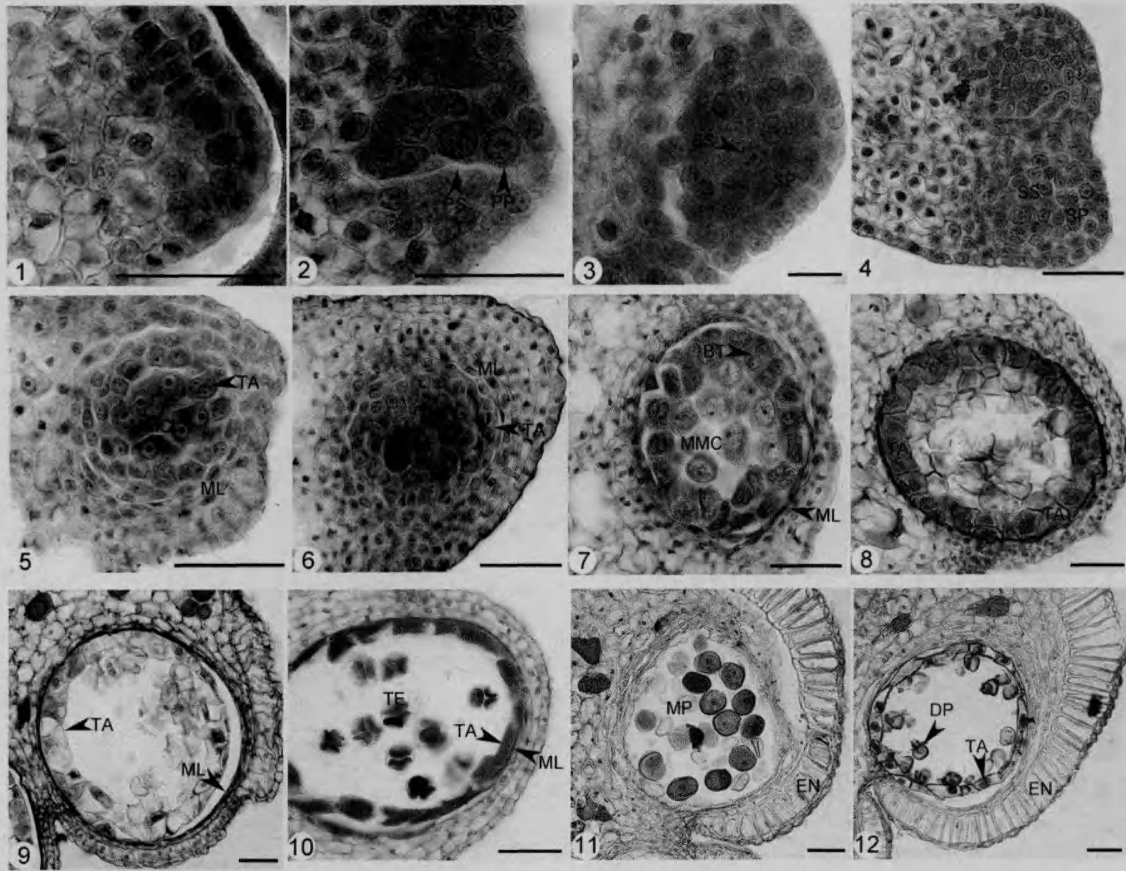
2.2 花药的形成及花药壁层的变化

广西含笑花药原基的表皮内方为均一的分生组织,无组织分化,随后内部中央逐渐分化出形成层,在四个角隅形成四个小突起,每个突起的表皮下分化形成1个孢原细胞(横切面观察,图版I:1)。孢原细胞经平周分裂形成两层细胞,分别是外层的初生壁细胞和内层的初生造孢细胞(图版I:2),这两个细胞明显比周围细胞的体积大。初生壁细胞经多次分裂后形成花药壁,由表皮、药室内壁、3~5层中层和1~2层绒毡层组成(图版I:3-6)。

