

石竹雄性不育系小孢子形成过程的细胞学观察

傅小鹏, 胡金义, 胡惠蓉, 包满珠

(华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 【目的】研究石竹不育系与可育系小孢子形成过程的异同。【方法】利用压片及石蜡切片等方法观察石竹雄性不育系与可育系小孢子发育过程。该不育系(H-37B)是通过在石竹自交6代的自交系中发现的1株雄性不育株与可育株经过连续杂交和2代回交获得的不育系(H-37B)。【结果】可育系小孢子发育经历了造孢细胞、小孢子母细胞、四分体等时期,最后发育成花粉。不育系败育现象在造孢细胞增殖期、小孢子母细胞减数分裂期以及四分体至单核期都有发生。石竹可育花粉外形饱满,圆形,生活力强;而不育花粉外形空瘪,不规则,无生活力。【结论】绒毡层的异常发育是导致小孢子败育的主要原因。

关键词: 石竹; 小孢子发育; 雄性不育; 石蜡切片

Cytological Observation of Microsporogenesis in Male-Sterile Lines of Chinese Pink (*Dianthus chinensis* L.)

FU Xiao-peng, HU Jin-yi, HU Hui-rong, BAO Man-zhu

(Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education/College of Horticultural and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract: 【Objective】Difference of microsporogenesis between the male-sterile line and fertile line of Chinese pink was studied. 【Method】The microsporogenesis process of male sterile and fertile lines in Chinese pink was histologically examined using squashed pollen and paraffin embedded sections. A stable male-sterile line (H-37B) was obtained from one 6 generations inbred lines crossed for several rounds and 2 generations' backcross. 【Result】In fertile line, development of the mature pollen grains was followed through the initiation of the sporogenous cell, microsporocyte formation and the tetrad developmental period. In the male-sterile line, abortion of the developing pollen grains was observed to take place at various stages, namely, sporogenous cell growth, mother cell meiosis and tetrad transformation to the uni-nuclear state. The pollen grains of the fertile line were spheroid, turgid and viable. By contrast, the male sterile line produced pollen that was irregular in shape, empty and non-viable. 【Conclusion】The abortion of the microspore is mainly resulted from the exceptionally growth of the tapetum layer.

Key words: *Dianthus chinensis*; Microsporogenesis; Male sterile; Paraffin section

0 引言

【研究意义】植物雄性不育是指植物的雄性器官或细胞——花药或花粉不育。在杂交育种上利用雄性不育,可免除人工去雄的操作,节省大量的人力^[1]。研究石竹雄性不育系小孢子的败育过程和特点,可为阐明其不育机理提供细胞学资料,为合理利用种质资源、利用杂交优势进行F₁代制种提供理论依据,并可

为商品化生产种子,摆脱对进口种子的依赖提供一条有效途径。【前人研究进展】石竹(*Dianthus chinensis* L.)为石竹科石竹属花卉,其杂种F₁代广泛应用于花坛、花境及岩石园。前人对石竹的研究主要集中在组织培养^[2,3]、田间栽培管理^[4,5]、基因工程^[6-8]等方面。对于雄性不育的研究,在作物^[9,10]及蔬菜^[11,12]上已经非常深入,但在观赏植物上,仅有对百合^[13,14]、桃树^[15]等的少量研究。【本研究切入点】关于石竹雄性不育

收稿日期: 2007-03-13; 接受日期: 2007-06-08

基金项目: 国家“948”项目(2003-Z36)

作者简介: 傅小鹏(1980-),女,山东德州人,博士研究生,研究方向为园林植物育种。通讯作者包满珠(1963-),男,甘肃漳县人,教授,研究方向为园林植物育种。E-mail: mzbao@mail.hzau.edu.cn

的研究尚未见报道,对石竹雄性不育性状的研究,不仅可以明确雄性不育性状发生过程的机理,同时还可以为杂交优势育种提供理论基础。【拟解决的关键问题】本研究以石竹 H-37K 可育系和 H-37B 不育系为材料,从细胞学水平观察其花粉发育过程,比较可育系小孢子与不育系小孢子在发育过程中的异同,明确不育系小孢子发育受阻的时期和方式。