花药壁形成初期,4层壁细胞没有很大区别(图版I:4)。到小孢子母细胞时期(图版I:5,6),中层细胞开始发生变化,靠近绒毡层的中层细胞变细长,在不同的花药中,中层细胞层数显著不同,最少为3层(图版I:5),最多可达5层(图版I:6)。绒毡层细胞体积开始变大,形状变得不规则,细胞质浓,细胞核大而明显,与其它细胞很容易区分。此时,其它花药壁细胞都为长方形,大小形状很相似。

小孢子母细胞减数分裂前(图版I:7),最内层的中层细胞仅留残余,外层的中层细胞体积也开始变小。绒毡层细胞随着营养物质的积累已经发育成熟,与其它花药壁细胞相比体积很大,排列疏松,具2核或多核,细胞质浓厚,着色深。实验中发现,很多小孢子母细胞在减数分裂前发生败育,周围的绒毡层细胞发育异常,紧贴着细胞壁的其他结构,排列十分紧密(图版I:8,9),而正常的绒毡层此时已经和花药壁细胞分离,排列也比较疏松(图版I:7)。

小孢子四分体时期,中层细胞仅留残余(图版I:10),绒毡层细胞逐渐解体,细胞质多聚集在一起,着色很深。中层细胞此时已呈细长形。药室内壁细胞的体积开始增大,细胞质分布均匀,细胞内形成液泡。



图版 I AC:孢原细胞; BT:双核绒毡层; DP:败育的花粉; EN:药室内壁; ML:中层; MMC:小孢子母细胞; MP:成熟花粉; PP:初生壁细胞; PS:初生造孢细胞; SP:次生壁细胞; SS:次生造孢细胞; TA:绒毡层; TE:四分体。1. 孢原细胞; 2. 孢原细胞分裂形成初生壁细胞和初生造孢细胞; 3. 初生壁细胞和初生造孢细胞分别形成次生壁细胞和次生造孢细胞; 4. 示花药壁细胞的分裂; 5. 具5层细胞的花药壁; 6. 具7层细胞的花药壁, 示绒毡层细胞和小孢子母细胞; 7. 减数分裂前的小孢子母细胞和花药壁, 示具2至多核的绒毡层; 8. 败育的小孢子母细胞, 示排列成一环、着色很深的绒毡层细胞; 9. 败育的小孢子母细胞, 示排列成一环、具液泡的绒毡层细胞; 10. 四分体时期的花药壁, 示绒毡层的形态和中层的退化; 11. 成熟小孢子时期的花药壁, 示加厚的药室内壁细胞; 12. 败育的小孢子, 示排列成一环的绒毡层细胞。标尺=50 μm 。

Plate I AC: Archesporial cell; BT: Binucleate tapetal cell; DP: Degenerated pollen; EN: Endothecium; ML: Middle layer; MMC: Microspore mother cell; MP: Mature pollen; PP: Primary parietal cell; PS: Primary sporogenous cell; SP: Secondary parietal cell; SS: Secondary sporogenous cell; TA: Tapetum; TE: Tetrad. 1. Archesporial cell; 2. Archesporial cell divides into primary sporogenous cell and primary parietal cell; 3. Primary sporogenous cell and primary parietal cell divide into secondary sporogenous cell and secondary parietal cell individually; 4. The development of the parietal cells; 5. Developed anther wall with 5-layer parietal cells; 6. Developed anther wall with 7-layer parietal cells, showing the microspore mother cells; 7. Mature microspore mother cells before meiosis; 8. Degenerated microspores mother cells, showing the exceptional tapetum cell which stained densely; 9. Degenerated microspores mother cells, showing the exceptional tapetum cell with the vacuoles; 10. Anther wall of tetrad stage, showing the tapetum and degenerated middle layer; 11. Mature anther, showing the mature pollens and the anther wall; 12. Degenerated microspores, showing the exceptional tapetum cell which are arranged in a circle. bars=50 μm .

花粉成熟时(图版 I:11), 绒毡层细胞已解体消失, 绒毡层在整个发育过程中都处于原来的位置, 保持单个细胞, 细胞之间没有融合, 药室空腔明显, 因此应为腺质绒毡层。所有中层细胞的细胞壁都已解体, 仅留残余的细胞质。药室内壁细胞成径向长方形, 细胞体积很大, 具大液泡, 细胞核紧贴细胞壁。药室内壁细胞径向壁出现次生壁的纤维素加厚, 而且在整个花药周围都具有似药室内壁的药隔下皮层, 但是在同侧花粉囊相接的部位, 少数几个药室内壁细胞并不加厚, 在花药成熟时随着机械牵拉, 细胞

破裂, 花粉囊就会在此处开裂, 花粉随之散出。实验中发现了很多败育的花粉, 它们周围的绒毡层细胞发育异常, 没有发生解体, 而是与相邻的绒毡层细胞连成一圈, 细胞质聚集在细胞的中央(图版 I:12)。

2.3 小孢子的发生和雄配子体的发育

2.3.1 小孢子的发生 小孢子由小孢子母细胞发育形成。孢原细胞分裂形成的初生造孢细胞(图版 I:2)进行有丝分裂, 在小孢子囊中形成次生造孢细胞(图版 I:3), 再转化成小孢子母细胞(即花粉母细胞)(图版 I:5,6)。小孢子母细胞在减数分裂前体

积达到最大,比其它壁细胞大数倍,形状不规则,具1个大而圆的细胞核,细胞质浓厚,储备了足够的营养物质(图版 I:7)。随着花粉囊的增大,原来排列紧密的小孢子母细胞在体积变大后开始彼此分离。减数分裂 I 开始,小孢子母细胞内的染色体聚集到细胞的中央(图版 II:1),然后排列在赤道面上(图版 II:2),随着纺锤丝的牵拉到达两极(图版 II:3)。染色体在两极进行复制,此时在赤道面没有形成细胞壁,但细胞质在赤道面的位置开始从外向内缢裂(图版 II:4)。到达两极的染色体分别排列到一侧细胞质的赤道面上,开始进行减数分裂 II,此时缢裂进一步加深(图版 II:5)。最后细胞壁同时形成,把细胞质分为四部分,形成对称型(34%),交叉型(66%),“T”型(极少)的四分体(图版 I:10;图版 II:6-11),小孢子都为长椭圆形。因此减数分裂的胞质分裂方式为修饰性同时型。

2.3.2 雄配子体发育 小孢子从四分体释放出来以后,花粉壁逐渐增厚,细胞核变大成圆形,位于中央,细胞质变浓且分布均匀。随后细胞开始液泡化,形成许多小液泡,再合并成一个大液泡,大液泡将细胞核与细胞质挤向一边,紧贴细胞壁,进入单核靠边期,细胞核开始进行均等的有丝分裂,营养核位于花粉粒的中央,生殖核紧贴花粉壁,两核之间形成细胞板,将细胞质分割为不均等的两部分(图版 II:12)。随着花粉粒的发育,生殖核形成一个生殖细胞,游离于营养细胞的细胞质中(图版 II:13),此时花粉粒的细胞质分布均匀,大液泡消失,雄配子体发育完成。

2.4 雄蕊发育过程中的异常现象

实验发现,在小孢子母细胞减数分裂前和小孢子释放阶段存在严重的败育现象(图版 I:12;图版 II:15-16)。在所观察的 200 个样品中,约有 30% 花粉的小孢子母细胞(图版 I:8,9)在减数分裂前败育,小孢子母细胞收缩,细胞核和细胞质发生粘连,小孢子释放时期,花药壁发育异常,绒毡层退化迟缓,还有 40% 的花药(图版 I:12)具有大量萎缩变形的花粉粒。这些败育花粉粒(图版 II:15-16)的体积比正常花粉粒(图版 II:14)的体积小,花粉壁破损,没有或只有少量的细胞质。