1 材料与方法

1.1 材料

在石竹经过自交 6 代选育的自交系中发现 1 株雄性不育株,将其与可育株经过连续杂交和 2 代回交,获得 H-37B 不育系;H-37K 为对照可育株系。

1.2 方法

1.2.1 石竹可育系与不育系花器官特征观察 在石竹盛花期,选择完全开放的花朵(雌蕊与花瓣近等高),观测两种花器官及花药外形的形态差异。取可育系成熟开裂的花药,将花粉轻轻蘸于载玻片上备用;取不育系花药,用解剖针挑开后将花粉置于载玻片上备用。两种花粉于 NIKON TE2000-u 荧光显微镜下明视野观察形态,测定其大小并拍照;0.1% 脱色水溶液苯胺蓝染色后,荧光下观察花粉育性,并进一步采用花粉萌发试验,以硼酸 0.05%,糖 $100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 花粉培养基对可育系及不育系花粉进行生活力测定。

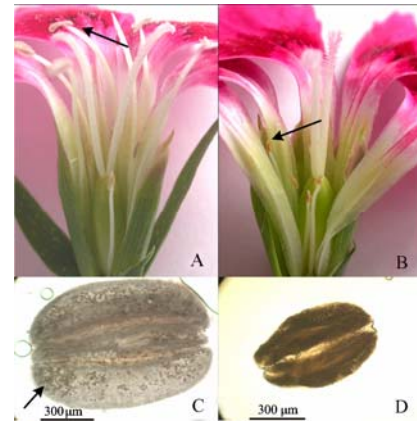
1.2.2 石竹可育系与不育系小孢子发育过程观察 晴天上午 8:00~10:00 分别取不育系与可育系不同长度的花蕾,置于 FAA 固定液中,于 4°C 冰箱内保存备用。按常规方法制作石蜡切片,切片厚度为 $8 \mu\text{m}$,NIKON TE2000-u 荧光显微镜下观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 石竹雄性可育系与雄性不育系花器官的形态特征

石竹可育系 H-37K 的花为完全花,花萼 5 裂,花瓣 5 枚,雄蕊 10 枚、2 轮排列,雌蕊 2~4 枚(图 1-A)。花丝较长,花药与柱头高度近等,背着药(图 1-A),花药饱满,显微镜下可看到花药内有许多花粉(图 1-C),成熟后纵裂。

雄性不育系 H-37B 的花能正常开放,除雄蕊外其它外观与可育花均一样(图 1-B)。雄蕊表现为花丝短,花药高度仅及子房顶端(图 1-B),花药空瘪、不能散粉,显微镜下可看到其花药内花粉很少(图 1-D)。



A. 可育花,示花丝较长,花药饱满,花药与柱头高度近等(箭头); B. 不育花,示花丝短,花药空瘪,花药高度仅及子房顶端(箭头); C. 雄性可育花药,示花粉多(箭头); D. 雄性不育花药,花粉少
A. Fertile plant, note: long filament, plump anther and the juxtaposition of the anther-top with the stigma (indicated by arrow); B. Male-sterile plant, note: shorter filament, empty anther and position of the anther-top relative to the ovary (indicated by arrow); C. Fertile anther, note: abundant number of pollen grains (indicated by arrow); D. Male-sterile anther, note: low numbers of pollen grains