2.5 花粉萌发实验结果

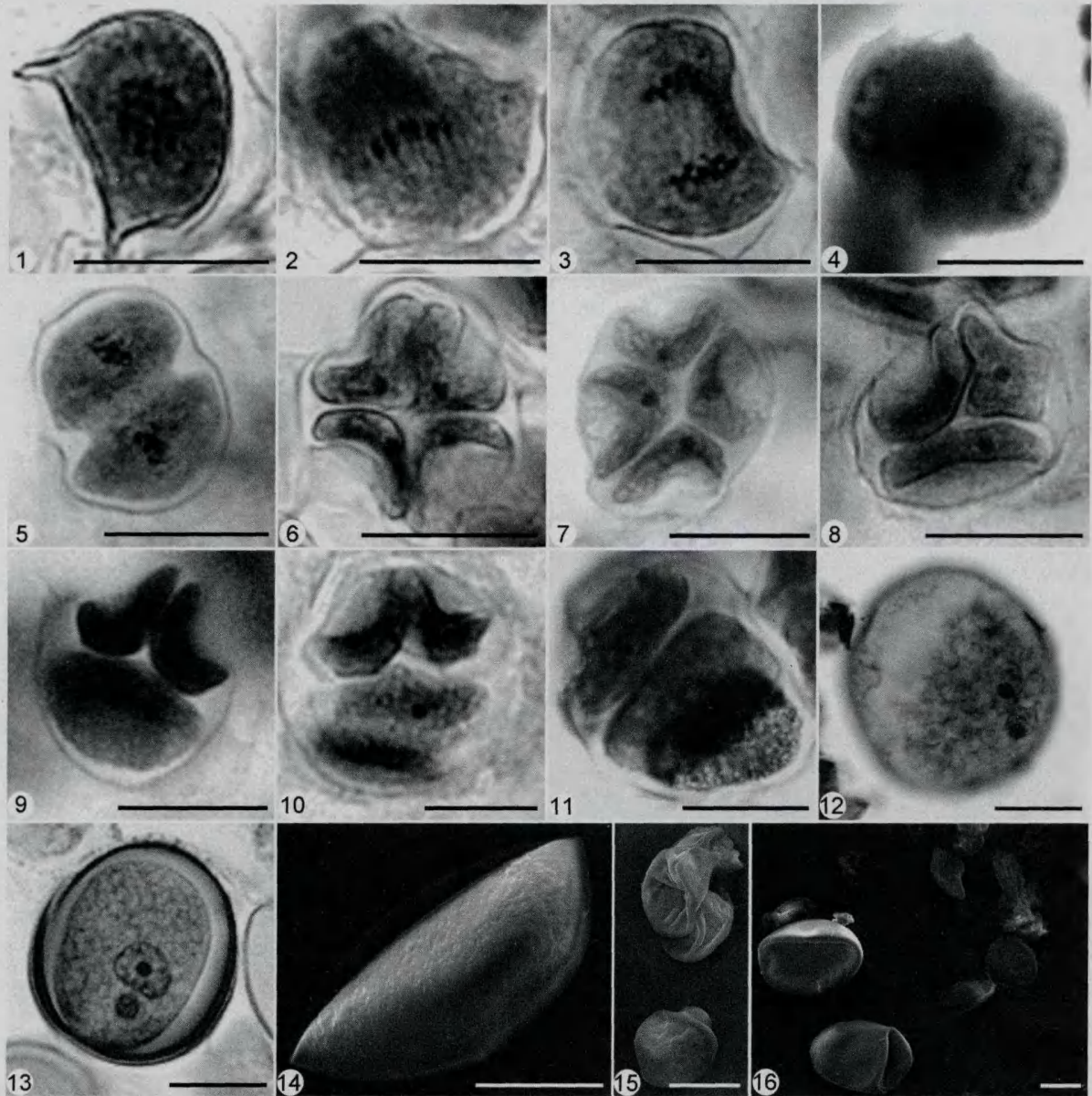
对广西含笑的新鲜花粉进行初步的萌发测定(表 1)。结果显示,广西含笑的花粉在培养 6~8 h 后萌发最旺盛,随后萌发率开始降低。通过实验测出的平均萌发率很低,最高值约为 25%。