图 1 不育植株与可育植株花器官形态比较

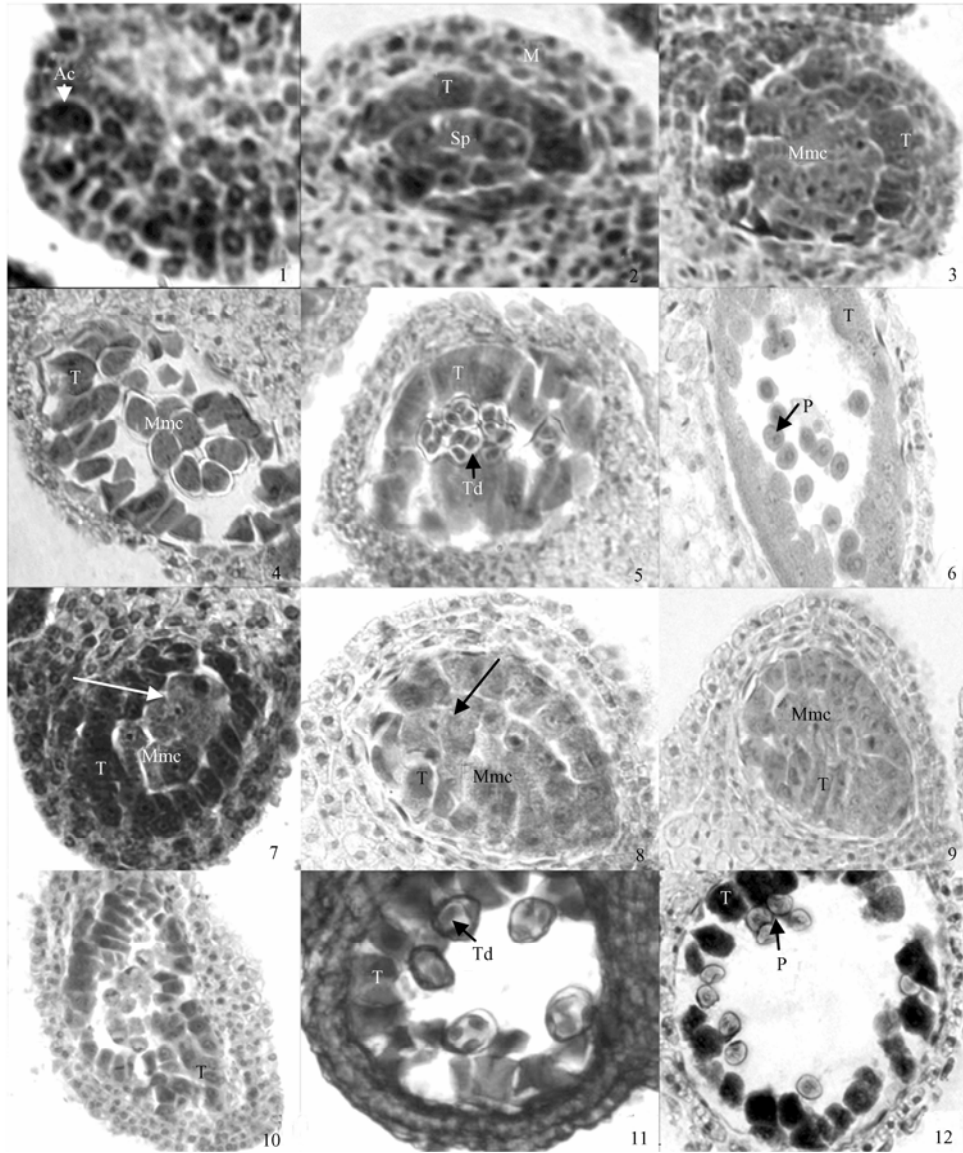
Fig. 1 Flower morphology in fertile and male sterile plants of *Dianthus chinensis* L.

2.2 石竹可育系和不育系小孢子发育过程的细胞学比较

2.2.1 石竹可育系小孢子的发育过程 观察发现 H-37K 可育系花药发育过程为:雌蕊原基逐渐分化成小花药,由于花药 4 个角隅细胞分裂较快,花药变为 4 个裂瓣的形状,每个瓣表皮层下各分化出 1 个孢原细胞(图 2-1),孢原细胞先发生一次平周分裂,向外分化形成初生壁细胞,向内形成初生造孢细胞。初生壁细胞再进行多次平周分裂和垂周分裂,从外向内形成药室内壁、中层和绒毡层(图 2-2);初生造孢细胞刚形成时,细胞质染色较深,包裹成一团,细胞外观呈多边形(图 2-2)。初生造孢细胞经过有丝分裂后形成更多的次生造孢细胞——小孢子母细胞,小孢子母细胞的细胞质浓厚、液泡小、细胞核大,并逐渐增大进入减数分裂时期(图 2-3),随之小孢子母细胞之间形成胼胝质壁,细胞逐渐分散开来,同时绒毡层细胞逐渐变大,且多为 2~4 个核仁(图 2-3)。小孢子母细胞减数分裂形成二分体后立即形成新细胞壁,在第一次减数分裂后期形成一双核细胞而没有二分体时期(图 2-4),在第二次减数分裂中,两个核同时进行分裂,分裂完成时在 4 个核之间产生壁,