3 结论与讨论

广西含笑的雄蕊具 4 个花粉囊,其花药壁的结构和功能与木兰科已研究的种类基本一致(樊汝文等,1990;尹增芳等,1997;潘跃芝等,2001;王利琳等,2005;熬成齐,2007;赵兴峰等,2008;王亚玲等,2008;陈东钦,2008)。广西含笑与含笑属的含笑、西畴含笑、紫花含笑相同,花药壁具有多层中层细胞(3~6 层)这一比较原始的特征。但是,广西含笑四分体类型主要为具有原始性状的左右对称型和十字交叉型,没有发现四面体型四分体,而含笑、西畴含笑都具有较进化的四面体型四分体(熬成齐,2007;赵兴峰等,2008)。熬成齐(2007)观察到含笑具有典型的 3 细胞成熟花粉,陈东钦(2008)也发现紫花含笑成熟花粉的部分生殖细胞具有双核仁,正在分化为三细胞,但是广西含笑在散粉时花粉粒只具有 2 核,没有发现与含笑和紫花含笑花粉相类似的现象。通过与含笑属已报道的三个种对比发现,广西含笑在雄配子体形成方面保留了比较原始的胚胎发育特征。

广西含笑的绒毡层在发育过程中存在异常发育现象。广西含笑的正常绒毡层在花药发育过程中不断分泌各种物质供小孢子发育,到花粉成熟时会自溶消失,但部分花药的绒毡层细胞在小孢子母细胞减数分裂前排列紧密,着色很深,具有大液泡而且过度液泡化,在小孢子发育阶段连成一个圆圈,细胞质凝聚成团,不发生解体,凡是小孢子母细胞和小孢子发生败育的花粉囊中,其中的绒毡层都具有这些异常现象。

雄性不育在植物界中是一种常见现象,据统计,已在 43 科,162 属,320 个种和 297 个种间杂种中发现了雄性不育现象(Kaul,1988)。绒毡层作为花药壁的最内层,在花粉形成过程有十分重要的作用。雄性不育的发生与绒毡层正常的发育途径受干扰有关(胡适宜,1983;Aarts 等,1997;Jin 等,1997;Taylor 等,1998)。在高粱(*Sorghum bicolor*)、向日葵(*Helianthus annuus*)、红麻(*Hibiscus cannabinus*)、白菜(*Beassica pekinensis*)、光敏核不育水稻(*Oryza sativa* ssp. *japonica*)等植物不育系的不育花药中,绒毡层细胞都有过度生长、肥大等异常现象,增大的绒毡层有时表现为多核结构,有的绒毡层细胞不但没有退化,而且一直可保留到花药成熟的开花期(Joppa 等,1966;Horner,1977;朱丽梅等,2007)。



图版 II 1. 减数分裂前期I, 示染色体; 2. 减数分裂中期I, 示染色体排列在赤道板上; 3. 减数分裂末期I, 示染色体向两极移动; 4. 减数分裂前期II, 示染色体到达两极; 5. 减数分裂中期II, 示染色体排列在赤道板上; 6-7. 对称型的四分体(极面观); 8-9. 交叉型的四分体; 10. “T”型的四分体; 11. 对称型的四分体(侧面观); 12. 具双核的花粉粒, 可见均等的营养核和生殖核; 13. 成熟花粉粒; 14. 正常花粉粒的花粉形态; 15. 败育花粉粒的花粉形态; 16. 正常和败育花粉粒的形态对比。标尺=20 μ m。

Plate II 1. Anaphase of Meiosis I, showing the chromosomes; 2. Metaphase of Meiosis I, showing the chromosomes at the plates; 3. Anaphase of Meiosis I, showing the separation of chromosomes to the poles; 4. Anaphase of Meiosis I, showing the chromosomes at the poles; 5. Metaphase of Meiosis II, showing the chromosomes at the plates; 6-7. Tetrads of isobilateral (from polar side); 8-9. Tetrads of decussate; 10. Tetrads of “T”-shaped; 11. Tetrads of isobilateral (from lateral side); 12. Bicellular pollen grains, showing the equal generative nuclear and vegetative nuclear; 13. Mature pollen grain; 14. Morphology of the normal pollen grain; 15. Morphology of the degenerated pollen grains; 16. Morphological comparison between the normal and the degenerated pollen grains. Bars=20 μ m.