同时分隔成 4 个细胞 (图 2-5)，此时，4 个小孢子的排列方式主要是四面体形，还有少量的左右对称形。随后，包裹四分体的胼胝质溶解，小孢子释放 (图 2-6)；此时的花药壁的特征是绒毡层细胞核仁消失，细胞解

体，腺质绒毡层原位自溶，中层细胞变得窄小变形 (图 2-6)。减数分裂时同一药室内的小孢子母细胞分裂时期基本上是同步的，不同药室之间，小孢子母细胞减数分裂可相差 1~2 个分裂相。



Ac. 孢原细胞; Sp. 造孢细胞; T. 绒毡层; Mmc. 小孢子母细胞; Td. 四分体; P. 花粉; M. 中层
 1. 孢原细胞, 示孢原细胞 (箭头), ×200; 2. 造孢细胞, ×200; 3. 小孢子母细胞, ×200; 4. 小孢子母细胞减数分裂, ×200; 5. 小孢子四分体时期, ×200; 6. 单核期, 示单核期小孢子 (箭头), ×200; 7. 造孢细胞异常, 示黏连形成大的细胞 (箭头), ×200; 8. 小孢子母细胞异常, 示逐渐分解解体 (箭头), ×200; 9. 小孢子母细胞减数分裂时期, 示绒毡层细胞巨型化 (箭头), ×200; 10. 小孢子母细胞减数分裂时期, 示绒毡层无序增生 (箭头), ×200; 11. 小孢子四分体时期, 示空瘪的四分小孢子 (箭头), ×200; 12. 单核小孢子时期, 示小孢子波浪状空壳, 染色浅 (箭头), ×200
 Ac. Archesporial cell; Sp. Sporogenous cells; T. Tapetum layer; Mmc. Microspore mother cells; Td. Tetrad of microspore; P. pollen; M. Middle layer
 1. Archesporial cell (indicated by arrow), ×200; 2. Sporogenous cells, ×200; 3. Microspore mother cells, ×200; 4. Meiosis of microspore mother cell, ×200; 5. Tetrad state of microspore, ×200; 6. Uninucleate microspore (indicated by arrow), ×200; 7. Abnormal sporogenous cells, (arrow indicates adhesive gigantic Mmc), ×200; 8. Abnormal microspore mother cells (arrow indicates degenerated Mmc), ×200; 9. Meiosis of microspore mother cell (arrow indicates elongated tapetum), ×200; 10. Meiosis of microspore mother cell (arrow indicates disorderly tapetum growth), ×200; 11. Tetrad state of microspore (arrow indicates empty tetrad), ×200; 12. Uninuclear microspore (arrow indicates microspore waviness, empty and staining weakly), ×200

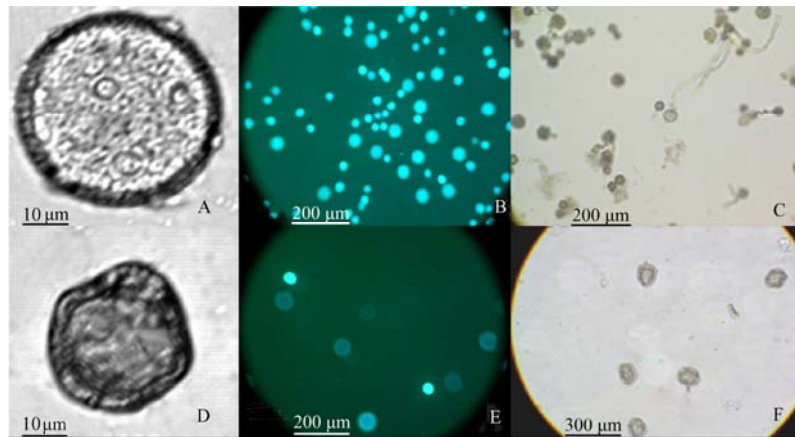
图 2 可育系与不育系小孢子发育的各个阶段
 Fig. 2 The microspore developmental process in fertile and male-sterile lines of Chinese pink