尹增芳等(1994)发现鹅掌楸的花粉大部分能够正常发育,但在部分花粉发育过程中可观察到异常现象:造孢组织解体,胼胝质异常积累与降解,绒毡层发育异常,生殖细胞败育等现象;其中绒毡层发育异常主要分为两种情况:(1)绒毡层细胞早期退化,

(2)绒毡层细胞肥大生长,绒毡层细胞高度液泡化,因而体积特别大,几乎充满整个药室。王亚玲等(2005)发现香港木兰的小孢子母细胞分裂前期,绒毡层细胞就开始出现液泡化、细胞形态不清、染色深等败育现象;到四分体和小孢子时期,绒毡层已失去

细胞形态; 绒毡层的提前解体, 使小孢子发育失去营养来源, 而最终导致药室内的小孢子全部败育。陈东钦(2008)发现少部分长叶木兰的绒毡层有提前液泡化现象。广西含笑雄性败育发生时同样具有严重的绒毡层液泡化现象, 因此推测绒毡层的异常发育导致了小孢子母细胞和小孢子的败育, 而绒毡层发育异常的原因, 还需进一步研究。

表 1 广西含笑的花粉萌发率
Table 1 Pollen germination rates of
Michelia Guangxiensis

萌发时间 Germination time(h)	萌发率 Germination rate(%)
4	8±2.3
6	13±3.7
8	22±1.9
10	25±2.5

Liao 等(2004)研究发现, 在广西含笑的大孢子发生和雌配子体发育过程中, 在二分体、四分体、功能大孢子、二核胚囊、成熟胚囊、胚珠阶段都有败育现象, 在球形原胚阶段, 胚乳细胞无内含物。本研究也发现, 广西含笑的花粉发育过程中存在败育, 大小孢子发生和雌雄配子体发育同时败育对植物的传粉和生殖发育会产生一定影响, 从而导致广西含笑的结实率极低。但与其处于相同生长环境下的长叶木兰、毛桃木莲仅有少量不正常花粉, 紫花含笑、焕镛木没有花粉败育(陈东钦, 2008), 这说明每个种类由于自身适应性不同, 受周围环境影响的程度也不相同。在华南植物园的的生长环境中, 广西含笑的生殖发育具有明显的败育情况, 而其在原产地的生殖发育情况还没有研究资料。在下一步研究中, 需要通过与原产地的材料进行对比研究, 来探讨环境对广西含笑生殖发育的影响及具体的影响程度。

致谢 承蒙中国科学院华南植物园木兰园杨科明等协助采集实验材料, 公共实验室胡晓颖老师、结构发育实验室邵耘老师在实验过程中给予指导, 在此表示感谢。

参考文献:

胡适宜. 1982. 被子植物胚胎学[M]. 北京: 高等教育出版社: 43
陈东钦. 2008. 木兰科代表植物花药发育与小孢子发生[D]. 北京: 中国科学院研究生院硕士学位论文
Aarts MGM, Hodge R, Kalantidis K, et al. 1997. The Arabidopsis Male Sterility 2 protein shares similarity with reductases in elongation/condensation complexes[J]. *Plant J*, **12**: 615-623
Ao CQ(熬成齐). 2007. Microsporogenesis, development of male