2.2.2 石竹不育系小孢子的发育过程 不育系 H-37B 与可育系 H-37K 小孢子发育过程在造孢细胞增殖前基本一致。不育系 H-37B 的花药发育败育现象主要发生在造孢细胞增殖期、小孢子母细胞减数分裂期以及四分体至单核期。在造孢细胞增殖时期,不育系花药就已出现异常,具体表现为造孢细胞形状畸形,彼此黏连变形形成大的多核细胞(图 2-7),导致在减数分裂时期小孢子母细胞不能正常进行减数分裂而逐渐分解解体(图 2-8)。在造孢细胞初期之前的阶段内,可育与不育花药中的绒毡层细胞特征无明显差别,而不育花药的绒毡层细胞有的在造孢细胞增殖时期就已经发生径向过度伸长(图 2-9),且出现多层细胞,并径向增生充塞花粉囊室,严重挤压小孢子母细胞(图 2-10);至四分体时期,形成外形为不规则三角形、空瘪的四分小孢子(图 2-11)。小孢子释放

后,绒毡层没有解体,而是继续保留在原位并膨大,侵入药室(图 2-12),小孢子的细胞质被降解成波浪状的空壳,且染色浅(图 2-12),缺乏营养物质而败育。

2.3 石竹可育花粉与不育花粉的形态特征比较

石竹可育花粉圆形(图 3-A),饱满,直径约为 48 μm ;而不育花粉通过大量观察发现其外形不规则(图 3-D),空瘪,直径约为 24 μm ,仅有可育花粉的一半左右。经苯胺蓝染色后在荧光下观察发现,可育植株花药中的花粉呈明亮的绿色,数量较多(图 3-B),且花粉均有活力(表);而雄性不育植株花药中花粉呈暗绿色,数量较少(图 3-E),仅 9.2% 有活力。经进一步花粉萌发试验发现可育系花粉生活力为 50% 左右,而不育系花粉无生活力(图 3-C, F; 表)。



A. 可育花粉, 圆形, 饱满; B. 荧光下可育花粉 C. 可育花粉萌发; D. 不育花粉, 形状不规则, 空瘪; E. 荧光下不育花粉; F. 不育花粉不能萌发
A. Pollen grain from the fertile line viewed under transmission light microscope (Note: spheroid and turgid); B. Pollen grains from the fertile line staining fluorescently for vitality; C. Germination of pollen grains from the fertile line; D. Pollen from the male-sterile line viewed under transmission light microscope; E. Pollen of male-sterile line when stained with fluorescent dye for vitality; F. Germination test of pollen from the male-sterile line

图 3 可育花粉与不育花粉

Fig. 3 Fertile pollen and male sterile pollen

表 石竹可育花粉和不育花粉活力的荧光检测

Table Fluorescence test of male sterile and fertile pollen in *Dianthus chinensis* L.

花粉	观察的花粉数	花粉直径 (μm) ¹⁾	花粉特征	生活力	花粉萌发率 ¹⁾
Pollen	No. of pollen	Diameter of pollen	Characters of pollen	Viability (%)	Pollen germination rate (%)
可育花粉	883	48.04±1.14	圆形, 有荧光	100	50.73±4.12
Fertile pollen			Rotundity, fluorescence		
不育花粉	860	24.39±0.89	畸形, 无荧光	9.2	0.00±0
Abortive pollen			Abnormality, no fluorescence		

¹⁾ 表中所列数据均为重复 3 次的平均值±标准偏差 (n=30)

¹⁾ Data are the means ± standard deviation (n=30) of three replicate experiments

3 讨论

3.1 石竹雄性不育系 H-37B 雄蕊败育的形态学表现

不同植物雄性不育材料其雄蕊(小孢子)败育发生的时期及特点各不相同,即使是同一植物材料的不同雄性不育类型,其雄性败育时期和特点也不一样。

胡日华等把烟草雄性不育系雄蕊败育分为 4 种类型:

(1) 雄蕊完全退化; (2) 花丝萎缩畸形,无花药; (3) 花药萎缩,无花粉囊; (4) 花药颜色变淡,花粉囊合并,花粉粒为无内含物的空秕粒^[16]。石竹的雄蕊败育类型似乎界于烟草花粉败育的第 2 种和第 4 种类型之间:花丝不能伸长(图 1-B),因而在该雄性不育株开放的花朵中,一般看不到伸长的雄蕊;有花药,且花药颜色加深;花粉粒无内含物且皱缩(图 3-D),不能萌发。

3.2 石竹雄性不育系 H-37B 花粉败育发生的时期

Laser 和 Lersten 曾指出,败育几乎可能发生在花粉发育的所有阶段上^[17]。双子叶植物花药败育高峰多在四分体形成之前^[18],菜蓼细胞质雄性不育系小孢子败育有 59.6% 发生在孢原细胞分化之前^[19],辣椒雄性不育系雄性败育发生在四分小孢子形成以前和减数分裂末期 II 阶段^[20],胞质雄性不育棉花的雄性败育有的发生在造孢细胞增殖或小孢子母细胞形成时期^[21];而单子叶植物雄性败育多发生在花粉粒的单核期至二核期^[18],玉米细胞质雄性不育材料 WBM 小孢子在二核花粉期后开始败育^[22]。本试验研究发现,石竹花粉败育现象在造孢细胞增殖至小孢子母细胞进行减数分裂以及释放小孢子形成的各个阶段都有发生。但石竹花粉败育的生理生化特征还有待进一步研究。

3.3 绒毡层对花粉败育的作用

绒毡层在小孢子发育中起着重要作用,在花药发育的过程中,绒毡层细胞是运送养分到花粉母细胞的通道;当绒毡层解体后,它的降解产物可以作为花粉合成 DNA、RNA、蛋白质和淀粉的原料。正常的绒毡层细胞,在减数分裂时其细胞连接松弛,并开始解体,随着花粉的成熟而逐渐退化,仅留残片。发育异常的绒毡层细胞必然影响给小孢子输送营养而使其发育受阻,导致花粉败育^[23~25]。在石竹不育系 H-37B 中,首先,绒毡层过早的释放胼胝质酶,使孢原细胞互相黏连,小孢子母细胞不能进行正常的减数分裂,导致雄性不育;其次,在小孢子母细胞减数分裂时期,由于绒毡层自身的膨大消耗大量营养物质,使小孢子母细胞得不到足够的营养物质,从而发生败育现象;最后,

小孢子释放后,绒毡层还不解体,以至于小孢子缺乏营养物质而败育。绒毡层的异常是造成小孢子败育的主要原因。

3.4 石竹雄性不育系 H-37B 的价值

根据细胞学水平上对不育系 H-37B 的研究,以及盛花期时育性的调查,不育系的所有花朵均表现完全不育,不育性状彻底。此不育材料在杂种生产中具有较高的利用价值。

4 结论

与可育系 H-37K 相比,不育系 H-37B 的花药发育败育现象主要发生在造孢细胞增殖期、小孢子母细胞减数分裂期以及四分体至单核期。绒毡层的异常发育是导致小孢子败育的主要原因。

References

- [1] 胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京: 人民教育出版社, 1983.
Hu S Y. *Angiosperm Embryology*. Beijing: People Education Press, 1983. (in Chinese)
- [2] Jethwani V, Kothari S L. Phenylacetic acid induced organogenesis in cultured leaf segments of *Dianthus chinensis*. *Plant Cell Reports*, 1996, 15: 869-872.
- [3] Nakano M, Mii M. Somatic hybridization between *Dianthus chinensis* and *D. barbatus* through protoplast fusion. *Theoretical and Applied Genetics*, 1993, 86: 1-5.
- [4] Mulcahy D L, Mulcahy G B. The influence of gametophytic competition on sporophytic quality in *Dianthus chinensis*. *Theoretical and Applied Genetics*, 1975, 46: 277-280.
- [5] Sparnaaij L D, Koehorst-van Putten H J J. Selection for early flowering in progenies of interspecific crosses of ten species in the genus *Dianthus*. *Euphytica*, 1990, 50: 211-220.
- [6] 余义勋, 包满珠. 反义 ACO 基因导入获得瓶插寿命长的香石竹植株. *园艺学报*, 2004, 31(5): 633-636.
Yu Y X, Bao M Z. Carnation flower vase life prolonged by transformation with antisense ACC oxidase gene. *Acta Horticulture Sinica*, 2004, 31(5): 633-636. (in Chinese)
- [7] 余义勋, 刘娟旭, 包满珠. 香石竹植株再生及基因工程研究进展. *植物学通报*, 2006, 23(1): 23-28.
Yu Y X, Liu J X, Bao M Z. Advances in plant regeneration and genetic engineering of carnation. *Chinese Bulletin of Botany*, 2006, 23(1): 23-28. (in Chinese)
- [8] 武 雯, 蔡友铭, 邹惠渝, 黄敏仁. 利用 RAPD 分子标记研究石竹与香石竹的遗传多样性. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2003,