gametophyte in *Michelia figo* and their systematic significance (含笑小孢子的发生、雄配子体的发育及其系统学意义)[J]. *Guihaia*(广西植物), **27**(6): 836-839
Fan RW(樊汝文), Yin ZF(尹增芳), You LX(尤录祥). 1990. The observation of cell phytomorphology of the bud's differentiation in the *Liriodendron chinense* (中国鹅掌楸花芽分化的细胞形态学观察)[J]. *J Nanjing Fore Univ*(南京林业大学学报), **14**(2): 26-33
Horner HT. 1977. A comparative light- and electron-microscopic study of microsporogenesis in male-fertile and cytoplasmic male-sterile sunflower(*Helianthus annuus*)[J]. *Ame J Bot*, **64**: 745-759
Jin W, Horner HT, Palmer RG. 1997. Genetics and cytology of a new genic male-sterile soybean(*Glycine max*)[J]. *Sex Plant Reproduction*, **10**: 13-21
Joppa HA, Mcneal FH, Walsh JR. 1966. Pollen and anther development in cytoplasmic male sterile wheat (*Triticum aestivum*)[J]. *Crop Sci*, **6**: 296-297
Kaul MLH. 1988. Male sterility in higher plants[M]. Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 117
Liao JP, Chen ZL, Cai XZ, et al. 2000. Embryology of *Manglietia glauca* var. *sumatrana* and *Michelia Guangxiensis* and the abnormal development[C]//Liu YH, Fan HM, Chen ZY (eds). Proceedings of the International Symposium of the Family Magnoliaceae. Beijing: Science Press: 177-187
Liu YH(刘玉壶), Zhou RZ(周仁章). 1999. A new species of *Michelia* from China(广西含笑属一新种)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报), **7**: 191-192
Liu YH(刘玉壶), Zeng QW(曾庆文), Zhou RZ(周仁章), et al. 2004. Magnolias of China(中国木兰)[M]. Beijing(北京): Science & Technology Press(科学技术出版社): 270-271
Taylor PE, Glover JA, Lavithis M, et al. 1998. Genetic control of male fertility in *Arabidopsis thaliana*: structural analyses of postmeiotic developmental mutants[J]. *Planta*, **205**: 492-505
Wang LL(王利琳), Hu JQ(胡江琴), Pang JL(庞基良), et al. 2005. Studies on the megasporogenesis and microsporogenesis and the development of their female and male gametophyte in *Magnolia biloba* (凹叶厚朴大、小孢子和雌、雄配子体发育的研究)[J]. *Acta Biol Exper Sin*(实验生物学报), **38**(6): 490-500
Wang YL(王亚玲), Zhang SZ(张寿洲), Li Y(李勇), et al. 2005. Chromosome numbers of 13 taxa and 12 crossing combinations in Magnoliaceae(木兰科 13 个分类群和 12 个杂交组合的染色体数目)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), **43**(6): 545-551
Yin ZF(尹增芳), Fan RW(樊汝文). 1997. The ultrastructure observation on the abortion of *Liriodendron chinense* pollen(鹅掌楸花粉败育过程的超微结构观察)[J]. *J Plant Res Environ*(植物资源与环境), **6**(2): 1-7
Yin ZF(尹增芳), Fan RW(樊汝文). 1994. Ultrastructure observations of the development of male gametophyte in *Liriodendron chinense*(中国鹅掌楸雄配子体发育的超微结构研究)[J]. *J*

(下转第 311 页 Continue on page 311)

杞存在较高的遗传分化。我们今后有必要在群体水平上开展谱系生物地理学等方面的深入研究,以阐明中国分布的枸杞属植物的进化历史及杂交类群形成的进化机制。

致谢 本文得到谢磊博士(北京林业大学)提出宝贵修改意见,向秋云博士(North Carolina State University, USA)修改英文。在此一并致谢。

参考文献:

- 王亚军,安巍,石志刚,等. 2008. 枸杞药用价值的研究进展[J]. 安徽农业科学, **36**(30):13 213-13 218
- 匡可任,路安民. 1978. 中国植物志第 67 卷第 1 分册(茄科) [M]. 北京:科学出版社
- 陈天云,蒋旭亮,张志耘. 宁夏茄科一新种和一新变种[J]. 广西植物(待发表)
- 李吉宁,蒋旭亮,李志刚,等. 清水河枸杞,宁夏茄科一新种[J]. 广西植物(待发表)
- Edgar RC. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput[J]. *Nucleic Acids Res*, **32**(5):1 792-1 797
- Fukuda T, Yokoyama J, Ohashi H. 2001. Phylogeny and biogeography of the genus *Lycium*(Solanaceae): inferences from chloroplast DNA sequences[J]. *Mol Phylogenet Evol*, **19**(2):246-258
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood[J]. *Syst Biol*, **52**(5):696-704
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT[J]. *Nucl Acids Symp Ser*, **41**:95-98
- Huber T, Faulkner G, Hugenholtz P. 2004. Bellerophon: a program to detect chimeric sequences in multiple sequence alignments[J]. *Bioinformatics*, **20**(14):2 317-2 319
- Levin RA, Miller JS. 2005. Relationships within tribe *Lycieae* (Solanaceae): paraphyly of *Lycium* and multiple origins of gender dimorphism[J]. *Am J of Bot*, **92**(12):2 044-2 053
- Levin RA, Shak JR, Miller JS. 2007. Evolutionary relationships in tribe *Lycieae*(Solanaceae)[J]. *Acta Hort*, **745**:225-240
- Miller JS. 2002. Phylogenetic relationships and the evolution of gender dimorphism in *Lycium*(Solanaceae)[J]. *Syst Bot*, **27**(2):416-428
- Miller JS, Venable DL. 2003. Floral morphometrics and the evolution of sexual dimorphism in *Lycium*(Solanaceae)[J]. *Evolution*, **57**(1):74-86
- Miller JS, Levin RA, Feliciano NM. 2008. A tale of two continents: Baker's rule and the maintenance of self-incompatibility in *Lycium*(Solanaceae)[J]. *Evolution*, **62**(5):1 052-1 065
- Miller JS, Kamath A, Levin RA. 2009. Do multiple tortoises equal a hare? The utility of nine noncoding plastid regions for species-level phylogenetics in Tribe *Lycieae*(Solanaceae)[J]. *Syst Bot*, **34**(4):796-804
- Olmstead RG, Bohs L, Migid HA, et al. 2008. A molecular phylogeny of the Solanaceae[J]. *Taxon*, **57**(4):1 159-1 181
- Posada D. 2008. ModelTest: Phylogenetic model averaging[J]. *Mol Biol Evol*, **25**:1 253-1 256
- Yeung K, Miller JS, Savage AE, et al. 2005. Association of ploidy and sexual system in *Lycium californicum*(Solanaceae)[J]. *Evolution*, **59**(9):2 048-2 055
- Yuan YW, Zhang ZY, Chen ZD, et al. 2006. Tracking ancient polyploids: a retroposon insertion reveals an extinct diploid ancestor in the polyploid origin of belladonna[J]. *Mol Biol Evol*, **23**(12):2 263-2 267
- Plant Res Environ*(植物资源与环境), **3**(3):1-8
- Zhang XH(张新华), Xia NH(夏念和). 2008. Pollen morphology of *Michelia* and its systematic significance(含笑属(木兰科)植物花粉形态及其系统学意义)[J]. *Guihaia*(广西植物), **28**(3):311-316
- Zhao XF(赵兴峰), Sun WB(孙卫邦), Yang HB(杨华斌), et al. 2008. Mega- and microsporogenesis and development of female and male gametophytes of *Michelia coriacea* (Magnoliaceae), a globally critical endangered plant in South-East Yunnan of China (极度濒危植物西畴含笑的大小孢子发生及雌雄配子体发育)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), **30**(5):549-556
- Zhu LM(朱丽梅), Ai SY(艾素云), Zhou RY(周瑞阳). 2007. A cytological study on microsporogenesis of cytoplasmic male sterile lines in Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) (红麻细胞质雄性不育系小孢子败育的细胞学观察)[J]. *Acta Agron Sin*(作物学报), **33**(6):999-1 003

(上接第 317 页 Continue from page 317)