- 27(4): 72-74.
- Wu W, Cai Y M, Zou H Y, Huang M R. Genetic diversity of *Dianthus chinensis* L. and *D. Caryophyllus* L. with RAPD. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2003, 27(4): 72-74. (in Chinese)
- [9] 张小全, 王学德, 朱云国, 朱 伟, 蒋培东. 细胞质雄性不育海岛棉的选育和细胞学观察. *中国农业科学*, 2007, 40(1): 34-40.
- Zhang X Q, Wang X D, Zhu Y G, Zhu W, Jiang P D. Breeding of cytoplasmic male sterile line in *G. barbadense* and microsporogenesis cytological observation. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(1): 34-40. (in Chinese)
- [10] 周美兰, 程尧楚, 邹应斌, 何觉民. 光温敏核不育小麦 ES-14 花粉败育的细胞学研究. *作物研究*, 1996, 10(4): 20-23.
- Zhou M L, Cheng Y C, Zou Y B, He J M. Cytological studies on photo-thermo-sensitive genic male sterile wheat line of ES-14. *Crop Research*, 1996, 10(4): 20-23. (in Chinese)
- [11] 郭晶心, 孙日飞, 宋家祥, 张淑江. 大白菜雄性不育系小孢子发生的细胞形态学研究. *园艺学报*, 2001, 28(5): 409-414.
- Guo J X, Sun R F, Song J X, Zhang S J. Microsporogenesis of several male sterile lines in *Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*. *Acta Horticulturae Sinica*, 2001, 28(5): 409-414. (in Chinese)
- [12] 王述彬, 罗向东, 戴亮芳, 钱春桃, 陈劲枫, 刘金兵, 潘宝贵. 辣(甜)椒细胞质雄性不育系减数分裂和雄配子发生过程. *园艺学报*, 2004, 31(6): 807-810.
- Wang S B, Luo X D, Dai L F, Qian C T, Chen J F, Liu J B, Pan B G. Meiotic observation and male gametes development in cytoplasmic male sterile of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Horticulturae Sinica*, 2004, 31(6): 807-810. (in Chinese)
- [13] 李 雪, 陈丽梅, 杜 捷, 梁万福, 幸亨泰. 兰州百合小孢子母细胞减数分裂异常现象的观察. *西北植物学报*, 2003, 23(10): 1796-1799.
- Li X, Chen L M, Du J, Liang W F, Xing H T. Observations on abnormal meiosis of pollen mother cells in *Lilium davidii* var. *unicolor*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2003, 23(10): 1796-1799. (in Chinese)
- [14] 张克中, 赵祥云, 梁 励, 黄善武, 张启翔. 王百合雄性不育突变体小孢子败育的细胞学研究. *北京林业大学学报*, 2003, 25(3): 124-126.
- Zhang K Z, Zhao X Y, Liang L, Huang S W, Zhang Q X. Cytological studies on microspore abortion in *Lilium regale* male sterility mutant 'Whiteangel'. *Journal of Beijing Forestry University*, 2003, 25(3): 124-126. (in Chinese)
- [15] 罗来水, 肖德兴, 霍光华, 刘 勇, 辜青青. 桃树雄性不育的初步研究. I. 桃树首批 23 个品种雄性不育的表现形式及其败育途径. *西农业大学学报*, 1999, 21(4): 463-468.
- Luo L S, Xiao D X, Huo G H, Liu Y, Gu Q Q. A Primary study on male sterility in peach. I. Phenotypes and abortive ways of the first batch of 23 male sterile breeds of peach. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 1999, 21(4): 463-468. (in Chinese)
- [16] 胡日华, 黄英金, 何宽信, 肖文俊. 烤烟新质源雄性不育系的选育及应用研究初报. *江西农业大学学报*, 1999, 21(1): 22-24.
- Hu R H, Huang Y J, He K X, Xiao W J. The preliminary report on breeding and applying study of the new cured tobacco sterile line germplasm resource. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 1999, 21(1): 22-24. (in Chinese)
- [17] Laser K D, Lwesten N R. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *The Botanical Review*, 1972, 38(3): 427-454.
- [18] 夏 涛, 刘纪麟. 玉米细胞质雄性不育的细胞学研究. *作物学报*, 1989, 15(12): 97-103.
- Xia T, Liu J L. The cytological study of cytoplasmic male sterility in maize. *Acta Agromica Sinica*, 1989, 15(12): 97-103. (in Chinese)
- [19] 董庆华, 利容千, 王建波. 菜菔细胞质不育系小孢子发生的细胞形态学研究. *园艺学报*, 1997, 24(2): 150-154.
- Dong Q H, Li R Q, Wang J B. Cytological studies on microsporogenesis of the male sterile *Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee. *Acta Horticulturae Sinica*, 1997, 24(2): 150-154. (in Chinese)
- [20] 耿三省, 王志源, 蒋健箴, 沈火林. 辣椒雄性不育系小孢子发生的细胞学观察. *园艺学报*, 1994, 21(2): 165-169.
- Geng S S, Wang Z Y, Jang J Z, Shen H L. Cytological study on microsporogenesis of the male sterile lines of peper. *Acta Horticulturae Sinica*, 1994, 21(2): 165-169. (in Chinese)
- [21] 王学德, 张天真, 潘家驹. 细胞质雄性不育棉花小孢子发生的细胞学观察和线粒体 DNA 的 RAPD 分析. *中国农业科学*, 1998, 31(2): 70-75.
- Wang X D, Zhang T Z, Pan J J. Cytological observation of microsporogenesis and RAPD analysis of mitochondrial DNAs for cytoplasmic male sterile cotton lines. *Scientia Agricultura Sinica*, 1998, 31(2): 70-75. (in Chinese)
- [22] 李小琴, 万邦惠, 刘纪麟, 郑用珽, 李建生, 徐尚忠. 玉米新不育胞质 WBMs 小孢子败育的细胞学观察. *中国农业科学*, 2004, 37(9): 1261-1264.
- Li X Q, Wan B H, Liu J L, Zheng Y L, Li J S, Xu S Z. Cytological observation on microspore genesis of WBMs- a new line of S-CMS maize. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(9): 1261-1264. (in

- Chinese)
- [23] 李莹莹, 魏佑营, 张瑞华, 吕 杰. 辣椒雄性不育系与可育系小孢子发生的细胞学观察. 植物研究, 2006, 26(4): 411-415.
- Li Y Y, Wei Y Y, Zhang R H, Lü J. Cytological investigation on microsporogenesis of male sterility of pepper. *Bulletin of Botanical Research*, 2006, 26(4): 411-415. (in Chinese)
- [24] 梁小红, 仪治本, 赵威军, 段运平, 崔贵梅, 孙 毅. 高粱 A₂ 型细胞质雄性不育系小孢子发生的细胞学观察和减数分裂染色体行为分析. 作物学报, 2006, 32(18): 1107-1110.
- Liang X H, Yi Z B, Zhao W J, Duan Y P, Cui G M, Sun Y. Cytological observation of microsporogenesis and its chromosomal behavior in meiosis of A₂ cytoplasmic-male sterile line in sorghum. *Acta Agromica Sinica*, 2006, 32(18): 1107-1110. (in Chinese)
- [25] Li Y Y, Yang Q, Yan J Y, Chen M. Cytoplasmic male-sterility of onion (*Allium cepa* L.) 63A is associated with premature degeneration of the tapetum. *Acta Agromica Sinica*, 2006, 32(3):369-372.
- (责任编辑 曲来娥)